

# Sobrevivencia del organismo causal del cancro bacteriano del tomate (*Corynebacterium michiganense* (Smith) Jensen) en el suelo<sup>1</sup>

Bernardo A. Latorre<sup>2</sup> y Fernando Nome H.<sup>3</sup>

## INTRODUCCION

El cancro bacteriano del tomate, cuyo organismo causal es *Corynebacterium michiganense* (Smith) Jensen, constituye un nuevo problema para el cultivo del tomate en Chile. En 1966 fue identificada por Nome et al (9), en un tomatil de la provincia de Santiago, donde la infección fue estimada por los autores en un 75%.

Esta enfermedad puede diseminarse a través de suelos infectados con residuos de plantas enfermas. El tiempo que sobrevive la bacteria en el suelo sin perder la virulencia, al incorporarla junto con las plantas enfermas, es variable y los factores que la afectan no se conocen en detalle. Algunos autores han determinado que el inóculo sobrevive en el suelo por un período no mayor de un año, mientras que otros trabajos citan períodos de dos, tres y más años.

En el presente trabajo se determinó la supervivencia del inóculo en dos series de suelo de la zona central del país, en condiciones de reinfectar un nuevo cultivo de tomate.

## REVISION DE LITERATURA

El organismo causal del cancro bacteriano del tomate de acuerdo con Ciccarone (5) y Grogan y Kendrick (8), se propaga principalmente a través de la semilla de plantas enfermas. La bacteria se ubica sobre o en el interior de la semilla, sin afectar su viabilidad ni su posterior germinación.

Ark (1), Broadbent (3) y Chupp y Sherf (4), señalan que esta enfermedad se puede diseminar fácilmente, a partir de unas pocas

plantas enfermas, durante las labores culturales. Según Ark (1), las labores realizadas durante la preparación del almácigo pueden constituir una fuente de propagación de la enfermedad. En este sentido Grogan y Kendrick (8), determinaron un gran porcentaje de infección en cultivos trasplantados, mientras que en cultivos realizados a través de siembras directas, no se presentó la enfermedad.

De acuerdo con Ciccarone y Carilli (6), Grogan y Kendrick (8) Stapp (11), el agente causal del cancro bacteriano del tomate puede sobrevivir de una temporada a otra, o por periodos mayores, al incorporar restos de plantas enfermas al suelo.

Chupp y Sherf (4), indican que el tiempo que sobrevive en el suelo el organismo causal del cancro bacteriano del tomate, sin perder su virulencia al incorporarlo junto con restos de plantas enfermas, es variable y depende, al parecer, en gran medida, de las condiciones de humedad y temperatura del medio. Así, bajo las condiciones ambientales de Nueva York, se estableció un año como tiempo máximo de supervivencia del inóculo. Igual situación señala Strider (12), para las condiciones ambientales de Carolina del Norte. Sin embargo, bajo condiciones de laboratorio, Strider (12), determinó una supervivencia de 18 meses en un suelo húmedo y estéril y de sólo 8 meses en un suelo seco al aire.

## MATERIAL Y METODO

El presente trabajo se realizó en dos series de suelos de la zona central del país, que difieren principalmente en pH y en el contenido de carbonatos. Se eligieron estos suelos en consideración a la posible influencia que dichos factores pudieran tener en la supervivencia de la bacteria. Los suelos corresponden a las series Graneros y Santiago, la primera ubicada en la provincia de O'Higgins, al Este de la ciudad de Graneros y la segunda, circunscrita al área Sur Este de la ciudad de Santiago. El suelo Graneros, es ligeramente ácido, pH 6,2 - 6,3 y sin presencia de carbonatos (<sup>1</sup>), mientras que el suelo Santiago utilizado en

<sup>1</sup>Trabajo realizado en la Estación Experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Chile. Parte de la Tesis presentada por Bernardo A. Latorre, como uno de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Los autores agradecen al Dr. Surendra P. Sinha, por los consejos dados durante el desarrollo del presente trabajo.

Recepción manuscrito: 9 de enero de 1970.

<sup>2</sup>Ing. Agr. Profesor Ayudante de las Cátedras de Fitopatología General y Patología Forestal, Facultad de Agronomía, Universidad de Chile, casilla 1004, Santiago, Chile.

