

Marchitez Bacteriana de la Papa

(Pseudomonas solanacearum)

en América Latina

Basado en los trabajos presentados en el Seminario de Investigación y de Trabajo: "Avances en el Control de la Marchitez Bacteriana (P. solanacearum) de la Papa en América Latina: Reunión de Planeamiento", realizado en Brasilia Agosto - 31 - Sept. 3, 1982.

Centro Internacional de la Papa (CIP)

Apartado 5969, Lima, Perú

1 9 8 4

Presentación

La marchitez bacteriana inducida por Pseudomonas solanacearum E.E. Smith, es una enfermedad que afecta a gran número de plantas cultivadas y silvestres entre las que se incluyen la papa y otras Solanaceas de importancia económica. Por la amplitud de la gama de hospedantes de esta bacteria fitopatógena y por su distribución cada vez mayor en diferentes regiones de la mayoría de países latinoamericanos, la marchitez bacteriana es considerada como la enfermedad más importante y más difícil de combatir en el cultivo de papa. Es también la más seria limitación para la expansión del cultivo en nuevas zonas de producción, tales como las de climas húmedos y cálidos de la zona tórrida.

Dada la gran importancia de la enfermedad y la necesidad de facilitar el intercambio de experiencias e información, connotados científicos nacionales e internacionales, que trabajan con esta enfermedad en Latinoamérica, se reunieron en un seminario de investigación y trabajo con el fin de analizar y discutir la situación actual y las perspectivas en el control de la enfermedad.

Este documento está basado principalmente en los trabajos presentados durante el referido seminario de investigación y trabajo, el cual fue realizado en Brasilia, Brasil, del 31 de agosto al 3 de setiembre de 1982, con el patrocinio del CIP y de la EMBRAPA. Se han incluido también trabajos de otros científicos que no participaron en dicho seminario. Esta decisión se consideró necesaria para hacer más completa la información aquí presentada.

Se incluyen también las conclusiones y recomendaciones del seminario, que servirán, sin lugar a dudas, como marco de referencia para priorizar los trabajos de investigación en el futuro.

Esta publicación, en su modestia, pretende dar a conocer a los investigadores, extensionistas, productores y estudiantes latinoamericanos, el marco de referencia general sobre la marchitez bacteriana de la Papa en América Latina, contribuyendo en esta forma con una fuente de información en español, que estaba haciendo falta.

Esperamos que la información aquí presentada ayude en parte a aumentar el intercambio de información y una mayor interacción entre los científicos latinoamericanos, facilitando así las investigaciones en muchos aspectos de la enfermedad y del patógeno aún no aclarados.

Sus comentarios sobre esta publicación serán bienvenidos y ayudarán a continuar el trabajo de editar información útil, para apoyar a los científicos que trabajan en el control de la marchitez bacteriana de la papa en América Latina.

Oscar A. Hidalgo, Fitopatólogo
Hernán Rincón, Comunicador
Centro Internacional de la Papa

Contenido

Presentación	3
Contenido	5
Conclusiones	7

I. SITUACION ACTUAL

- Situación Actual y Perspectivas Futuras en el Control de la Marchitez Bacteriana de la Papa en América Latina.	E.R. French	9
- Situación Actual e Investigaciones Conducidas en México.	L. Fucikovski	13
- Algunos Trabajos con <u>P. solanacearum</u> Realizados en Colombia.	R. Navarro J.L. Zapata	17
- Situación Actual de las Investigaciones sobre la Marchitez Bacteriana de la Papa en el Perú.	E. Torres	21
- Situación de <u>P. solanacearum</u> en la República Oriental del Uruguay.	F. Canale	27
- Estado Actual de la Marchitez Bacteriana en la Argentina.	I. de Mitidieri	35

II. ESTUDIOS ESPECIFICOS

- Sintomatología y Desarrollo de la Marchitez Bacteriana (<u>P. solanacearum</u>) en la Papa.	E.R. French	41
- Fuentes de Dispersión y Etiología de un Marchitamiento Bacteriano y Pudrición de Tubérculos de Papa en el S.E. de la Prov. de Buenos Aires.	A. Melegari A. Escande	43
- Avances en los Estudios sobre Metodología de Detección de <u>Pseudomonas solanacearum</u> en Uruguay.	F. Canale A. Peralta M. Colombo	47
- Diagnósis de la Marchitez Bacteriana de la Papa con Énfasis en Latencia.	E.R. French	51
- <u>Pseudomonas solanacearum</u> : Potencial de Inóculo y su Determinación.	G.A. Granada	55
- Control Integrado de la Marchitez Bacteriana de la Papa. (Traducido del Portugués.)	C. Robbs	73
- Investigaciones para el Combate de la Marchitez Bacteriana de la Papa Realizadas en el Período 1957 - 1982, en Río de Janeiro. (Traducido del Portugués.)	O.A. Drummond	83

- Resistencia Genética: Fuentes y Mejoramiento Genético.	P.Schmiediche	91
- Aislamiento, Identificación y Preservación de <u>Pseudomonas solanacearum</u>	J.R. Neto	97
III. <u>TECNICAS DE TRABAJO</u>		
- Evaluación de Campo para Clones del CIP Mejorados a la Marchitez Bacteriana. (Basado en "Serie de Evaluación de Tecnología No. 1982-2".) 101	E.R. French	107
Lista de Participantes (y direcciones)		115
Programa		119

Conclusiones

El Seminario de Investigación y Trabajo sobre Avances en el Control de la Marchitez Bacteriana (Pseudomonas solanacearum) de la Papa en América Latina, llegó a las siguientes conclusiones:

1. Mantener abierta la posibilidad de continuar las reuniones del grupo de científicos presentes en este Seminario, investigadores en bacterias patógenas de papa, con base en:
 - a) Futuros planes cooperativos de investigación.
 - b) Reuniones dentro del ámbito de los Congresos Latinoamericanos de Fitopatología.
2. Publicar un boletín informal de noticias y breves comentarios técnicos con las siguientes características:
 - Periodicidad anual.
 - Tamaño correspondiente a hoja tipo carta.
 - Publicación en el período diciembre/enero de cada año, determinando fecha límite para recepción de contribuciones.
 - Responsable designado para el próximo período, Dr. Gustavo Granada, Instituto Colombiano Agropecuario, Estación Experimental ICA - Palmira - Valle.
3. Solicitar a los coordinadores que sean designados en cada país la difusión, entre otros investigadores, de la existencia del citado boletín, para obtener contribuciones adicionales.
4. Difundir entre los participantes y sus colaboradores en los países, el cuadro adjunto de prioridades de investigación de Pseudomonas solanacearum.
5. Se concluye que las categorías de investigación de mayor importancia en el momento actual son:
 - TAXONOMIA
 - a) Determinación de razas y bioformas.
 - b) Levantamiento y evaluación de razas y bioformas por país.
 - c) Estudios de variabilidad del patógeno.
 - EPIDEMIOLOGIA
 - a) Evaluación de la supervivencia de la bacteria en el suelo y en plantas silvestres.
 - b) Evaluación de la supervivencia del patógeno en plantas cultivadas.
 - c) Interacción planta-suelo-patógeno.
 - d) Evaluación del proceso de susceptibilidad de plantas al patógeno.
 - CONTROL
 - a) Estudio de la legislación sanitaria como medio de control.
 - b) Rotación de cultivos como medio de control.
 - c) Estudio de suelos supresivos biológicos.
 - d) Estudio de resistencia al patógeno en progenies y cultivares.
 - e) Estudio de metodología para detección de la bacteria.

CUADRO DE PRIORIDADES DE INVESTIGACION (P) Y AREAS ACTUALMENTE TRABAJADAS (T) EN VARIOS PAISES Y EN EL CIP.
Setiembre de 1982

	ARGENTINA		BRASIL		COLOMBIA		PERU		URUGUAY		CIP		PROMEDIO
	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T	P	T	
<u>TAXONOMIA</u>													
1. Levantamiento	1	+	1	+	1	-	1	-	1	+	3	+	1,33
2. Determin. razas-bioformas	1	-	1	+	1	+	1	-	1	+	2	+	1,16
3. Variabilidad	1	-	1	+	2	-	1	-	2	-	2	+	1,5
<u>EPIDEMIOLOGIA</u>													
1. Supervivencia en suelo	1	-	3	+	3	-	1	+	1	+	3	+	2,-
2. Supervivencia en plantas													
a. cultivadas	2	-	1	+	1	+	2	-	1	-	3	+	1,66
b. silvestres	3	-	1	+	2	-	2	+	1	-	3	+	2,-
3. Supervivencia en equipo y m.	2	-	3	-	3	-	3	-	2	-	3	-	2,66
4. Susceptibilidad plantas	2	-	2	+	1	+	2	-	1	-	3	-	1,83
5. Interacciones	3	-	1	+	3	-	1	+	1	-	1	+	1,66
<u>CONTROL</u>													
1. Legislación	1	+	1	+	3	-	3	-	1	+	3	-	2,-
2. Rotación cultivos	2	-	1	+	2	+	1	-	1	-	2	-	1,5
3. Suelos supresivos													
a. Físico	3	-	1	+	2	-	3	-	2	-	3	-	2,33
b. Químico	3	-	1	+	2	-	3	-	2	-	3	-	2,33
c. Biólogo	3	-	1	+	2	-	3	-	2	-	1	-	2,-
4. Pasteurización	3	-	3	+	3	-	3	-	3	-	3	-	3,-
5. Productos químicos	3	-	3	+	3	-	3	+	2	+	2	-	2,66
6. Resistencia	3	-	1	-	1	+	1	+	2	-	1	+	1,5
7. Metodología-Detección	1	-	3	-	1	+	1	-	1	+	3	-	1,66

SITUACION ACTUAL Y PERSPECTIVAS FUTURAS EN EL CONTROL DE LA MARCHITEZ BACTERIANA DE LA PAPA EN AMERICA LATINA

E.R. French*

La marchitez bacteriana (Pseudomonas solanacearum) fue una enfermedad de distribución limitada en la papa en América Latina por tratarse de un cultivo de clima frío. Probablemente hubo tentativas de expandir la producción a zonas cálidas, que fracasarían a raíz de la marchitez, la cual fue registrada a mediados de siglo en países como Brasil, Colombia, El Salvador y Venezuela. La mayor latitud a la cual ha sido reconocida fue el sur de Brasil (Kelman, 1953).

En México la papa sólo complementaba al maíz en zonas de altura donde se cultivan variedades nativas; después de la expansión de variedades introducidas y con el aumento en el movimiento de semilla al dejar de ser ésta importada, se presentó recientemente la marchitez bacteriana en varios estados del país (Fucikovsky, 1978). En la misma época sucedió algo similar en el Uruguay, donde la semilla importada es multiplicada generalmente una sola vez, pero se dan casos de uso de semilla local o traída del sur del Brasil (García et al., 1979). Poco después fue determinada P. solanacearum en las Provincias de Santa Fé y Buenos Aires en la Argentina, zonas que tienen un libre intercambio de semilla de papa con el Uruguay.

Hay dos razas de P. solanacearum que atacan a la papa. La raza 1 que tiene una amplia gama de hospedantes incluyendo muchas solanáceas cultivadas y silvestres distribuidas en las zonas cálidas del continente y la raza 3, que rara vez ataca otra especie que la papa y está distribuida principalmente en las zonas de clima frío, aunque ocurre en la cuenca amazónica a 170 metros de altitud (French, 1979; Martín et al., 1981, 1982). Es importante saber cual de las razas afecta al cultivo porque la restringida gama de hospedantes de la raza 3 hace más factible su control con rotación de cultivos (French, 1979).

El control de la marchitez bacteriana de la papa se puede realizar, en la mayor parte de las regiones afectadas, aplicando principios de control integrado. La bacteria sobrevive poco tiempo en suelos supresivos (French et al., 1975) y con el uso de semilla libre de la bacteria se evita su mantenimiento y diseminación. En el caso de la raza 1, es esencial la rotación apropiada, incluyendo un buen control de malezas. Es muy importante que no queden tubérculos en el campo. Los nematodos y daños mecánicos favorecen su incidencia. La diseminación puede ocurrir con el movimiento de suelo adherido a maquinaria, o zapatos y por el flujo del agua (French, 1979).

Sin embargo, en algunas circunstancias es difícil aplicar los métodos de control integrado y en otras su aplicación cuidadosa no resulta en un control completo. Por lo tanto, en el CIP se consideró necesario complementar con resistencia los métodos culturales de control, iniciándose un programa al respecto utilizando la resistencia hallada en Solanum phureja en Colombia y desarrollada inicialmente en colaboración con la Universidad de Wisconsin.

* Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú.

Las primeras variedades resistentes fueron seleccionadas en el Perú (Herrera et al., 1978). La variedad Molinera fue utilizada en un programa de control integrado en el Departamento de Huánuco, con lo cual se logró la erradicación de esta enfermedad y el levantamiento de una cuarentena.

En el CIP continúa el desarrollo de clones resistentes, en colaboración con programas en distintos países (Martin & French, 1980). Además de la resistencia derivada de S. phureja, se ha seleccionado resistencia en varias especies silvestres, combinándose en ciertos casos con resistencia al nematodo del nódulo (Martin & French, 1977; Martin et al., 1980). Desafortunadamente la resistencia no es general, sino específica a patotipos e independiente de la raza de P. solanacearum, siendo teóricamente posible seleccionar un cultivar resistente a una variante de cada raza pero no necesariamente a otras variantes. Cuando un clon es resistente a una variante, es altamente probable que lo sea a otra variante también (30% de probabilidad en un estudio), pero hay casos de variantes para las cuales no se ha encontrado aún un cultivar resistente, especialmente si se hace la selección a temperatura alta (French, 1979).

Por lo expuesto, es claro que el problema de la marchitez bacteriana de la papa se viene acentuando al incrementar la actividad agrícola sin tomar las medidas sanitarias necesarias. Por otro lado, está aumentando el conocimiento sobre el control y se están desarrollando variedades resistentes. Si se aplican estos conocimientos y se continúan las investigaciones sería posible erradicar la raza 3 de P. solanacearum de las regiones subtropicales y templadas como así también de las frías de altura en la región de la zona tórrida donde fue introducida esta enfermedad. En las zonas más cálidas, donde existe principalmente la raza 1, la aplicación de esta tecnología permitirá reducir el problema y erradicarlo sólo en casos especiales donde los suelos son altamente supresivos.

LITERATURA CITADA

1. GARCIA, S., C. CRISCI y J. CARBONELL. 1979. Consideraciones para el control de Pseudomonas solanacearum (Smith) Smith, grave enfermedad de la papa en Uruguay. Revista Divulg. Tecn. Centro Invest. Agrícolas Alberto Boerger (Uruguay) N° 1: 29-32.
2. FRENCH, E.R. 1979. Progress in the integrated control of bacterial wilt. Pages 72-81 in: Developments in control of potato bacterial diseases. International Potato Center, Lima-Perú.
3. FRENCH, E.R., L. GUTARRA and G. VILCHEZ. 1975. Field survival of Pseudomonas solanacearum race 3 in Peru. Europ. Assoc. Potato Res. VI Trienn. Conf. Papers, p. 96.
4. FUCIOKOVSKY, L. 1978. Distribution of Pseudomonas solanacearum in Mexico and its early detection in potato tubers. Pages 863-867 in: Station de Pathologie Végétale et Phytobactériologie (ed.), Proc. IV Int. Conf. Pl. Pathog. Bact. Angers - France.
5. HERRERA, I.A., F. DE LA PUENTE, y E.R. FRENCH. 1978. Variedades de papas peruanas resistentes a Pseudomonas solanacearum. Phytopathol. News 12: 264 (Abstr.).

6. KELMAN, A. 1953. The bacterial wilt caused by Pseudomonas solanacearum. N.C. Agric. Exp. Sta. Tech. Bul. 99. 194 p.
7. MARTIN, C. and E.R. FRENCH. 1977. Reaction of some tuber-bearing Solanum species to Pseudomonas solanacearum. Proc. Am. Phytopatholog. Soc. 4: 139 (Abstr.).
8. MARTIN, C. y E.R. FRENCH. 1980. Desarrollo de cultivares de papa con resistencia a Pseudomonas solanacearum y Phytophthora infestans. Fitopatología 15: 33 (resumen).
9. MARTIN, C., E.R. FRENCH y H. MENDOZA. 1980. Fuentes adicionales de resistencia a Pseudomonas solanacearum en papa. Fitopatología 15: 33-34 (resumen).
10. MARTIN, C., E.R. FRENCH and U. NYDEGGER. 1981. Bacterial wilt of potatoes in the Amazon Basin. Plant Disease 65: 246-248.
11. MARTIN, C., E.R. FRENCH and U. NYDEGGER. 1982. Strains of Pseudomonas solanacearum affecting Solanaceae in the Americas. Plant Disease 66: 458-460.

LA "VAQUITA" O LA MARCHITEZ BACTERIANA DE LA PAPA CAUSADA
POR Pseudomonas solanacearum EN MEXICO

Leopoldo Fucikovsky*

La marchitez bacteriana causada por Pseudomonas solanacearum E.F. Smith fue descrita en 1955 por primera vez en México y se encontró afectando los cultivos de papa, jitomate y plátano. Esto se registró en la "Lista de las principales plagas y enfermedades de los cultivos de México" (Anónimo, 1955). Sin embargo, en esta publicación no se especificaron los estados donde apareció la enfermedad. Rodríguez (1972) publicó una lista de enfermedades donde cita la marchitez bacteriana afectando el jitomate y el plátano en los Estados de Sinaloa y Chiapas respectivamente. En 1975, el autor detectó la marchitez bacteriana en papa en la variedad Alpha en una escala alarmante, encontrándose el 20 a 80% de plantas muertas en algunos campos comerciales de los Estados de Michoacán, Tlaxcala y Sinaloa (Fucikovsky, 1977). Los agricultores de Michoacán han tenido pérdidas considerables debido a esta enfermedad, tanto en el campo como en el almacén. En el campo los tubérculos afectados producen frecuentemente exudados en los brotes o se pudren totalmente. En el almacén, después de algún tiempo, presentan áreas hundidas en los brotes y al apretar los tubérculos enfermos y cortados, sale un exudado lechoso.

Por esta razón, los agricultores del Estado de Michoacán dieron el nombre de la "Vaquita" a esta enfermedad. Tomando en consideración lo anterior, se escribió un boletín sobre la "Vaquita" de la papa (Fucikovsky, 1976) para informar así a los agricultores de México sobre este problema.

Con el conocimiento de la P. solanacearum en papa en México se dictaron medidas cuarentenarias internas, dirigidas especialmente al movimiento de la papa. El Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas no acepta nivel alguno de presencia de P. solanacearum en campos para la producción de semilla básica, registrada o certificada. Además, recientemente se delimitaron zonas que serán protegidas por la ley en las que se incluye el Valle de Toluca, el cual es una zona autosuficiente donde no se introduce papa de otras zonas, pero de donde se envía papa a otras regiones del país como son Fresnillo y Ojo Caliente de Zacatecas; Derramadero en Coahuila; Guasave y Ahome en Sinaloa; y Gómez Farías, Madera y Guerrero en Chihuahua. Estas zonas se denominan receptoras y surtidoras ya que pueden recibir papa de otras, producirlas y surtirlas para el exterior**. Debido a estas acciones, la enfermedad disminuyó considerablemente en los siguientes años y por ahora se encuentra bajo un buen control.

Sin embargo era necesario conocer detalladamente la distribución de esta enfermedad en México, así como razas de P. solanacearum existentes y tener la facilidad de reconocer la "Vaquita" de la papa con rapidez y seguridad. Se hizo un estudio (Fucikovsky, 1978) de la distribución de las razas de P. solanacearum y se ha encontrado que la raza 3 está presente en los Estados de Chihuahua, Nuevo León, Sinaloa, Zacatecas, Guanajuato, Michoacán, Tlaxcala y posiblemente Coahuila. Esa raza se detectó solamente en la variedad Alpha. La raza 1 se encontró en el estado de Oaxaca causando una

* Centro de Fitopatología, Colegio de Postgraduados Chapingo, México.

** Villarreal, M. Comunicación personal.

marchitez en tabaco y la raza 2 afectando al plátano en el estado de Chiapas. También se encontraron tubérculos de papa afectados en el mercado de la ciudad de Cárdenas, Estado de Tabasco, lo que indicó el movimiento de la papa en México, antes de tener la cuarentena interna.

De este modo se determinó que la bacteria se encontraba ampliamente distribuida y que eran muy necesarias las medidas tomadas, como la cuarentena, no sembrar papas cortadas, no sembrar en terrenos que tenían solanáceas cultivadas anteriormente, así como desinfectar externamente la semilla y usar semilla sana para la siembra.

De dónde vino esta enfermedad, es una pregunta que no ha sido posible contestar con seguridad. Es un hecho de que solamente la variedad Alpha ha sido afectada hasta ahora, lo que sugiere que la enfermedad fue importada a México en esta variedad hace muchos años, tal vez en 1965 o antes y que a través de las generaciones se ha incrementado hasta las proporciones que se han visto en 1975-1976 y que han causado pérdidas y preocupaciones, especialmente por la importancia de esta variedad, ya que es una de las más utilizadas en México, pues aproximadamente un 40% de la superficie total se siembra en Alpha*.

Además del trabajo de identificación de P. solanacearum, el trabajo de detección en papa (Fucikovsky, 1978) ha sido personalmente satisfactorio, ya que en corto tiempo puede estar uno seguro de que P. solanacearum está o no presente. El método consiste en el empleo de la reacción de la oxidasa directamente en el campo. Para esto se presionan los tubérculos cortados contra un papel de filtro impregnado con 1% de N, N-dimetil-p-fenilendiamina o su forma tetrametífica. La reacción positiva sucede en 10 segundos. Igual reacción se observa con la determinación de la Gram negatividad por el método de Ryu (1978) utilizado por Gregersen (1978) donde se emplea 3% de KOH. Los exudados bacterianos en apariencia de gotas de leche en la superficie cortada del tubérculo, al mezclarse con el hidróxido producen unos hilos finos al levantar la mezcla con aza bacteriológica, comprobándose de esta manera si las bacterias de la muestra son Gram negativas. Otras pruebas confirmatorias han sido descritas (Fucikovsky, 1978) para la identificación de este patógeno. La combinación de estas pruebas sencillas y rápidas nos dirige hacia la mejor identificación de P. solanacearum y descarta las bacterias como Erwinia carotovora subsp. carotovora o atroseptica y también Corynebacterium michiganense pv. sepedonicum. Con un sencillo adiestramiento y herramientas baratas se puede hacer un diagnóstico en el campo.

A raíz de la existencia de una enfermedad tan peligrosa de la papa en México se han formulado algunos trabajos de tesis de maestría en el Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. La primera tesis fue presentada por Jesús S. Camacho en 1980 y denominada "Efecto de Globodera rostochiensis (Woll. 1923) Mulvey y Stone 1976 ("nematodo dorado" de la papa) y Pseudomonas solanacearum E.F. Smith (causante de la "marchitez bacterial") inoculados en forma aislada y asociados, sobre diferentes variedades de papa". Se ha considerado el peligro potencial para México de la asociación de Globodera rostochiensis y P. solanacearum, ya que ambos organismos están presentes en algunas zonas paperas del país y se estudió la interacción del nematodo y la

* Villarreal, M. Comunicación personal.

bacteria en el invernadero, observándose el aumento de la intensidad del síntoma y una aceleración de los síntomas (hasta cuatro semanas más temprano) cuando los dos organismos estuvieron juntos, en comparación con síntomas producidos separadamente por cada uno. La segunda tesis relacionada con P. solanacearum la presentó Gregorio Leandro Madrigal en 1982 con el título "Efecto de algunos pesticidas sobre Pseudomonas solanacearum en papa" encontrando que los fungicidas Captan, Maneb, Mancozeb y Thiram mostraron efecto bactericida bajo diferentes concentraciones y bajo diferentes condiciones como fueron in vitro, en el invernadero y en el campo. Sin embargo también se presentó fitotoxicidad causada por los productos.

En la actualidad se están desarrollando trabajos de investigación sobre la supervivencia de la bacteria en el campo, sobre el perfeccionamiento de la detección de la bacteria en los tubérculos de papa en el campo por métodos simples y efectivos y pruebas de resistencia y adaptabilidad de clones de papa traídos del Centro Internacional de la Papa. De estos clones últimamente se han seleccionado dos, con una buena tolerancia* y en el futuro se esperan más trabajos relacionados con éstos y otros aspectos.

LITERATURA CITADA

1. ANONIMO-1955. Lista de las principales plagas y enfermedades de los cultivos de México. Secretaría de Agricultura y Ganadería, Dirección General de Defensa Agrícola, México, D.F. 40 p.
2. FUCIKOVSKY, L. 1976. La "Vaquita" de la papa. Boletín desplegable. Secretaría de Agricultura y Ganadería, Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
3. FUCIKOVSKY, L. 1977. Marchitez bacteriana ("Vaquita") de la papa. Memorias VII Congreso Nacional de Fitopatología, Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. p. 109.
4. FUCIKOVSKY, 1978. Distribution of Pseudomonas solanacearum in Mexico and its early detection in potato tubers. Proc. 4th. Inter. Conf. Plant Path. Bacteria Ed. Station de Pathologie Végétale et Phytobacteriologie, INRA, Angers. 863-867.
5. GREGERSEN, T. 1978. Rapid method for distinction of Gram negative from Gram positive bacteria. European J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 5, 123-127.
6. RODRIGUEZ, H. 1972. Enfermedades parasitarias de los cultivos agrícolas en México, INIA, Folleto Misceláneo No. 23, 58 p.
7. RYU, E. 1938. On the Gram-differentiation of bacteria by the simplest method. J. Jpn. Soc. Vet. Sci. 17, 31 p.

* Villareal, M. Información personal.

ALGUNOS TRABAJOS CON Pseudomonas solanacearum REALIZADOS EN COLOMBIA

Rafael Navarro y José L. Zapata*

INTRODUCCION

La papa es el alimento básico en la dieta diaria del pueblo colombiano. La producción total aproximada es de 900 000 t/año, las cuales se dedican casi en su totalidad al consumo interno.

En el departamento de Antioquia se siembran cerca de 14 000 ha/año y los cultivos se concentran en la región Andina del oriente antioqueño, comprendiendo los municipios de la Unión, Sonsón, La Ceja, Abejorral, El Carmen y Rionegro.

En el municipio de Rionegro (2 120 metros de altitud), se presentan problemas fitosanitarios de importancia económica en los cultivos de papa que, sin duda, disminuyen la producción y crean desaliento entre los productores de este tubérculo. La marchitez bacteriana, conocida también como "Dormidera", (Pseudomonas solanacearum E.F. Smith) es uno de los problemas limitantes que se ha extendido a casi todas las zonas cultivadas de esta región.

