

# Estudio taxonómico de los agentes etiológicos causantes de pudriciones húmedas en plantas de papas. II<sup>1</sup>

Luigi Ciampi P.<sup>2</sup> y Susana González M.<sup>3</sup>

## INTRODUCCION

Continuando con lo expuesto en la primera parte de este trabajo (Ciampi, L. R., 1972), en esta segunda parte se investigan los agentes etiológicos causantes de pudriciones húmedas en plantas de papas. Se comprueba la virulencia de varias cepas bacterianas aisladas corrientemente de plantas enfermas de pie negro, donde la pudrición comprometía hasta los tubérculos.

## REVISION DE LITERATURA

La revisión bibliográfica sobre pudriciones húmedas fue presentada anteriormente (Ciampi, L. R., 1972). En esa investigación se demostró que *Erwinia carotovora* (Jones) Holland y especies de *Pseudomonas* y *Bacillus* causan pudriciones húmedas en tubérculos de papas en bodega.

En el campo las plantas de papas son atacadas, tanto en sus tallos como en sus tubérculos, por estos mismos agentes (a excepción de *Bacillus*), tal como lo indican Elliott, Ch. (1951) y Breed, R., Murray, E. y Smith, R. (1957). Agregan estos autores a *Corynebacterium sepedonicum*, el cual no fue detectado en nuestra investigación anterior.

La revisión bibliográfica demuestra que en nuestro país las determinaciones de bacterias causantes de pudriciones húmedas en plantas de papas, se han efectuado tomando como base la sintomatología de las partes afectadas (Mujica, F. 1941) (Fernández, C. y Cubillos, A., 1965). Por esto, el objetivo de este trabajo es investigar los agentes etiológicos causantes de estas alteraciones en tubérculos y plantas de papas en las provincias de Cautín, Valdivia, Llanquihue y Chiloé.

## MATERIALES Y METODOS

Se aislaron 54 cepas a partir de tubérculos

<sup>1</sup>Trabajo realizado en el Instituto de Defensa de las Plantas e Instituto de Ecología, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Recepción originales: 3 de abril de 1972.

<sup>2</sup>Ing. Agr. Instituto de Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile. Casilla 567, Valdivia, Chile.

<sup>3</sup>Tecnólogo Médico, Instituto de Defensa de las Plantas, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. Casilla 567, Valdivia, Chile.

de plantas enfermas y 139 cepas de tallos con síntomas de ataque bacteriano, provenientes de 17 localidades de las provincias de Cautín, Valdivia, Llanquihue y Chiloé.

Para el aislamiento, a partir de los tubérculos, se utilizó la metodología ya descrita (Ciampi, L. R., 1972). Para el aislamiento, a partir de tallos, se procedió primeramente a lavar con agua estéril trozos de tallos de 3 cm de longitud; posteriormente éstos se desinfectaron durante 5 minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 5% procediendo finalmente a lavarlos con agua estéril durante 10 minutos; de estos trozos de tallos se procedió a efectuar una trituración de tejidos.

A partir de tejidos triturados, tanto de tallos como de tubérculos, se procedió a sembrarlos en placas con agar peptona al 1,5%, incubándolos durante 10 días a 25°C. Los cultivos puros obtenidos se mantuvieron refrigerados en agar peptona al 0,5%, hasta proceder a las pruebas de virulencia y, posteriormente, a la identificación de las cepas patógenas. Para estos procesos se utilizaron los métodos y sistemas expuestos en nuestra primera contribución (Ciampi, L. R., 1972).

## RESULTADOS

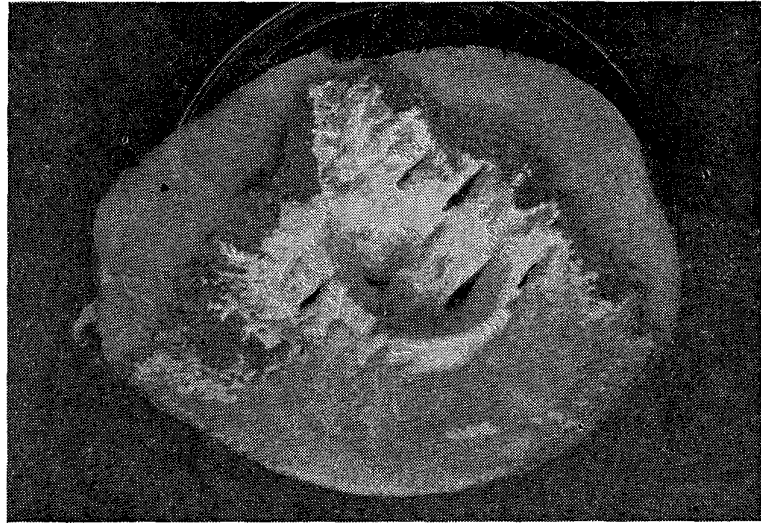
Con cada cepa aislada (193 en total) se efectuó la correspondiente prueba de virulencia, detectándose 32 cepas causantes de pudriciones húmedas, de las cuales 15 fueron aisladas de tubérculos y 17 de tallos.

