

PATOGENICIDAD Y VIRULENCIA DE CEPAS DE *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM* Y *DICKEYA CHRYSANTHEMI* EN PAPA (*SOLANUM TUBEROSUM* L.)

Yuliet Franco Cardoza, Marusia Stefanova Nalimova y María F. Coronado Izquierdo

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5.^a B y 5.^a F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

RESUMEN

La pudrición blanda causada por pectobacterias es una de las enfermedades bacterianas más importantes que afectan al cultivo de la papa, pues provocan pérdidas significativas de hasta 100% durante el almacenamiento de los tubérculos. En las campañas de papa en Cuba, desde finales del 2002 hasta el 2004, se produjeron pudriciones blandas de consideración en el cultivo, y se obtuvieron numerosos aislamientos bacterianos pertenecientes a las especies *Pectobacterium carotovorum* y *Dickeya chrysanthemi*. Se realizó un estudio en condiciones de laboratorio de la patogenicidad y la actividad de maceración de seis aislamientos de *P. carotovorum* y dos de *D. chrysanthemi* en tubérculos de papa Spunta y Chieftain. Para ello se inocularon tubérculos previamente pesados con 200 µL de la suspensión bacteriana a una concentración de 10^8 ufc/mL. A los tres, siete y diez días los tubérculos se lavaron para eliminar los tejidos podridos y se pesaron nuevamente para determinar la reducción del peso por diferencia. Los resultados se analizaron estadísticamente. Todas las cepas en estudio resultaron patógenas, aunque difirieron en su virulencia. La mayor desintegración de los tejidos ocurrió entre tres y siete días. A los diez días las cepas Q34 y Ms11, de la especie *D. chrysanthemi*, provocaron reducciones de 5,2 y 15,7%, respectivamente, en los tubérculos inoculados. Las cepas de *P. carotovorum* causaron pérdidas superiores, con valores entre 48 y 64% para el mismo período de evaluación.

Palabras claves: *Pectobacterium* sp., *Solanum tuberosum*, pudrición blanda

ABSTRACT

Soft rot caused by pectobacterias is one of the most important diseases that affect potato crop causing significant losses that can reach 100%. During potato seasons from the end of 2002 until 2004, in Cuba, considerable soft rot of tubers occurred and it was obtained several isolates of *Pectobacterium carotovorum* and *Dickeya chrysanthemi*. The aim of this work was to study the pathogenicity and maceration ability of six *P. carotovorum* and two *D. chrysanthemi* isolates in Spunta and Chieftain potato cultivars. Tubers of both cultivars were weighed and then inoculated, under laboratory conditions, with 200 µL of the bacterial suspension adjusted to a concentration of 10^8 ufc/mL. In evaluations at three, seven and ten days, tubers were washed to eliminate the decayed tissue and weighed again to determine the reduction of weight. Results were analyzed statistically. All the strains studied were pathogenic and they caused soft rot in the inoculated tubers but they differed in virulence. After 10 days the strains Q34 and Ms11 of *D. chrysanthemi* produced reductions of the inoculated tubers of 5.2 and 15.7% respectively. Strains of *P. carotovorum* caused higher losses with values between 48 and 64% for the same period of evaluation. This last species showed a higher variability in virulence

Key words: *Pectobacterium* sp., soft rot, *Solanum tuberosum*

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) constituye una fuente valiosa de alimentación en muchos países, y representa aproximadamente el 50% de las producciones mundiales de todas las raíces y tubérculos [Estévez *et al.*, 2001, citados por Rodríguez y Stefanova, 2005]. En Cuba este cultivo reviste gran importancia en el programa alimentario, por lo que anualmente se invierten numerosos recursos para garantizar la tecnología adecuada a fin de obtener los mayores rendimientos posibles [Mayea y Sánchez, 1995].