RESUMEN DE LAS INVESTIGACIONES REALIZADAS EN COLOMBIA CON P. solanacearum

La marchitez bacteriana fue encontrada en Colombia por primera vez en 1945 por los agrónomos de la Secretaría de Agricultura, y confirmados posteriormente por Garcés en 1947. Fue encontrada en la vereda Santa Helena, del Municipio de Medellín, situada a 2 550 metros de altitud y con temperatura media de 15°C. Rojas Peña (1950) menciona la presencia de la enfermedad en las regiones productoras de Antioquia. Posteriormente Thurston (1963) realizó las pruebas de caracterización de la bacteria y encontró plantas con la enfermedad en la Sabana de Bogotá a 2 600 metros de altitud. En vista de la gravedad del problema para casi todas las zonas productoras del país, Lozano y Thurston en 1965 inocularon 1 061 clones, entre Solanum phureja, S. andigena y S. tuberosum con la raza 3 de P. solanacearum y encontraron resistencia en seis clones de S. phureja nativos de Colombia. Estos clones son los que han servido de base para cruzamientos con S. tuberosum y S. andigena.

Estudios realizados por Belalcazar, Uribe y Thurston (1968) en Colombia, mostraron que la bacteria puede afectar gran número de malezas incluyendo el nabo (Brassica campestris), ñoque (Datura stramonium), uchuva (Physalis peruviana), los llorones (Solanum caripensis), hierbamora (Solanum nigrum); además comprobaron que otras malezas pueden actuar como portadoras de la bacteria sin mostrar ningún síntoma, como es el caso del Chenopodium amaranticolor, Chenopodium ambrosioides, Chenopodium peniculatum, Gnaphalium elegans, Rumex acetogella, Rumex crispus, Spargula arvensis, Verbena brasiliensis y Soliva anthemidefolia.

* Respectivamente: Programa Sanidad Vegetal, Instituto Colombiano Agropecuario y Centro Internacional de la Papa, Región Andina, Colombia.

En 1968 se evaluaron para resistencia a la bacteria, 1 561 clones de papa provenientes de Sturgeon Bay (USA). Este trabajo se realizó en el Centro Regional de Investigación 'La Selva'. En 1970 se probaron otros clones provenientes de Wisconsin pero seleccionados en Popayán (Colombia). En la actualidad, de éstos sobreviven dos clones denominados 5/5 y 7/10, los cuales aunque son susceptibles a Phytophthora infestans muestran alguna resistencia a P. solanacearum y son altamente resistentes a los virus Y y X de la papa.

En 1972 se hicieron investigaciones para definir la supervivencia de la bacteria en el suelo; se encontró que después de seis meses de permanecer el suelo sin malezas, al sembrar papa, prácticamente desaparecen los síntomas de la enfermedad.

Otras investigaciones posteriores se relacionaron con el efecto de diferentes fuentes de cal en la presencia de síntomas de la marchitez en papa; en este ensayo se vió que la cal retardó la aparición de los primeros síntomas, efecto que se vió hasta los 30 días de la inoculación; después de este tiempo las plantas se marchitaron en la misma forma que las parcelas que no recibieron cal.

En la Universidad Nacional (Seccional Medellín), en condiciones de laboratorio, se estudió el efecto de la materia orgánica sobre las poblaciones de P. solanacearum. Se demostró que la adición de desechos orgánicos podría ser desfavorable para suelos que presenten problemas por marchitez bacteriana.

En 1976 se encontró que el tomate de árbol (Cyphomandra betacea) una planta perenne cuyo fruto es utilizado para fabricación de conservas, era afectado severamente por P. solanacearum raza 3, biotipo 2.

En 1976 se inició en Colombia la cooperación del ICA con el proyecto de Pseudomonas solanacearum del CIP, en las localidades de Popayán (1 700 metros de altitud) y Rionegro. Hasta el momento se han realizado nueve siembras con diferentes clones para su selección por características agronómicas y relativa resistencia a la bacteria.

El clon WIS BR 63-65 podría considerarse como el único que ha mostrado buen potencial de producción y tolerancia a la bacteria. Sin embargo, cabe anotar que este mismo clon mostró en 1976 alta incidencia de P. solanacearum tanto en el follaje como en los tubérculos; su comportamiento en términos de resistencia fue similar a la variedad Kennebec utilizada como testigo susceptible. No obstante, a partir de 1977, el clon BR 63-65 siguió presentando baja incidencia de la enfermedad y excelentes rendimientos, superando en todos los casos a las variedades regionales.

Desde 1976 hasta el segundo semestre de 1981, los materiales se evaluaron principalmente para producción, características comerciales de tubérculos y para presencia de Pseudomonas solanacearum en plantas y en tubérculos. Se ha notado que hay una estrecha relación entre el porcentaje de plantas enfermas y el de tubérculos afectados por la bacteria.

Algunos clones mostraron alta resistencia a la bacteria pero presentaron características agronómicas poco deseables o eran susceptibles a otras enfermedades también limitantes en nuestro medio.

LITERATURA CITADA

1. BELALCAZAR, S., G. URIBE y H.D. THURSTON. 1968. Reconocimiento de hospedantes de Pseudomonas solanacearum. En: Rev. ICA (Colombia) 3(1): 37-46.
2. CASTAÑO, J.J. 1968. Comportamiento en la Subestación 'La Selva' de híbridos de papa con resistencia a 'Dormidera' procedentes de Sturgeon Bay (USA). Notas de campo (a máquina).
3. CASTAÑO, J.J. 1978. Trayectoria de la fitopatología en Colombia. Ira. edición. Ed. Letras Medellín (Colombia).
4. GRANADA, G. (s.f) Enfermedades bacteriales de conocida presencia en Colombia. (Mimeografiado). ICA Palmira (Colombia). 13 p.
5. GRANADA, G. y R. NAVARRO. 1978. Tomate de árbol (Cyphomandra betacea) huésped de Pseudomonas solanacearum. Ascolfi Informa (Colombia) 4(2): 5.
6. GUERRA, A. 1970. La Dormidera de la papa Pseudomonas solanacearum E.F. Smith. Seminario Universidad Nacional, Medellín (Colombia). 33 p.
7. LOPEZ, N.R. y R. SALDARRIAGA. 1981. Efecto del encalamiento en la marchitez Pseudomonas solanacearum de la papa en un suelo del C.R.I. 'La Selva'. Universidad Nacional, Medellín (Colombia). (Tesis de Ing. Agrónomo). 62 p.
8. LOZANO C.T. and H.D. THURSTON. 1968. Resistance to bacterial wilt of potatoes in Colombian clones of Solanum phureja. Am. Potato J. 45: 51-55.
9. MARTIN, C. 1979. Enfermedades bacterianas. En: Curso sobre Producción de Semilla de Papa. ICA (Colombia). Compendio No. 33.
10. NAVARRO, R. 1975. Supervivencia de Pseudomonas solanacearum E.F. Smith en suelos cultivados con papa.
11. PARDO, V.M. 1978. Variación de la población de Pseudomonas solanacearum E.F. Smith en suelos con diferente contenido de materia orgánica y en ausencia de competencia con otros organismos. Universidad Nacional, Medellín (Colombia). 26 p.
12. THURSTON, H.D. 1963. Bacterial wilt of potatoes in Colombia. Am. Potato J. 40 (11): 381-390.

SITUACION ACTUAL DE LAS INVESTIGACIONES SOBRE LA MARCHITEZ
BACTERIANA DE LA PAPA EN EL PERU

Edgardo Torres*

En el Perú, la marchitez bacteriana (Pseudomonas solanacearum) es considerada como una enfermedad económicamente importante en el cultivo de la papa, especialmente en aquellas zonas destinadas a la producción de semilla. La bacteria se halla presente en zonas frías de la región andina y zonas cálidas y húmedas de la selva, pues ha sido observada en Piura, La Libertad, Cajamarca, Ancash (French, 1977), Huánuco (Torres, 1975), San Ramón y Yurimaguas (Martin y French, 1977).

Aunque originalmente se pensó que esta enfermedad ocurría sólo en lugares cálidos y bajos, su aparición en zonas altas, arriba de los 2 000 metros de altitud, estaría demostrando la existencia de variantes de la bacteria capaces de causar marchitez a temperaturas relativamente bajas. En condiciones naturales del Perú, la papa es atacada por las razas 1 y 3 de la bacteria Pseudomonas solanacearum (French, 1977), considerándose a la raza 1 como típica de áreas bajas de la zona tórrida y a la raza 3 como típica de zonas frías (región andina), aunque esta última también puede encontrarse en áreas de selva, por ejemplo, en San Ramón.

De todas las medidas de control adoptadas para contrarrestar la acción patógena de P. solanacearum, la utilización de variedades resistentes es la que ofrece mejores perspectivas. En el Perú, los trabajos de mejoramiento para obtener cultivares resistentes se iniciaron a partir de 1970 (Martín y French, 1977) habiéndose evaluado 950 clones, bajo condiciones de campo, procedentes de las colecciones del Banco de Germoplasma del CIP, del Programa Nacional de Papa y del Programa Internacional de Mejoramiento, de la Universidad de Wisconsin. En la actualidad el CIP continúa con el Programa de desarrollar clones resistentes a la marchitez bacteriana y distribuirlos a los Programas Nacionales de Papa que estén interesados en ellos. Como resultado del trabajo conjunto entre el CIP y el Ministerio de Agricultura de Perú, se obtuvieron dos variedades resistentes: en 1975 Caxamarca y en 1976 Molinera (Herrera et al., 1977, French y Herrera, 1971).

Desde 1979, dentro de un convenio suscrito entre el CIP y la Universidad de Huánuco, se han proseguido las evaluaciones de clones que previamente fueron identificados como resistentes a la marchitez bacteriana, conjuntamente con nuevos clones desarrollados por el CIP.

Para la conducción de estos trabajos se eligieron dos campos naturalmente infestados con P. solanacearum, ubicados en zonas ecológicamente diferentes, uno en Umari (Huánuco) y otro en San Ramón (Junín) que corresponden a zonas de sierra y selva del Perú respectivamente.

El campo de Umari está ubicado a 2 400 metros de altitud, 700 mm de precipitación promedio anual, 6,0°C y 20°C como promedios de temperatura mínima y máxima respectivamente. En 1975 se detectó en esta zona la presencia de P. solanacearum y el lugar de mayor incidencia fue el terreno donde se realizan

* Universidad de Huánuco, Huánuco, Perú

los actuales ensayos. El cultivo tradicional en esta zona es la papa, siendo el maíz el cultivo de rotación más generalizado.

El campo de San Ramón está a 1 150 metros de altitud, con una precipitación promedio anual de 2 700 mm y promedios de temperatura mínima y máxima de 18,5°C y 28°C respectivamente. Es una zona de clima tropical, que corresponde a la región de selva alta de la jungla amazónica. Como en toda zona de selva, la papa no es una especie cultivada habitualmente: Fue introducida en 1974 por el CIP para realizar estudios de adaptación. En una siembra de 1978, se observó una fuerte incidencia de marchitez bacteriana.

Para detectar y cuantificar la población bacteriana, se utilizaron dos métodos: plantas hospederas susceptibles (tomate var. Huando, y papa var. Ticahuasi) y un nuevo medio selectivo desarrollado por Granada y Sequeira (1981), que permitió determinar la presencia y el potencial de P. solanacearum en ambos lugares.

En los ensayos se registraron evaluaciones de porcentaje de marchitez según la sintomatología que desarrollaron las plantas en el transcurso del período vegetativo, la sintomatología en tubérculos al momento de la cosecha, la infección latente, el rendimiento en los campos infestados de San Ramón y Umari y en terrenos libres de la bacteria en la costa (La Molina y El Asesor) y en la sierra (Valle de Huánuco).

Un grupo de 35 clones que estuvo a cargo del autor del presente informe, corresponde a materiales seleccionados por el CIP en 1979 con resistencia combinada a tizón tardío y a marchitez bacteriana. Con este material se llevaron a cabo seis ensayos de campo y uno en invernadero donde se evaluó la resistencia a tres asilamientos de P. solanacearum provenientes de la zona tórrida.

Obviamente, las condiciones climáticas, la virulencia del patógeno, y la presencia de nematodos, influyeron grandemente en la reacción de los clones al patógeno.

Un ejemplo elocuente se tuvo en el caso del clon Cruza 148 que en San Ramón no presentó síntomas en el follaje, ni infección latente (Cuadro 1), pero que en Umari alcanzó porcentajes altos de marchitez (100% y 46,6%) y presentó exudado vascular en los tubérculos al momento de la cosecha (Cuadro 2). Ningún clon se comportó bien en ambos lugares, debido a la pobreza del suelo o a estrés por calor.

En los ensayos de San Ramón, cuatro clones no presentaron síntomas de infección en el follaje (MS 82.60, MB 6.1, MB 34.22 y Cruza 148). De éstos únicamente Cruza 148 no tuvo infección latente (Cuadro 3). En Umari fueron tres los clones que no presentaron síntomas de infección en el follaje (MB 6.42, BR 63.76 y BR 63.15), los dos últimos no presentaron exudado vascular al momento de la cosecha, aunque sí tuvieron reacción positiva a la infección latente (Cuadros 1 y 3).

En cuanto a rendimiento, en condiciones de poco riego (costa y sierra) en terrenos libres de P. solanacearum, la mayoría de los clones alcanzaron rendimientos superiores a los 800 gramos por planta. En los trabajos en inver-

nadero, únicamente el clon MS 42.3 fue resistente a dos aislamientos (122 de Ruanda y 165 de Sri Lanka); MS 1C-2, MB 6.13 fueron resistentes al aislamiento 112 de Nepal y MB 5.24 y MB 34.22 fueron resistentes al aislamiento 165 de Sri Lanka.

Como un trabajo complementario, en 1981, en Umari, se condujo un ensayo de control químico, aplicando Agrimycin a la semilla y al suelo, utilizando la var. Ticahuasi. No se obtuvieron resultados significativos.

LITERATURA CITADA

1. FRENCH, E.R. e I.A. HERRERA. 1971. La marchitez bacteriana de la papa. Ofic. Inf. Técnica. Min. Agric. Divulgación 34. Lima, Perú. 6 p.
2. FRENCH E.R. 1977. Enfermedades bacterianas de la papa en Latinoamérica. Fitopatología 12 (2): 87-96.
3. GRANADA, G.A. and L. SEQUEIRA. 1981. A selective medium for P. solanacearum (Abstr) Phytopathology 71: 220.
4. HERRERA, I.A., VASQUEZ, F. DE LA PUENTE y E.R. FRENCH. 1977. Caxamarca (Chaucha mejorada), una variedad de papa resistente a la marchitez bacteriana y a la ranca. Min. Alimentación (Perú). D.G.I. Informe Especial No. 49. 5p.
5. MARTIN, C. y E.R. FRENCH. 1977. Informe Anual. Centro Internacional de la Papa.
6. TORRES, E.M. 1975. Situación de la marchitez bacteriana en el Departamento de Huánuco. I. Forum Nacional sobre la marchitez bacteriana en el cultivo de la papa. Huánuco, Perú. 19 - 21 agosto.

Cuadro 1. Reacción de 35 clones a la marchitez bacteriana (Pseudomonas solanacearum) en la zona de selva de San Ramón - Perú.

Clones	Porcentaje de plantas marchitas*					
	1979		1980		1981	
1 MS 117.36			25	bd	8,33	ab**
2 MS 10.1			32,5	bf	16,6	ab
3 MS 82.60	0	a	0	ab	0	a
4 MS 42.3	33,3	ab	10	a	33,3	ac
5 MS 84.5	11	ab	0	a	0	a
6 MS 35.9	0	a	57,5	dh	55,3	bc
7 MS 108.45	40	b	100	h	41,6	bc
8 MS 1C-6	13,3	ab	40	bf	27,7	ac
9 MS 91.18	0	a	40	cg	16,6	ab
10 MS 1C-2	0	a	12,5	ab	23,3	ac
11 MS 35.4	26,6	ab	75	gh	46,6	bc
12 MS 1E-7	20	ab	12,5	ab	13,3	ab
13 MB 6.1	0	a	0	a	0	a
14 MB 34.22	0	a	0	a	0	a
15 MB 5.9	33,3	ab	58	dh	16,6	ab
16 MB 5.5	0	a	20	bc	56,6	bc
17 MB 6.11	23,3	ab	25	bc	30	ac
18 MB 5.24	0	a	0	a	0	a
19 MB 10.1	13,3	ab	16,5	ac	13,3	ab
20 MB 34.99	6,6	ab	0	a	0	a
21 MB 6.42	13,3	ab	20	bc	43,3	bc
22 MB 6.13	13,3	ab	0	a	33,3	ac
23 BR 70.126	0	a	55	dh	35	ac
24 BR 62.3	26,6	ab	32,5	bf	41,6	ac
25 BR 62.5	13,3	ab	10	ab	38,3	ac
26 BR 18.7	0	a	30	bc	53,3	bc
27 BR 69.92	0	a	0	a	40	ac
28 BR 63.65	33,3	ab	0	a	28,3	ac
29 BR 63.76	20	ab	0	a	11	ab
30 BR 63.15	13,3	ab	0	a	46,6	ac
31 PSY 89.43	8,3	ab	0	a	46,6	ac
32 PSY 100.15	13,3	ab	20	bc	47,6	bc
33 PSY 104.33	19,3	ab	90	h	11	ab
34 Cruza 148			0	a	0	a
35 Ticahuasi***	46,6	b	66	fh	80,3	c

* Promedio de tres repeticiones (5 plantas/repetición).

** Clones seguidos por una misma letra, no difieren significativamente entre sí al nivel de 5% (Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan).

*** Testigo.

Cuadro 2. Reacción de 34 clones a la marchitez bacteriana (Pseudomonas solanacearum) en la zona de sierra Huánuco - Perú.

Clones	Porcentaje de plantas marchitas*	
	1980	1981
1 MS 117.36	33 ad**	46,67 bg
2 MS 10.1	0 a	53,33 cg
3 MS 82.60	50 ad	26,67 ac
4 MS 42.3	100 d	80 dg
5 MS 84.5	67 bd	28,33 af
6 MS 35.9	100 d	80 bf
7 MS 108.45	80 bc	73,33 cg
8 MS 1C-6	17 ab	20 ac
9 MS 91.18	50 ad	73,33 cg
10 MS 1C-2	0 a	73,33 cg
11 MS 35.4	25 ac	0 a
12 MB 6.1	33 ad	46,67 bg
13 MB 34.22	33 ad	46,67 bg
14 MB 5.9	67 bd	73,23 dg
15 MB 5.5	67 bd	53,33 bg
16 MB 6.11	83 cd	0 a
17 MB 5.24	50 ad	86,67 fg
18 MB 10.1	50 ad	33,3 bg
19 MB 34.99	17 ab	60 cg
20 MB 6.42	0 a	0 a
21 MB 6.13	17 ab	40 af
22 BR 70.126	50 ad	8,33 ab
23 BR 62.3	33 ad	0 a
24 BR 62.5	40 ad	56,67 cg
25 BR 18.7	100 d	83,33 fg
26 BR 69		
.92	67 bd	80 dg
27 BR 63.65	17 ab	20 ad
28 BR 63.76	0 a	0 a
29 BR 63.15	0 a	0 a
30 PSY 89.43	17 ab	40 af
31 PSY 100.15	80 ad	86,67 fg
32 PSY 104.33	83 bd	26,67 ae
33 Cruza 148	100 d	46,67 bf
34 Ticahuasi***	100 d	100 g

* Promedio de 3 repeticiones (5 plantas/repetición).

** Clones seguidos por una misma letra no difieren significativamente entre sí al nivel de 5% (Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan).

*** Testigo.

Cuadro 3. Incidencia en tubérculos al momento de la cosecha (exudado en el anillo vascular) y después de almacenados en invernadero a 28-30°C. Rendimiento de los clones en terrenos infestados con (Pseudomonas solanacearum).

Clones	Exudado vascular*		Infección latente**				Rto. g/planta			
	Umari		Umari		San Ramón		Umari	San Ramón		
	1980	1981	1980	1981	1979	1980	1980	1979	1980	
1 MS	117.36	-	+	+	-	+	+	340	50	
2 MS	10.1	-	+	+	+	+	+	306	16	
3 MS	82.60	+	+	-	+	-	+	258	60	65
4 MS	42.3	+	+	+	-	+	+	16	161	110
5 MS	84.5	+	+	+	+	-	+	0	90	70
6 MS	35.9	+	+	+	-	+	+	100	231	27
7 MS	108.45	+	+	+	+	+	+	40	95	5
8 MS	1C-6	+	+	+	+	+	+	721	136	60
9 MS	91.18	+	+	+	-	+	+	700	318	30
10 MS	1C-2	+	+	+	+	+	+	337	126	166
11 MS	35.4	+	-	+	+	+	+	430	248	56
12 MS	1E-7	+	+	-	+	-	-	-	44	17
13 MB	6.1	+	+	-	+	-	-	353	96	-
14 MB	34.22	-	+	+	+	-	-	420	267	270
15 MB	5.9	+	+	+	-	+	+	333	13	160
16 MB	5.5	+	+	+	-	+	+	80	286	111
17 MB	6.11	+	+	-	+	-	-	387	103	19
18 MB	5.24	+	+	+	+	+	+	470	31	190
19 MB	10.1	+	+	+	-	-	-	286	-	78
20 MB	34.99	+	+	+	+	-	+	544	147	161
21 MB	6.42	+	+	-	-	-	+	675	173	65
22 MB	6.13	+	+	+	+	+	-	300	282	233
23 BR	70.126	+	+	+	+	+	-	390	20	33
24 BR	62.3	-	-	-	-	+	-	620	199	5
25 BR	62.5	+	+	+	-	-	-	0	280	190
26 BR	18.7	+	+	+	+	+	+	0	96	3
27 BR	69.92	+	+	+	+	+	+	100	176	122
28 BR	63 65	+	+	+	+	+	+	-	215	160
29 BR	63.76	-	-	-	+	+	-	623	70	40
30 BR	63.15	-	-	-	+	-	-	948	160	220
31 PSY	89.43	+	+	-	+	-	+	807	112	27
32 PSY	100.15	+	+	-	+	-	-	650	428	22
33 PSY	104.33	+	-	-	-	-	-	225	97	5
34 Cruza	148	+	-	-	-	-	-	40	-	362
35 Ticahuasi		+	+	-	+	+	+	689	246	48

* Corte transversal de 5 tubérculos/repetición, al momento de la cosecha.

** Análisis en laboratorio, 5 tubérculos/repetición.

SITUACION DE Pseudomonas solanacearum EN LA REPUBLICA ORIENTAL
DEL URUGUAY

Felipe Canale*

INTRODUCCION

Desde el punto de vista de su producción y consumo, la papa constituye en el Uruguay, un cultivo de gran importancia socioeconómica. Según el Ministerio de Agricultura y Ganadería (1973), aproximadamente 22 300 establecimientos agropecuarios se dedican a este cultivo y su producto abastece prácticamente la totalidad de la demanda interna. Asimismo, la papa constituye el cuarto producto agrícola en la dieta familiar, considerándosele como "producto de primera necesidad".

Desde principios de la década del 70, la bacteria Pseudomonas solanacearum ha venido diseminándose en las distintas áreas paperas del país, produciendo severos daños a los cultivos e inutilizando suelos para la producción de este cultivo. Esta situación ha venido agravándose en forma continua, llevando a que en la actualidad los esfuerzos para su control se hayan intensificado.

En el presente informe, se ofrece una reseña histórica de la enfermedad en el Uruguay y se expone la situación actual de la misma.

ANTECEDENTES

Si bien la presencia de la marchitez bacteriana ("podredumbre parda bacteriana") en el Uruguay se sospecha desde la década del 60, en los departamentos de Rocha y Tacuarembó; es recién en 1974, cuando en la Estación Experimental Granjera "Las Brujas", se identifica el organismo causal de los síntomas observados en el campo, como Pseudomonas solanacearum (Smith) Smith.

Posteriormente dicha Estación Experimental realizó varios aportes, difundiendo aspectos sobre sintomatología, ciclo de la enfermedad, condiciones predisponentes, dispersión y control (Stuckey et al., 1974, Moscardi y García, 1976).

En 1976, French**, confirmó desde el Centro Internacional de la Papa, la presencia de Pseudomonas solanacearum (Smith), raza 3, biotipo 2, sobre muestras procedentes del departamento de Rocha, que resultan similares a las identificaciones realizadas para el Brasil.

Sobre esta base y con el conocimiento de la existencia de tráfico ilegal de papa para semilla en la región fronteriza con el Brasil; García et al., 1979 señalan la posibilidad de que la enfermedad fuera introducida del Brasil al Uruguay, pues hasta el presente no ha sido demostrado que esta bacteria pudiera ser autóctona de los suelos uruguayos.

* Dirección de Sanidad Vegetal, Ministerio de Agricultura y Pesca, Uruguay.

** French, E. 1976. Correspondencia personal. Centro Internacional de la Papa, Lima

El mismo informe anterior, señala que la diseminación de la bacteria dentro de las zonas mencionadas se debió principalmente a la comercialización local de papa para semilla, llegando al Departamento de Salto como semilla supuestamente producida en Rocha. En los campos nuevos se pudo constatar el alto grado de eficiencia de la diseminación a través del movimiento de maquinaria y vacunos, así como con las aguas de drenaje superficial.

En 1977, la Intendencia Municipal de Tacuarembó dispuso la fiscalización de los lotes de papa comercializados localmente para semilla, a fin de evitar la diseminación en ese departamento.

Crisci (1978) comunicó la presencia de Pseudomonas solanacearum en Piedras de Afilar (Departamento de Canelones), y en una muestra procedente del Departamento de San José. En 1980, Vilaró (13), detecta la enfermedad en Costas de Mauricio (Departamento de San José).

García et al., 1979 señalaron la importancia económica de la enfermedad, sugiriendo la adopción de una serie de medidas de control legal, para evitar su diseminación.

Canale (1981) informó a la Dirección de Sanidad Vegetal sobre la situación de la enfermedad, planteando la adopción de medidas para combatirla. La División Fitopatológica de la Dirección de Sanidad Vegetal, planificó posteriormente el desarrollo de una campaña de lucha contra la enfermedad, solicitando los recursos necesarios para la instrumentación de la misma.

En octubre de 1981, la Dirección de Sanidad Vegetal, autorizó los fondos y al mes siguiente la División Fitopatológica, a través de su Departamento de Epidemiología Especial inició la primera etapa de la "Campaña de Lucha contra Pseudomonas solanacearum", que consistió en un diagnóstico de la situación fitosanitaria del cultivo de papa en San José, con especial énfasis en la detección de focos de esta bacteriosis.

En diciembre de 1981, la "Reunión Bilateral Uruguay-Brasil sobre Sanidad Vegetal", acogió la propuesta de la delegación uruguaya aprobando una resolución mediante la cual se estableció un intercambio constante de información entre ambos países, los cuales se comprometieron a llevar adelante acciones conjuntas, simultáneas y prioritarias para el control eficiente del intercambio fronterizo y, finalmente, se propuso que el tema fuera incluido en las agendas de los futuros foros de la región.

En 1982, la Dirección de Sanidad, elevó a consideración del Poder Ejecutivo, un proyecto de decreto, declarando a Pseudomonas solanacearum plaga nacional y estableciendo la obligatoriedad de su control.

El 26 de agosto de 1982, la "Reunión Bilateral Argentina-Uruguay sobre Sanidad Vegetal" aprobó una resolución reconociendo la prioridad y urgencia planteada por la situación epidemiológica de Pseudomonas solanacearum en la región, recomendando que esta enfermedad fuera incluida en la Lista de Plagas y Enfermedades Prioritarias de la Región; y se acordó también solicitar a los organismos internacionales (IICA, CIP) su participación activa en esta problemática.