<sup>3</sup>Ing. Agr. M. S. Profesor de la Cátedra de Fitopatología General, Facultad de Agronomía, Universidad de Chile. Dirección actual: Universidad Nacional de Córdoba, Instituto de Ciencias Agronómicas, casilla 509, Argentina.

este trabajo, presenta carbonatos (1) y es ligeramente alcalino, pH 7,2 - 7,3.

Los suelos se inocularon en condiciones de campo, con plantas previamente inoculadas. El inóculo se obtuvo de cultivos puros existentes en el laboratorio de Fitopatología de la Estación Experimental de la Universidad de Chile y correspondió a la cepa aislada por Nome y Docampo (10), en 1967. La bacteria se cultivó en medio sólido de agar-extracto de levadura-dextrosa-carbonato de calcio y agua (LDC) a 27-28°C, durante tres a cuatro días.

Las plantas se inocularon cuando tenían entre 40-50 cm de altura, cortando uno o dos brotes en su ápice con un bisturí previamente infectado en una dilución bacteriana, preparada a partir del contenido de dos tubos con cultivos puros del patógeno de tres días de edad, los que se diluyeron en 50 cc de agua destilada-estéril.

Los primeros síntomas de la enfermedad se observaron a los 20-25 días de haber inoculado las plantas. Se reaisló la bacteria desde algunas plantas tomadas al azar y se comprobó su identidad comparando las características de las colonias (color, forma y textura), coloración de Gram y tamaño celular, con cultivos puros del patógeno.

Las plantas se arrancaron en plena fructificación, época en que la mayor parte del follaje mostró síntomas típicos de la enfermedad. Este material se cortó en trocitos y constituyó el inóculo para infectar 6 m<sup>2</sup> de cada uno de los suelos empleados. En cada suelo se aplicó la misma cantidad de inóculo, se distribuyó uniformemente sobre la superficie y se tapó con una pequeña capa del mismo suelo. Los suelos, una vez inoculados, quedaron expuestos a las condiciones de humedad y temperatura del medio, hasta el momento de utilizarlos.

Para establecer la presencia de la bacteria, se cultivó tomate en cada suelo infectado, en cuatro oportunidades, bajo condiciones de invernadero. Los cultivos se efectuaron al momento de inocular los suelos y a los cinco, diez y doce meses de la inoculación. En cada una de estas fechas se llevó al invernadero una muestra de cada suelo, suficiente para preparar un almálico y para los veinte maceteros, en cada uno de los cuales se trasplantó tres plantas. Como testigo se usó un cultivo realizado en los mismos suelos, pero sin inocular, que consistió en cinco maceteros con tres plantas cada uno.

En cada fecha de cultivo, la presencia de la bacteria se estableció primeramente por los síntomas, y luego, aislando el patógeno desde la base de hojas afectadas y desde el tallo principal. La identidad del patógeno se constató por las características de las colonias, tin-

ción de Gram y serológicamente según el método de difusión en agar de Ouchterlony (2).

Los resultados obtenidos en cada fecha de cultivo, para cada suelo, se analizaron estadísticamente mediante pruebas de independencia con la distribución de ji cuadrado. Se consideró testigo la primera fecha de cultivo. En esta fecha se esperó la más alta infección.

## RESULTADO Y DISCUSION

Los síntomas observados en las distintas épocas de cultivo de tomate, corresponden con las descritas para el cancro bacteriano por Chupp y Sherf (4), Dowson (7), y Stapp (11), los que se presentaron entre la floración y fructificación de las plantas. Fundamentalmente se observó un marchitamiento y clorosis de las hojas, en forma unilateral al comienzo y generalizándose más tarde, hasta comprometer toda la planta. Al cortar longitudinalmente el tallo principal, se observó una franja a ambos lados del corte, de color amarillo café. Este cambio de coloración corresponde a los tejidos conductivos invadidos por la bacteria. No se observó desarrollo de cancros.