La pudrición blanda causada por *Pectobacterium atrosepticum* (sin. *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica*),

Pectobacterium carotovorum [Gardan *et al.*, 2003] (sin. *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*) y *Dickeya chrysanthemi* [Samson *et al.*, 2004] (sin. *Erwinia chrysanthemi*) es una de las enfermedades bacterianas más importantes que afectan a este cultivo, pues provocan pérdidas significativas de hasta 100% durante el almacenamiento de los tubérculos [Elphinstone, 1987]. Las tres especies se encuentran ampliamente distribuidas en el mundo, y su predominio depende directamente de la temperatura óptima para su desarrollo, con 15-20°C para *P. atrosepticum*, 27-30°C para *P. carotovorum* y 34-37°C para *D. chrysanthemi* [Oliveira, 2001].

En las campañas de papa, desde finales del 2002 hasta el 2004 se produjeron pudriciones blandas de consideración en el cultivo y se obtuvieron numerosos aislamientos bacterianos que se caracterizaron e identificaron como pertenecientes a las especies *P. carotovorum* y *D. chrysanthemi*. Para este trabajo se seleccionaron algunos de esos aislamientos con el objetivo de estudiar su patogenicidad y la actividad de maceración sobre tubérculos de papa.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en condiciones de laboratorio. Se emplearon seis cepas de *P. carotovorum* y dos de *D. chrysanthemi* (Tabla 1), pertenecientes al cepario de bacterias fitopatógenas del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, crecidas en agar nutriente durante 24 h, y tubérculos de papa de las variedades Spunta y Chieftain. Los tubérculos se pesaron previamente y luego se inocularon mediante una incisión de 2 cm de profundidad en la zona del estolón, donde se colocaron 200 µL de la suspensión de la bacteria ajustada a una

concentración de 10^8 ufc/mL, lo que corresponde a una densidad óptica de 0,5 unidades de absorbancia a 550 nm [Lelliot y Stead, 1987] en espectrofotómetro UV. Se utilizaron cinco tubérculos por variedad para cada cepa. Después del procedimiento los orificios se sellaron con gasa estéril, y las papas se colocaron en cámara húmeda a temperatura ambiente, donde permanecieron hasta el final del ensayo. Durante todo el experimento la humedad se mantuvo por medio de aspersiones con agua. La misma cantidad de tubérculos inoculados con agua estéril constituyó la variante control del experimento. Antes de iniciar el experimento los aislamientos se refrescaron mediante un pase por el hospedante. Se realizaron evaluaciones a los tres, siete y diez días posteriores a la inoculación, que consistieron en el lavado de los tubérculos para eliminar los tejidos macerados, y pesarlos nuevamente para determinar la reducción del peso con respecto al valor inicial. Los resultados se convirtieron en porciento y se realizó el análisis de medidas repetidas con el paquete estadístico SPSS para Windows versión 12.0.1 Inc (2003). Las medias se compararon posteriormente por la prueba de Tukey con 0,05 de probabilidad.

Tabla 1. Cepas utilizadas en el estudio

Cepa	Especie bacteriana	Parte afectada de donde se aisló	Año
E3	<i>P. carotovorum</i>	Tubérculo	2003
E5	<i>P. carotovorum</i>	Tubérculo	2003
E7	<i>P. carotovorum</i>	Tubérculo	2003
E8	<i>P. carotovorum</i>	Tubérculo	2003
E9	<i>P. carotovorum</i>	Tubérculo	2003
E10	<i>P. carotovorum</i>	Tubérculo	2003
Q34	<i>D. chrysanthemi</i>	Haces vasculares	2004
Ms11	<i>D. chrysanthemi</i>	Tubérculo	2004

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las cepas en estudio resultaron patógenas, sin embargo, difirieron en su virulencia. A los diez días las cepas Q34 y Ms11 de la especie *D. chrysanthemi* provocaron reducciones en los tubérculos inoculados de 5,2 y 15,7% del peso, respectivamente, sin diferencias significativas entre ellas (Tabla 2). Las cepas de *P. carotovorum* causaron pérdidas superiores con valores entre 48 y 64% para el mismo período de evaluación (Tabla 3).