IMPORTANCIA ECONOMICA

1. El Cultivo de Papa en el Uruguay:

El cultivo de papa es practicado en casi todo el país. Según el Ministerio de Agricultura y Ganadería (1973) se siembran aproximadamente 25 000 ha/año. Los Departamentos de San José y Canelones concentran el 68% de la superficie sembrada y generan 73% de la producción nacional. Es importante señalar que el Departamento de Canelones concentra el 75% de la producción de tomate del país (Comisión del Plan Granjero, 1978), cultivo que también es susceptible a P. solanacearum.

La producción anual de papa en el país supera las 100 000 toneladas, las cuales son obtenidas a través de dos ciclos de producción (otoño y primavera). El ciclo de otoño es abastecido por semilla importada del Hemisferio Norte, en tanto que en el ciclo de primavera se utiliza como semilla, material procedente del ciclo de otoño (primera multiplicación de la papa importada). En el ciclo de primavera un pequeño porcentaje de semilla proviene del Programa de Certificación de la Estación Experimental Las Brujas, en tanto que el grueso del material usado como semilla se origina en el propio establecimiento productor, donde no se toman las precauciones fitosanitarias necesarias para la multiplicación de semilla.

2. Daños provocados por Pseudomonas solanacearum:

Moscardi y García (1976), establecieron que durante la temporada de 1975, sobre un total de 29 productores paperos de la zona comprendida entre Santa Teresa y Chuy (Rocha), el 59% había experimentado pérdidas debidas a la marchitez bacteriana, las cuales oscilaban entre 5 y más del 90% de la producción.

La Estación Experimental del Norte (García et al., 1979), reportó que en la temporada 1975/76, la enfermedad fue detectada en casi todas las áreas paperas del Departamento de Tacuarembó, con porcentajes de infección en plantas de hasta 80%.

En el área de influencia de Castillos (Departamento de Rocha), estimaciones de Molina consignadas en García et al., 1979 indicaron que durante el período 1970/74, el 22% de los suelos aptos para papa (3 000 ha) habían sido afectados por P. solanacearum.

Gamarra, en documentos presentados por García et al., 1979, señaló la presencia de la enfermedad en el área papera de Cerro Largo (alrededores de Melo), durante la primavera de 1975, donde causó severas pérdidas en algunos establecimientos.

SITUACION ACTUAL

En 1981, la División Fitopatológica de la Dirección de Sanidad Vegetal, inició un reconocimiento ("relevamiento") fitosanitario de las principales áreas paperas del país (San José y Canelones), con el objetivo fundamental de determinar la situación epidemiológica de Pseudomonas solanacearum, y el nivel sanitario general de los cultivos, incluyendo observaciones y evaluaciones sobre otras enfermedades.

1. Reconocimiento fitosanitario (noviembre 1981 - febrero 1982).

El reconocimiento implicó la definición previa de los límites del área. Para identificar los lotes se usaron hojas del Plan Cartográfico Nacional (escala 1:20 000) en las que figura la totalidad de los padrones del área divididos por un sistema de coordenadas.

Los equipos técnicos, entrenados previamente para esta labor, se integraron en dos grupos que, avanzando en sentidos opuestos, realizaron la inspección de los cultivos correspondientes a los padrones de cada establecimiento, quedando de esta manera perfectamente identificados.

La información correspondiente a cada cultivo fue consignada en planillas especiales para su posterior procesamiento por computadora.

2. Diagnóstico.

El diagnóstico de la enfermedad se realizó primero en el campo, basándose en los síntomas visuales de la enfermedad (halo vascular oscurecido y exudación de mucílago por los tubérculos, tanto a nivel del anillo vascular como de los ojos). Los síntomas visuales de campo fueron confirmados en el laboratorio mediante aislamiento en medio Kelman (8) y posteriormente mediante pruebas de patogenicidad en plántulas de tomate cv. "Loica".

3. Resultados.

Si bien la información acumulada se encuentra en procesamiento, se tienen ya algunos datos preliminares:

- a) Prevalencia: se localizaron 47 predios afectados por P. solanacearum, totalizando 419 ha, que representan el 9,11% de la superficie destinada al cultivo en el Departamento de San José. En el período de reconocimiento se cubrieron 4 600 ha.
- b) Origen de la enfermedad: en 23 casos se pudo determinar fehacientemente el origen de la enfermedad, resultando que:
 - En 50% de los casos la semilla se adquirió del Departamento de Rocha (donde la enfermedad se encuentra ampliamente diseminada), o de productores locales que habían tenido cultivos afectados por la bacteriosis.
 - En el 50% restante de casos se comprobó el uso de maquinaria (préstamo, arriendo, etc.) de productores que tenían cultivos afectados por la enfermedad.
- c) Nivel de conocimientos: 76% de los productores cuyos campos fueron inspeccionados no conocían la enfermedad. En 24% de los casos en los que la enfermedad era conocida, los productores también tenían conocimientos sobre su transmisión y medidas preventivas de control.
- d) Diagnóstico e investigación: el procedimiento de diagnóstico utilizado resultó demasiado laborioso, dado el gran volumen de muestras procesadas.

Con el fin de agilizar los métodos de trabajo, que permitieran también estudiar la ecología y sobrevivencia en el suelo y materiales contaminados, se estudiaron varios métodos rápidos de diagnóstico. Se evaluaron varias técnicas serológicas incluyendo aglutinación en gota, doble difusión en agar, ELISA e inmunofluorescencia indirecta. Para las dos primeras técnicas se usaron los procedimientos de rutina. Para el caso de la técnica ELISA se siguió el método de Clark y Adams (1977) y para el de inmunofluorescencia indirecta, el método empleado por Faure et al. (1977). Los resultados obtenidos con estas dos últimas confirman la gran sensibilidad y la posibilidad de las mismas para ser usadas en el diagnóstico de P. solanacearum en semilla de papa.

Se evaluaron también distintos tipos de desinfectantes para maquinaria y equipo: se comprobó la buena acción de amonios cuaternarios, fenoles terciarios, hipoclorito de sodio y formol.

CONCLUSIONES

1. La información presentada indica la presencia de la bacteria en casi todas las áreas productoras de papa del Uruguay.
2. En los Departamentos de Rocha, Cerro Largo y Tacuarembó, la producción de papa se desarrolla en campos ganaderos, en los que sólo realizan uno o dos cultivos sucesivos en el mismo terreno. Desde este punto de vista y considerando la amplia disponibilidad de suelos aptos para el cultivo en dichas zonas, el problema debido a esta enfermedad no puede catalogarse de grave, siempre y cuando se adopten las medidas sanitarias correspondientes en las áreas infestadas. No obstante, la sola presencia de la bacteria configura un alto peligro de diseminación hacia otras zonas de características agrícolas intensivas.
3. El reconocimiento fitosanitario realizado por la Dirección de Sanidad Vegetal en los Departamentos de San José y Canelones indicó una alarmante diseminación de la bacteria en la principal área papera del país.
4. La producción de papa en los Departamentos de San José y Canelones (más de 65% del área destinada a ese cultivo en el Uruguay), es realizada en predios agrícolas de uso intensivo, tradicionalmente dedicados al cultivo, donde la posibilidad de rotación con otros cultivos no es mayor de dos años en promedio. Ante esta situación, la presencia de la enfermedad en estos departamentos es calificada como de grave y urgente, pudiendo traer severas consecuencias socioeconómicas.
5. La comercialización, para semilla, de papa infectada y el uso de maquinaria contaminada, aparecen como los principales agentes de diseminación.
6. El conocimiento de los productores encuestados sobre la enfermedad y su control, elementos esenciales en la lucha contra la misma, es bajo o nulo.
7. Las técnicas serológicas ELISA e inmunofluorescencia indirecta pueden ser usadas en el estudio y combate de P. solanacearum.

8. Se confirmó la aplicabilidad de amonios cuaternarios, fenoles terciarios, hipoclorito de sodio y formol como productos desinfectantes de herramientas y equipos.

9. Es necesario intensificar los programas de producción de semilla certificada e introducir en los mismos los materiales resistentes disponibles al momento. En este sentido, la Dirección de Sanidad Vegetal y el Centro de Investigaciones Agrícolas "Alberto Boerger", comenzaron un programa conjunto de evaluación del material genético suministrado por el Centro Internacional de la Papa.

10. La prioridad y urgencia del combate de esta enfermedad ha sido reconocidas a nivel regional. En las Reuniones Bilaterales sobre Sanidad Vegetal entre Uruguay y Brasil y entre Argentina y Uruguay se ha solicitado su inclusión en la Lista de Plagas y Enfermedades Prioritarias de la Región y se ha invocado la acción de los organismos internacionales (CIP, IICA) al respecto.

LITERATURA CITADA

1. CANALE, F. 1981. Pseudomonas solanacearum en el Departamento de San José, Dirección de Sanidad Vegetal, División Fitopatológica, Informe a la Dirección. (Mecanografiado).
2. CLARK, M.F., and A.N. ADAMS. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34, 475-483.
3. COMISION HONORARIA NACIONAL DEL PLAN GRANJERO. 1978. Jornadas de comercialización e industrialización de tomate. 7 p. (Mimeografiado).
4. CRISCI, C. 1978. Nuevas localizaciones de Pseudomonas solanacearum. Centro de Investigaciones Agrícolas "Alberto Boerger", Estación Experimental Granjera "Las Brujas". Informe de la Dirección. (Mecanografiado).
5. FAURE, M., P. DUPOUEY et M.J. MORELEC. 1977. Les Techniques de l'immunofluorescence et les réactions immunoenzymatiques. Maloine S.A. Editeur, 566 pags.
6. GARCIA, S., C. CRISCI and J. CARBONELL. 1979. Consideraciones para el control de Pseudomonas solanacearum (Smith) Smith, grave enfermedad de la papa en Uruguay. Centro de Investigaciones Agrícolas "Alberto Boerger", Rev. de Divulgación Técnica (1): 29-32.
7. KELMAN, A. 1954. The relationship of pathogenicity of Pseudomonas solanacearum to colony appearance in a tetrazolium medium. Phytopathology 44: 693-695.
8. MINISTERIO DE GANADERIA Y AGRICULTURA. 1973. Censo General Agropecuario.

9. MOSCARDI, C. y S. GARCIA. 1975. La podredumbre parda de la papa en el Uruguay. Centro de Investigaciones Agrícolas "Alberto Boerger", Estación Experimental Granjera "Las Brujas", Informe Técnico. (Mecanografiado).
10. MOSCARDI, C. y S. GARCIA. 1976. La podredumbre parda de la papa, nueva enfermedad bacteriana en el Uruguay. Diario El País, Montevideo.
11. STUCKEY, R., C. MOSCARDI y S. GARCIA. 1974. Podredumbre parda en papa. Centro de Investigaciones Agrícolas "Alberto Boerger", Estación Experimental Granjera "Las Brujas", Hoja de Divulgación No. 2.
12. VILARO, F. 1981. Pseudomonas solanacearum en el Departamento de San José. Centro de Investigaciones Agrícolas "Alberto Boerger", Estación Experimental Granjera "Las Brujas". (Mecanografiado).

ESTADO ACTUAL DE LA MARCHITEZ BACTERIANA DE LA PAPA
Pseudomonas solanacearum EN ARGENTINA

Irma de Mitidieri*

INTRODUCCION

La presencia de Pseudomonas solanacearum en Argentina se conoce desde hace muchos años. La primera cita bibliográfica corresponde a Zeman (1919, 1921), quien en 1921 estudió una bacteriosis del bananero en Chaco y Corrientes. En un principio el agente etiológico fue denominado Bacillus musarum Zem, pensando que se trataba de una especie nueva y posteriormente resultó sinónimo de Pseudomonas solanacearum.

La bacteria también fue determinada en Formosa y norte de Misiones, afectando al bananero, y en los alrededores de la ciudad de La Plata afectando al tomate (Zeman, 1921).

Según Fernández Valiela (1975), Carrera, en 1960, diagnosticó la presencia de la enfermedad en Salta afectando plantas de tabaco. En 1971, Castañón (1972), señaló la presencia de la enfermedad afectando seriamente cultivos comerciales de tomate, cultivar "PLATENSE", en Corrientes.

En 1979, se localizaron lotes de papa afectados por marchitez bacteriana en dos importantes regiones productoras del sudeste de la provincia de Buenos Aires y Rosario. Ambas regiones están ubicadas por debajo de la isoterma media anual de 18°C y entre 500 y 1 000 mm anuales de lluvia.

La identificación del patógeno estuvo a cargo de técnicos del Centro Internacional de la Papa (CIP), en Lima, Perú.

Ante el peligro que significa para la producción papera del país la aparición de tal grave enfermedad, inmediatamente se comenzaron a planificar las formas de acción que permitan elaborar la estrategia para el control de la misma.

REGIONES PRODUCTORAS DE PAPA

La papa en la República Argentina se cultiva en regiones muy distantes entre sí, determinadas por condiciones ecológico-económicas; no obstante, es factible cultivarla, prácticamente en cualquier región agrícola del país.

Así, surgen pequeñas zonas productoras cuando el precio del producto es elevado, que luego desaparecen al bajar los mismos, debido a que no existe una tradición en el cultivo por parte de esos productores.

En las zonas donde el productor tiene arraigo en el cultivo, también ocurren altibajos en cuanto al área sembrada como consecuencia del precio de la papa, por lo tanto, la superficie cultivada tiene importantes variaciones de un año a otro.

* Estación Experimental INTA, San Pedro, Argentina.

Las regiones productoras más importantes se encuentran en la pampa húmeda y, entre ellas, la del sudeste de la provincia de Buenos Aires se destaca por su superficie y volumen de producción. Le sigue en importancia la denominada "Rosario" con dos siembras anuales y que está ubicada al norte de la provincia de Buenos Aires y al sur de la de Santa Fe.

Existen otras de menor significado, pero que adquieren importancia por la oportunidad de la producción o por abastecer a su zona de influencia, y comprenden a la del noroeste, en las provincias de Tucumán, Salta y Jujuy; noreste, en las provincias de Entre Ríos, norte de Santa Fe, Corrientes, Chaco y Formosa, central en las provincias de Córdoba y Santiago del Estero; oeste o Cuyo, en las provincias de Mendoza, San Juan y San Luis y las del sur de Argentina, en las provincias de Río Negro, sur de Buenos Aires, Neuquén y Chubut, con subregiones muy distintas y dispersas. Un pequeño centro de producción se localiza en la parte central de la provincia de Buenos Aires.

REGION SUDESTE DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

La integran las localidades de Balcarce, General Alvarado, Lobería, General Pueyrredón, Tandil, General Madariaga, Mar Chiquita y Necochea. Es la principal zona productora de papa para consumo y para semilla de la Argentina. Su capacidad productora está cimentada en excelentes condiciones climáticas, elevada fertilidad de los suelos, suficiente disponibilidad de terreno para permitir rotaciones adecuadas y un factor humano receptivo a los avances tecnológicos que permiten mejorar la calidad y sanidad de los cultivos. Tiene una sola época de siembra y el ciclo de cultivo va desde mediados de octubre hasta marzo; no obstante, se cosecha hasta julio o más adelante según condiciones climáticas y de mercado.

En el sureste de la Provincia de Buenos Aires la mayoría de la semilla utilizada en la siembra es de producción local, o importada de Europa o Canadá. Algunos productores utilizan papa-semilla producida en la Región Rosario durante la segunda parte de la temporada.

Los cultivares utilizados son: "HUINKUL MAG", "SPUNTA", "KENNEBEC", "SERRANA", "BALLENERA", entre los más importantes.

Durante la temporada 1978/1979 y posteriormente en la de 1980/81, se observaron brotes de marchitez bacteriana (Pseudomonas solanacearum) afectando a seis y cuatro lotes respectivamente, del cultivar "KENNEBEC" destinado a la producción de papa para consumo. En ninguno de los lotes se había cultivado papa durante los últimos cinco años. En todos los casos, la papa utilizada para la siembra provenía de los distritos de Arroyo Seco, Figuiera, Pavón y General Lagos, pertenecientes al departamento de Rosario.

Los lotes afectados fueron localizados con precisión y la producción de estos cultivos fue destinada a consumo en su totalidad; en los terrenos contaminados no se ha vuelto a cultivar papa y las largas rotaciones que se practican en esta zona permiten esperar la erradicación de la enfermedad mientras no se utilice papa-semilla contaminada.

Durante 1980, se desarrolló un plan de difusión masiva destinado a advertir a técnicos y productores sobre la existencia de la enfermedad, su localización, los riesgos de su difusión y la importancia de utilizar simiente proveniente de cultivos con sanidad reconocida.

Existe una serie de circunstancias que permiten esperar en forma optimista que los focos de la enfermedad localizados en esta zona, puedan ser controlados totalmente.

REGION ROSARIO

En la región productora más antigua del país, se cultiva papa desde fines del siglo pasado. Por su importancia económica constituye la segunda zona productora del país.

La integran las localidades de General Lagos, Arroyo Seco, Figuera y Coronel Bogado en el departamento de Rosario de la provincia de Santa Fe; las de Pavón y Tehobal en el de Villa Constitución de la misma provincia y las de San Nicolás, Ramallo y San Pedro, Baradero, Zárate y Campana en la de Buenos Aires.

Está formada por una franja costera al Río Paraná de unos 200 km de largo por unos 10 km de ancho en la provincia de Buenos Aires y alcanza hasta 30 km en la de Santa Fé.

El número de explotaciones dedicadas al cultivo de la papa ha decrecido sensiblemente en los últimos años, y también, aunque en menor proporción, la superficie sembrada. En cambio, la producción ha mantenido su nivel gracias a una mayor tecnificación.

La zona tiene la particularidad de permitir dos cosechas anuales en el mismo suelo. La primera o de primavera se hace a comienzos de agosto para cosechar desde mediados de noviembre hasta fines de diciembre. La superficie sembrada es de alrededor de 5 000 hectáreas. Los cultivares empleados son: "HUINKUL", "SPUNTA" y "KENNEBEC". La papa-semilla procede del sudeste de la provincia de Buenos Aires. El producto entra directamente a los mercados de consumo sin previo almacenamiento y se le denomina de acuerdo a su ingreso a los mercados como papa semitemprana.

La segunda cosecha de otoño se efectúa desde fines de enero hasta el 15 de febrero, para cosechar en mayo-junio. Entra a los mercados generalmente después de un estacionamiento en la chacra. Se le denomina de producción tardía y los cultivares empleados son "KENNEBEC" y "SPUNTA".

La papa-semilla procede de Canadá u Holanda cuando es de origen importado. En cambio, si es de origen local, puede ser de la primera cosecha (diciembre) o también de la obtenida del otoño anterior, (junio) y conservada en cámara fría durante cinco o seis meses. La superficie sembrada es similar a la de primavera.

Parte de esa producción, cuando proviene de papa-semilla importada, se comercializa como papa-semilla para la Región Sudeste, por encontrarse sus tubérculos en ese momento en excelente estado fisiológico; además, tienen buena sanidad con respecto a virus por la baja presencia de áfidos durante el otoño. El resto se comercializa para consumo desde agosto hasta octubre.

Ante la aparición en el sudeste de plantas afectadas por la marchitez bacteriana, técnicos de la Estación Experimental Regional Agropecuaria del INTA de Balcarce recorrieron la zona de Rosario, en el mes de marzo de 1979,

señalando que la enfermedad estaba generalizada en las localidades de General Lagos y Arroyo Seco. Esta evaluación fue comprobada posteriormente por técnicos de la Estación Experimental Agropecuaria del INTA de San Pedro.

En la Sección de Fitopatología de la E.E.A. INTA de San Pedro se probó la patogenicidad de un aislamiento de Pseudomonas solanacearum procedente del sudeste de la provincia de Buenos Aires. Para ello se utilizaron papas de los cultivares "SEBAGO", "KENNEBEC" y "SPUNTA".

Los métodos de inoculación utilizados fueron: inoculación de los tubérculos antes de la siembra, mediante heridas practicadas en las proximidades de las yemas, y mediante inyección en las axilas de las hojas.

Mediante el primer método se obtuvieron reducciones de un 26 y 37% en la brotación para los cultivares "KENNEBEC" y "SEBAGO" respectivamente. Con el segundo método, a los 5 días de realizada la inoculación se obtuvo 100% de plantas marchitas en los tres cultivares ensayados.

También se inocularon por este último método, plantas de tomate y berenjena con resultado positivo.

Desde la aparición de la enfermedad en la zona, no se han producido daños significativos que ocasionaran graves pérdidas en la producción.

En recorridos realizados durante 1982, se comprobó la presencia de la enfermedad en las localidades de General Lagos, Arroyo Seco, Figuiera y Pavón, todas en la provincia de Santa Fe.

La E.E.A. INTA de San Pedro, juntamente con su Agencia de Extensión de Arroyo Seco, advirtió a técnicos y productores de la zona sobre la aparición de la enfermedad, características de la misma y riesgos que significa para la producción papera. Con esa finalidad se realizaron varias reuniones y se confeccionó un folleto de divulgación.

MÉTODOS DE CONTROL

En abril de 1981, la Coordinación del Programa Papa organizó una reunión en la Estación Experimental Agropecuaria INTA de San Pedro, a fin de considerar las líneas inmediatas de acción para evitar la propagación de la enfermedad.

Una de las prioridades surgidas en la mencionada reunión fue la realización de un reconocimiento ("relevamiento") para determinar las áreas afectadas por Pseudomonas solanacearum en la Argentina.

Se estableció que para el diagnóstico de la enfermedad se utilizaría el método de inmersión de trozos de tallos en agua, recomendado por el CIP. Para definir la contaminación de un lote bastará una planta enferma.

Por otro lado, se consideró de primordial importancia recomendar a los productores que eviten el cultivo de papa u otras solanáceas en terrenos infectados, y que no usen semilla proveniente de cultivos enfermos.

Finalmente, se acordó llevar a cabo un plan de trabajo en el que intervengan todas las unidades relacionadas con el cultivo de papa, para estudiar la viabilidad de la bacteria en suelos infectados sometidos a diferentes sistemas de rotaciones.

Los riesgos de diseminación de la enfermedad fueron debidamente considerados por los integrantes de la Secretaría de Agricultura y Ganadería de la Nación, quienes la declararon plaga de la agricultura, por disposición D.F.F. N°. 42 del 18-5-1982, dictada por el Departamento de Fiscalización Fitosanitaria, de la Secretaría de Agricultura y Ganadería de la Nación, Decreto Ley N°. 6, 704/63, Artículo 2°.

LITERATURA CITADA

1. CASTAÑON, M.A. 1972. Marchitamiento bacteriano del tomate en la provincia de Corrientes. Jornadas Fitosanitarias. 1971. Comunicaciones Fac. Agr. Vet. 90.
2. FERNANDEZ V., M.V. 1975. Introducción a la Fitopatología. 820 pp.
3. ZEMAN, V. 1919. Algunas enfermedades observadas en los alrededores de La Plata. Rev. Centr. Est. Agr. y Vet. de La Plata 11: 68-75.
4. ZEMAN, V. 1921. Bacteriosis del bananero. Rev. Fac. Agr. de La Plata 14 (2): 17-30.

SINTOMATOLOGIA Y DESARROLLO DE LA MARCHITEZ BACTERIANA
(Pseudomonas solanacearum) EN LA PAPA

E.R. French*

Los síntomas de la marchitez bacteriana de la papa son similares a aquellos causados por la falta de agua o a otros tipos de marchitez patológica, pero comúnmente la marchitez bacteriana es inicialmente unilateral, afectando los folíolos de un lado de una hoja, las hojas de un lado de un tallo, o un tallo sí y otro no.

Cuando la infección es temprana y la temperatura relativamente alta, toda la planta puede marchitarse y morir. Acompañando al avance de la marchitez foliar, el sistema vascular va adquiriendo un color marrón pardo. Según la etapa de crecimiento en el momento de la infección, la variedad y las condiciones ambientales, puede suceder que no se manifiesten ni la decoloración, ni la clorosis o necrosis del follaje. Los síntomas subterráneos más conspicuos se encuentran en los tubérculos. Los ojos del tubérculo exudan bacteria y a este exudado se adhiere el suelo. En algunos casos, la zona de los ojos o del estolón se decolora. Cuando se parten los tubérculos, en pocos minutos de los haces vasculares afectados sale un exudado formando "perlas". Los tubérculos afectados retienen inicialmente su consistencia y adquieren un leve olor característico, luego se van descomponiendo como consecuencia de infecciones secundarias y pueden adquirir mayor coloración, además de pudrición blanda y fétida.

Un método útil para diagnosticar la presencia de bacteria en tallos enfermos es cortar un trozo de 1 a 2 cm de largo y colocarlo en la parte superior de una columna de agua cristalina y quieta. En pocos minutos, si hay bacterias, los haces vasculares las exudan en flujos ahilados descendientes que se van difundiendo en el agua (French et al., 1972).

El factor que más favorece a esta enfermedad es la temperatura alta, razón por la cual los síntomas son más conspicuos y tempranos, con mayores daños, en cultivos de regiones cálidas. Los cultivos de clima frío (por encima de los 2 800 metros de altitud en la zona tórrida) presentan síntomas más leves que pueden pasar desapercibidos, aunque la bacteria esté en la mayoría de las plantas y los tubérculos actúen como portadores, causando severos daños si son usados como semilla en sitios con mayor temperatura (French et al., 1972).

Existen dos razas de Pseudomonas solanacearum que causan la marchitez bacteriana de la papa: la raza 3 que es específica a la papa; y la raza 1 que afecta a la papa y también a un sinnúmero de plantas cultivadas y silvestres (Buddenhagen et al., 1962; French y Herrera, 1969; Kelman, 1953). La marchitez bacteriana ocurre en la franja de la zona tórrida y las zonas templadas en todo el mundo (Kelman, 1953). La raza 3 es de más reciente determinación, y ocurre en zonas frías como las alturas de la región andina (French et al., 1972; Herrera, 1972) y en el Uruguay (Stuckey et al., 1975).

* Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú.

La transmisión de P. solanacearum ocurre principalmente por el uso de semilla (tubérculos) portadora de la bacteria, lo cual ha dado lugar a una diseminación rápida y a través de distancias considerables. En forma local, la bacteria es transportadora por el agua, y en el suelo que se adhiere a los implementos y a los pies del hombre (French, et al., 1972). Se considera que P. solanacearum sobrevive muchos años en el suelo (Kelman, 1953; Nielsen y Haynes, 1960). Investigaciones recientes por French et al., (1975) indican que la bacteria de la marchitez bacteriana persiste más en suelos de Sierra pero que ésto no ocurre en Virú, casi a nivel del mar. En la Estación Experimental La Selva en Rionegro (Antioquia) Colombia, a 2 100 metros de altitud, la infectividad para la papa se redujo rápidamente hasta ser casi nula en tres meses, siendo el suelo ácido y rico en materia orgánica (Navarro, 1975).

