

DETERMINACION DE *Pseudomonas syringae* EN ARANDANO ALTO
(*Vaccinium corymbosum* L.), EN EL SUR DE CHILE¹

Determination of *Pseudomonas syringae* on Highbush Blueberry
(*Vaccinium corymbosum* L.), in southern Chile

Jaime Guerrero C.² y Walter Lobos A.²

SUMMARY

Pseudomonas syringae was isolated from highbush blueberry plants showing blossom blight and twig dieback, and from necrotic lesions on leaves; these plants were not severely affected by this bacteria.

Hypersensitive reaction on "White Burley" tabaco (*Nicotiana tabacum*) leaves was positive. In artificial inoculation, this fluorescent *Pseudomonas* sp. did not infect the leaves and twigs of lilac (*Syringae vulgaris*) and immature sweet or sour cherry fruits.

Pathogenicity tests, carried out on Atlantic, Bluecrop, Concord and Herbert cultivars, induced the following symptoms; stem necrosis, dead buds, blossom blight, twig dieback and irregular necrotic lesions on leaves.

This bacteria was classified by Dr. J.F. Bradbury of the Commonwealth Mycological Institute, as *Pseudomonas syringae* van Hall, belonging to Group Ib of Lelliott *et alii*.

INTRODUCCION

El arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.), es una especie frutal recientemente introducida a Chile para su propagación y producción. El estudio de las enfermedades que le afectan fue iniciado por INIA durante 1987, en las variedades establecidas en los jardines de evaluación frutal de la IX y la X Región.

En todas las variedades evaluadas, el atizonamiento y muerte regresiva de ramillas de 1 y 2 años, ha sido el síntoma prevalente, tanto en condiciones de vivero como en el campo. Asociado a este síntoma, la literatura especializada menciona principalmente a hongos y a una especie de bacteria fitopatógena.

Estudios realizados por Canfield, Baca y Moore (1986), en viveros del noreste de Oregon y Washington, establecen la asociación de *Pseudomonas syringae* con la muerte regresiva típica, en 40 variedades, representando 13 familias de plantas, entre las que se incluyeron Ericáceas (arándanos y rododendros). Indican que en las variedades de arándano Bluecrop y Blueray, se observaron síntomas de muerte regresiva de ramillas, necrosis de tallos, muerte de yemas y necrosis foliar y floral.

Baca, Canfield y Moore (1987) sugieren que en el desarrollo de estos síntomas, estaría implicada la capacidad de catalizar la formación de núcleos de hielo ('ice nucleation activity'), que inducirían los patovares de *P. syringae*.

En 1953, esta bacteria fue informada causando manchas y canchales en los tallos de arándanos cultivados en Oregon (E.U.A.), señalándose que probablemente el patovar *syringae* podría estar involucrado, ya que las pruebas de inoculación artificial en lila (*Syringae vulgaris*) fueron positivas, lo que no ocurrió en arándanos nativos, otras Ericáceas ni guindo dulce y agrio (Varney y Stretch, 1966; Vaughan, 1956).

¹ Recepción de originales: 23 de septiembre de 1988.

² Estación Experimental Carillanca (INIA), Casilla 58-D, Temuco, Chile.

Este artículo informa sobre el aislamiento, identificación y patogenicidad de *P. syringae*, proveniente de arándano alto del sur de Chile.

Síntomas y signos observados

Algunas plantas afectadas presentaban ramillas y flores atizonadas (Figura 1). En otras, asociado o no al tizón de ramillas, se observaban lesiones necróticas en las hojas, de color pardo-rojizo, variables en forma y tamaño (Figura 2). Por el envés de las hojas, coincidiendo con la mancha en el haz, la epidermis se apreciaba desprendida y/o rota, especialmente en torno a la nervadura central y en la base de la hoja. En las lesiones nuevas y en la zona de avance de aquellas necrosadas, se observaban, a ojo desnudo, pequeñas gotas de agua bajo la epidermis levemente sollevada (Figura 2). Posteriormente la epidermis se rompía y la zona se necrosaba.



FIGURA 1. Tizón de ramillas y flores en arándano alto, causado por *Pseudomonas syringae*.

FIGURE 1. Twig and blossom blight in highbush blueberry, caused by *Pseudomonas syringae*.