Las características morfológicas, tintóreas, bioquímicas de las cepas y los síntomas de los tubérculos afectados en las pruebas de virulencia, permitieron reunir a las 32 cepas virulentas en cuatro grupos diferentes.

Los síntomas en las pruebas de virulencia para cada uno de los grupos fueron los siguientes:

*Grupo 1.* En los tubérculos afectados se apreciaron dos zonas diferentes: una zona central de color crema claro, maloliente, blanca y húmeda, y una segunda de color pardo negro rodeando a la primera. Al cabo de seis días los tubérculos se encontraron totalmente atacados, quedando intacta la cutícula de los mismos. Estos síntomas se apreciaron de cepas aisladas tanto de tallos como de tubérculos (Figura 1).

Figura 1 — Tubérculos de papas variedad Desirée inoculados con la cepa 12 B (*Erwinia carotovora*), e incubados durante 6 días en cámara húmeda a 25°C. Diámetro Placa Petri 10 cm.



*Grupo 2.* Los tubérculos inoculados mostraron una pudrición de aspectos húmedo y brillante, de color pardo. Rodeando a la masa central se observó un anillo más oscuro. La pudrición no era maloliente, y al cabo de 10 días los tubérculos fueron afectados en su totalidad quedando intacta la cutícula (Figura 2). Estos síntomas fueron provocados por cepas aisladas de tubérculos en plantas sospechosas de ataque bacteriano. Estas plantas mostraban una obstrucción vascular de color café en la zona del cuello y un amarillamiento foliar.

*Grupo 3.* Los tubérculos presentaron una

pudrición blanda, opaca, de color crema verdoso claro. Rodeando a la masa central había un anillo de color pardo. No era maloliente y los tubérculos fueron totalmente atacados al cabo de 10 días, quedando intacta la cutícula (Figura 3). Estos síntomas se observaron de cepas aisladas de tubérculos en plantas sospechosas de ataques bacterianos, mostrando síntomas similares que el grupo anterior.

*Grupo 4.* Los tubérculos mostraron una pudrición de aspecto húmedo y brillante, de color crema. Rodeando la masa central se apreció un anillo de color café oscuro. Al cabo de 6 días, los tubérculos fueron atacados en su totalidad quedando intacta la cutícula (Fi-



Figura 2 — Tubérculos de papas variedad Desirée inoculados con la cepa 10 E (*Pseudomonas* spp.), e incubados durante 6 días en cámara húmeda a 25°C. Diámetro Placa Petri 10 cm.

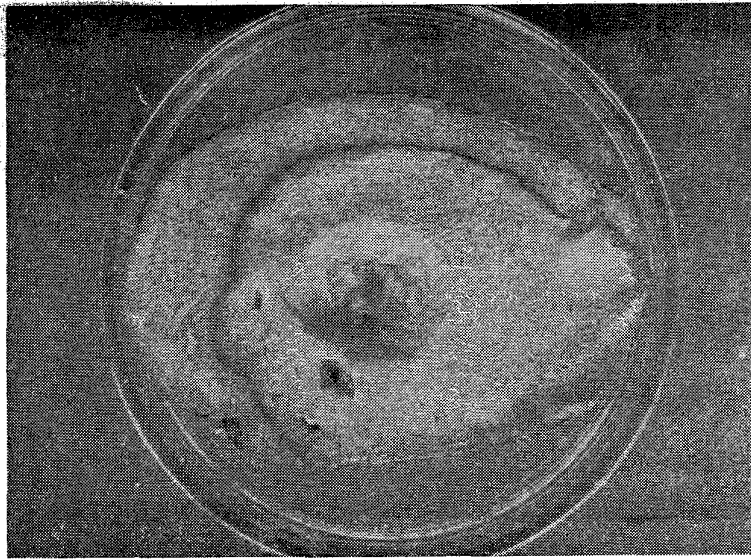


Figura 3 — Tubérculos de papas variedad Desirée inoculados con la cepa 6 B (*Pseudomonas* spp.), e incubados durante 6 días en cámara húmeda a 25°C. Diámetro Placa Petri 10 cm.

gura 4). Estos síntomas se apreciaron de una cepa aislada de tallos de plantas de papas con pie negro.