LITERATURA CITADA

1. BUDDENHAGEN, I.W., L. SEQUEIRA and A. KELMAN. 1962. Designation of races in Pseudomonas solanacearum. Phytopathology 52: 726 (Abstr.)
2. FRENCH, E.R., and I.A. HERRERA. 1969. Cultural and pathogenicity studies with peruvian isolates of Pseudomonas solanacearum. Phytopathology 59: 1026-1027 (Abstr.)
3. FRENCH, E.R., H. TORRES, T. AMES DE ICOCHEA, L. SALAZAR, C. FRIBOURG, E.N. FERNANDEZ, A. MARTIN, J. FRANCO, M.M. DE SCURRAH, I.A. HERRERA, C. VISE, L. LAZO y O.A. HIDALGO. 1972. Enfermedades de la papa en el Perú. Ministerio de Agricultura Bol. Tech. 77. Est. Exp. Agric. La Molina, Lima, Perú, 36 p.
4. FRENCH, E.R., L. GUTARRA and G. VILCHEZ. 1975. Field Survival of Pseudomonas solanacearum race 3 in Peru. EAPR Abstracts of papers, 6th Triennial Conference, Wageningen, p. 96.
5. HERRERA, I.A. 1972. Progresos en la selección de resistencia a la marchitez bacteriana en el Perú. Pages 193-195 in French, E.R. (ed.) Prospects for the potato in the developing world. Centro Internacional de la Papa, Lima-Perú.
6. KELMAN, A. 1953. The bacterial wilt caused by Pseudomonas solanacearum. N. Carolina Agr. Exp. Sta. Tech. Bull. 99. 194 p.
7. NAVARRO, R. 1975. Supervivencia de Pseudomonas solanacearum E.F. Smith en suelos cultivados con papa. Noticias Fitopatológicas (Colombia) 4: 160-166.
8. NIELSEN, L.W. and F.S. HAYNES. 1960. Resistance in Solanum tuberosum to Pseudomonas solanacearum. Am. Potato J. 37: 260-267.
9. STUCKEY, R., C. MOSCARDI y S. GARCIA. 1975. Podredumbre parda en papa. Minist. Agric. y Pesca, CIA - Est. Exp. "Las Brujas", Uruguay. Hoja Divulg. 2(4 p.)

FUENTES DE DISPERSION Y ETIOLOGIA DE UN MARCHITAMIENTO BACTERIANO Y PUDRICION DE TUBERCULOS DE PAPA EN EL SUDESTE DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Alicia Melegari* y A. Escande**

INTRODUCCION

El sudeste de la provincia de Buenos Aires es la principal zona productora de papa para consumo y para semilla de la Argentina por reunir características ecológicas, físicas y socioeconómicas que posibilitaron el logro de buenos rendimientos y de buena simiente durante años.

Para mantener un adecuado estado sanitario de los cultivos es necesario protegerlos de aquellas enfermedades que, además de ocasionar una severa disminución de los rendimientos y daños durante la conservación, sean de difícil control y comprometan la calidad de la simiente.

El activo movimiento de papa para siembra que se produce entre las distintas zonas productoras de la Argentina y desde el exterior, conduce en ocasiones a la introducción y difusión involuntarias de nuevas enfermedades que, en algunos casos, amenazan la producción.

Un ejemplo de ello fue la aparición de un marchitamiento de plantas y una pudrición de tubérculos, ambos aspectos de origen bacteriano. Esta enfermedad se observó por primera vez en el sudeste bonaerense durante la temporada de 1978/1979, y posteriormente en la de 1980/1981, en escasos lotes del cultivar Kennebec destinados a la producción de papa para consumo. En los cultivos afectados, el follaje de algunas plantas presentaba síntomas de marchitamiento con una marcada epinastia, coloración verde grisácea y hojas de consistencia flácida. En ocasiones las plantas afectadas se presentaban aisladas y distribuidas al azar; en estas circunstancias las plantas adyacentes a las enfermas las ocultaban con su follaje, pudiendo pasar inadvertidas. En otros casos se observaron filas de dos, tres o más plantas de un mismo surco o manchones de diámetro variable con plantas afectadas.

En el corte longitudinal de la base de los tallos enfermos, se observó una coloración marrón de los haces vasculares. Cuando las plantas enfermas habían formado tubérculos, al cortarlos longitudinalmente y ejercer presión en los mismos, se observó la presencia de gotas viscosas de color crema que salían de los haces vasculares. En los casos en que los tubérculos estaban muy afectados fue posible observar la zooglea bacteriana saliendo por los ojos de los mismos.

El objetivo de este trabajo fue determinar el agente causal de la enfermedad y la fuente de dispersión del inóculo.

MATERIALES Y METODOS

Con la cooperación de las Agencias de Extensión Rural de la Estación Experimental Regional Agropecuaria de Balcarce, INTA, se detectaron los

* Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Argentina.

** Estación Experimental Regional Agropecuaria de Balcarce, INTA, Balcarce, Argentina.

lotes de papa del sudeste bonaerense que presentaban síntomas de marchitamiento de plantas y pudrición de tubérculos. En cada caso se registró el lugar de origen de la papa utilizada para la siembra, el porcentaje de plantas afectadas y los cultivos sembrados en años anteriores en el lote afectado.

A partir del signo de la enfermedad observado en tubérculos y tallos de plantas afectadas, se realizaron aislamientos en agua destilada y esterilizada. El Dr. C. Martin del Centro Internacional de la Papa, identificó los aislamientos realizados en el primer año.

En la campaña de 1980/1981, la identificación del patógeno se realizó en el Laboratorio de Patología Vegetal de la EERA de Balcarce, INTA, utilizando el medio de Tetrazolio (Kelman, 1954) para la determinación del género y de la especie. Para la determinación de biotipo se realizaron pruebas de utilización de manitol, sorbitol, lactosa y maltosa (Hayward, 1976). Se inocularon plantas de los cultivares Huinkul MAG, Spunta y Kennebec, para lo cual el patógeno fue sembrado en un medio de Kelman, sin tetrazolio, y los cultivos fueron colocados a 30°C, en la oscuridad, durante 48 horas. Se preparó una suspensión del cultivo en agua destilada y esterilizada, cuya concentración no fue medida, utilizando un anza esterilizado. Se efectuó una punción axilar en el tercio superior de plantas de 25 cm de altura, donde se depositó una gota de la suspensión del cultivo. Las plantas fueron acondicionadas a 30°C bajo luz/día continua de 2 000 lux hasta que se observaron síntomas de marchitamiento. De las plantas con síntomas se realizaron reaislamientos.

RESULTADOS

En el sudeste de la provincia de Buenos Aires, durante la campaña 1978/1979, se detectó la enfermedad en seis lotes del cultivar Kennebec. En ellos el porcentaje de plantas afectadas osciló entre 5 y 25%.

Además de la disminución de los rendimientos originada por la muerte prematura de las plantas, en algunos lotes afectados se registraron pudriciones que afectaron hasta el 85% de los tubérculos producidos.

El Dr. Martin identificó al patógeno como Pseudomonas solanacearum E.F. Smith raza 3, biotipo II.

En todos los casos la papa utilizada para siembra provenía de la zona productora de Rosario y los cultivos estaban sembrados en terrenos en los que no se había cultivado papa durante los últimos cinco años.

En Marzo de 1979 se visitó la zona de Rosario y se recorrieron 320 hectáreas, que representaban aproximadamente el 50% del área sembrada con tubérculos del cultivar Kennebec provenientes de Canadá.

El 73% de la superficie recorrida presentaba plantas con síntomas y signos idénticos a los mencionados anteriormente y correspondía a lotes en los que se había cultivado papa en forma continua, al menos durante los dos años anteriores.

El porcentaje restante, aparentemente libre de la enfermedad, correspondía a un lote en el que se realizaba la segunda siembra de papa luego de diez años

de campo natural; la primera siembra se había efectuado en julio de 1978 con papa del cultivar Huinkul MAG procedente del sudeste bonaerense.

En la campaña papera de 1980/1981, en el sudeste de la provincia de Buenos Aires, se detectó la enfermedad en cuatro lotes del cultivar Kennebec. En todos los casos, la papa para siembra provenía de la zona de Rosario y en ninguno de los lotes se había cultivado papa en los últimos cinco años.

Los aislamientos efectuados confirmaron la presencia de P. solanacearum raza 3, biotipo II; en el medio de Kelman con tetrazolio se desarrollaron, al cabo de 48 horas de incubación, típicas colonias blancas con una tonalidad rosada formando una espiral en el centro de aquéllas.

Al inocular plantas de los cultivares Huinkul MAG, Spunta y Kennebec, se produjeron los síntomas característicos de la enfermedad. De dichas plantas se aisló P. solanacearum raza 3, biotipo II.

DISCUSION

Para impedir la propagación de la enfermedad a través de la siembra de tubérculos provenientes de áreas afectadas en otras zonas de producción, sería necesario delimitar con precisión el área afectada, educar a los sectores vinculados a la producción de papa y adoptar las medidas de policía sanitaria necesarias para alcanzar dicho objetivo.

Debido a que la semilla infectada es la principal fuente de inóculo de la enfermedad, para su control es necesario utilizar semilla libre del patógeno. Para realizar esta medida es recomendable establecer cuarentenas internas que impidan el traslado de papa para siembra de zonas afectadas a zonas libres de la enfermedad.

En los campos contaminados se debe excluir la siembra de papa por un período de cinco años como mínimo y el esquema de rotación elegido para ese período no debe incluir solanáceas.

En el sudeste de la provincia de Buenos Aires, los lotes afectados fueron localizados con precisión y la producción de esos cultivos fue destinada a consumo en su totalidad. En los terrenos contaminados no se ha vuelto a cultivar papa y las largas rotaciones que se practican en esta zona productora, que comprenden períodos no inferiores a cinco años, permiten esperar la erradicación de la enfermedad mientras no se utilice simiente contaminada.

CONCLUSIONES

Se comprobó la presencia de Pseudomonas solanacearum raza 3, biotipo II. Se determinó que la enfermedad era originada por la siembra de tubérculos infectados provenientes de campos de la zona productora de Rosario, Argentina, donde se practicaban cultivos continuos de papa sobre el mismo terreno. Al ser inoculadas, las plantas de los cultivares Huinkul MAG, Spunta y Kennebec manifestaron epinastia y marchitez.

El bajo número de lotes afectados en el sudeste de la provincia de Buenos Aires y las largas rotaciones de cultivos que se practican allí, permiten esperar la erradicación de la enfermedad mientras no se siembre simiente contaminada.

LITERATURA CITADA

1. HAYWARD, A. 1976. Some techniques of importance in the identification of Pseudomonas solanacearum. In: Planning conference and workshop on the ecology and control of bacterial wilt caused by Pseudomonas solanacearum. North Carolina State University, Raleigh. pp. 137-142.
2. KELMAN, A. 1954. The relationship of pathogenicity in Pseudomonas solanacearum to colony appearance on tetrazolium medium. Phytopathology 64: 693-695.

AVANCES EN LOS ESTUDIOS SOBRE METODOLOGIA DE DETECCION DE
Pseudomonas solanacearum EN EL URUGUAY

F. Canale, A. Peralta, M. Colombo*

La pudrición parda de la papa en el Uruguay ha sido diagnosticada hasta el presente en forma rutinaria mediante sintomatología de campo, uso de medios de cultivo diferenciales, pruebas bioquímicas e inoculación de plantas hospedantes. Debido a su lentitud, dichas técnicas no son útiles para el procesamiento de un gran número de muestras, ni se adaptan bien a estudios detallados de aspectos ecológicos de sobrevivencia de la bacteria en el suelo. Por ello, el Departamento de Bacteriología de la Dirección de Sanidad Vegetal inició estudios para adaptar distintas técnicas serológicas para el diagnóstico rápido de P. solanacearum. Se han probado dos técnicas: ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) según descripción de Clark y Adams (1977) e IIF (inmunofluorescencia indirecta) según Faure et al. (1977).

Los resultados preliminares indican lo siguiente:

- En el diagnóstico "in vitro" de cultivos puros de la bacteria es posible detectar con ELISA hasta $7,5 \times 10$ bacterias/ml, y con IIF hasta $7,5 \times 10^2$ bacterias/ml.

- En el caso de suelos artificialmente infestados, siguiendo el proceso de floculación utilizado por Schmidt (1974), con algunas modificaciones, y usando ambas técnicas se pueden detectar poblaciones de hasta 6×10^2 bacterias/g de suelo.

Para extraer la bacteria del suelo se agitó vigorosamente una dilución 1:10 de suelo en agua, a la cual se adicionó Tween 80 y una silicona antiespumante. La suspensión producida, se dejó sedimentar en presencia de un agente floculante. Una alícuota del sobrenadante fue filtrada, concentrada y enriquecida. Se utilizó suelo estéril, artificialmente inoculado con distintas concentraciones de bacterias.

Tanto ELISA como IIF fueron aplicadas a los distintos pasos del procedimiento de extracción. Los resultados de ambas pruebas se presentan en los cuadros 1 y 2 respectivamente.

La especificidad del antisuero utilizado se probó a nivel de género y raza, pero no a nivel de especie de Pseudomonas. Es posible distinguir géneros, pero no razas (Cuadro 3). Estos resultados son lógicos, si se tiene en cuenta que en la preparación del antisuero se utilizaron células enteras como antígeno.

Estos resultados son promisorios desde el punto de vista de aplicabilidad de estas técnicas en estudios epidemiológicos de esta enfermedad, por ejemplo: en la resistencia de distintos cultivares, la sobrevivencia en el suelo, la prueba de lotes de semilla, la acción de productos desinfectantes, etc., que se contemplan como líneas de trabajo en la División Fitopatológica.

* Técnicos de la División Fitopatológica de la Dirección General de Sanidad Vegetal, Uruguay.

LITERATURA CITADA

1. CLARK, M.F., A.N. and ADAMS. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34, 475-483.
2. FAURE, M., P. DUPOUEY and M.J. MORELEC. 1977. Les techniques de l'immunofluorescence et les réactions immunoenzymatiques. Maloine S.A. Editeur, Paris. 566 p.
3. SCHMIDT, E.L. 1974. Quantitative autoecological study of microorganisms in soil by immunofluorescence. Soil Sci., 118: 141-149.

Cuadro 1. Detección de P. solanacearum con ELISA en tres etapas de extracción de la bacteria del suelo.

Etapa	6×10^9	6×10^7 6×10^3	6×10^2	6×10	T.suelo	Suero	
							Salino	
Filtrado	3*	0	0	0	0	0	0	0
Concentrado	4	3	1	1	0	0	0	0
Enriquecido	4	4	2	1	0	0	0	0

* Escala: 4 = reacción de color amarillo intenso; 3 = reacción media;
2 = reacción débil; 1 = reacción muy débil; 0 = sin desarrollo de color.

Cuadro 2. Detección de P. solanacearum con IIF en tres etapas de extracción de la bacteria de un suelo artificialmente inoculado.

Etapa	6×10^9	6×10^7 6×10^3	6×10^2	6×10	T. suelo		
Filtrado	+	+	-	-	-	-		
Concentrado	+	+	+	+	-	-		
Enriquecido	+	+	+	+	-	-		

+ = Se detectan células fluorescentes en el frotis.

- = No se detectan células fluorescentes en el frotis.

Cuadro 3: Especificidad del suero anti-Pseudomonas solanacearum.

Espece (Cepa)	Raza	Origen	Elisa*	IIF**
<u>X. campestris</u> <u>pv. citri "A"</u> (X.C.IV)		R.O.U.	0	-
<u>X. campestris</u> <u>pv. phaseoli</u> <u>ssp. fuscans</u> (IBBF 158)		Brasil	0	-
<u>E. herbicola</u>		EE.UU.	0	-
<u>Ps. solanacearum</u> (PS 15)	3	Uruguay	3	+
(62)	1	Brasil	3	+
(98)	3	Brasil	3	+
(K-60)	1	Brasil	4	+
(188)	2	Brasil	2	+

* 4 = reacción de color amarillo intenso; 3 = reacción media;
2 = reacción débil; 1 = reacción muy débil;
0 = sin desarrollo de color.

** + = se detectan células fluorescentes en el frotis.
- = no se detectan células fluorescentes en el frotis.

DIAGNOSIS DE LA MARCHITEZ BACTERIANA DE LA PAPA, CON ENFASIS EN LATENCIA

E.R. French*

El diagnóstico de la marchitez bacteriana causada por Pseudomonas solanacearum requiere los siguientes pasos:

1. Observación cuidadosa de los síntomas comparándolos con los descritos en la literatura (Kelman, 1980).
2. Detección de exudado bacteriano del sistema vascular de plantas con síntomas. Las plantas jóvenes se someten a la prueba de flujo de un segmento del tallo (Martín, 1981). Cuando hay tubérculos maduros se puede, a veces, ver exudado por los ojos donde generalmente se adhiere el suelo (Fucikovsky, 1979). Si no los hay, se cortan tubérculos para observar exudado sobre la superficie cortada (French et al., 1972; Martín 1981).
3. Realización de la Tinción de Gram "rápida" (French y Herbert, 1980) con resultado gram negativo. Con esta prueba se distingue a esta enfermedad de la única con la cual se podría confundir por sintomatología: la pudrición anular causada por Corynebacterium sepe-donicum.

Estos tres pasos dan un alto grado de confianza, pero cuando se trata de la presencia de la enfermedad por primera vez en una región o país, se debe comprobar la patogenicidad de la bacteria y realizar su identificación. La determinación del biotipo ayuda a clasificar el patógeno en raza 1 ó 3.

La serología es un método cuya utilidad en la clasificación de las bacterias exige aún mayor refinamiento. Digat y Cambra (1976) desarrollaron un antisuero para Pseudomonas solanacearum, pero no fué de adecuada especificidad.

Schaad et al., (1978) prepararon antisueros para un extracto proteico complejo de la membrana celular y pudieron distinguir cinco serotipos. El serotipo II correspondió a seis aislamientos de papa. Lamentablemente, para conseguir esta especificidad se requiere el uso de métodos muy laboriosos. Sequeira** ha desarrollado antisueros para los principales biotipos.

Fucikovsky (1978) desarrolló un método para realizar pruebas de oxidasa en campo, que da resultados a los 10 segundos después de colocar papel de filtro impregnado en una solución de 1% N,N-dimethyl-p-phenylenediamine sobre la superficie recién cortada de un tubérculo del que se sospecha que proviene de una planta con marchitez. Este método funcionó bien con las variedades comerciales afectadas por marchitez en México, pero debe ser ensayado para cada variedad ya que algunas dan respuestas positivas cuando están sanas.

La latencia o no presencia de síntomas cuando hay infección, da lugar a una rápida diseminación de P. solanacearum con la papa (Hayward, 1979) por ser este cultivo reproducido vegetativamente. La raza 3 es la que ha estado involucrada más veces en casos de latencia y se ha diseminado a los lugares

* Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú.

** Dr. Luis Sequeira, Universidad de Wisconsin, comunicación personal.

más altos de la Cordillera de los Andes (3 500 m en Chocón, Junín-Perú) y a las latitudes más distantes de la línea ecuatorial (Sur de Suecia; Provincia de Buenos Aires, Argentina), según el registro de aislamientos de la colección del CIP.

Cuando se siembran en climas más cálidos tubérculos con infección latente, los resultados pueden ser serios y hasta desastrosos. Desastres recientes han sido registrados en el norte del Perú (French et al., 1972) en el programa de producción de semilla en Sudáfrica* y en menor grado en México (Fucikovsky, 1978).

Cuando ha ocurrido marchitez bacteriana como consecuencia de la siembra de tubérculos enfermos, ésta se perpetúa si el agricultor escoge tubérculos aparentemente sanos de su cosecha y los vuelve a sembrar, aunque sus condiciones no sean propicias para el mantenimiento de la enfermedad a través del inóculo del suelo (French et al., 1975).

El desarrollo de la infección latente depende de muchos factores incluyendo temperatura y nivel de resistencia del cultivar (Ciampi et al., 1980). Detectar esa latencia puede ser difícil, por lo cual se debe evitar el uso de semilla de origen desconocido. Sin embargo, hay situaciones en las cuales un programa de semilla de papa tiene que ser desarrollado en campos en los cuales P. solanacearum es indígena, aunque no limitante.

Ejemplos son los programas de semilla de Ruanda (CIP, 1982) y Sri Lanka**, en los cuales se sacan del campo las plantas marchitas y el suelo adyacente. En Sri Lanka se sacan también las plantas vecinas, mientras que en Ruanda se cosechan éstas aparte para consumo.

Cuando un campo semillero ha tenido marchitez bacteriana, aunque se tomen las medidas señaladas para los casos de Ruanda y Sri Lanka, es probable que la semilla transmita un nivel bajo de la enfermedad, lo cual se ha visto en Sri Lanka.

En Nepal, Hogger y Shrestha (1981) demostraron que en el valle de Kathmandu se podía producir semilla de bajo contenido de marchitez latente si se usaba semilla seleccionada antes y después de almacenar a 25°C durante un mes y si se seguía la secuencia de rotación arroz: papa: forraje natural en el curso de un año.

Con miras a poder evaluar si semilla de origen no certificado tenía infección latente, González (1977) demostró que podía detectar la presencia de marchitez en tubérculos escogidos de un cultivo que tuvo 15% de marchitez. Almacenó muestras de tubérculos aparentemente sanos a 28°C por 3 y 6 semanas detectando así tanto los tubérculos enfermos que se pudrieron o mostraron síntomas externos como otros que tuvieron síntomas internos.

Para determinar con mayor precisión la infección latente, Ciampi et al., (1980) utilizaron cultivos de enriquecimiento para detectar la presencia de P. solanacearum en tubérculos inoculados. Sin embargo, en los trabajos rutinarios del CIP, se ha encontrado que hay mayor probabilidad de detectar

* A. Kelman, comunicación personal.

** Velupillai y French, por publicar.

infecciones latentes de bajo nivel en tubérculos si se colocan trozos de tubérculo, que incluyen el haz vascular cerca del estolón, en agua estéril por unos 10 minutos y luego se estría sobre medio Kelman. Si se prolonga el tiempo y se provee un medio nutritivo, generalmente las bacterias secundarias se multiplican más rápidamente y no es posible aislar a Pseudomonas.

LITERATURA CITADA

1. CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA. 1982. Herramientas sencillas y selección para mejorar semilla de papa. Circular CIP N° 10(1). 5 p.
2. CIAMPI, L., L. SEQUEIRA, and E.R. FRENCH. 1980. Latent infection of potato tubers by Pseudomonas solanacearum. Am. Potato J. 57: 377-386.
3. DIGAT, B. and M. CAMBRA. 1976. Specificity of antigens in Pseudomonas solanacearum E.F. Smith and application of serology for studying bacterial wilt. Pages 38-57 in Sequeira, L. and A. Kelman (eds.) Proc. Int. Planning Conf. and Workshop on the ecology and control of bacterial wilt caused by Pseudomonas solanacearum. Raleigh, N.C.- U.S.A.
4. FRENCH, E.R., L. GUTARRA and G. VILCHEZ. 1975. Field survival of Pseudomonas solanacearum race 3 in Peru. Europ. Assoc. Potato Res. VI Trienn. Conf. Papers. p. 96.
5. FRENCH, E.R. y T.T. HEBERT. 1980. Métodos de Investigación Fitopatológica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, San José, Costa Rica, 289 p.
6. FRENCH, E.R., H. TORRES, T. AMES DE ICOCHEA, L. SALAZAR, C. FRIBOURG, E.N. FERNANDEZ, A. MARTIN, J. FRANCO, M.M. de SCURRAH, I.A. HERRERA, C. VISE, L. LAZO y O. A. HIDALGO. 1972. Enfermedades de la papa en el Perú. Ministerio de Agricultura Bol. Tecn. 77. Est. Exp. Agríc. La Molina, Lima-Perú, 36 p.
7. FUCIKOVSKY, L. 1978. Distribution of Pseudomonas solanacearum in Mexico and its early detection in potato tubers. Pages 863-867 in Station de Pathologie Végétale et Phytobactériologie (ed.), Proc. IV Int. Conf. Pl. Pathog. Bact. Angers-France.
8. FUCIKOVSKY, L. 1979. Methods of diagnosing Pseudomonas solanacearum. Pages 40-45 in Developments in Control of Potato Bacterial Diseases. International Potato Center, Lima-Peru.
9. GONZALEZ, L.C. 1977. Determinación de niveles de infección por Pseudomonas solanacearum en tubérculos de papa. Fitopatología 12: 101-104.
10. HAYWARD, A.C. 1979. Bacterial wilt of potato in the tropics. Pages 71-89 in Pathogens and pests of the potato in the tropics. Proceedings II Reg. Symp. CIP, Los Baños, Philippines.

11. HOGGER, C.H. and S.K. SHRESTHA. 1981. Control of brown rot of potatoes with crop rotation and clean seed in the Kathmandu valley of Nepal. J. Inst. Agric. and Animal Sc. Rampur, Nepal.
12. KELMAN, A. 1980. Marchitez bacteriana, pudrición parda. En: Hooker, W.J. (ed.). Compendio de enfermedades de la papa. Trad. de inglés por T. Ames de Icochea. Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú. pp. 40-42.
13. MARTIN, C. 1981. La marchitez bacteriana de la papa; Pseudomonas solanacearum. Bol. de Inf. Técnica 13. Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú. 15 p.
14. SCHAAD, N.W., A. TAKATSU and J.C. DIANESE. 1978. Serological identification of strains of Pseudomonas solanacearum in Brazil, p. 295-300 in Station de Pathologie Végétale et Phytobactériologie (ed.), Proc. IV Int. Conf. Pl. Pathog. Bact., Angers-France.

Pseudomonas solanacearum: POTENCIAL DE INOCULO Y SU DETERMINACION

G.A. Granada*

INTRODUCCION

Un gran volumen de la investigación sobre marchitez bacterial por P. solanacearum se limita a registrar nuevos brotes de la enfermedad sobre diferentes especies vegetales, aspectos taxonómicos, pérdida de la resistencia de materiales resistentes o tolerantes, etc. Pocos trabajos presentan datos sobre aspectos epidemiológicos de la enfermedad. La escasez de trabajos en el campo epidemiológico reside principalmente en la falta de metodología y técnicas adecuadas para acometer este tipo de estudios.

En términos generales, mientras la investigación de aspectos epidemiológicos no sea considerada al mismo nivel que la generada para aspectos de mejoramiento por resistencia genética, la explicación a muchos fenómenos de la enfermedad continuará pendiente. Dicha investigación, para lograr sus cometidos, deberá ser continua y replicada principalmente en sitios donde la enfermedad tenga características endémicas.

Afortunadamente, el interés por estudios de tipo epidemiológico es creciente en nuestros días. Esperamos ver en un futuro cercano que el resultado de conferencias de planeación como ésta, acelere la investigación necesaria que permita disponer de metodología adecuada para medir cualitativa y cuantitativamente aspectos epidemiológicos de Pseudomonas solanacearum.

POTENCIAL DE INOCULO

1. Inóculo potencial en el suelo

La presencia de inóculo potencial en el suelo equivale a la capacidad de supervivencia del patógeno en dicho suelo.

Los resultados de trabajos iniciales de Smith (1944) sobre control de la bacteria por rotación de cultivos establecieron la idea de que la bacteria podía sobrevivir en el suelo por muchos años. Información más reciente, sin embargo, parece indicar que en términos generales la supervivencia de P. solanacearum está relacionada a la especialización fisiológica, y que en ausencia de plantas, a) la raza 1 sobrevive por más tiempo que las razas 2 y 3 (Buddenhagen, 1965; Tanaka, 1979b; Ramos, 1976; Smith, 1943; McCarter, 1976; Seneviratne, 1976), b) cepas de la raza 2 pueden sobrevivir más tiempo (Sequeira, 1962; Stover, 1972) que raza 3 (Navarro, 1975; Rangaswami y Thirunavukarasu, 1964).