En el primer cultivo de tomate de la serie Graneros, las plantas mostraron síntomas severos de cancro bacteriano en las primeras fechas de cultivo y síntomas benignos en las últimas. Esto podría interpretarse como consecuencia de la cantidad de inóculo presente o bien debido a la pérdida de patogenicidad de la cepa, después de haber permanecido como saprófito durante un tiempo prolongado en el suelo. Los síntomas observados en este cultivo consistieron en marchitamiento y clorosis, parcial al comienzo y luego total, tendidura, y finalmente muerte de las plantas. Con el objeto de aislar el organismo causal, se sembró en disco de Petri, en medio LDC, trocitos del tallo principal de algunas plantas. No se logró aislar el organismo causal del cancro bacteriano. Probablemente, la sintomatología sólo correspondió a alteraciones vasculares provocadas por la bacteria a nivel del cuello de las plantas o en los primeros centímetros del tallo principal. En esta forma podría explicarse el fracaso obtenido en los aislamientos, al sembrar trozos de tallo principal, tomado de la parte superior de las plantas.

El organismo causal se reaisló, desde la base de hojas afectadas y/o desde el tallo principal, en el primer y segundo cultivo de tomate en suelo infectado de la serie Santiago y en la segunda y tercera fecha de cultivo en suelo infectado de la serie Graneros.

En los Cuadros 1 y 2 se visualizan los resultados obtenidos, respectivamente en las series Santiago y Graneros.

Según los resultados obtenidos por Strider (12), la humedad del suelo tiene gran impor-

(1) Determinado cualitativamente por la reacción al HCl 1/3 N.

tancia en la supervivencia de la bacteria. Por este motivo, es posible que los resultados de este ensayo estén afectados en gran medida, por el factor humedad del suelo, debido a que los suelos inoculados recibieron durante el año sólo 70 mm de precipitación, considerada muy baja para la zona y concentrada en los meses de invierno. Por este motivo y dado que es probable que al aumentar el número de plantas cultivadas en cada fecha, se logre detectar la presencia de la bacteria con posterioridad al año de inocular el suelo, los períodos de supervivencia calculados en este ensayo, deben considerarse como mínimos y nunca como máximos.

Las proporciones de plantas enfermas para fecha de cultivo, obtenidos en la serie de suelos Santiago fueron significativamente diferentes (<sup>1</sup>). En el análisis estadístico, no se consideró los resultados del último cultivo, por ha-

ber obtenido cero planta enferma. Las proporciones de plantas enfermas obtenidas para fecha de cultivo, en la serie de suelos Graneros, fueron también significativamente diferentes(<sup>2</sup>). De acuerdo con estos resultados la sobrevivencia del organismo causal, disminuye notablemente luego de incorporado al suelo y se trata de un factor dependiente del tiempo. No obstante, debe destacarse que los valores de sobrevivencia obtenidos en este estudio, nos indican que la bacteria sobrevive en forma saprofitica por algún tiempo en el suelo, cuando se incorporan restos de tejidos enfermos. Este fenómeno tiene gran importancia en la propagación de la enfermedad, ya que la presencia de una sola planta enferma en un cultivo sería suficiente para iniciar una epifitía. Bajo estas condiciones no es conveniente repetir el cultivo en el mismo suelo, aun cuando sólo se sospeche de la presencia de cancro bacteriano.

CUADRO 1.—Resultados obtenidos en los cultivos de tomate realizados en suelo infectado de la serie Santiago.

	1ª fecha	2ª fecha	3ª fecha	4ª fecha
Plantas enfermas	41	9	4	0
Plantas sanas	14	42	54	57
Total de plantas	55	51	58	57
% de plantas enfermas	74,5	18	7	0
Aislación del patógeno	A	A	N	N

A: Aislado de más de una planta  
N: no aislado

CUADRO 2.—Resultados en los cultivos de tomate realizados en suelo infectado de la serie Graneros.

	1ª fecha	2ª fecha	3ª fecha	4ª fecha
Plantas enfermas	49	22	19	3
Plantas sanas	10	34	38	52
Total de plantas	59	56	57	55
% de plantas enfermas	83	39	33	5
Aislación del patógeno	N	A	A	N

A: Aislado de más de una planta  
N: no aislado

## RESUMEN

Se estudió la sobrevivencia del organismo causal del cancro bacteriano del tomate (*Corynebacterium michiganense* (Smith) Jensen), en dos tipos de suelos, infectados artificialmente con restos de plantas de tomate enfermas. El estudio se efectuó en dos suelos de la zona central del país, pertenecientes a las series Santiago y Graneros. Para evaluar la persistencia del organismo causal se cultivaron plantas de tomates en los suelos infectados, al momento de inocularlos, y a los cinco, diez y doce meses después.