A partir de las pruebas de virulencia se hicieron reaislamientos; estas cepas se incluyeron a las originales. En todos los casos, la cepa madre y la reaislada resultaron ser idénticas, presentando las características que se reúnen en el Cuadro 1.

Las 28 cepas del Grupo 1 provienen de muestras recolectadas entre Cautín y Chiloé. Según las características morfológicas, tintóreas y bioquímicas observadas (Cuadro 1), pertenecen a *Erwinia carotovora* (Jones) Holland. Estas cepas constituyen el 87,5% de las 32 cepas causantes de pudriciones húmedas.

Las dos cepas del Grupo 2 y la cepa del Grupo 3, según las características morfológicas, tintóreas y bioquímicas observadas (Cuadro 1), pertenecen al género *Pseudomonas* Migula. Estas bacterias presentan pigmentos verdes fluorescentes en caldo común. Según Buddenhagen, I. W. (1965), las bacterias productoras de estos pigmentos pertenecen a la flora normal del suelo; su capacidad de provocar pudriciones es sólo accidental y está relacionada con condiciones ambientales anormales. Estas cepas constituyen el 9,4% de las 32 cepas causantes de pudriciones húmedas y fueron aisladas de material proveniente de Llanquihue y Chiloé.

La cepa del Grupo 4 presentó endosporas;

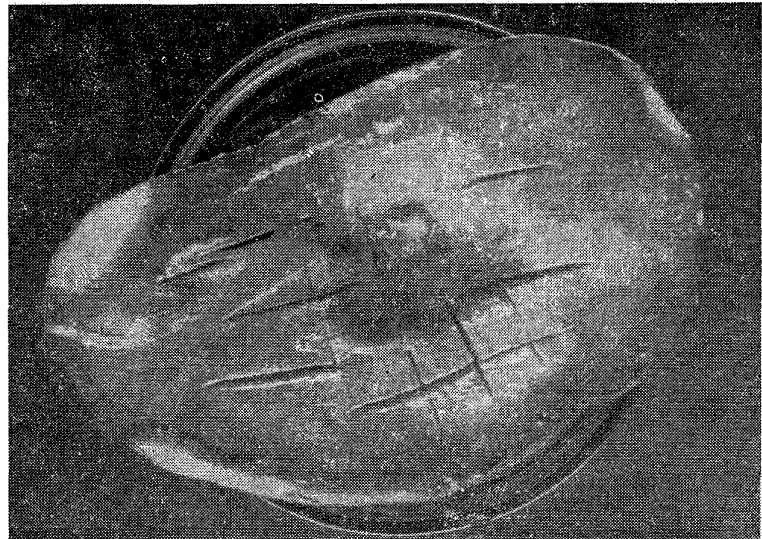


Figura 4 — Tubérculos de papas variedad Desirée inoculados con la cepa 19 B (*Bacillus* spp.), e incubados durante 6 días en cámara húmeda a 25°C. Diámetro Placa Petri 10 cm.

Cuadro 1 — Características tintóreas, morfológicas y bioquímicas de los cuatro grupos de cepas causantes de pudriciones húmedas.