Bajo condiciones de campo es difícil separar permanentemente la influencia de las plantas y residuos de cosecha sobre la supervivencia de P. solanacearum. Quizá sea ésta una de las razones por las cuales se haya registrado diversidad de comportamientos para dicha bacteria en el suelo. Plantas no consideradas como hospedantes por algunos autores en épocas anteriores, o residuos de cosecha incorporados al suelo, han podido viciar registros de supervivencia como tal.

* Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Palmira, Colombia.

Bajo condiciones de laboratorio y de invernadero se ha demostrado que la supervivencia de P. solanacearum en suelo desnudo, no va más allá de un año en el mejor de los casos (Hsu, 1977; Granada, 1981; Rangaswami y Thirunavukarasu, 1964; Graham y Lloyd, 1979).

Sin descartar el hecho de que condiciones de suelo, textura, humedad, pH, etc. puedan tener una marcada influencia en la relativa supervivencia de P. solanacearum en el suelo per se, es posible que los registros de larga supervivencia de la bacteria bajo condiciones naturales estén afectados principalmente por la presencia de plantas que, actuando como hospederas sin manifestación de síntomas (Granada y Sequeira, 1981; French et al., 1981; Berg, 1971) o como simples portadoras, mantienen altas poblaciones infectivas capaces de manifestarse sólo cuando por prácticas de rotación de cultivos se siembran cultivos susceptibles, dando la impresión de que la bacteria ha sobrevivido en el campo por largos períodos de rotación, como es el caso registrado por Smith en 1944.

2. Inóculo potencial en tejido vegetal

a) Semilla botánica. Registros de la Unión Soviética indican que P. solanacearum puede sobrevivir en semilla de trébol (Nikitina and Korsakov, 1978), y frijol y lupino (Budanova et al., 1976).

El trabajo de Elango y Lozano (1980) acerca del papel de semilla botánica de yuca como portadora de inóculo potencial de Xanthomonas campestris pv. manihotis, patógeno de tipo vascular al igual de P. solanacearum, indica, al igual que los registros de la Unión Soviética, la importancia de la semilla botánica como posible fuente de inóculo potencial. Recientemente, Granada* ha aislado P. solanacearum (biotipo 2 ó raza 3) a partir de bayas de papa cosechadas de plantas con síntomas de marchitez bacteriana. La nueva modalidad de cultivo de la papa a través de semilla botánica, hace pensar que la posibilidad de transmisión de la bacteria a través de semilla botánica no se debe descartar.

b) Semilla vegetativa (tubérculos). Cuando el cultivo de materiales de papa tolerantes o resistentes sobre suelo infestado da lugar a la producción de tubérculos con infección latente, las posibilidades de incrementar y diseminar el inóculo potencial en esos materiales es mayor. Quizás la mayor y más efectiva distribución de la bacteria alrededor del mundo se realizó cuando se intercambiaba la semilla vegetativa entre los países interesados en la adquisición de germoplasma con mejores características agronómicas y de resistencia a enfermedades que los locales o nacionales. El trabajo de Ciampi et al. (1980) a este respecto no deja ninguna duda acerca del papel de clones tolerantes como posibles portadores de inóculo potencial.

3. Inóculo potencial en la rizosfera de plantas

Varias plantas no hospedantes han sido registradas como fuentes de inóculo potencial de fitopatógenos tales como Erwinia corotovora var. atroseptica (de Mendonca and Stanghellini, 1979), Erwinia sp. (Burr and Schroth, 1977; Kikumoto and Sakamoto, 1969), Pseudomonas syringae pv. tabaci

* Información sin publicar.

y P. angulata (Valleau et al., 1944), Xanthomonas campestris pv. vesicatoria (Diachum and Valleau, 1946), X. campestris pv. malvacearum (Smith, 1962), X. campestris pv. oryzae y X. campestris pv. citri (Goto, 1971).

Existen pocos registros del comportamiento de P. solanacearum en la rizosfera de plantas hospedantes y no hospedantes. Quimio y Chan (1970) registraron declinación gradual de poblaciones de la bacteria (raza 1) en la rizosfera de Eleusine indica, Oryza sativa y Zea mays, y aumento en la rizosfera de Portulaca oleracea.

Granada y Sequeira (1981) en un estudio detallado mediante inoculaciones (por inmersión) del sistema radicular de plántulas hospedantes resistentes de pimentón, tomate e higuera, encontraron que P. solanacearum, a diferencia de otras bacterias fitopatógenas, no sobrevive en la rizosfera. La presencia de poblaciones significativas en la rizosfera siempre estuvo asociada con infección local o sistémica del sistema radicular sin que las plantas mostraran síntomas.

Aunque en el estudio realizado por Quimio y Chan (1979) se incluyeron observaciones por sólo nueve semanas, los resultados coinciden con los encontrados por Granada y Sequeira (1981) respecto a la declinación de poblaciones iniciales de la bacteria en la rizosfera y a la presencia de infección en los casos de aumento de poblaciones.

Tanaka y Tomaru (1970) encontraron que las poblaciones de P. solanacearum eran mayores en la rizosfera de variedades de tabaco susceptibles que en la de resistentes, pero es probable que lo observado equivalga a diferentes grados de invasión de las raíces sin expresión de síntomas, y no a la supervivencia del patógeno per se en la rizosfera. Otras determinaciones en las que se registran diferentes grados de persistencia de la bacteria en la rizosfera de malezas (French et al., 1981), pueden tener su explicación en la afirmación anterior.

4. Plantas de cultivo resistentes o tolerantes como reservorios de inóculo potencial

La asociación de P. solanacearum con plantas tales como frijol (Bushkova, 1974; Akiba et al., 1981) algodón (Sulladmath et al., 1975), melón, sandía, calabaza (Nikitina y Bychkov, 1977), papaya (Seshadri et al., 1977), soya (Myakishko et al., 1977; Nikitina y Korsakov, 1978), jute (Mishra y Ghosh, 1978) etc., ha sido considerada rara y en la mayoría de los casos de poca importancia en la ecología del patógeno.

En la mayoría de los casos anotados, los registros se han hecho con base en el estudio de plantas que, por presentar síntomas anormales en el campo, han permitido registrar la presencia del patógeno.

Si es verdad que el daño económico a muchos de los cultivos antes anotados puede ser de poca importancia, la presencia de inóculo potencial, tanto en las plantas anormales detectadas como en las aparentemente sanas, llega a ser muy importante.

Para un investigador no es extraño que al manejar materiales susceptibles a marchitez bacteriana en un campo infestado, no todas las plantas presenten

síntomas de marchitez al mismo tiempo, presentándose plantas que hasta la cosecha se ven aparentemente sanas, pero que al estudiar más detenidamente su producto se confirma que sí hubo escape a la manifestación de síntomas externos, no lo hubo a la colonización del tejido. Ej.: tubérculos de papa (Ciampi, et al., 1980), tallos y raíces de pimentón, tabaco, tomate, higuera, caña de azúcar (Granada, 1981).

Los escapes a la colonización de tejido en materiales tolerantes o resistentes, sin embargo, puede tener validez en los mismos cultivos citados, aun en los casos de inoculación del sistema radicular en época temprana. Es ésta una característica que se observa con frecuencia en P. solanacearum (Granada, 1981).

5. Plantas de cultivo no hospedantes como fuentes de inóculo potencial

Si ha sido importante conocer el comportamiento de materiales tolerantes o resistentes como fuentes de inóculo, más aún lo ha sido descubrir el mantenimiento de inóculo potencial en plantas consideradas desde hace muchos años como no hospedantes, o inmunes, a P. solanacearum.

Plantas cultivadas tales como maíz, sorgo, arveja, caña de azúcar, soya, y arroz, crecidas en suelo infestado con cepas de raza 1 de P. solanacearum permitieron determinar, previo lavado de raíces y esterilización de las mismas en alcohol al 70% por más de 10 minutos, que altas poblaciones infectivas de la bacteria podían recuperarse del macerado de raíces 10-15 días después de la siembra (Granada y Sequeira, 1981).

Quizás debido a determinaciones incompletas o equivocadas, realizadas hace muchos años, respecto al comportamiento de especies de plantas a P. solanacearum (Smith, 1944), o simplemente por la falta de estudios tendientes a conocer la epidemiología de este patógeno, muchos investigadores hasta nuestros días han debido acogerse a los conceptos establecidos hace ya unos 40 años, con las consiguientes equivocaciones en la elaboración de conclusiones.

Más concretamente, el desconocimiento del papel de plantas consideradas antes como no hospedantes en el mantenimiento de poblaciones de la bacteria capaz de llegar de nuevo a plantas susceptibles una vez cumplida la rotación, hizo pensar a muchos equivocadamente acerca de la capacidad de supervivencia de la bacteria en el suelo por largos períodos y la inoperancia de las rotaciones (Jackson y González, 1981; Smith, 1944; Harris, 1976). El estudio de cepas provenientes de Costa Rica, aisladas exactamente del mismo lugar donde Jackson y González (1981) registran inoperancia de rotaciones con maíz, frijol, caupí, tomate, etc., permitió comprobar que efectivamente la bacteria era capaz de permanecer en raíces de frijol y maíz al crecer en suelo infestado con dichas cepas. Plantas de frijol (cultivar Red Kidney), soya (cultivar Asgrow 2656), arveja (cultivar Perfection 8221), maíz (híbrido A 619 x W 64 A), sorgo (cultivar Arkansas 653), arroz (cultivar Kimmaze) y caña de azúcar (cultivar L 6296), inoculadas en su sistema de raíces en estado de plántula o sembradas en suelo infestado con cepas de raza 1, mostraron capacidad de mantener poblaciones relativamente altas en sus raíces una vez lavadas y esterilizadas en alcohol del 70% por 5-15 minutos (Granada, 1981).

En plantas de maíz inoculadas por inmersión y conservadas con buen estado de humedad hasta por tres meses más (en los materos donde desarrollaron) después de su ciclo vegetativo, se observó que la bacteria estaba aún viva en las raíces en poblaciones de 5×10^4 células/sistema de raíces*.

6. Malezas como reservorios de inóculo potencial

Las afirmaciones sobre el papel muy importante que juegan las malezas en el mantenimiento de inóculo potencial están siendo cada vez mejor documentadas. Por ejemplo, en el caso de Xanthomonas campestris, sólo recientemente se ha explicado que los altos niveles de pudrición negra de las crucíferas, registrados en los últimos 10 años en campos trasplantados o sembrados a partir de semilla, tienen su explicación en la presencia de malezas crucíferas como reservorio de inóculo potencial de X. campestris (Schaad y Dianese, 1981).

Evidencia de que especies de plantas nativas pueden actuar como reservorios de P. solanacearum se encontró sobre Heliconia y Eupatorium odoratum para las razas 2 y 1, respectivamente (Sequeira y Averre, 1961; Kelman, 1953).

Muchos trabajos registran más de 250 especies de plantas en áreas cultivadas, susceptibles a P. solanacearum: (Kelman, 1953; Dukes et al., 1965; Buddenhagen, 1969; Químio, 1974; Harris, 1976; Ramos, 1976; Erinle, 1976; Rao, 1976; Olsson, 1976; Keshwal et al., 1977; Granada y Navarro, 1978; Amat et al., 1978; Graham y Lloyd, 1978; Strider et al., 1981; Moffett y Hayward, 1980; Jackson y González, 1981).

Algunos de los hospedantes registrados son plantas perennes que no muestran síntomas (Dukes et al., 1965; Olsson, 1976; Graham y Lloyd, 1978; Berg, 1971), pudiendo actuar como fuente de inóculo potencial en forma permanente. La presencia de una cepa de una raza dada de P. solanacearum en un hospedante susceptible, no necesariamente implica que esa cepa en particular puede infectar otras plantas que sean susceptibles a otras cepas del patógeno. Registros dados por Strider et al., (1981), Químio (1974), Keshwal et al., (1977), Kelman y Person (1961) y French et al., (1981), sustentan esta afirmación.

Muy posiblemente la falta de correlación entre la presencia de malezas susceptibles en áreas cultivadas y la severidad de marchitez bacteriana se deba: a) al hecho de que en el área de estudio existan diferentes bioformas para unas de las cuales ciertas malezas y plantas de cultivo sean susceptibles y para otras no (Ramos, 1976; Seneviratone, 1976; Harris, 1976; French et al., 1981; Moffett y Hayward, 1980); b) a métodos deficientes de muestreo y detección de tal manera que, existiendo unas pocas plantas enfermas dentro de una población dada, éstas escapen al muestreo, o que siendo portadoras de población bacteriana, no todas sus raíces estén colonizadas de tal manera que, procesando sólo una parte de ellas, se escape su determinación. No necesariamente todas las plantas de una población llegan a enfermarse aunque hayan sido inoculadas, siendo necesario para la determinación de la bacteria procesar todo el sistema de raíces de la planta bajo estudio (Granada, 1981).

* Granada, información sin publicar.

7. Comportamiento de razas y bioformas

Tres razas de P. solanacearum han sido registradas con base en patogenicidad y gama de hospedantes (Buddenhagen et al., 1962), y se han descrito cuatro bioformas con base en características fisiológicas (Hayward, 1964). La raza 1 tiene una gama de huéspedes más amplia que la raza 2 y que la raza 3 (Buddenhagen et al., 1962; French, 1979).

El estudio de cepas de las razas 1 y 3 sobre clones de papa resistentes a P. solanacearum ha permitido registrar diferentes comportamientos dependiendo de la temperatura a la cual crecen los materiales. La ausencia de infección de tubérculos se logró en clones que crecían sobre suelo infestado con ambas razas (1 y 3) a baja temperatura (12 a 22°C), mientras que la infección latente se presentó a temperaturas de 24 a 28°C, siendo mayor el porcentaje de infección latente para cepas de la raza 1 (26,7%) que para cepas de la raza 3 (9,2%) (Ciampi et al., 1980).

De acuerdo con Granada y Sequeira (1981) de las tres razas conocidas, la raza 1 fue la más agresiva cuando se estudió su comportamiento sobre diferentes especies de plantas. Cepas de la raza 1 fueron consistentemente recuperadas del sistema de raíces de varios cultivos (frijol, maíz, pimentón, higuierilla, tomate) en ausencia de síntomas de marchitez a través de su ciclo vegetativo. Aunque la raza 2 (cepas 135 y 290) fue capaz de colonizar tejido de pimentón e higuierilla, y la raza 3 (cepa 276) pimentón y tomate, su comportamiento fue mucho más débil que en los casos de la raza 1 sobre los mismos cultivos. Esto no demerita, claro está, la importancia de que en una variedad o cultivar dado, la bacteria mantenga un alto nivel de inóculo potencial sin expresión de síntoma alguno. La tasa de colonización observada en tejido de plantas resistentes o consideradas no hospedantes fue lenta dado que infección sistémica sólo se detectó en la base del tallo después de 12 a 16 semanas de inoculación.

El mismo comportamiento ha sido registrado por Berg (1971) quien indicó que la colonización de hospedantes alternos de la raza 2 de P. solanacearum era lenta, permitiendo a las plantas sobrevivir entre varios ciclos de corte por medio de machete, siendo a la vez el machete la manera como el patógeno llegó a la planta de banano susceptible. La ausencia de síntomas en especies resistentes ha sido observada por muchos investigadores bajo condiciones de campo en diferentes localidades y con diversas cepas del patógeno (Smith, 1944; McCarter, 1976, Goto et al., 1978; Berg, 1971; Olsson, 1976, Rao, 1976).

Se podría postular la hipótesis de que una continua asociación de cepas de una raza dada de P. solanacearum con hospedantes que generalmente no manifiestan síntomas, tal como frijol, podría llevar a una selección de nuevas cepas más agresivas. Hay ahora más registros que antes sobre la incidencia de P. solanacearum en leguminosas (Bushkova, 1974; Quimio, 1974; Myakishko et al., 1977; Nikitina y Korsakov, 1978; Abdullah, 1980; Akiba et al., 1981). A medida que la patogenicidad se incrementa por selección, se observarán síntomas en el nuevo hospedante. El trabajo de Sequeira y Averre (1961) respecto a la selección de una creciente patogenicidad de cepas de la raza 2 de P. solanacearum en banano, pero aisladas originalmente de Heliconia, sustenta en parte dicha hipótesis.

La habilidad de las cepas de P. solanacearum para colonizar raíces de plantas hospedantes, y las de plantas previamente denominadas como no hospedantes podría llegar a explicarnos claramente la controversia existente en la literatura respecto a la supervivencia de la bacteria en el suelo, y el éxito o fracaso de rotaciones de cultivo para controlar la enfermedad.

DETERMINACION DE NIVELES DE INFESTACION

La variabilidad de cepas de Pseudomonas solanacearum, sustentada por la existencia de razas fisiológicas (Buddenhagen et al., 1962) o biotipos (Hayward, 1964; Harris, 1971), según sea su determinación basada en patogenicidad y gama de hospedantes o características fisiológicas, respectivamente, ha impedido la generalización de técnicas de determinación, a lo cual se agrega la variabilidad de comportamientos. A continuación se comentan las principales.

1. Determinación de P. solanacearum en suelo infestado

a) Medios selectivos. Alrededor de unos siete medios de cultivo (Okabe, 1969; Karganilla y Buddenhagen, 1972; Cuppels y Kelman, 1974; Harris, 1976; Tanaka y Tomaru, 1970; Nesmith y Jenkins, 1979; Granada y Sequeira, 1981), y modificaciones de ellos (Amat et al., 1978, Graham y Lloyd, 1979) se han registrado para el aislamiento de P. solanacearum. Desafortunadamente por el momento, ninguno de ellos es de uso generalizado. Haciendo uso del medio SM-1 y SM-2 de Granada y Sequeira (1981) (ver Apéndice) el presente autor ha logrado aislar poblaciones tan bajas como 10^2 células/g de suelo seco utilizando suelos infestados tanto natural como artificialmente con razas 1, 2, y 3 de la bacteria. Aunque dichas fórmulas han sido ensayadas con éxito en varios países como Perú (Martin et al., 1981), USA (Granada y Sequeira, 1981), Japón*, China y Colombia**, parece ser que los resultados son mejores al trabajar con la raza 1 sobre suelos livianos que sobre suelos pesados. En el manejo de los medios SM-1 y SM-2 es básico tener presente que la morfología de las colonias cambia drásticamente dependiendo de bacterias antagonistas capaces de crecer en el medio en un momento dado. Es necesario reajustar la formulación de tales medios para la determinación óptima en otras localidades cuando es elevado el número de bacterias contaminantes del suelo capaces de crecer en el medio.

b) Bioensayos.

1. La infiltración de hojas de tabaco (Hicks-2 and Awaha) para aislamiento y detección de P. solanacearum del suelo ha permitido en el Japón detectar poblaciones de 10^1 a 10^2 células/g de suelo en un período de 20 días (Tanaka, 1979a).

2. La siembra de plántulas indicadoras en el suelo problema a nivel de campo (Ramos, 1976; Harris, 1976; Martin et al., 1981; Navarro, 1975) o en materas con suelo problema a nivel de invernadero, con posterior observación de síntomas de la enfermedad (Tanaka, 1979; Graham y Lloyd, 1979; French et al., 1981), es quizás el método más comúnmente empleado en la determinación de la presencia de P. solanacearum.

* Tanaka, información personal.

** Granada, información sin publicar.

3. La siembra de tubérculos partidos que favorezcan una rápida formación de tubérculos pequeños en las plantas originales ha sido propuesta por Graham y Lloyd (1978) para la determinación de la raza 3, entre 10 y 14 días después de la siembra en suelo infestado.

4. Recientemente, Tanaka y Fukuda* han propuesto para la determinación de raza 1 en tabaco una nueva técnica denominada "Método de inmersión de raíz de plántula de tomate", consistente en preparar una suspensión del suelo problema en agua (1:20 suelo, agua en peso), vaciar el equivalente de 100 ml de suspensión en un recipiente, depositar luego en él una plántula de tomate (cultivar Fukuda 100) de aproximadamente dos semanas de edad y observar la manifestación de síntomas desarrollados hasta los 14 días en el invernadero a 30°C. Los autores manifiestan poder determinar con este método niveles de infestación tan bajos como 10^2 células/gramo de suelo en 3 a 6 días, dependiendo de la susceptibilidad del cultivar de tomate usado.

Datos presentados por Martin *et al.* (1981) y Tanaka y Fukuda* en los que comparan la efectividad de bioensayos con el uso del medio selectivo de Granada y Sequeira (1981) permiten recomendar el uso indiscriminado de uno u otro método de determinación, con igual éxito.

2. Determinación de P. solanacearum en tejido infectado

a) Método de enriquecimiento. Consiste en tratar tubérculos esterilizados superficialmente con hipoclorito de sodio (1% por 3 min), lavar con agua destilada estéril, sumergir en alcohol (70% por 2 min) y flamear. Una vez estériles cortar trocitos de 2 x 1 x 0,5 cm, colocarlos en tubos que contengan medio de cultivo líquido CPG (ácido casamino 1,0 g, peptona 10 g y glucosa 5,0 g) e incubar por 24 horas a 28°C. Transcurrido dicho período de incubación rayar medio de TZC y observar la presencia de P. solanacearum dos días después de incubar a 28°C (Ciampi, 1979). La utilización de un medio selectivo ayuda a hacer más eficiente esta determinación.

La determinación de niveles de infección de tubérculos de papa por P. solanacearum puede hacerse también en la forma propuesta por González (1977), consistente en el almacenamiento de tubérculos a alta temperatura (25 - 30°C) por espacio de un mes, detectando los que presenten síntomas al cabo de dicho período.

b) Método de reacción de oxidasa. Es una técnica eficaz para determinar tubérculos enfermos que de otra manera podrían tomarse como sanos. Consiste en cortar los tubérculos transversalmente realizando con la superficie del corte obtenido una impresión sobre papel de filtro impregnado con reactivo N,N dimetil-p-fenilene-diamina o su forma tetrametil. El desarrollo de una coloración roja o azul (dependiendo de la amina usada) en 10 a 15 segundos permite registrar el tubérculo como enfermo. Con este método se ha logrado determinar tubérculos enfermos con poblaciones tan bajas como 9×10^2 células/g de tejido (Fucikovsky, 1978).

c) Método serológico. Aunque al utilizar glicoproteínas (de la pared celular y el flagelo) como antígeno se ha demostrado la mayor especificidad

* Comunicación personal, 1981.

para determinar razas y cepas o bioformas de P. solanacearum (Digat, 1976), su empleo en la determinación de niveles de infestación del suelo o de tejido vegetal sigue siendo poco práctico.

CONCLUSIONES

Basándose en la evidencia actual se puede concluir que:

1. Es una necesidad sentida promover la realización de más estudios en el campo de epidemiología de Pseudomonas solanacearum.
2. La agresividad de P. solanacearum parece estar ligada con la especialización fisiológica, siendo la raza 1 la más dañina al ir a mayor número de huéspedes.
3. Pseudomonas solanacearum no parece sobrevivir en suelo per se en ausencia de especies vegetales.
4. Pseudomonas solanacearum no parece sobrevivir por largos períodos asociada a la rizosfera de plantas.
5. La supervivencia de la bacteria en el suelo después de la rotación de cultivos y su manifestación en áreas vírgenes recién cultivadas parece estar ligadas a la colonización de los tejidos (raíces y tallos) de plantas cultivadas y silvestres respectivamente, sin la manifestación de síntomas externos, dando la falsa apariencia de sobrevivir en el suelo por largos períodos.
6. Los niveles de inóculo provienen, en mayor o menor grado de la multiplicación del patógeno en plantas cultivadas susceptibles o silvestres.
7. No todos los individuos de una población (cultivada o silvestre) aparentemente uniforme, favorecen el establecimiento de P. solanacearum.
8. Cuando la población microbiana lo permita, se sugiere el medio selectivo de Granada y Sequeira para la determinación de niveles de la bacteria tanto en el suelo como en tejido aparentemente sano pero enfermo.

PROPOSICIONES

Por ser de interés como futuros temas de discusión, conviene hacer varias proposiciones en los aspectos de investigación, comunicación y ejecución.

a) Investigación

1. Determinación a nivel nacional de razas y cepas de P. solanacearum. Pocos países disponen de un inventario detallado de razas y cepas del patógeno, que ayude a explicar en un momento dado, con bases de juicio, el posible comportamiento de materiales en estudio.

2. Una vez realizado dicho inventario, estudiar la susceptibilidad (en el campo y el invernadero) de cultivos sembrados comúnmente en las áreas infestadas. Esto con el fin de conocer su comportamiento como fuentes de inóculo potencial. La ausencia de síntomas implicará el estudio del sistema radicular para determinar la presencia o ausencia de la bacteria. Igual consideración debe darse a las malezas o plantas no hospedantes. Los resultados obtenidos facilitarán la escogencia de cultivos adecuados para el establecimiento de rotaciones tendientes a controlar la enfermedad.

3. Identificación de clones tolerantes o resistentes como posibles agentes de diseminación de P. solanacearum a través de semilla botánica.

4. Estudio de las características de suelos supresivos a P. solanacearum.

5. Confirmación del uso práctico del método serológico con base en glicoproteínas como antígeno propuesto por Digat (1976), como una herramienta de diagnóstico rápida y sensitiva.

6. Estudio amplio del comportamiento de productos químicos en el control integrado de marchitez bacterial.

b) Comunicación

1. Tal como lo propuse en la reunión que sobre planeación del control de enfermedades bacterianas de la papa se llevó a cabo en el CIP en 1979, creo necesario establecer un medio de comunicación que agilice la presentación de resultados, y que permita compartir experiencias y mantener el entusiasmo entre todos los participantes.

2. Celebrar reunión periódica del grupo de investigadores, al menos cada dos años, con el fin de evaluar los proyectos y reestructurarlos cuando sea necesario.

c) Administración - Ejecución

La responsabilidad de la ejecución de proyectos sobre marchitez bacteriana debe, cuando sea posible, quedar a cargo de fitopatólogos. Dadas las limitaciones de algunos de los países participantes, en recursos económicos en el campo de la investigación a nivel nacional, se sugiere que los investigadores comprometan acciones de trabajo acordes con sus presupuestos o ayudas externas, con el fin de que los compromisos que aquí se adquieran sean una realidad en su ejecución a corto o mediano plazo, según sea el caso. Un comité o un coordinador, que pudiera ser un miembro del CIP como directo promotor de este intercambio, debe tener a su cargo la coordinación de dicha investigación para que sea continua y fructífera.

APENDICE

Composición del medio selectivo SM-1 (Granada, 1981)

Componentes básicos (g/l)	Compuestos antimicrobiales	Concentración (µg/ml o %)	
Peptona	10	Cloruro de 2,3,5 trifenil-tetrazolio	50
Glucosa	2,5	Cristal violeta	50
Acido casamino	1	Mertiolate (tintura 1:1000)	0,005 %
Agar	18	Sulfato de polimixina	100
		Cloromicetina*	5
		Tirotricina	20

* Algunas cepas de las razas 2 y 3 de P. solanacearum son susceptibles a cloromicetina.

