PATOGENICIDAD Y VIRULENCIA DE AISLAMIENTOS DE *ERWINIA* SP. EN SEMILLAS DE PAPA IMPORTADA

Yuliet Franco, Marusia Stefanova y María F. Coronado

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Gaveta 634, 11300, Playa, Ciudad de La Habana

RESUMEN

Se estudió la patogenicidad y la capacidad de maceración de aislados de Erwinia *sp. obtenidos de tubérculos de papa para semilla de la variedad Spunta con pudrición blanda. En condiciones de laboratorio se inocularon tubérculos de la misma variedad, previamente pesados, mediante una incisión de 2 cm de profundidad en la zona del estolón, donde se colocaron 200 µL de la suspensión de la bacteria de 10^8 ufc/mL. En cada evaluación (3, 7 y 10 días) los tubérculos fueron lavados para eliminar los tejidos podridos y pesados nuevamente para determinar la reducción del peso en comparación con el inicial. Todos los aislamientos en estudio resultaron patógenos y causaron pudrición blanda en los tubérculos inoculados. Los aislamientos que provocaron la desintegración total de los tejidos entre tres y siete días, y pérdidas entre 63,52y 74,38% fueron considerados más virulentos. Su predominio entre las cepas estudiadas los sitúa entre las posibles causas que motivaron las pudriciones blandas en las semillas.*

Palabras clave: *Erwinia, Solanum tuberosum, pudrición blanda*

ABSTRACT

Pathogenicity and maceration capacity of Erwinia *sp. Isolations, obtained from seeds of potato tubers of the variety Spunta with soft rot, was studied under laboratory conditions. Pre weighed healthy tubers of the same variety were inoculated with 200 µL of a 10^8 ufc/ml bacteria suspension, placed in an incision of 2 cm of depth in the stolon area. In evaluations at 3, 7 and 10 days tubers were washed to eliminate the decayed tissue and weighed again to determine the weight reduction. All isolations studied were pathogen and caused soft rot to the inoculated tubers. The isolations that caused total disintegration of the tubers between 3 and 7 days and made losses between 63.52% and 74.38% were considered more virulent; their prevalence in the studied locate them among the possible causes that motivated soft rot in potato seeds.*

Key words: *Erwinia, Solanum tuberosum, soft rot*

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) ocupa, en términos de producción de alimentos, el cuarto lugar entre los diez principales cultivos económicos a escala mundial [FAO, 1996; NIVAA, 1998]. En Cuba se considera uno de los cultivos alimenticios más importantes, y se siembra prácticamente en todo el país [Jané y Deroncelé, 1997]. El incremento de las áreas del cultivo hace necesario importar grandes volúmenes de semillas, principalmente de Holanda y Canadá.

La papa, por su alto contenido de almidón y azúcar, es susceptible a diversas enfermedades, entre ellas las provocadas por *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* y *Erwinia chrysanthemi,* de distribución geográfica prácticamente generalizada, que causan pudriciones blandas con pérdidas anuales entre 50 y 100 millones de dólares a nivel mundial. La primera especie se relaciona con las zonas de clima templado, y las otras dos con las de temperaturas altas por encima de 25°C [Pérombelon y Kelman, 1980; Pérombelon, 1992]. En Cuba se encuentran presentes las dos últimas especies; pero nuevas introducciones de bacterias también se producen por medio de semillas contaminadas que constituyen la vía más eficiente de transmisión de un país a otro. Según Pérombelon (1993), en Escocia se detectaron cepas de *E. chrysanthemi* originarias de zonas templadas del continente europeo introducidas mediante semillas importadas.