La mayor desintegración de los tejidos ocurrió en el período comprendido entre tres y siete días. Las cepas

de la especie *P. carotovorum* mostraron una mayor variabilidad respecto a la virulencia. La cepa E10 provocó una maceración correspondiente a 52%, mientras que las cepas E8 y E9 produjeron una reducción menor con valores de 35 y 37%, respectivamente (Tabla 3). En un experimento similar realizado por Franco *et al.* (2004) con la variedad Spunta, la cepa E10 también fue la que mayor merma provocó en los tubérculos.

Esta variación en la virulencia de las cepas pudiera deberse a una diferencia en su producción enzimática, hecho señalado con anterioridad por Collmer y Ried (1986), quienes determinaron diferencia enzimática en-

tre cepas de *Erwinia* sp. Igualmente Duarte *et al.* (2004) encontraron que aislamientos de *Erwinia* de papa de Brasil poseen una capacidad mayor de maceración y

por ende de patogenicidad, y causaron síntomas a los tres días, en comparación con una cepa tipo de *E.c.* subsp. *atroseptica* que requirió siete.

Tabla 2. Porcentaje de pérdidas de peso ocasionadas por *D. chrysanthemi* en tubérculos de ambas variedades ($p < 0,05$)

Cepas	Reducción de peso de los tubérculos (%)		
	3d	7d	10d
Q34	1,54	4,57	5,18
Ms11	4,13	12,46	15,72
Testigo (agua)	0,30	3,87	4,20
CV (%)	2,73	4,30	4,51
ES	0,21	1,22	1,70

Tabla 3. Porcentaje de pérdidas de peso ocasionadas por *P. carotovorum* en tubérculos de papas ($p < 0,05$)

Cepas	Reducción de peso de los tubérculos (%)		
	3d	7d	10d
E3	3,42 b	44,64 bcd	61,75 cd
E5	4,54 b	42,40 bcd	57,81 bcd
E7	4,93 bc	46,12 bcd	61,23 bcd
E8	4,11 b	34,71 b	47,89 b
E9	3,94 b	37,06 bc	50,07 bc
E10	7,42 c	51,87 d	64,31 d
Testigo (agua)	0,30 a	3,87 a	4,20 a
CV (%)	2,94	3,20	3,37
ES	0,26	1,42	1,93

Tanto *P. carotovorum* como *D. chrysanthemi* provocan graves pérdidas en el cultivo cuando las condiciones son favorables. En la literatura especializada las temperaturas óptimas reportadas para su desarrollo son de 28 y 35°C, respectivamente, y tanto este como la humedad son dos factores críticos para el inicio y desarrollo de la pudrición blanda [Pérombelon, 2002]. El hecho de que los valores de reducción de peso provocados por las cepas Q34 y Ms11 de *D. chrysanthemi* no fueran superiores, puede relacionarse con la temperatura, que durante el experimento osciló entre 25 y 27°C, valores que no favorecen el desarrollo de esta especie. Dada la importancia de la temperatura demostrada también en este experimento, podría esperarse que, cuando está por debajo de 30°C en las condiciones de Cuba, predominará la especie *P. carotovorum*.

Muchos autores han informado sobre la variación en la susceptibilidad de diferentes variedades de papa a estas bacterias pectolíticas [Bains *et al.*, 1999; Benelli *et al.*, 2004], lo cual depende de diversos factores como la concentración del inóculo, la temperatura y la variedad del cultivo, entre otros. En este experimento, bajo las mismas condiciones, la variedad Chieftain resultó más afectada que la Spunta, aunque ambas se mostraron sensibles (Tabla 4).

En un estudio realizado en la provincia de Villa Clara por Morales (1997) para determinar las pérdidas que se producen en este cultivo a consecuencia de las pudriciones blandas causadas por estos géneros bacterianos, se determinó que la variedad Spunta fue una de las dos que más pérdidas tuvieron en naves de pilón, y la variedad Chieftain en condiciones de campo.