Las soluciones madres de antibióticos y fungicidas se esterilizan individualmente disolviéndolas en etanol (70%, 1 ml) por 30 minutos, diluyendo luego a la concentración deseada con agua destilada estéril y almacenando a 4°C por un máximo de 90 días. El cloruro de tetrazolio y el cristal violeta se esterilizan a 121°C y 15 libras de presión durante siete minutos. El mertiolate se agrega sin previo tratamiento.

Composición del medio SM-2

Preparar cambiando en la fórmula (SM-1) la tirotricina y la cloromicetina por ácido nalidíxico (1 µg/ml) y novobiocina (10 µg/ml), respectivamente.

Aún cuando el crecimiento de contaminantes fungosos es mínimo en SM-1 y SM-2, se sugiere el uso de ciclohexamida (50 µg/ml) o de clorotalonil (80 µg/ml) cuando dichos contaminantes fungosos sean problema.

Determinación de niveles

Pesar 10 g de suelo; completar a 100 ml con agua destilada (dilución 1:10) y agitar por 20 a 30 minutos. Continuar diluyendo hasta 10^{-3} ó 10^{-4} . Sembrar tres platos con 0,1 ml/plato de cada una de las diluciones preparadas. Incubar a 30°C por 2 a 4 días. Las colonias se pueden presentar inicialmente como de color blanco o ligeramente rojizos. A medida que envejecen se tornan de color violeta o rojizo más intenso, siendo casi siempre flúidas, redondas, enteras, y convexas a pulvinadas.

LITERATURA CITADA

1. ABDULLAH, H. 1980. A disease of winged bean (Psophocarpus tetragonolobus) caused by Pseudomonas solanacearum in Malaysia. Plant Disease 64: 798-799.
2. AKIBA, F., P.S.T. BRIOSO, R. de L.D. RIBEIRO, O. KIMURA, J.P. PIMENTEL, and C.F. ROBBS. 1981. Occurrence of Pseudomonas solanacearum on Phaseolus beans in Brazil. In Proc. 5th. Int. Conf. Pl. Path. Bact. C. Lozano & P. Gwin, eds. p. 80. CIAT, Cali, Colombia.
3. AMAT, Z., A. ALBORNOZ, M. HEVESI, and M. STEFANOVA. 1978. Pseudomonas solanacearum detected in a naturally infested soil containing a new wild host. pp. 869-873. In Proc. 4th. Int. Conf. Pl. Path. Bact. Vol. I? Angers, France.
4. BERG, L.A. 1971. Weed hosts of the SFR strains of Pseudomonas solanacearum, causal organism of bacterial wilt of bananas. Phytopathology 61: 13-14-1315.
5. BUDANOVA, V.I., K.V. NIKITINA, and S.I. STEPANOVA. 1976. Bacterial blight of legumes caused by Pseudomonas solanacearum. (In Russian) In Rev. Pl. Pathology 56: 1096. 1977. English summary.
6. BUDDENHAGEN, I.W., L. SEQUEIRA, and A. KELMAN. 1962. Designation of races of Pseudomonas solanacearum. Phytopathology 52: 726 (Abstr.).
7. BUDDENHAGEN, I.W. 1965. The relation of plant pathogenic bacteria to the soil. In Ecology of soil-borne plant pathogens. pp. 269-284. K.F. Baker and W.C. Snyder, eds. Univ. of Calif. Press.
8. BUDDENHAGEN, I.W. 1969. Strains of Pseudomonas solanacearum in indigenous hosts in banana plantations of Costa Rica and their relationship to bacterial wilt of bananas. Phytopathology 50: 660-664.
9. BURR, T.J. and M.N. SCHROTH. 1977. Occurrence of soft Erwinia spp. in soil and plant material. Phytopathology 66: 1382-1387.
10. BUSHKOVA, L.N. 1974. Morphological, physiological and biochemical properties of the pathogens of bacterial diseases of bean. (In Russian). In Rev. Pl. Pathol. 55: 964. 1976. English summary.
11. CIAMPI, L. 1979. Distribution of Pseudomonas solanacearum in infected potato plants and the establishments of latent infections. Ph.D. Thesis University of Wisconsin-Madison, 121 p.
12. CIAMPI, L., L. SEQUEIRA, and E.R. FRENCH. 1980. Latent infection of potato tubers by Pseudomonas solanacearum. Am. Pot. J. 57: 307-317.

13. CUPPELS, D., and A. KELMAN. 1974. Evaluation of selective media for isolation of soft-rot bacteria from soil and plant tissue. *Phytopathology* 64: 468-475.
14. DE MENDONCA, M., and M.E. STANGHELLINI. 1979. Endemic and soil-borne nature of Erwinia carotovora var. atroseptica, a pathogen of mature sugar beets. *Phytopathology* 69: 1096-1099.
15. DIACHUM, S., and W.D. VALLEAU. 1946. Growth and overwintering of X. vesicatoria in association with wheat roots. *Phytopathology* 36: 277-280.
16. DIGAT, B. 1976. Specificity of antigens in Pseudomonas solanacearum. E.F. Sm. and application of serology for studying bacterial wilt. pp. 38-57. In Proc. 1st. Plan. Conf. & Workshop on bact. wilt caused by P. solanacearum. L. Sequeira & A. Kelman, eds. Raleigh, N.C.
17. DUKES, P.D., D.J. MORTON and S.F. JENKINS. 1965. Infection of indigenous hosts by Pseudomonas solanacearum in South Georgia. *Phytopathology* 55: 1055 (Abstr.).
18. ELANGO, F., and J.C. LOZANO. 1980. Transmission of Xanthomonas manihotis in seed of cassava (Manihot esculenta Crantz). *Plant Disease* 64: 784-786.
19. ERINLE, I.D. 1976. Bacterial wilt of potato and tomato in the northern states of Nigeria. pp. 73-74. In Proc. 1st. Int. Plann. Conf. Ecology & Control of bacterial wilt. L. Sequeira & A. Kelman, eds. Raleigh, N.C.
20. FRENCH, E.R. 1979. Classification, distribution and origin of Pseudomonas solanacearum. pp. 28-35. In *Developments in control of potato bacterial Diseases*. CIP. Report of Planning Conference.
21. FRENCH, E.R., C. MARTIN and U. NYDEGGER. 1981. Tropical rain forest vegetation's influence on survival of Pseudomonas solanacearum. In 5th. Int. Conf. Pl. Pathogenic Bacteria. Carlos Lozano y P. Gwin, eds. pp. 195-202. August 16-23. 1981. CIAT. Cali, Colombia.
22. FUCIKOVSKY, L. 1978. Distribution of Pseudomonas solanacearum in Mexico and its early detection in potato tubers. In Proc. 4th. Int. Conf. Plant Path. Bact. Angers. pp. 863-868.
23. GOTO, M. 1971. The significance of vegetation for the survival of plant pathogenic bacteria. pp. 39-53. In Proc. 3rd. Int. Conf. on Plant Pathogenic Bacteria. H.P. Maas-Geesteranus, ed. PUDOC. Wageningen. The Netherlands. 365 p.
24. GOTO, M., T. SHIRAMATSU, K. NOZAKI and K. KAWAGUCHI. 1978. Studies of bacterial wilt of strawberry caused by Pseudomonas solanacearum. I. Strains of the pathogen and disease tolerance of strawberry. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 44: 270-276.

25. GRAHAM, J. and A.B. LLOYD. 1978. Solanum cinereum, a wild host of Pseudomonas solanacearum Biotype II. J. Aust. Inst. Agric. Sci. 44: 124-126.
26. GRAHAM, K. and A.B. LLOYD. 1979. Survival of potato strain (race 3) of Pseudomonas solanacearum in the deeper soil layers. Aust. J. Agric. Res. 30: 489-496.
27. GRANADA, G.A. and R. NAVARRO. 1978. Tomate de árbol (Cyphomandra betacea) huésped de Pseudomonas solanacearum. ASCOLFI Informa (Colombia) 4: 5.
28. GRANADA, G.A. 1981. A selective medium for Pseudomonas solanacearum and its application in the study of survival of the bacterium in soil, rhizosphere and plant roots. Ph. D. Thesis. Univ. of Wisconsin. Madison. 101 p.
29. GRANADA, G.A., and L. SEQUEIRA. 1981. Survival of Pseudomonas solanacearum in presumed non-host plants: a new concept. In Proc. 5th. Int. Conf. Pl. Path. Bact. C. Lozano and P. Gwin, eds. pp. 213-214. CIAT. Cali, Colombia.
30. GONZALEZ, L.C. 1977. Determinación de niveles de infección para Pseudomonas solanacearum en tubérculos de papa. Fitopatología (ALF) 12: 101-104.
31. HARRIS, D.C. 1971. Intra-specific variation in Pseudomonas solanacearum. Proc. Third Int. Conf. Plant Pathogenic Bacteria. H.P. Geesteranus, ed. Wageningen.
32. HARRIS, D.C. 1976. Bacterial wilt in Kenya with particular reference to potatoes. In Proc. 1st. Planning Conf. and Workshop on Ecology and Control of Bacterial Wilt. L. Sequeira and A. Kelman, eds. 166 p. Raleigh, N.C.
33. HAYWARD, A.C. 1964. Characteristics of Pseudomonas solanacearum J. Appl. Bacteriol. 27: 265-277.
34. HSU, S.T. 1977. Survival of Pseudomonas solanacearum in the soil and infected tomato tissues. (In Chinese). In Rev. Pl. Pathology 57: 245. 1978. English summary.
35. JACKSON, M.T. y L.C. GONZALEZ. 1981. Persistence of Pseudomonas solanacearum in a naturally infested soil in Costa Rica. Phytopathology 71: 690-693.
36. KARGANILLA, D.A. and I.W. BUDDENHAGEN. 1972. Development of a selective medium for Pseudomonas solanacearum. Phytopathology 62: 1373-1376.
37. KELMAN, A. 1953. The bacterial wilt caused by Pseudomonas solanacearum. Tech. Bull. No. 99. N.C. Agric. Expt. Sta.
38. KELMAN, A., and L.H. PERSON. 1961. Strains of Pseudomonas solanacearum differing in pathogenicity to tobacco and peanut. Phytopathology 51: 158-161.

39. KESHWAL, R.L., L.K. JOSHI, S.N. KULKARNI, and P.C. CHOUBEY. 1977. Bacterial wilt of ajwain, tomato and fennel in Madhya Pradesh. In Rev. Pl. Pathology 59: 309. 1980. English summary.
40. KIKUMOTO, T., and M. SAKAMOTO. 1969. Ecological studies on the soft rot bacteria of vegetables. VII. The preferential stimulation of the soft rot bacteria in the rhizosphere of crop plants and weeds. Ann. Phytopathol. Soc. Japan 35: 36-40.
41. MARTIN, C., E. TORRES and U. NYDEGGER. 1981. Presence and distribution of Pseudomonas solanacearum in the soil at two locations in the tropics of Perú. pp. 185-194. In Proc. Fifth Int. Conf. Plant Pathog. Bacteria. C. Lozano & P. Gwin, eds. August 16-23. 1981. CIAT. Cali, Colombia.
42. McCARTER, S.M. 1976. Persistence of Pseudomonas solanacearum in artificially infested soils. Phytopathology 66: 998-1000.
43. MISHRA, C.B.P., and T. GHOSH. 1978. Evaluation of a systemic fungicide (Bavistin) in controlling Hooghly wilt of jute. In Rev. Pl. Pathology 58: 500. 1979. English summary.
44. MOFFETT, M.L. and A.C. HAYWARD. 1980. The role of weed species in the survival of Pseudomonas solanacearum in tomato cropping land. Austral. Plant Pathol. 9: 6-8.
45. MYAKISHKO, Y.P., D.V. PODKINA, and O.A. LOVRICHENKO. 1977. The resistance of regional and promising varieties of soybean to cotyledonary bacteriosis (In Russian). In Rev. Pl. Pathology 58: 388. 1979. English summary.
46. NAVARRO, R. 1975. Supervivencia de Pseudomonas solanacearum E.F.S. en suelos cultivados con papa. Noticias Fitopatológicas (Colombia) 4: 160-166.
47. NESMITH, W.C., and S.F. JENKINS, Jr. 1979. A selective medium for the isolation and quantification of Pseudomonas solanacearum from soil. Phytopathology 69: 182-185.
48. NIKITINA, K.V. 1974. Infection of clover seeds by the pathogens of bacterial blight (In Russian). In Rev. Pl. Pathology 53: 800. 1974. English summary.
49. NIKITINA, K.V. and V.P. BYCHKOV. 1977. Bacterial diseases of cucurbits in the Kuban region. (In Russian). In Rev. Pl. Pathology 58: 348. 1979. English summary.
50. NIKITINA, K.V. and N.I. KORSKOV. 1978. Bacterial diseases of soybean in the Soviet far east and in southern regions of the USSR: Search for sources of resistance to them. (In Russian). In Rev. Pl. Pathology 59: 243. 1980. English summary.
51. OKABE, N. 1969. Populations changes of Pseudomonas solanacearum and soil microorganisms in artificially infested natural field soil. In Rec. Plant Protection Res. 4: 105-108. 1971.

52. OLSSON, K. 1976. Overwintering of Pseudomonas solanacearum in Sweden. pp. 105-109. In Proc. 1st. Int. Planning Conf. and Workshop on the ecology and control of bacterial wilt caused by Pseudomonas solanacearum. L. Sequeira and A. Kelman, eds. Raleigh, N.C. 166 p.
53. QUIMIO, A.J. 1974. Cowpea, new host of Pseudomonas solanacearum in the Philippines. Philippine Agriculturist 58: 200-204.
54. QUIMIO, A.J. and H. CHAN. 1979. Survival of Pseudomonas solanacearum E.F.S. in the rhizosphere of some weed and economic plant species. Philipp. Phytopathol. 15: 108-121.
55. RAMOS, H. 1976. Comparison of survival of two Pseudomonas solanacearum strains in soil columns under constant perfusion and in field plots devoid of host cover. pp. 123-131. In Proc. 1st Int. Conf. and Workshop on the ecology and control of bacterial wilt. L. Sequeira and A. Kelman, eds. Raleigh, N.C. 166 p.
56. RANGASWAMI, G. and V. THIRUNAVUKARASU. 1964. Studies on the survival of plant pathogens added to soil. III. On four phytopathogenic bacterial species. Indian Phytopatholol. 17: 202-207.
57. RAO, M.V.B., and H.S. SOHI. 1976. Additional hosts for Pseudomonas solanacearum Smith. Current Science 45: 75-76.
58. SCHAAD, N.W. and J.C. DIANESE. 1981. Cruciferous weeds as sources of inoculum of Xanthomonas campestris in black rot of crucifers. Phytopathology 71: 1215-1220.
59. SENEVIRATNE, S.N. de S. 1976. Bacterial wilt of solanaceous crops grown in rice fields. pp. 95-101. Proc. 1st Int. Planning Conf. and Workshop on the Ecology and Control of Bacterial Wilt. L. Sequeira & A. Kelman, eds. Raleigh, N.C. 166 p.
60. SEQUEIRA, L., and C.W. AVERRE III. 1961. Distribution and pathogenicity of Pseudomonas solanacearum from virgin soils in Costa Rica. Pl. Dis. Reprtr. 45: 435-440.
61. SEQUEIRA, L. 1962. Control of bacterial wilt of bananas by crop rotation and fallowing. Trop. Agric. 39: 211-217.
62. SESHADRI, K., K.M. USMAN, T.K. KANDASWAMY and K. SEETHARAMAN. 1977. Bacterial wilt of papaya caused by Pseudomonas solanacearum. In Rev. Pl. Pathology 57: 458. 1978. English summary.
63. SMITH, T.E. 1943. Distribution of bacterial wilt (Bacterium solanacearum) in successive crops of tobacco grown on the same fields. Phytopathology 33: 1076.
64. SMITH, T.E. 1944. Control of bacterial wilt (Bacterium solanacearum) of tobacco as influenced by crop rotation and chemical treatment of the soil. Circular No. 692. USDA. 16 p.

65. SMITH, T.E. 1962. A variant culture of Xanthomonas malvacearum obtained from weed roots. *Phytopathology* 52: 1313-1314.
66. STOVER, R.H. 1972. Banana plantain and abaca diseases. CMI. 316 p.
67. STRIDER, D.L., R.K. JONES, and R.A. HAYGOOD. 1981. Southern bacterial wilt of geranium caused by Pseudomonas solanacearum. *Plant Disease* 65: 52-53.
68. SULLADMATH, V.V., R.K. HEGDE, B.C. PATIL KULKARNI, and P.C. HIREMATH. 1975. A new bacterial disease on "varalaxmi" a hybrid cotton. *Current Sci.* 44: 286. In *Rev. Pl. Pathology* 55: 242. 1976. English summary.
69. TANAKA, Y. and K. TOMARU. 1970. Studies on the infection mechanism of Pseudomonas solanacearum E.F.S., the causal agent of bacterial wilt disease of tobacco. *Bull. Hetano Tobacco Exp. Station* 68: 67-86. In *Rev. Pl. Protect Res.* 5: 120-124. 1972.
70. TANAKA, Y. 1979a. Studies on ecology and control of the bacterial wilt disease of tobacco caused by Pseudomonas solanacearum. III. Methods for isolation and detection. In *The Utsonomiya Tob. Exp. Sta. Oyama, Tochigi, Japan, Bull. No. 1.*
71. TANAKA, Y. 1979b. Studies on ecology land control of the bacterial wilt disease of Tobacco caused by Pseudomonas solanacearum. I. Investigation on the actual state of the occurrence of the bacterial wilt disease of tobacco. *The Utsonomiya Tobacco Experiment Station. Oyama, Tochigi, Japan, Bull. No. 1.*
72. VALLEAU, W.D., E.M. JOHNSON, and S. DIACHUN. 1944. Root infection of crop plants and weeds by tobacco leafspot bacteria. *Phytopathology* 34: 163-174.

CONTROL INTEGRADO DE LA MARCHITEZ BACTERIANA DE LA PAPA

Charles F. Robbs*

INTRODUCCION

En esta contribución se incluyen algunos progresos obtenidos en el Brasil sobre el "Control integrado de la marchitez bacteriana" y también se da énfasis a las líneas de investigación de este importante campo de la patología de la papa (Solanum tuberosum L.).

El Brasil, en el período 1977-79 fue el mayor productor de papa de América del Sur, y el 19° productor mundial. La cosecha de papa en el Brasil en 1980, se estimó en 1 947 666 toneladas, lo que en términos relativos significa una reducción de 9,6%, en relación con la cosecha del año anterior. La producción media en el quinquenio 1976-80, da al Paraná el primer lugar como productor, seguido de São Paulo, Río Grande do Sul, Minas Gerais y Santa Catarina, representando 99% del volumen producido en el Brasil. En contrapartida, el Estado de Paraná pierde la primacía para São Paulo, en cuanto al aspecto de productividad, pues este Estado presentó un rendimiento medio de 15 161 kg/ha (Oliveira y Miranda, 1981).

ASPECTOS DE LA ENFERMEDAD EN EL BRASIL

La papa en el Brasil es afectada por las razas 1 y 3 de Pseudomonas solanacearum que causan daños elevados al cultivo. Comúnmente se registran pérdidas superiores a 50%, que pueden ser agravadas por la pudrición de tubérculos infectados durante el almacenamiento (Robbs, 1965). La raza 3 es común en las regiones paperas de los Estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná y Santa Catarina (Rodríguez, 1976). La raza 1, además de ocurrir en otras áreas del Brasil, algunas veces juntamente con la raza 3, predomina en áreas serranas de los Estados de Río de Janeiro y Espírito Santo.

El agente de la marchitez bacteriana es indígena en muchos suelos vírgenes del Brasil (Deslandes, 1960; Robbs, 1965), siendo en otros introducido a través de papa-semilla y otras fuentes de contaminación. La bacteria puede perpetuarse en la rizosfera o como parásito de raíces en hospedantes silvestres y cultivados, tolerantes y susceptibles.

La raza 3 presenta, al contrario que la raza 1, una gama más limitada de hospedantes silvestres y cultivados (French, 1979).

PRINCIPIOS GENERALES DE CONTROL

Antes de abordar los principios generales de control de la marchitez bacteriana, vale anotar que los sistemas de producción de papa en el Brasil incluyen dos grupos distintos de productores. Un primer grupo representado por productores de papa-semilla básica, certificada o registrada, y otro grupo por productores de papa para consumo. Los requisitos técnicos y las exigencias de los componentes del primer grupo son llevados con mayor rigor

* Universidad Federal Rural de Río de Janeiro, Itaguaf, Brasil.

y conducidos con prácticas culturales algunas veces caras; el nivel de tolerancia permitido para la marchitez bacteriana en estos productores es cero (Ministerio, 1982).

En la metodología del control integrado, se utilizan dos caminos: la eliminación o reducción de inóculo primario (sobreviviente) y la desaceleración de las poblaciones fluctuantes del patógeno durante el cultivo (Robbs, 1982). Con la adopción de tales medidas, aisladamente o integrándolas, se procura impedir los niveles de daño económico al cultivo. Las medidas que implican la eliminación o reducción de inóculo primario incluyen los principios de: EXCLUSION, ERRADICACION, TERAPIA y RESISTENCIA VERTICAL. Las que afectan la desaceleración de los niveles poblacionales del patógeno, incluyen los principios de: RESISTENCIA HORIZONTAL, PROTECCION y PREVENCION.

A continuación se indican los métodos prácticos de control utilizados o reconocidos a través de la investigación, incluyendo algunas líneas de investigación que podrían ser desarrolladas.

EXCLUSION

Se trata de un principio básico de control de patógenos vinculados principalmente a la propagación vegetal. Es de mayor importancia en el caso de marchitez bacteriana de papa, por la posibilidad de introducir razas o bioformas exóticas en el área de influencia del hospedante. Teniendo en vista la tolerancia cero (Ministerio, 1982) exigida para la semilla básica, registrada y certificada (clases A, B y C) con relación a P. solanacearum, es obvia la necesidad de una rigurosa fiscalización del tubérculo-semilla introducido para siembra. En 1979, la importación de papa-semilla destinada a certificación llegó a 13 976 toneladas con un valor de US\$ 6 412 277 FOB (Oliveira y Miranda, 1981).

Las áreas selectas y exentas del patógeno para la producción de papa-semilla certificada deberían estar protegidas por legislación especial, evitando la introducción de ciertos patógenos de papa, particularmente P. solanacearum (Seneviratne, 1976). Así mismo, se debería prohibir la entrada de papa-semilla no certificada, de cultivo de papa para consumo. Además se deberían establecer incentivos especiales para la producción de material certificado.

Otras medidas complementarias de prohibición, que podrían contribuir para la preservación de áreas exentas del patógeno, incluirían: despojo de basura doméstica que contenga restos de tubérculos (Deslandes, 1960) o frutos de Solanáceas; tránsito de personas y vehículos procedentes de áreas infestadas, y utilización de aguas sospechosas para irrigación.

De un modo general, la utilización de papa-semilla certificada, tanto en suelos levemente infestados o patógeno-supresivos, constituiría el método ideal de control de la marchitez bacteriana entre productores de papa de consumo, si éstas son complementadas con otras medidas integradas.

ERRADICACION Y TERAPIA

El empleo de medidas prácticas que den lugar a la erradicación del patógeno en tubérculos-semillas, suelos infestados, o plantas susceptibles o tolerantes, han sido objeto de muchas líneas de investigación entre los que se de-

dican al control de la marchitez bacteriana de papa en el mundo. A continuación se mencionan algunas de estas líneas de investigación, que podrían ser desarrolladas.

Papa-Semilla

En un programa de papa-semilla, con cultivares susceptibles, en pequeña escala, los tubérculos afectados podrían ser eliminados por la incubación de los mismos a 30°C, durante una o más semanas, o simplemente sacándolos de la cámara fría y manteniéndolos a temperatura ambiental en las regiones de clima caliente (Drummond, 1981). Entretanto, los tubérculos con infecciones latentes originadas al final del ciclo de la planta, particularmente con la raza 3, no siempre podrán ser detectados, aún cuando éstos sean incubados a 28°C durante tres semanas (González, 1977).

Se conocen varias tentativas para erradicar el patógeno del interior de tubérculos-semillas, particularmente en el caso de infecciones incipientes, mediante el uso de antibióticos (Medeiros, 1966; Robbs, 1960). El mayor problema que ha sido encontrado reside en la ausencia de absorción de los productos a través de la cáscara del tubérculo entero para alcanzar la bacteria en la región vascular. Medeiros (1966) ensayando colorantes vitales, bactericidas, estreptomycin y un insecticida sistémico metil dimetón (metasystox) en tubérculos inoculados con cepas de Erwinia (Pectobacterium) carotovora, concluyó lo siguiente:

- a) Que los productos ensayados no fueron absorbidos en soluciones con pH 6, próximo al punto isoeléctrico de los tejidos de papa;
- b) Que la absorción máxima sólo ocurría con tubérculos envejecidos, o sea, en actividad fisiológica.
- c) Que la absorción máxima ocurría en soluciones con pH 9, 7 ó 4, siendo la estreptomycin a 1 000 ppm en inmersión durante 3 horas, el producto más eficiente en la inhibición de E. carotovora.

En el caso de que la absorción de antibióticos o quimioterapéuticos fuese realmente comprobada, dentro del espectro de sensibilidad a las varias estirpes de P. solanacearum algunas con variaciones (Thruston, 1963), habría gran posibilidad de uso de productos más económicos, viables en el caso de infecciones latentes; constituyendo una interesante línea de investigación para explorar.

Suelos infestados

La presencia de la bacteria en el suelo es algunas veces imprevisible aún en suelos vírgenes y su constatación dependerá de metodologías muchas veces complejas (Fucikovsky, 1979).

La rotación de cultivos, sin duda alguna, induce en algunos tipos de suelo y de acuerdo con la raza de P. solanacearum involucrada, resultados satisfactorios, permitiendo el cultivo de material para consumo a niveles aceptables, bajo el nivel de daño económico. Ciertamente, deberán ser empleadas

otras medidas complementarias de control. En el Brasil (Drummond, 1981; Robbs, 1960) las gramíneas han sido recomendadas y utilizadas con éxito en muchas áreas en la reducción del potencial de inóculo del suelo. Medeiros (1961), estudiando el efecto de la rotación del cultivo de papa con el arroz (Oryza sativa L.), concluyó lo siguiente:

a) En suelos del valle del río Paraíba (Taubaté, Estado de Sao Paulo), permanentemente cultivados con papa en rotación con arroz en un régimen de inundación en pozas, se presentaba un elevado número de actinomicetos y estaba ausente la marchitez.

b) En suelos de varios Estados de Brasil, cultivados con papa sin rotación de cultivo de arroz, se observaron pocos actinomicetos y se presentaba severa incidencia de marchitez.

Drummond (1981) estudiando la rotación de papa con arroz, verificó que este cultivo no posee ningún efecto antagónico a la marchitez bacteriana, salvo cuando se irriga en un régimen de inundación, pues el agua siempre corriente en el arrozal arrastra la bacteria, si allí hubiesen existido plantíos anteriores contaminados, persistiendo el patógeno en agua no corriente. El efecto inverso (Seneviratne, 1976) fue observado en Sri Lanka, habiéndose concluido que la irrigación del arroz durante las fases de crecimiento no eliminaba el patógeno de esos suelos. Quimio y Tabei (1978) en las Filipinas concluyeron que suelos sembrados con maíz y arroz, poseían, después de la siembra, menores niveles de P. solanacearum en el suelo. Jackson y González (1979) en experimentos de rotación con papa en Costa Rica, concluyeron que los índices de marchitez bacteriana no fueron significativamente reducidos después de rotaciones con maíz, frijol y camote, particularmente en la presencia de malas hierbas.