En los envíos de tubérculos de papa de semillas recibidos en Cuba en el 2003 se observaron pudriciones blandas de consideración en la variedad Spunta, y se obtuvieron numerosos aislamientos bacterianos de *Erwinia* sp. Se realizó un estudio de la patogenicidad y de la actividad de maceración de esas cepas, cuyos resultados se exponen en el presente trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de 10 aislamientos seleccionados y denominados E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9 y E10, se inocularon,

en condiciones de laboratorio, seis tubérculos de la variedad Spunta por variante, los cuales fueron pesados previamente. La inoculación se realizó mediante una incisión de 2 cm de profundidad en la zona del estolón donde se colocaron 200 μL de la suspensión de la bacteria, crecida durante 24 h en el medio de cultivo nutriente agar (NA), a una concentración de 10^8 ufc/mL ajustada según la escala de Mc Farland. Los orificios fueron sellados después del procedimiento y la papa puesta en cámara húmeda donde permaneció hasta el final del ensayo. La misma cantidad de tubérculos inoculados con agua estéril formó la variante control del experimento. Al cabo de las 72 h los tubérculos fueron lavados para eliminar los tejidos macerados, y pesados nuevamente para determinar la reducción del peso. Se realizaron otras dos evaluaciones a los 7 y 10 días. Con los promedios de los valores obtenidos se calculó el porcentaje de pérdida de peso por la fórmula:

$$\text{Por ciento} = \frac{P - p}{P} \times 100$$

donde *P*: peso del tubérculo sano
p: peso del tubérculo después de lavado

Los resultados se analizaron estadísticamente por medio del programa Analest y el gráfico se realizó en Excel de Windows XP.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los aislamientos en estudio resultaron patógenos y causaron pudrición blanda en los tubérculos inoculados; sin embargo, la maceración de los tejidos no ocurrió en el mismo tiempo ni con igual intensidad. El aislamiento E10 redujo el peso con 20,19 g durante las primeras 72 h para una pérdida de 21,66%; de manera muy similar se comportaron las cepas E3, E6, E7 y E9, cuyas pérdidas oscilaron entre 15,58 y 18,26 g, que representa de 19,28 a 19,62% de reducción de los tubérculos. En las variantes E1 y E2 se registraron valores de pudrición de 0,36 y 0,79 g para un 0,38 y 0,83% de reducción respectivamente (*Fig. 1*).

En la segunda evaluación la mayor parte de los aislamientos provocaron una merma prácticamente total entre 63,52 y 74,38% en los tubérculos, sin diferencias significativas, aunque la cepa E10 nuevamente mostró el valor más elevado de pérdidas. En esta ocasión los aislamientos E1 y E2 provocaron disminución de la integridad estructural de los tubérculos de 27,11 y 13,31 g para un 28,29 y 13,99% de reducción respectivamente (*Fig. 1*). La diferencia en la intensidad de maceración de los tejidos entre estas dos cepas y las restantes se mantuvo hasta el final del experimento. Los tubérculos de la variante testigo no mostraron alteración alguna.

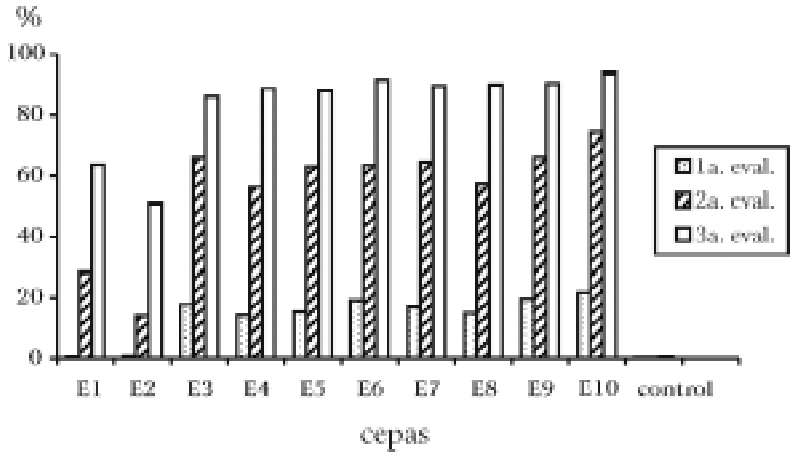


Figura 1. Porcentaje de pérdidas ocasionadas por *Erwinia* sp. en los tubérculos ($p < 0,05$).