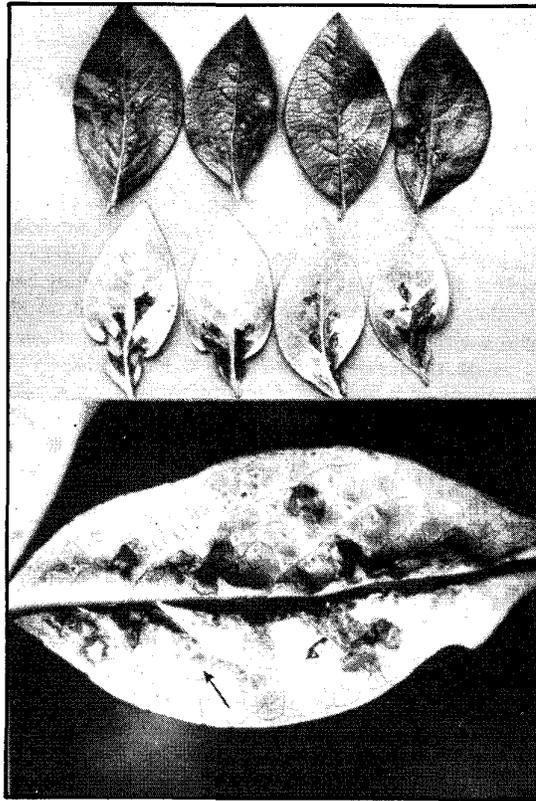


FIGURA 2. Lesiones necróticas en hojas de arándano alto, causadas por *Pseudomonas syringae*.

FIGURE 2. Necrotic lesions on highbush blueberry leaves, caused by *Pseudomonas syringae*.

El daño en las hojas era más evidente durante la primavera, sobretodo en la Subestación Experimental La Pampa (X Región). A medida que se aproximaba el verano y aumentaban las temperaturas, los síntomas tendían a desaparecer.

La sintomatología descrita fue observada con intensidad variable en las variedades Atlantic, Berkeley, Elliot, Earlyblue, Bluetta, Bluejay, Blueray, Collins, Concord, Jersey, Rancocas y Stanley.

Aislamiento y multiplicación

El material vegetal enfermo fue recolectado en la primavera de 1987, de las variedades Jersey, Bluecrop y Blueray, establecidas en los jardines de evaluación de especies frutales de la Est. Exp. Carillanca (IX Región) y de la Subest. Exp. La Pampa (X Región).

La bacteria fue aislada principalmente desde manchas foliares necróticas y, menos frecuentemente, de ramillas atizonadas y con muerte regresiva. Pequeños trozos de tejido foliar enfermo fueron depositados en 2 ml de agua destilada esteril y otros fueron macerados en un mortero.

Luego de aproximadamente media hora, alícuotas de estas suspensiones bacterianas se depositaron, mediante el sistema de rayado, en medio B de King. Una vez incubado por 48 hr a 25° C, las colonias bacterianas aisladas, fluorescentes, fueron transferidas a 2 ml de agua estéril y sembradas en medio B de King. Cepas de la bacteria se enviaron para su identificación al Commonwealth Mycological Institute (CMI).

Identificación

Los aislamientos fueron fluorescentes bajo luz ultravioleta, en medio B de King. La identificación de la especie fue efectuada por el Dr. J.F. Bradbury del CMI, clasificándola como *Pseudomonas syringae* van Hall, perteneciente al grupo Ib de Lelliot y otros.

Patogenicidad

El potencial patogénico de los aislamientos, con 24—48 hr de cultivo en medio de B de King, fue primeramente estimado mediante la capacidad de inducir la reacción de hipersensibilidad en tabaco blanco (*Nicotiana tabacum*), inyectando en el mesófilo de hojas desarrolladas, una solución bacteriana, según metodología propuesta por Klement, Farkas y Lovrekovich (1964).

La habilidad para infectar frutos inmaduros de guindos ácido y dulce, se probó inoculando los frutos con bacterias introducidas mediante punciones con aguja hipodérmica fina; la fruta fue incubada por 3 días en cámara húmeda a 25° C y luego dejada por 5 días bajo condiciones de laboratorio. Además, se inocularon hojas y ramillas de lila, con una suspensión de la bacteria, mediante aspersión e inyectando la bacteria en la hoja o en la ramilla. Las pruebas se efectuaron en condiciones de campo y laboratorio.