En el municipio de Araguaí, Estado de Minas Gerais, todo cultivo de tomate es realizado en suelos cubiertos por lo menos durante dos años con pastos sin ninguna incidencia de marchitez bacteriana, aun en las épocas más calientes y aun no ocurriendo con el cultivo en suelos vírgenes.

Aunque los resultados podrán variar de acuerdo con la región, las rotaciones con gramíneas tales como: pastos, sorgo, arroz, maíz, caña de azúcar y posiblemente triticales (Drummond), constituyen la mejor opción para la reducción del potencial de inóculo de P. solanacearum en el suelo, evitándose la colonización de invasoras tolerantes o susceptibles durante períodos de dos a tres años.

En un ensayo preliminar conducido en las condiciones de la Baixada Fluminense durante el verano con la cubierta protectora de plástico en el suelo húmedo y revuelto (Katan, 1981), se redujo significativamente el índice poblacional de P. solanacearum, raza 1, teniendo al tomate como planta de prueba. Nuevos ensayos con bases experimentales deberán ser conducidos con papa.

Para el tratamiento químico del suelo después de la erradicación de plantas afectadas en el cultivo, ha sido recomendado el metan sodio (Vapam o VPM) (Medeiros, 1961) en la base de 130 a 600 ml/10m², y la creolina o el sulfato de cobre en soluciones acuosas de 5% y 5 l/m², con eficiencias de 90 y 100% respectivamente (Drummond, 1981).

Plantas susceptibles o tolerantes

Los hospedantes susceptibles se encuentran principalmente entre las solanáceas, se incluyen ciertas compuestas: mamoneira (Ricinus communis), beldroega (Portulaca oleracea) y diversas invasoras que pueden albergar al patógeno en la rizosfera o en la propia planta. Durante el cultivo en la rotación todas las hospedantes así como plantas espontáneas de papa (originadas de tubérculos no recogidos); deberían ser totalmente erradicadas, dentro de las posibilidades, procurándose de esta manera reducir a un mínimo el potencial de inóculo sobreviviente.

Durante el cultivo, toda planta que exhiba síntomas de marchitez bacteriana, deberá ser inmediatamente erradicada y colocada en sacos plásticos para su posterior destrucción o entierro profundo. Además de esta erradicación, en las áreas de encuesta se deberá proceder a la desinfestación de los lugares donde fueron encontradas las plantas afectadas, evitándose de esta manera la diseminación del patógeno (Drummond, 1981).

RESISTENCIAS GENÉTICAS

La resistencia vertical y principalmente la horizontal podrían constituir un instrumento valioso en una estrategia de control integrado. Se podría combinar resistencia a una o más enfermedades primarias del cultivo. Los trabajos de cooperación vienen demostrando ya la existencia de material promotor para algunas áreas, exhibiendo niveles aceptables de resistencia horizontal (Granada, 1979). Algunos clones de papa son pasivos para infecciones latentes adquiridas a temperaturas más elevadas, habiendo factores genéticos con posibilidades de eliminar esta condición (Ciampi *et al.*, 1980) y con viabilidad para ser aprovechados en un programa regional de mejoramiento.

PROTECCION

Incluye medidas relacionadas con el hospedante, procurándose evitar durante el ciclo la presencia de factores que podrían condicionar la predisposición de la planta al patógeno. Esos factores de estrés, podrán ser de naturaleza abiótica (daños, excesos hídricos) o bióticos (insectos, nematodos).

Entre los estreses de naturaleza abiótica, se señalan los daños causados a las raíces durante las prácticas culturales, tales como deshierbas y aporques. El empleo de herbicidas podría contribuir bastante para reducir los inconvenientes del deshierbo manual. El empleo inadecuado de la irrigación es otro factor importante para favorecer enfermedades bacterianas de la papa. Un pequeño exceso de agua en el período de formación de tubérculos, aumenta el número de los mismos por planta (Purcino, 1981), además de disminuir el ataque del agente causal de la sarna común (Streptomyces scabies), siendo por tanto de utilidad en la producción de papa-semilla. Los excesos de agua en el cultivo no sólo contribuyen a predisponer la planta a enfermedades bacterianas (Erwinia spp. y P. solanacearum), sino que también permite, por escorrentía, la rápida diseminación de patógenos hacia las plantas localizadas en las cotas menos elevadas (Drummond, 1981). La vigilancia de los índices hídricos adecuados para el cultivo es de gran valor en los cultivos irrigados.

El combate de insectos subterráneos y de nematodos presentes en el cultivo, es de gran valor en una estrategia de control integrado. Unos pocos insecticidas-nematicidas, el aldicarb por ejemplo, ya están registrados para su empleo en los surcos de siembra.

La protección biológica realizada a través del empleo de microorganismos antagónicos a P. solanacearum, viene siendo investigada con éxito en algunos casos (Chen et al., 1981; Drummond, 1981). Todo indica que ese tipo de protección dependerá de la raza o bioforma del patógeno involucrado, su potencial de inóculo en el suelo al momento de siembra y de la capacidad de adaptación y de multiplicación del microorganismo antagónico en el ambiente de la planta (Medeiros, 1961).

PREVENCION (ESCAPE)

Podrá ser utilizada con la manipulación de parámetros climáticos (zonificación) en la época de cultivo (P. solanacearum, raza 1) o con el empleo de ciertos tipos de suelos llamados supresivos, resistentes al patógeno o incompatibles con él. Cualquiera de los procesos permite el cultivo de papa con bajísimos niveles de infección o total existencia de ciertas estirpes de P. solanacearum. Algunas veces, el cultivo es atacado por otros patógenos considerados secundarios. En las regiones serranas del Estado de Río de Janeiro donde predomina la raza 1, así como en otras regiones del país, es perfectamente viable el cultivo de papa a partir de marzo, obteniéndose buenas producciones con un mínimo de riesgo de ataque de la marchitez bacteriana, teniendo en vista la ocurrencia de temperaturas más bajas (regiones sur y sureste).

Los suelos llamados resistentes, supresivos o incompatibles con P. solanacearum que pueden ser detectados a través de ensayos con plantas indicadoras (Drummond, 1981; French, 1979), podrían constituir una opción valiosa para el cultivo de papa, inclusive para certificación de material propagativo.

Esa incompatibilidad podría ser de naturaleza física y relacionada con el tipo de suelo involucrado (Rat, 1978) donde la presencia de montmorillonita, una arcilla de triple camada (aluminio entre dos láminas de sílico), da resistencia a la penetración del patógeno en las raíces. Otro tipo de suelo supresivo (CIP, 1977) se encuentra posiblemente asociado con la salinidad del mismo, medida mediante conductividad eléctrica.

La actividad de ciertos microorganismos antagónicos presentes en camadas más superficiales (Medeiros, 1961) podría dar a ciertos suelos un factor supresivo biológico, ausente en los horizontes más profundos (Tanaka, 1976) por falta de actividad microbiana. Ese factor biológico supresivo podría ser exaltado en algunos suelos con el cultivo de ciertas gramíneas en cuya rizosfera ocurre una colonización de actinomicetos (Streptomyces) antagónicos a P. solanacearum (Medeiros, 1961).

LITERATURA CITADA

1. CHEN, N.Y., E. ECHANDI and H. SPURR Jr. 1981. Biological control of Granville wilt of tobacco with avirulent bacteriocin producing strains of Pseudomonas solanacearum. V. Internat. Conf. Pl. Pathog. Bact. Cali, Colombia, Aug. 16-23, 1981. p. 56 (Abstrct).
2. CIAMPI, L., L. SEQUEIRA and E.R. FRENCH. 1980. Latent infection of potato tubers by Pseudomonas solanacearum. Am. Potato Jour. 57: 377-386.
3. DESLANDES, J.A. 1960. Produção e certificação de batata semente na zona Sul. Projecto ETA No. 10. Escritório Técnico de Agricultura, p. 50-52.
4. DRUMMOND, O.A. 1981. Combate a murcha bacteriana da batata no campo. 1º Seminário sobre a Murcha Bacteriana da Batata, Castro, Estado do Paraná, 23 setembro/1981, mimeog. 9 p.
5. FRENCH, E.R. 1979. Classification, distribution and origin of Pseudomonas solanacearum. Report of a Planning Conference on Developments in Control of Potato Bacterial Disease, Int. Potato Center, Lima, Peru, June 12-15, 1979, p. 28-35.
6. FRENCH, E.R. 1979. Progress in the integrated control of bacterial wilt. Rep. of a Plan. Conf. on Dev. in Control of Potato Bact. Dis., Int. Potato Center, Lima, Peru, June 12-15, 1979, p. 72-81.
7. FUCIKOVSKY, L. 1979. Methods of diagnosing Pseudomonas solanacearum. Rep. of a Plan. Conf. on Dev. in Control of Potato Bact. Dis., Int. Potato Center, Lima-Peru, June 12-15, 1979, p. 40-48.
8. GONZALEZ, L.C. 1977. Determinación de niveles de infección para Pseudomonas solanacearum en tubérculos de papa. Fitopatología 12: 101-104.
9. GRANADA, G.A. 1979. Problems in the utilization of resistance by developing country potato programs: The Colombian example. Rep. of a Plan. Conf. on Dev. in Control of Potato Bact. Dis., Int. Potato Center, Lima-Peru, June 12-15, 1979, p. 82-87.
10. INTERNATIONAL POTATO CENTER. 1977. Annual Report. p. 45-51.
11. JACKSON, M.T. and L.C. GONZALEZ. 1979. Persistence of Pseudomonas solanacearum in an inceptisol in Costa Rica. Rep. of a Plan. Conf. on Dev. in Control of Potato Bact. Dis., Int. Potato Center, Lima-Peru, June 12-15, 1979. p. 66-71.
12. KATAN, J. 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests. Ann. Rev. Phytopathology 19: 211-236.

13. MEDEIROS, A.G. 1961. Estudo sobre Pseudomonas solanacearum (Smith) Smith. II-Ação dos fumigantes de solo: Schell-DD, Nemagon e VPM sobre culturas puras de Pseudomonas solanacearum (Smith) e fungos fitopatogênicos do solo. ETA Projeto 10, Escritório Técnico de Agricultura em colaboração com o Inst. Ecologia e Exp. Agrícolas. p. 19-30.
14. MEDEIROS, A.G. 1961. Estudo sobre Pseudomonas solanacearum (Smith) Smith. IV-Ocorrência de Actinomicetos no solo em relação à incidência de "murchadeira" em batatinha, Solanum tuberosum L., produzida por Pseudomonas solanacearum (Smith) Smith. ETA Projeto 10, Escritório Técnico de Agricultura em colaboração com o Inst. Ecologia e Exp. Agrícolas. p. 36-44.
15. MEDEIROS, A.G. 1961. Estudo sobre Pseudomonas solanacearum (Smith) Smith. V-Ensaio comparativo da ocorrência de Actinomicetos na rizosfera de variedades de batatinha. ETA Projecto 10, Escritório Técnico de Agricultura em colaboração com o Inst. Ecologia e Exp. Agrícolas. p. 45-54.
16. MEDEIROS, A.G. 1966. Controle do Pseudomonas solanacearum (Smith) Smith com antibióticos e inseticidas sistêmicos. Fitopatologia 1(1): 23-30.
17. MINISTERIO DE AGRICULTURA. 1982. Coordenadoria de Sementes e Mudas. Normas para Certificação de Batata-Semente. 29 p.
18. OLIVEIRA, A.C.S. de, e S.F. MIRANDA. 1981. Aspectos econômicos da cultura da batata. Informe Agropecuario 7(76): 3-10.
19. PURCINO, J.R.C. 1981. Irrigação na cultura da batata. Informe Agropecuario 7(76): 35-58.
20. QUIMIO, A.J. and H. TABEL. 1978. Survival of Pseudomonas solanacearum E.F. Smith in the rizosphere of some weeds associated and economic plants rotated with tomato. Proc. IV Internat. Conf. Pl. Pathog. Bact. Angers, France. Aug. 27 - Sept. 2, 1978. p. 883 (Abstract).
21. RAT, B. 1978. Some aspects of resistant soils to Pseudomonas solanacearum. Proc. IV Internat. Conf. Pl. Pathog. Bact. Angers, France, Aug. 27 - Sept. 2, 1978. p. 884-885 (Abstract).
22. ROBBS, C.F. 1960. Influencia da rotação de cultura na incidencia da "murcha bacteriana" do tomateiro (Pseudomonas solanacearum). Bacterioses Fitopatogênicas no Brasil. No. 2-Série Divulgação de Pesquisas, Universidade Rural, Instituto de Economia Rural. p. 35-38.
23. ROBBS, C.F. 1960. Tratamento de tubérculos sementes de batatinha (Solanum tuberosum) com estreptomycina visando o controle de doenças bacterianas. Bacterioses Fitopatogênicas no Brasil. Na. 2-Série Divulgação de Pesquisas. Universidade Rural, Instituto de Economia Rural, p. 39-41.
24. ROBBS, C.F. 1965. Moléstias bacterianas da batatinha. Boletim do Campo 190: 23-32.

25. ROBBS, C.F. 1982. Controle às enfermidades causadas por fitobactérias. III°. Colóquio de Bacterioses de Plantas. XV Congresso da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, São Paulo, SP, 5-9 julho, 1972. 2 p. (mimeorg.)
26. RODRIGUES NETO, J. 1976. Doenças bacterianas da batata. CATI, Campinas, São Paulo. 14 p. (mimeograf.)
27. SENEVIRATNE, S.N. de S. 1976. Bacterial wilt in solanaceous crops grown in rice fields. Proc. First Internat. Planning Conf. and Workshop on the Ecology and Control of Bacterial Wilt caused by Pseudomonas solanacearum. Raleigh, N.C. July 18-24, 1976. p. 95-101.
28. Simpósio sobre problemas relacionados com a produção de batata-semente certificada. 1973. VI° Congresso da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, Pelotas, Rio Grande do Sul, 19-23 fevereiro de 1973. 2p. mim.
29. TANAKA, Y. 1976. Factors affecting survival of Pseudomonas solanacearum. Proc. First Internat. Planning Conf. and Workshop on the Ecology and Control of Bacterial Wilt caused by Pseudomonas solanacearum. Raleigh, N.C. July 18-24, 1976. p. 122.
30. THURSTON, H.D. 1963. Bacterial wilt of potatoes in Colombia. Am. Potato J. 40: 381-390.

INVESTIGACIONES PARA EL COMBATE DE LA MARCHITEZ BACTERIANA DE LA PAPA
REALIZADAS EN EL PERIODO DE 1957 A 1982, EN RIO DE JANEIRO

Octavio A. Drummond*

INTRODUCCION

Los estudios e investigaciones de campo para el combate de la marchitez bacteriana de la papa (Solanum tuberosum), causada por la bacteria Pseudomonas solanacearum, fueron iniciados por el autor en el antiguo Instituto Agronómico de Minas Gerais, en Belo Horizonte, siendo después continuados en los campos del km 47, municipio de Itaguaí, RJ. en la época perteneciente al Centro Nacional de Pesquisas Agronómicas, del Ministerio de Agricultura. Los trabajos fueron continuados por la EMBRAPA y PESAGRO-RIO.

Actualmente están siendo desarrollados en la PESAGRO-RIO, por su Infectario de Marchitez Bacteriana, en 80 parcelas ("canteros") con paredes de ladrillo (de 5 m² cada uno, en bloques de a ocho, separados por caminos protectores) en EPAMIG y el Centro Integrado de Apoyo al Productor, de la Secretaria de Agricultura de Minas Gerais. Un nuevo infectario de la marchitez será construido en la Hacienda Experimental de Lambari, EPAMIG. Los organismos que han financiado este proyecto son los siguientes: Instituto Agronómico de Minas Gerais (extinto), Ministerio de Agricultura (SNPA), EMBRAPA, PESAGRO-RIO, CNPq, EPAMIG.

FINALIDADES

Desarrollar prácticas o sistemas de campo, con el fin de erradicar la bacteria parásita de los campos infestados. Están siendo investigados:

- La permanencia de la bacteria en el campo.
- Su resistencia al resecamiento del suelo, bajo condiciones de campo.
- Microorganismos del suelo, o de la rizosfera de las plantas, antagónicos a la bacteria (antibiógenos).
- Incorporación de esos antibiógenos al suelo, a fin de tornarlo inadecuado para la persistencia de la bacteria.
- Antagonismo de raíces vivas o muertas, de plantas invasoras, o de rotación, a la bacteria de la marchitez, por acción directa o por la acción de la flora microbiana de sus rizosferas.
- Uso de agentes físicos o químicos, en la erradicación de la bacteria en el campo.
- Obtención de clones o cultivares de papa, resistentes a la marchitez.

MATERIALES Y METODOS

Estos trabajos, en gran parte, fueron ejecutados en parcelas delimitadas en el campo, en Belo Horizonte, usando 46 cilindros de cemento enterrados verticalmente, con 1 m de diámetro. En Itaguaí, (km 47), las parcelas están delimitadas por paredes de ladrillos en número de 80 y situadas en plena "Baixada Fluminense", casi sobre el nivel del mar, con clima caliente y húmedo, extremadamente favorable a la enfermedad. Otro infectario se encuen-

* Empresa de Pesquisa Agropecuaria de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

tra en organización en la Hacienda Experimental de Lambari, en el Sur de Minas, a 700 metros de altitud con un clima medio a frío, en un lugar reconocidamente infestado.

Las parcelas del infectario de Itaguaí fueron todas inoculadas en 1967, y se sembraron en ellas tubérculos inyectados con suspensiones ricas en la bacteria. El proceso fue repetido en 1968. En 1970, se hizo la primera siembra de papa sana, 20 plantas por parcela de 5 m², pudiéndose verificar la marchitez existente, en 35 a 100% de las plantas.

La media general fue de 88,6% de plantas con marchitez; 16 parcelas dieron 100%.

Establecida la marchitez en el suelo de las parcelas, se iniciaron los tratamientos para su erradicación. Desde 1970 hasta el presente, están en prueba nuevos y antiguos tratamientos, procurándose usar por lo menos dos a tres parcelas para cada uno, durante uno a seis semestres. Esto complica bastante el experimento y la interpretación de la eficiencia real de los tratamientos; un nuevo tratamiento es aplicado solamente después de que la parcela está contaminada. Ha habido recurrencia de la enfermedad en parcelas que llegan a 0% de marchitez, a pesar de que las parcelas no fueron pisoteadas y de que las herramientas usadas fueron desinfectadas antes del trabajo. Es posible que esas reinfestaciones sean provocadas por focos no detectados en la hilera central de la parcela de papa.

Este método de estudio en el campo, en parcelas delimitadas por muros, tiene como principal ventaja que el área en estudio no cambia. En el período de veinte, treinta o más años tendremos siempre el mismo pedazo de tierra con las modificaciones sufridas, debido a los tratamientos recibidos. No hay invasión de tierra y aguas vecinas, más aún, los caminos entre parcelas están cubiertos con piedra quebrada y toda el área está cerrada con un cerco metálico. El local del infectario está situado entre arboledas, predios y gramados, sin recibir sombras perjudiciales.

Las investigaciones en el infectario fueron apoyadas con trabajos de laboratorio, de la Sección de Fitopatología de Itaguaí, PESAGRO, hasta 1981, y del CIAP, en Belo Horizonte, de 1981 en adelante. En estos trabajos, se estudió también la tolerancia de la bacteria a los percolados de las raíces de las plantas de rotación.

RESULTADOS

Permanencia de la bacteria en el campo.

La bacteria permanece activa en el campo por más de 15 años, conforme datos obtenidos en historiales de cultivos de papa enfermos. En áreas cubiertas con plantas nuevas y cortadas, se ha presentado la marchitez en cultivos allí formados (Caeté, Serra do Curral-MG., Papanduva, S. Catarina). El origen de los focos existentes en esas áreas parece ser los residuos de las actividades de carboneros que en ellas trabajaron, naturalmente, dejando en el terreno restos contaminados de papa usada para consumo, adquirida en el comercio. Es práctica corriente, no sembrar papa en áreas con restos de carbón vegetal o señales de antigua habitación, pues esos lugares pueden ser

focos de marchitez. Esto se observa igualmente en el rozado de la vegetación de cerrados, como se pudo verificar en 1981, en la siembra de 116 hectáreas de papa, en un área recién desmontada de cerrado, en las márgenes de la laguna de Furnas, municipio de Pimenta-MG. Allí aparecieron focos de marchitez bacteriana, próximos a antiguas habitaciones.

Resistencia al resecamiento

En pruebas de campo, en cilindros, de los cuales se sacó la tierra infestada, dejándola secar por cuatro meses y después retornándola a los cilindros, la marchitez apareció cuando fueron resembrados con papa. Con tierra infestada y tamizada, puesta a secar por un mes, la marchitez se redujo en 15%. En tierra infestada en macetas, secada durante seis meses, se acabó la marchitez. No hay dudas que el resecamiento de la tierra destruye la bacteria, pues ésta no tiene la capacidad de formar esporas resistentes de reposo. En áreas sujetas a períodos de sequía, la bacteria puede sobrevivir como parte de la rizosfera de plantas nativas. En el caso de Furnas, citado antes, el área era rica en arbustos de "lobeira" (Solanum lycocarpum).

Microorganismos del suelo antagónicos a la bacteria

Existen varios organismos antagónicos, principalmente en los grupos de Streptomyces, Bacillus y Trichoderma. Un pequeño infectario en el Instituto Agronómico de Minas Gerais (BH), después de funcionar bien por varios años, dejó de producir plantas enfermas. Un levantamiento de la microflora del suelo, reveló grandes cantidades de Streptomyces griseus, con aislamientos altamente antagónicos a Pseudomonas solanacearum. Se han recibido informes del mismo fenómeno, de Minas Gerais y Santa Catarina en el Brasil y de los E.U., donde campos infectados por la marchitez dejaron de serlo.

Se recibió de los E.U. un cultivo de S. griseochromogenes, aislado originalmente en el Japón, con capacidad antagónica a bacterias Gram negativas del suelo. La Dra. Drummond usó esta bacteria peletizada en goma arábica, cubriendo el tubérculo de papa y sembrándolos en terreno contaminado. De las 13 parcelas tratadas, dos tuvieron 0% de marchitez en la segunda siembra de papa; en una el porcentaje de marchitez disminuyó de 70 a 7% en la segunda siembra y en la tercera; en las otras parcelas, la marchitez se presentó normalmente. Naturalmente se trata de la cuestión del éxito o fracaso de la inoculación del antibiógeno al suelo. Se probaron varias técnicas para tratar de garantizar este éxito.

Se probó también la incorporación al suelo de agentes conductores orgánicos y minerales, tales como semillas de algodón procesadas en autoclave, estiércol de corral, residuos calcáreos, caparazón de cangrejo como fuentes de quitina, y de lodo de filtro de la fábrica de azúcar, basura de la ciudad, ceniza de madera, en combinaciones y cantidades diferentes, algunas veces con buenos resultados.

Por ejemplo: griseus en algodón, lodo de la fábrica de azúcar y cáscara molida usados en parcela bajaron la marchitez de 55% a 0%; en otra que llevó griseus más algodón, NPK, caparazón de cangrejo molida, bajó de 65% a 0%, manteniéndose en nivel por cuatro siembras; en otras parcelas con griseus en algodón y caparazón bajó la marchitez de 25% a 0% en dos siembras sucesivas

y sembrando nueva papa infectada. En este último caso la marchitez permaneció de 0 a 15% por varias siembras sucesivas. En otra parcela, con 67% de marchitez, ésta se redujo a 8% y después a 0% en dos siembras seguidas cuando recibió el griseus en algodón, caparazón molida y residuos calcáreos. Adicionando griseus en algodón, caparazón molida y material calcáreo dolomítico, en el surco del cultivo, cuatro parcelas tuvieron sus tasas de marchitez reducidas de 5 y 100% a 0-20%. Con griseus asociado a tolete de caña sin gémula (para no brotar, como fuente de hidrato de carbono), en una parcela la marchitez bajó de 93 a 0% en dos siembras sucesivas; en otras cuatro parcelas los tratamientos tuvieron poco efecto y la marchitez aumentó de 40% a 100%.

Un Aspergillus sp. antagónico fue también estudiado en una parcela aplicándolo al suelo asociado con pasto Guatemala. La tasa de marchitez disminuyó de 71 a 20% en la primera siembra de papa y a 0% en la segunda. El griseus asociado al mismo pasto, no mostró efecto alguno.

Estas observaciones muestran que es posible usar microorganismos antibiógenos en la erradicación de la marchitez, siempre y cuando el terreno les sea favorable. La asociación con raíces de plantas adecuadas de modo que puedan ser parte de dos rizosferas, sería una solución ideal; se podría usar una planta, debidamente inoculada con un antibiógeno, en la rotación con papa.

La falta de aireamiento del suelo por saturación con agua fue estudiada con agua empozada en siembras de arroz, en manilla y parcelas. En el verano la marchitez persistió en los terrenos contaminados después de cuatro meses de inundación. En las pruebas con agua corriente, la marchitez bajó de 18,7% a 0,8%. El hecho que los terrenos inundados de arroz quedaron libres de la bacteria, indica que la misma es lavada del terreno o arrastrada por las aguas de irrigación, ésto también acontece en el valle de Paraíba do Sul, Sao Paulo. Pruebas en parcelas no inundadas mostraron que el arroz no tiene valor antagónico alguno para la bacteria; de tres parcelas, dos tuvieron marchitez exaltada de 60-70%; después de tres semestres con arroz. En una parcela, con poca marchitez (15%), la enfermedad bajó a 5% después de un semestre con arroz.

Agentes químicos en el combate de la marchitez.

En una parcela cercada ("cantero") el bisulfureto de carbono, 800 l/ha, más 2 000 l/ha de gasolina, redujo la marchitez 12 a 0%, lo cual se mantuvo constante por tres siembras seguidas. En otras dos parcelas, la marchitez bajó de 68-70% a 12-15% respectivamente.

El material calcítico, 5 t/ha, elevó el pH de 4,0-6,8 a 5,4-7,7 en prueba realizada en 80 parcelas: 40 con calcio y 40 sin calcio. Después de un año aplicando el calcio, la marchitez sufrió una ligera reducción: en las parcelas que tenían pH sobre 7,0, varió de 10 a 65%; y en las otras parcelas la marchitez varió de 60 a 100%.

Ese mismo material calcítico aplicado antes de la siembra (1 t/ha), aparentemente estimuló la marchitez, la cual varió de 46-85 y 100% a 63-100 y 83%.

El material dolomítico aplicado en dosis de 755 kg/ha, bajó regularmente el porcentaje de marchitez, de 60% a 13%, de 95 a 53%, de 75 a 7% y de 90 a 80%. Dosis elevadas de material dolomítico (10 t/ha), no erradicaron la marchitez, más aún, en una parcela de 20% se mantuvo en este porcentaje y después bajó a 10%. El uso del material dolomítico es una práctica aconsejable para disminuir el porcentaje de marchitez.