Los resultados señalan la presencia de aislamientos más virulentos que puede deberse a una secreción mayor de enzimas pectolíticas, tal y como plantean Collmer y Ried (1986), quienes determinaron diferencia enzimática entre cepas de *Erwinia* sp. Igualmente Duarte *et al*. (2004) encontraron que aislamientos de *Erwinia* de papa de Brasil poseían una capacidad mayor de maceración, y por ende de patogenicidad, y causaron síntomas a las 72 h, en comparación con una cepa tipo de *E. c.* subsp. *atroseptica,* que requirió para eso de siete días.

Aunque todas las cepas en este estudio causaron daños, independientemente de su virulencia, hecho también señalado por Toth *et al*. (2002), los aislamientos virulentos desintegraron los tubérculos en su totalidad entre tres y siete días, y motivaron pérdidas en el peso entre 51 y 69 g.

La contaminación, en mayor o menor grado, de lotes de tubérculos de papa para semillas donde las especies de *Erwinia* se encuentran en estado latente, es muy común para este género de bacterias. Por otra parte, coinciden los criterios que la humedad y la temperatura son dos

factores críticos para el inicio y el desarrollo de la pudrición blanda [Pérombelon, 2002].

Entre las posibles causas que motivaron las pudriciones blandas de consideración en la variedad Spunta durante el 2003 se encuentran, en primer lugar, la presencia de bacterias pectinolíticas del género *Erwinia* y las condiciones de humedad alta por encima de la media histórica. Los resultados en este estudio permiten añadir a ellas la presencia predominante de cepas de ese género con virulencia elevada.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Dentro de las especies de *Erwinia* que arriban a Cuba con los tubérculos de papa de semillas existen aislamientos más virulentos que pueden provocar la desintegración total de los tejidos entre tres y siete días.
- Se recomienda extender el estudio a cepas obtenidas de áreas de papa del país donde se detectan pudriciones blandas durante el cultivo.

REFERENCIAS

Collmer, A.; J. L. Ried: «Comparison of Pectic Enzymes Produced by *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*», *Appl. Environ. Microbiol.* 52:305-310, 1986.

Duarte, V.; S. De Boer; L. Ward; A. de Oliveira: «Characterization of Atypical *Erwinia carotovora* Strains Causing Blackleg of Potato in Brazil», *Journal of Applied Microbiology* 96:535-545, 2004.

FAO: *Statistics* Serie no. 135 Production, Italy, Rome; Food and Agriculture Organization (FAO), 1996, pp. 89 y 90.

Jané, E. M.; R. C. Deroncelé: *El cultivo de la papa en Cuba*, Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliana Dimitrova, La Habana, 1997, p. 22.

NIVAA: *The Road to Seed Potato Production*, NIVAA Den Haag, 1998, p. 72.

Pérombelon, M. C.; A. Kelman: «Ecology of the Soft Rot *Erwinias*», *Ann. Rev. Phytopathol.* 18:361-387, 1980.

Pérombelon, M. C. M.: «Potato Blackleg: Epidemiology, Host-Pathogen Interaction and Control», *Netherlands Journal of Plant Pathology* 92:135-146, 1992.

——: «Potato Blackleg: Progress and Prospects for Research»,1993, http://www.Spud.co.uk/external/Prof/research.htm (consultado 2/2004).

——: «Potato Diseases Caused by Soft Rot Erwinias: an Overview of Pathogenesis», *Plant Pathol.* 51:1-12, 2002.

Toth, I. K.; L. J. Hyman; P. L. Toth: «A Study of Diversity Within *Erwinia carotovora* subspecies *atroseptica*», 2002, http//www.scri.sari.ac.uk/SCRI/nmsruntime/saveasadialog.Asp?IID=858&SID=1395 (consultado 1/2004).