	Grupo 1 28 cepas	Grupo 2 2 cepas	Grupo 3 1 cepa	Grupo 4 1 cepa
Tinción de Gram	—	—	—	+
Presencia de esporas	—	—	—	+
Presencia de cápsulas	—	—	—	—
Motilidad	+	+	—	—
Licnación de gelatina	—	+	+	+
Desprendimiento de hidrógeno sulfurado	—	—	—	—
Reducción de nitratos	+	+	—	+
Producción de Indol	—	—	—	—
Voces Prockauer	—	—	—	—
Boio de Mtilo	+	—	—	—
Hidrólisis de almidón	—	—	—	+
Catalasa	—	+	+	+
Oxidasa	—	+	+	—
Pigmentos verdes fluorescentes en caldo común	—	+	+	—
Utilización del malonato	—	—	—	—
Utilización fenilalanina	—	—	—	—
Acidificación agar lactosado	+	—	—	+
Utilización del citrato	+	+	+	—
Leche tornasolada:				
Reducción del tornasol	+	—	+	+
Coagulación	+	—	—	+
Peptonización	+	+	+	+
Producción de ácido y gas a partir de diferentes hidratos de carbono:				
Dextrosa	A	A	A	A
Lactosa	A	—	—	A
Maltosa	A	—	—	A
Sacarosa	A	—	—	A
Manita	A	A	—	A

+ positivo; — negativo; A ácido.

por lo tanto, pertenece al género *Bacillus* Cohn. Según Buddenhagen, I. W. (1965), esta cepa pertenece a la flora normal del suelo y su carácter patógeno es transitorio y está con condiciones anormales de temperatura y humedad. Esta cepa constituye el 3,1% y fue aislada en la provincia de Valdivia.

Frente a lo expuesto se puede deducir que de las 32 cepas virulentas detectadas, el 87,5% corresponde a la especie patógena *Erwinia carotovora*; el 12,5% restante pertenece a los géneros *Pseudomonas* (9,4%), y *Bacillus* (3,1%) que abarca gérmenes saprófitos del suelo, cuya capacidad de causar pudriciones se debe a las condiciones ecológicas anormales.

Además, hay que destacar que frente a los

resultados obtenidos por Ciampi, L. R., 1972, se observa que la incidencia de los patógenos accidentales es menor en el campo (12,5%) que en bodegas (37,5%), lo que corroboraría que la calidad del bodegaje influye directamente en el ataque de estos microorganismos.

Frente a los síntomas de los tubérculos encontrados con pudriciones en el campo, representa un riesgo identificar a los agentes etiológicos causantes de pudriciones húmedas, basándose solamente en la sintomatología, ya que la identificación no puede basarse en este hecho aislado. Sin embargo, las plantas de papas con síntomas de pie negro representan un signo característico de *Erwinia carotovora*, por el tipo de lesión que provoca en la base del tallo.

## RESUMEN

Se investigan los agentes etiológicos causantes de pudriciones húmedas en plantas y tubérculos de papas en el campo, a través de 17 localidades distribuidas en Cautín, Valdivia, Llanquihue y Chiloé.

Se aislaron 193 cepas, de las cuales 32 resultaron virulentas y estuvieron distribuidas bajo los siguientes grupos taxonómicos: 28 cepas de *Erwinia carotovora*, tres del género *Pseudomonas* Migula y una del género *Bacillus* Cohn.

## SUMMARY

The etiological agents that cause soft-rots in potato plants and tubers in field, were studied on 17 localities from Cautín, Valdivia, Llanquihue and Chiloé.

One hundred ninety three cultures were isolated, 32 of them were virulent and were classified into the following taxonomic groups: 28 cultures of *Erwinia carotovora*, three of genus *Pseudomonas* Migula and one of genus *Bacillus* Cohn.

## LITERATURA CITADA

- BREED, R., MURRAY, E. and SMITH, R. 1957. Bergey's manual of determinative bacteriology. The Williams & Wilkins Co., New York.
- BUDDENHAGEN, I. W. 1965. The relation of plant pathogenic bacteria in the soil. *In*: Ecology of soil-born plant pathogens. Univ. Calif. Press. pp. 269-282.
- CIAMPI, L. R. 1972. Estudio taxomónico de los agentes etiológicos causantes de pudriciones húmedas en tubérculos de papas. *Agricultura Técnica* (Chile). 32 (4): 176-181.
- ELLIOT, CH. 1951. Manual of bacterial plant pathogens. Cronica Botanica Co., Waltham. Mass. USA.
- FERNÁNDEZ, C. y CUBILLOS, A. 1965. Clave para identificar las enfermedades más comunes de la papa en el sur de Chile. *Est. Exp. Carillanca. Bol. Tec. Div. 2*: 22.
- MUJICA, F. 1941. Nómima de las enfermedades y pestes de la papa cuya existencia se ha comprobado en el país. *Bol. San. Veg. 1*: 70-72.