<sup>1</sup>Ji cuadrado 56,5 (P < 0,05); <sup>2</sup>Ji cuadrado 25,5 (P < 0,05).

La sobrevivencia del inóculo alcanzó a diez meses y más de un año respectivamente, en los suelos de las series Santiago y Graneros. Los principales síntomas observados correspondieron a marchitamiento y clorosis de las plantas y necrosis interna del tallo principal.

Las diferencias en las proporciones de plantas enfermas obtenidas fueron estadísticamente significativas. De acuerdo con estos resultados, la sobrevivencia del organismo causal disminuye notablemente luego de incorporarlo al suelo y se trata de un factor dependiente del tiempo. Sin embargo los valores de sobrevivencia obtenidos indican que la bacteria sobrevive en el suelo, en forma saprofítica al ser incorporada en restos de tejido enfermo. Este fenómeno es de gran importancia en la propagación de la enfermedad, ya que la presencia de una sola planta enferma en un cultivo, es suficiente para iniciar una epifitía.

#### SUMMARY

The survival of *Corynebacterium michiganense* (Smith) Jensen, causal organism of tomato bacterial canker, was studied under field conditions in two types of soils belonging to the Santiago and Graneros soil series in the Chilean central valley.

The soils were artificially infected with rests of diseased tomato plants. Tomatoes were planted immediately after infection and five, ten, and twelve months later to evaluate the persistence of the causal organism.

In the Santiago soil series the inoculum survived for ten months and in the Graneros series, for twelve. The main symptoms were wilting and chlorosis of the plant and internal necrosis of the main stem. The percentage of diseased plants obtained was statistically significant. From these results it can be concluded that the survival of the causal organism notably decreases after being soil inoculated and this is associated with time elapsed from infection.

Data showed that the bacteria lives saprophytically in the soil when inoculated through rests of diseased tissues. This phenomenon is significant since the occurrence of one single diseased plant in a field is sufficient to initiate an epiphytotic,

#### LITERATURA CITADA

1. ARK, P. A. Studies on bacterial canker of tomato. *Phytopath.* 34:393-400. 1944.
2. BALL, E. M. Serological test for the identification of plant viruses. New York, American Phytopathological Society. 1961. 16 p.
3. BROADBENT, L. Dispersal by animals. Horsfall, J. G. y Diamond, A. B. ed. *Plant Pathology an advanced treatise.* New York, Academic Press. 1960, v. 3. pp. 97-135.
4. CHUPP, C. and SHERF, A. F. *Vegetables diseases and their control.* New York. The Ronald Press Company. 1947. 673 p.
5. CICCARONE, A. Reproduction is affected. Horsfall, J. G. y Diamond, A. E. ed. *Plant Pathology an advanced treatise.* New York, Academic Press. 1959. v. 1 pp. 249-276.
6. ————— and CARRILLI, A. Field observation on *Corynebacterium michiganense* and considerations on a possible resistance of its survival in the soil. *Boll. Star. Pat. Veg. Roma.* Ser. 3, 6:177-179. 1948. (Original no consultado, compendiado en *Rev. Appl. Mycol.* 30:393. 1951).
7. DOWSON, W. S. *Plant disease due to bacteria.* 2nd ed. Londres, Cambridge at the University Press. 1957. 232 p.
8. GROGAN, R. G. and KENDRICK, J. B. Seed transmission mode of overwintering and spread of bacterial canker of tomato caused by *Corynebacterium michiganense*. *Phytopath.* 43:475. 1953.
9. NOME, S. F., et al. Bacterial canker of tomato found for the first time in Chile. *Plant Dis. Repr.* 51:396. 1967.
10. ————— y DOCAMPO, D. Enfermedades del tomate en Chile. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Agronomía. *Bol. Técn.* N° 29. 1969. pp. 23-26.
11. STAPP, C. *Bacterial pathogens.* Londres, Oxford University Press. 1961. 292 p.
12. STRIDER, D. L. Survival studies with tomato bacterial canker organism. *Phytopath.* 57:1067-1071. 1967.