Tabla 4. Porcentaje de reducción de peso producido en los diferentes períodos de evaluación en ambas variedades

Tiempo (días)	Promedio de pérdidas (%)		CV (%)	ES
	Spunta	Chieftain		
3	3,7 a	3,9 a	2,32	0,37
7	27,7 b	33,9 a	3,31	1,58
10	34,8 b	46,9 a	4,08	2,30

CONCLUSIONES

- Las cepas de *P. carotovorum* provocaron reducciones de peso en los tubérculos mayores que las provocadas por *D. chrysanthemi*.
- La variedad Chieftain resultó más afectada por la pudrición blanda que la variedad Spunta.

REFERENCIAS

- Bains, P.; V. Bishit; D. Lynch; L. Kawchuk; J. Helgeson: «Identification of Stem Soft Rot (*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*) Resistance in Potato», *American Journal of Potato Research* 76:137-141, 1999.
- Bellini, A.; N. Denardin; C. Forcelini; V. Duarte: «Reação de cultivares de batata à podridão mole causada por *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum*, por *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* e por *P. chrysanthemi*», *Fitopatol. Bras.*, 29(2):155-159, 2004.
- 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.
- Elphistone, J.: «La pudrición blanda y la pierna negra de la papa *Erwinia* spp.», *Boletín de información Técnica*, no. 21, CIP, Lima, 1987, pp. 1-18.
- Franco, Yuliet; Marusia Stefanova; María F. Coronado: «Patogenicidad y virulencia de aislamientos de *Erwinia* sp. de semillas de papa de importación», *Fitosanidad* 8(4):45-47, 2004.
- Gardan, L.; C. Gouy; R. Christen; R. Samson: «Elevation of Three Subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to Species Level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. Nov., *Pectobacterium betavasiculorum* sp. Nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov», *Int. J. Syst. Evol. Microbiol* 53:381-391, 2003.
- Lelliot, R. A.; D. E. Stead: «Methods for the diagnosis of Bacterial Diseases of Plants», *Methods in Plant Pathology*, vol. 2. Blackwell Scientific Publications, Preece, Oxford, Inglaterra, 1987.
- Mayea, S.; H. Sánchez: «Resistencia de 10 cultivares de papa», *Cuadernos de Fitopatología*, año XII (45), 2.º trimestre, 1995, pp. 45-49.
- Morales, Yolanda: «Estudios realizados sobre el género *Erwinia* en el cultivo de la papa», [http:// www. monografías. com](http://www.monografias.com). 1997. Consultado el 21/05/06.
- Oliveira, A.: «Incidencia e variabilidade genética de erwinias pectolíticas asociadas a canela preta em lavouras de batata no Estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre», Tese Doutorado em Fitotecnia, Porto Alegre, Universidad Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2001.
- Pérombelon, M. C. M.: «Potato Diseases Caused by Soft Rot erwinias: An Overview of Pathogenesis», *Plant Pathol.* 51:1-12, 2002.
- Rodríguez, F.; M. Stefanova: «Control biológico del tizón temprano (*Alternaria solana* Sorauer) en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de campo», *Fitosanidad* 9(4):35-37, 2005.
- Samson, R.; J. B. Legendre; R. Christen; W. Achouak; L. Gardan: «Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* [Brenner et al., 1973] [Hauben et al., 1998] and *Brenneria paradisiaca* to the Genus *Dickeya* Gen. Nov. As *Dickeya chrysanthemi* Comb. Nov. and *Dickeya paradisiaca* Comb. Nov. and Delineation of Four Novel Species: *Dickeya dadantii* sp. Nov., *Dickeya dianthicola* sp. Nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. Nov. and *Dickeya zeae* sp. Nov.», *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54:1-13, 2004.
- SPSS para Windows, versión 12.0.1 Inc., 2003.