Los aislamientos bacterianos indujeron respuesta de hipersensibilidad en hojas de tabaco blanco. No indu-

jeron síntomas en hojas y ramillas de lila ni sobre fruta inmadura de guindos dulce y agrio.

En arándano alto, las pruebas de patogenicidad se verificaron sobre plantas sanas, de 3 años de edad, de las variedades Atlantic, Concord, Bluecrop y Herbert: según el método descrito por Latorre y Jones (1979), agregando una suspensión bacteriana dentro de un corte en T hecho con un bisturí esterilizado, se inoculó ramillas de 2 años; por inyección de la bacteria con jeringa hipodérmica, a la cual se adaptó agujas finas, se inoculó 4 hojas de 4 brotes de la temporada; por infiltración del inóculo entre las brácteas y en el sitio de unión con el brote, se inoculó 4 yemas; y mediante aspersión de suspensión bacteriana, a una concentración media a alta estimada por turbidez, se inoculó hojas nuevas y flores.

Todas las plantas tratadas fueron cubiertas con polietileno por 48 hr y dejadas bajo condiciones de laboratorio (entre 18 a 20° C), por 30 días. Las plantas control fueron inyectadas o asperjadas con agua destilada estéril.

Reproducción de síntomas

En las cuatro variedades de arándano alto utilizadas como hospedantes, la bacteria produjo en el tallo leves lesiones necróticas, café oscuras, evidentes desde los 25 días. Las hojas inoculadas por inyección de la bacteria, en 10 días desarrollaron lesiones necróticas irregulares, sin desprendimiento de la epidermis por el envés, algo distintas a las observadas bajo condiciones de campo. En torno y en las yemas inoculadas, se observó leve necrosis y coloración rojiza; finalmente la yema murió. La bacteria provocó atizonamiento de flores y posteriormente muerte regresiva de ramillas de la temporada, en que habían sido asperjadas las flores. De esta manera, una vez infectada la ramilla, en 30 días la necrosis basipétala comprometió aproximadamente 5 cm. Las hojas inoculadas por aspersión, no desarrollaron síntomas.

Re-aislamiento y re-identificación

La bacteria se reaisló desde ramillas, hojas y flores de plantas de arándano, inoculadas en condiciones de laboratorio.

RESUMEN

De plantas de arándano alto (*Vaccinium corymbosum*), con ramillas atizonadas y lesiones necróticas en las hojas, se aisló el agente causal.

Este produjo reacción de hipersensibilidad en tabaco (*Nicotiana tabacum*), pero no afectó las hojas y ramillas de lila (*Syringa vulgaris*) ni a frutos de guindos dulce y agrio.

En los arándanos altos, Atlantic, Bluecrop, Concord y Herbert, la inoculación reprodujo los síntomas: necrosis superficial en tallos, muerte de yemas, tizón en ramillas y flores y lesiones necróticas en hojas.

El agente causal fue identificado como *Pseudomonas syringae* van Hall, por el Dr. J.F. Bradbury del CMI, quien lo clasificó en el Grupo Ib de Lelliot y otros, quedando registrado con el N° B 12096.

LITERATURA CITADA

BACA, S., CANFIELD, M.L., and MOORE, L.W. 1987. Variability in Ice Nucleation strains of *Pseudomonas syringae* isolated from diseased woody plants in Pacific Northwest Nurseries. *Plant Disease* 71 (5): 412-414.

CANFIELD, M.L., BACA, S., and MOORE, L.W. 1986. Isolation of *Pseudomonas syringae* from 40 cultivars of diseased woody plants with dieback in Pacific Northwest Nurseries. *Plant Disease* 70 (7): 647-650.

KLEMENT, Z., FARKAS, G.L., and LOVRECOVICH, L. 1964. Hipersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. *Phytopathology* 54: 474-477.

LATORRE, B. A. and JONES, A. L. 1979. *Pseudomonas morsprunorum*. The cause of bacterial canker of sour cherry in Michigan and its epiphytic association with *P. syringae*. *Phytopathology* 69 (4): 335-339.

VARNEY, E.H. and STRETCH, A.W. 1966. Diseases and their control. En: Eck, P. and Childers (eds.) *Blueberry Culture*. Rutgers University Press. p.: 236-279.

VAUGHAM, E.K. 1956. A strain of *Pseudomonas syringae* pathogenic on cultivated blueberry. *Phytopathology* 46 (11): 640.