La creolina comercial en solución de 5% en agua; y dosis de 5 l/m^2 , en una parcela redujo la marchitez de 80% a 0%, lo cual fue mantenido por cinco siembras seguidas; en otras parcelas la redujo de 60 a 20%, de 5 a 0% y 50 a 10%. Con creolina al 10%, hubo efecto negativo, no habiendo reducción de la marchitez.

El "enxofre" en polvo (1 t/ha), inoculado con tierra de jardín enriquecido por bacterias oxidantes de "enxofre", no tuvo efecto sobre la marchitez.

El herbicida Hyvar (15 kg/ha), redujo la marchitez de 100 a 0% en una parcela y de 43 a 0% en otra; esta última tasa fue mantenida por cinco siembras consecutivas (9 semestres). En otra parcela, la marchitez bajó sólo de 53 a 46%.

El estiércol de corral curtido (agente químico-biológico) en cantidad de 50 kg/m^2 , redujo la marchitez en una parcela de 100% a 8% y no la afectó en otra (95 a 93%). A menor dosis, ($4,5 \text{ kg/m}^2$) no mostró efectos favorables. Dos t/ha de NPK estimuló la marchitez (de 47-67% subió a 92-100%).

La gasolina, 2 000 l/ha, aplicada antes de la siembra, rebajó la marchitez de 64-91 a 7-21%.

El sulfato de cobre al 5% en cantidad de 5 l/m^2 , redujo la marchitez de 15-60 a 0% en dos manillas y dos parcelas. En concentraciones menores (0,05, 0,1, 0,5, 1%) no hubo efecto total.

El Nematicida Vapan, en dosis de $100 \text{ cm}^3/\text{m}^2$, disueltos en 10 litros de agua; la formalina comercial del 40% diluída al 0,5%, y aplicada en dosis 30 l/m^2 , no redujeron la marchitez. El DD (nematicida) inyectado de a 5 cm^3 por hueco (10 cm entre huecos) redujo la marchitez de 100 a 60%; el nemagón (nematicida) y la cal hidratada (1 t/ha) redujeron el porcentaje de marchitez en 50 y 33% respectivamente.

Plantas de rotación en la erradicación de la marchitez

Numerosas plantas fueron estudiadas en relación con su capacidad de erradicar la bacteria del suelo infectado de las parcelas cerradas. Dieron resultados negativos, en varias pruebas: piña (por cinco semestres), lechuga más extracto de estiércol (un semestre), beterraga, pasto napier, zanahoria, centeno, brócoli, col china, coliflor, col manteca, crotalaria paullinia, girasol, Indigofera sp. (higuera), nabo Ascor, pepino, okra, ramio, Tajetes sp. y Wedellia sp.

Tuvieron efectos positivos, algunas veces eliminando totalmente la marchitez de la tierra de la parcela o reduciéndola, las siguientes plantas: camote

(5 y 3 semestres); caña de azúcar CB 45-3 (5 semestres); pasto gordura (5 semestres); pasto Guatemala (2 y 3 semestres); pasto limón (4 semestres); pasto vetiveria (6 semestres); cordón de fraile (3 semestres); frijol de puerco (2 semestres); maíz sintético 47 (3 y 9 semestres); mucuna preta (4 semestres); sorgo forrajero Santa Elisa (3 y 8 semestres).

Como testigo de la permanencia de la bacteria en el suelo se sembró papa, y casi de inmediato se vió que había tendencia de la enfermedad a mantenerse en el suelo de las parcelas, según estos datos: (75%, 53,3%; 76,9%; (vacío), 43%; 95%; 92,9%; 100%, por ocho semestres). Las veinte lecturas de los índices de marchitez ocurridas en otoño (siembra en mayo) y de primavera (siembra en setiembre) en cultivos de papa, se muestran a continuación:

- Otoño: 75%; 53,3%; 95%; 9,5%; 100%; 65%; 93,3%; 83,3%; 60%; media: 78,0%.
- Primavera: 71,9%; 92,9%; 92,3%; 100%; 83,3%; 80%; 84,6%; 100%; 80%, media: 88,5%.

En el otoño, en las condiciones climáticas de Itaguaí (km 47), la marchitez se puede manifestar con índices de 100% lo que es comparable con los índices de la primavera.

Como testigo de la permanencia de la bacteria en tierra no cultivada se tuvieron cinco parcelas sin cultivo de papa (2 a 8 semestres); los índices de marchitez ocurridos en la primera siembra variaron de 5 a 46%, siendo antes de 4 a 47%. Después de ocho semestres (sin cultivo) en una parcela la marchitez bajó de 47 a 12%.

Tolerancia de *Pseudomonas solanacearum* a las excreciones radiculares de plantas de rotación.

Para verificar en el laboratorio la tolerancia de la bacteria a las excreciones y demás sustancias formadas por las raíces de las plantas, se desarrolló una técnica de hacer gotear un litro de agua durante ocho horas, en macetas con las plantas de prueba. El percolado (- 300 cm³) se colectó debajo de la maceta y fue esterilizado a 115°C por 20 minutos, recibiendo después una suspensión rica de *Pseudomonas solanacearum*. La presencia de la bacteria viva en el percolado era verificada periódicamente repicando la suspensión en caldo peptonado; midiendo la turbidez de la suspensión con la consecuente turbación del mismo, se sabía si la bacteria aún estaba viva.

De 21 plantas probadas, sólo Avena Coker 76-14, Cebada MN522, Trigo (IAS 55, e IAC 5), maringá y triticales Beagle 5, produjeron percolados inadecuados para la sobrevivencia de la bacteria. No mostraron efecto antagónico: Ajo chonan, Avena 15 (x -2060-5), Avena negra, Papa Ulla, betarraga, zanahoria (mostró algún antagonismo), Centeno BR 3 Ponta Grossa, cordón de fraile, col manteca, coliflor, frijol de vagem (mostró algún antagonismo), alame, nabo y triticales 8 (PFT 766 BRA) (mostró algún antagonismo). Es posible que la esterilización del percolado descomponga las sustancias termolábiles presentes, las cuales podrían tener también poder antagónico a la bacteria. Se está intentando verificar esta posibilidad por simple tinalización del percolado, antes de ser incubado con *Pseudomonas solanacearum*.

Obtención de cultivares resistentes a la marchitez.

Se hicieron pruebas de resistencia a la marchitez con cultivares europeos y algunos americanos; sólo Katahdin mostró cierta resistencia, escapando al ataque de la enfermedad hasta el tercer mes de cultivo, cuando fue también destruido. Este tipo de resistencia es de valor práctico negativo, pues cultivares resistentes pueden no ser muy atacados y serán terribles vehículos de diseminación de la bacteria.

En colaboración con la Estación Experimental de Sturgeon Bay, Wisconsin, U.S.A., se probaron varios clones silvestres, encontrando 50% de resistencia en los Solanum phureja. El mejoramiento de la papa por la obtención de clones o cultivares resistentes a marchitez, está aún incipiente. El producto obtenido debe ser de tipo comercial, aceptado por el mercado, lo que no acontece en general con los tubérculos producidos por los clones silvestres. Estamos listos para probar cualquier material producido por mejoradores en cuanto a su resistencia a la marchitez.

CONCLUSIONES

- La marchitez es una seria amenaza al cultivo de papa del Brasil y también a la producción de semilla básica y certificada. Esta es la consecuencia de la importación cada año de nueva semilla certificada de Europa.
- Los terrenos contaminados deben sufrir rotación con ciertas plantas que han mostrado antagonismo a la bacteria, tales como: caña de azúcar, sorgo forrajero, maíz para ensilaje, pasto guatemala, ciertas variedades de avena, cebada, trigo y triticale.
- La rotación debe ser observada durante tres años por lo menos, no sembrando en este intervalo plantas susceptibles o tolerantes a la bacteria. El terreno debe ser siempre cultivado, en este período, evitándose la invasión de malas hierbas que puedan abrigar a la bacteria.
- La producción de semilla certificada de papa deberá ser hecha en terrenos que observaran esa rotación.
- En cultivos con pocos focos de la enfermedad, ésta podrá ser erradicada por la aplicación de sulfato de cobre al 5%, (5 litros por lugar de cada planta enferma); una semana después de esta aplicación, esas plantas deberán ser removidas con su tierra y con las plantas vecinas, quemadas por la acción del sulfato de cobre. Sembrar caña de azúcar o pasto guatemala por cuatro años.
- Son necesarios estudios que esclarezcan el comportamiento de Pseudomonas solanacearum en tubérculos almacenados al frío, pues trabajos publicados indican la eliminación a 2-3°C. Esta técnica sería de gran alcance práctico.
- El estudio y reconocimiento de las razas de la bacteria existentes en nuestros campos de papa debe ser continuado y activado para entender mejor la ocurrencia de la enfermedad en nuestros cultivos.

RESISTENCIA GENETICA: FUENTES Y MEJORAMIENTO GENETICO

Peter Schmiediche*

INTRODUCCION

La marchitez bacteriana es una de las enfermedades más serias para la producción de papa en las zonas tropicales. Con el reciente avance en el desarrollo de papas adaptadas a las regiones de la zona tórrida, el problema de la marchitez bacteriana se presenta aún más. No hay ningún control químico efectivo contra esta enfermedad y las únicas medidas físicas que se pueden tomar para controlar el patógeno son medidas de rotación de los cultivos y cuidadosas prácticas de almacenamiento de la semilla.

Hasta ahora el único control verdaderamente efectivo ha sido a través de variedades genéticamente resistentes a Pseudomonas solanacearum.

Cuando se buscan fuentes de resistencia genética se presenta el problema de la enorme variabilidad y complejidad del patógeno que existe en una serie de patotipos de los cuales cada uno tiene interacciones muy específicas con el genotipo de la papa (el hospedante) con el ambiente (sobre todo las temperaturas) y con el tipo del suelo. Esas interacciones específicas han sido fuente de mucha frustración en los trabajos de mejoramiento de variedades resistentes, pues genotipos perfectamente resistentes bajo condiciones de invernadero no mostraron la misma resistencia al mismo patotipo bajo condiciones de campo, dado que las reacciones de este patotipo fueron diferentes en distinto tipo de suelo y en diferentes temperaturas ambientales.

Para los mejoradores del CIP, que tienen el mandato de producir germoplasma mejorado para prácticamente todo el mundo donde el problema existe, la variabilidad que resulta de la interacción de este patógeno variable con el medio ambiente que está sujeto a variación, es un verdadero reto. La interacción de patotipo, medio ambiente y hospedante está, sobre todo, determinada por las temperaturas que rigen en un ambiente dado. Este hecho permite separar la investigación y el trabajo para el mejoramiento de genotipos resistentes en dos partes: material resistente para zonas de temperaturas relativamente bajas y material para la zona tórrida.

Fuentes de Resistencia Genética y Mejoramiento Genético

Todo el material con resistencia genética que se ha desarrollado en los últimos diez años proviene de algunos clones diploides de Solanum phureja que se habían hallado en la Colección Central Colombiana (Sequeira, 1979). La constitución genética de esos pocos clones fue tal que existía resistencia, aunque específica, contra todos los patotipos conocidos del patógeno. Sin embargo, esta resistencia tiene la tendencia a fallar bajo condiciones de altas temperaturas (un promedio de más de 20°C durante el período vegetativo).

El material resistente tampoco tenía suficiente adaptación al calor. Como ya se ha mencionado anteriormente, existe una interacción compleja entre el hospedante, el patotipo y el ambiente. Por lo tanto, no ha sido posible en el programa de mejoramiento del CIP desarrollar clones específicos para toda

* Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú.

nuestra clientela. Sin embargo, ésto no significa que no existe material resistente para la mayoría de las zonas templadas o sea para las zonas cálidas que tienen inviernos templados como las pampas del norte de la India.

El principal problema no es el desarrollo de material resistente, sino la identificación del material con la resistencia adecuada para la condición específica de cada lugar que está afectado por marchitez bacteriana.

Antes de tratar sobre el proceso de identificación de genotipos resistentes, quisiera exponer como se han utilizado las fuentes de resistencia genética en los últimos años y como se sigue con esta labor.

Ya se ha mencionado anteriormente que la resistencia para las regiones templadas se encontró en algunos clones colombianos de S. phureja, la cual es una de las especies diploides de la papa cultivada. Los diploides son especies primitivas con bajo rendimiento en la mayoría de los casos y con tubérculos poco aceptables en los mercados modernos. Pero la calidad culinaria de algunos clones diploides ha dado lugar a la producción continua de este material.

Mediante el uso de gametos no reducidos ($2n$), que ocurren en todas las papas diploides cultivadas y silvestres, se han transferido los dos genomas de los clones resistentes de S. phureja a material tetraploide con buenas características agronómicas y alto rendimiento. Este tipo de híbrido se denomina TD (cruce tetraploide x diploide). Se ha logrado mantener la resistencia de los clones originales de S. phureja en el material tetraploide. Al mismo tiempo se ha incorporado resistencia vertical y horizontal o "de campo" a Phytophthora infestans. Actualmente el programa de mejoramiento del CIP está en pleno proceso de combinar resistencia horizontal sola a P. infestans con la de marchitez bacteriana.

Como no es posible desarrollar clones específicos para lugares específicos, se buscó un método que permitiera mantener la resistencia contra este patógeno variable en la forma más amplia posible.

La metodología fue encontrada hace más de diez años con el método de "Mejoramiento de Población" (Mendoza y Rowe, 1977). Este método ha sido descrito en forma detallada en otras oportunidades y yo quiero poner énfasis sólo en algunos puntos claves.

Este método de mejoramiento asegura que se mantenga una población altamente heterogénea y heterocigota. Se mejoran las poblaciones en ciclos sucesivos de selección recurrente. Por supuesto, se busca mantener esta heterogeneidad, particularmente para los genes de resistencia al patógeno.

Si se quiere identificar clones para una zona templada, que está afectada por marchitez bacteriana, es necesario probar una población del material heterogéneo que es potencialmente resistente al patotipo de aquel lugar. Es la tarea de los colaboradores en el campo evaluar entre este conjunto de genotipos los individuos resistentes y con buen rendimiento bajo las condiciones específicas de la zona afectada. Normalmente el CIP remite varias familias de tubérculos, es decir, tubérculos provenientes de una hibridación de padres prometedores. Es muy probable que entre estos se encuentre material resistente y rendidor para la mayoría de las zonas afectadas con temperaturas relativamente bajas.

Sigue el trabajo de mejorar este material a través de más ciclos de selección recurrente y con cuidadosa introducción de nuevas fuentes de resistencia sin perder las buenas características obtenidas hasta ahora.

Este material también ha mostrado resistencia en zonas cálidas en algunos casos, pero la resistencia falla frecuentemente con temperaturas muy altas, particularmente con material menos adaptado al calor.

En los últimos años se ha encontrado material silvestre diploide, particularmente clones de la especie S. sparsipilum, que muestra resistencia a cinco patotipos de Pseudomonas solanacearum y que aparentemente también resiste el calor de la zona tórrida. En la historia del mejoramiento de la papa siempre se han usado especies silvestres, y el ejemplo más conocido es el de la especie mexicana S. demissum que se ha usado frecuentemente para resistencia a Phytophthora infestans. Alrededor de 200 de las 600 variedades europeas actualmente en uso contienen genes de S. demissum.

Se considera que S. sparsipilum es uno de los progenitores de las papas cultivadas tetraploides, un hecho que facilita su uso en el mejoramiento de material con resistencia a marchitez bacteriana. El uso de material silvestre tiene problemas específicos que merecen ser considerados.

La ruta más directa para el uso de los clones silvestres diploides sería un cruce entre los genotipos resistentes con material tetraploide que reúne las demás características deseables. Esto requiere el funcionamiento de gametos no reducidos ($2n$) en el material diploide. Los híbridos de la F_1 pierden gran parte de las características buenas de su madre y muestran muchas características silvestres tales como poco rendimiento, estolones largos y tubérculos mal formados con alto contenido de glicoalcaloides que son tóxicos. Esto hace necesarios siete a ocho retrocruzamientos a la madre original. Con cada generación de retrocruzamiento se pierde parte de la resistencia del progenitor silvestre. Para encontrar clones que combinen la resistencia con las características de una buena variedad comercial, es necesario seleccionar de poblaciones relativamente grandes.

Otro camino que se ha tomado en el CIP es mejorar la población diploide a través de varios ciclos de selección recurrente. Esto se puede hacer hibridando haploides de buenas variedades o de material diploide proveniente de las especies cultivadas diploides S. stenotomum, S. phureja y S. goniocalyx con los clones silvestres que tienen la resistencia.

Se ha mostrado que es posible avanzar rápidamente al nivel diploide en cuanto a características agronómicas manteniendo al mismo tiempo la resistencia original del material silvestre. Si se hibrida este material diploide ya mejorado con material tetraploide de alto rendimiento y bien adaptado a altas temperaturas se obtienen, ya en la F_1 , híbridos que muestran buenas cualidades y alto rendimiento (Tabla 1). Un solo retrocruzamiento de estos híbridos provenientes de cruces TD a la madre puede dar lugar a material de calidad comercial.

Este es un nuevo camino para el uso de papa silvestre, que va a originar nuevo material genéticamente resistente a la marchitez bacteriana. Otro hecho importante es que la resistencia que se encuentra en las especies silvestres no es de la misma naturaleza que la resistencia que se encontró anteriormente en S. phureja. En otras palabras, si se logra combinar la resistencia de varias fuentes, se van a obtener poblaciones y, al final, variedades comerciales que tienen una resistencia amplia que permite combatir el patotipo en toda su variabilidad inclusive en las zonas cálidas.

Sin embargo, el mejorador de las nuevas poblaciones con nuevos tipos de resistencia puede hacer solamente una parte del trabajo. Los colaboradores en los programas nacionales tienen que participar en el proceso de mejoramiento identificando los genotipos resistentes bajo las condiciones de cada país y bajo las condiciones de zonas específicas en el país.

REFERENCIAS

1. MENDOZA H. and R. ROWE. 1977. Strategy for potato population breeding for adaptation to the lowland tropics. *American Potato Journal* 54: 488.
2. OCHOA, C. and P. SCHMIEDICHE. 1982. Systematic exploitation and utilization of wild potato germ plasm. Proceedings of the Congress "Research for the potato in the year 2 000". (In press).
3. SCHMIEDICHE, P. and C. MARTIN. 1982. Widening of the genetic base of the potato for resistance to bacterial wilt (Pseudomonas solanacearum). Proceedings of the Congress "Research for the potato in the year 2 000".
4. SEQUEIRA, L. 1979. Development of resistance to bacterial wilt derived from Solanum phureja. In: "Development in Control of Potato Bacterial Diseases". Report of a Planning Conference. International Potato Center, Lima-Perú. pp. 55-62.

Tabla 1. Mejoramiento para resistencia a marchitez bacteriana en 1981 (Prueba clonal).

Grupo	Fuente de Resistencia	No. de Clones Pro- bados en Campos no Infectados	No. de Clones Pro- bados en Campos Infectados	% Sobrevivientes	Rendimiento por Planta en kg
TD - Tetraploide 1a. selección Febrero 1981	S.sparsipilum S.chacoense S.phureja	343	-	-	1,01 Promedio
TD - Tetraploide 2a. selección Octubre 1981	ditto	51	-	-	1,33 Promedio 1,45 Mejor clon
Familia seleccio- nada de un TD x clon tropical (Prog. Mendoza)	ditto	-	-	-	1,58 Promedio familia 3,00 Mejor clon
A ₁ - Tetraploide Selección Pre- 1981	S.phureja	-	18	90-100	1,10 Promedio 1,67 Mejor clon

AISLAMIENTO, IDENTIFICACION Y PRESERVACION DE
Pseudomonas solanacearum

Julio R. Neto*

I. INTRODUCCION

Entre las enfermedades bacterianas de las plantas cultivadas, la marchitez bacteriana causada por Pseudomonas solanacearum es la más importante, dado que puede propiciar pérdidas elevadas especialmente en papa, tomate, tabaco y berenjena, entre otras.

Esta especie bacteriana es compleja y presenta diferentes aislamientos con características fisiológicas y patogenicidad distintas. De este modo, es conveniente evaluar el potencial de patogenicidad a través del conocimiento de las razas y bioformas, aún cuando este conocimiento aporte apenas una idea superficial del aislamiento estudiado.

A continuación se describen varias técnicas, con el propósito de resumir algunos de los trabajos desarrollados para el aislamiento, identificación y preservación de P. solanacearum.

II. TECNICAS DE AISLAMIENTO

A) El material debe estar preferiblemente en moderado estado de infección. De ocurrir exudado bacteriano en el tallo de la planta (o del tubérculo en el caso de papa); el exudado podrá ser diluido (una anzada) en 10 ml de agua destilada estéril y posteriormente estriado en placas con un medio de cultivo.

En el caso de que no hubiera exudado, se puede usar una cámara super-húmeda (Amaral, 1962), que auxilia en la obtención de la bacteria: a) poner el tallo de la planta (con el sistema radicular intacto) en un recipiente con agua; b) cortar el tallo transversalmente y poner un tubo de ensayo sobre el corte, de modo que llegue hasta el nivel del agua. Una vez que el agua es absorbida por el sistema radicular de la planta, se tiende a provocar un exudado del tallo cortado.

En tubérculos de papa sin exudado visible, se deben buscar los vasos con anomalía en la coloración y con auxilio de bisturí, retirar pequeñas porciones de tejido vascular, cortando en sentido longitudinal; el tejido cortado se pone en una lámina de vidrio sobre una gota de agua y se examina al microscopio. En caso de infección por P. solanacearum, los terminales de los vasos cortados deben exhibir una corriente o masa de células bacterianas hacia el agua, las cuales podrán ser recogidas por medio de un tubo capilar o pipeta Pasteur y transferidas luego en un medio de cultivo adecuado para el aislamiento.

B) Para el aislamiento de P. solanacearum presente en el sistema vascular de la planta, se corta el tallo en el sentido longitudinal, con un bisturí flameado previamente, se retiran porciones de tejido vascular oscurecido (1 cm de largo), colocándolos sobre láminas con agua estéril y, presionando los

* Instituto Biológico de Sao Paulo, Estación Experimental de Campinas, Campinas SP, Brasil.

tejidos con el auxilio del bisturí; se obtiene así la bacteria, que deberá ser estriada en un medio de cultivo.

C) En el caso de tubérculos de papa en estado avanzado de descomposición, debida principalmente a la acción de organismos secundarios, P. solanacearum podrá ser aislada a través de inducción en plántulas de tomate (Robbs, 1962). Unas tijeras de punta fina, flameadas previamente, se introducen en la región vascular del tubérculo con movimientos de abrir y cerrar; luego con las mismas tijeras se seccionan las hojas cotiledonares de las plántulas de tomate cultivadas en vasos pequeños. En 5 a 6 días P. solanacearum inducirá marchitez en las plántulas, de donde podrá ser aislada con facilidad. Además de facilitar el aislamiento, esta prueba permite el diagnóstico de la marchitez a partir de tubérculos en descomposición.

De otro lado, los síntomas de descoloración vascular y descomposición de tubérculos de papa pueden estar asociados con el ataque de Corynebacterium michiganense subsp. sepedonicum, o bien de Erwinia carotovora, subsp. atroseptica o E. chrysanthemi. En este caso, Corynebacterium puede ser distinguida de P. solanacearum mediante la tinción de Gram, mientras que las Erwinias podrán ser diagnosticadas por su acción pectinolítica.

D) Tinción de Gram - Existen muchas modificaciones de la prueba de tinción de Gram. Los reactivos y el tiempo empleados dependen de la rutina del laboratorio. Un ejemplo es la modificación de Kopeloff y Beerman, que se describe a continuación.

Preparación de las soluciones (Gram modificado por Kopeloff y Beerman).

Sol. a - Cristal violeta o violeta genciana.....1 g
Agua destilada100 ml
Sol. b - Carbonato de sodio1 g
Agua destilada20 ml
Sol. c - Yodo metálico2 g
Solución normal de hidróxido de sodio10 ml
Después de disolver el yodo, completar a 100 ml con
agua destilada.
Sol. d - Fucsina básica0,1 g
Agua destilada100 ml

PROCEDIMIENTO

- 1) Preparar láminas con exudado o células tomadas directamente de un medio de cultivo (24 h) y dejar secar al aire. Fijar el frotis en la llama y enfriar;
- 2) Recubrir con la solución a, agregando 2 a 3 gotas de la solución b, dejando en reposo durante 1 a 2 minutos;
- 3) Verter la mezcla y lavar con la solución c. Después, cubrir el frotis con la solución c y dejar en reposo durante dos minutos;
- 4) Lavar con agua corriente y dejar secar;

- 5) Desteñir con alcohol etílico (95%) o acetona, agitando la lámina levemente durante 10 a 15 segundos; lavar con agua corriente;
- 6) Cubrir con la solución d durante 5 a 10 segundos;
- 7) Lavar con agua corriente, dejar secar la lámina y examinar al microscopio.

En el caso de Corynebacterium (Gram positivo) las células aparecen en el microscopio con coloración azul, mientras que Pseudomonas e Erwinia (Gram negativas) toman coloración rojiza o rosácea.

El diagnóstico de Erwinia podrá ser efectuado por medio de la prueba pectinolítica en pimentón (Robbs, 1966). De frutos de pimentón previamente lavados y flameados se retiran discos, que son puestos en placas de Petri, con la cáscara hacia abajo. Con auxilio de un anza se retiran porciones de tejido del tubérculo examinado y se colocan en el centro de los discos (dejar un disco como testigo). La descomposición del disco en 24 horas indica la presencia de Erwinia, de donde podrá ser aislada.

III. MEDIOS PARA AISLAMIENTO DE P. SOLANACEARUM

Ordinariamente, P. solanacearum puede ser aislada y cultivada en variado número de medios de cultivo, muchos de los cuales se usan para múltiples propósitos.

Kelman (1954), elaboró un medio para el aislamiento de P. solanacearum, usando tetrazolio. Este medio ha mostrado ser de gran valor, dado que limita el crecimiento de contaminantes y permite separar los tipos virulentos de los no virulentos de la bacteria.

Medio TZC: (Kelman, 1954)

A) Solución de TZC (cloruro de 2, 3, 5 trifenil-tetrazolio).
Disolver 1,0 g de TZC (1% p/v) en 100 ml de agua destilada; acondicionar en frasco oscuro y esterilizar en autoclave durante 8 a 10 minutos. Guardar la solución en refrigeración.

Observación: la distribución de la solución en ampollas de vidrio (1 ml cada una) facilita su manejo.

B) Medio básico (sin TZC)

Dextrosa*	10,0 g
Peptona	10,0 g
Acido casamino	1,0 g (hidrolizado)
Agar	18,0 g
Agua destilada	1000 ml

* La dextrosa usada en cantidad de 2,5 g aumenta el crecimiento en especial de la raza 3.

El medio básico debe ser distribuido en alicuotas de 100 ó 200 ml y éstas deben ser esterilizadas en autoclave. Cuando fuera utilizado, fundir el medio al baño maría y adicionar el TZC al medio de modo que se obtenga una concentración final de 0,005% (0,5 ml TZC 1% para 1,0 ml para 200 ml de medio básico). Distribuir 20 ml/placa.

Harris (1976), al adicionar el TZC al medio básico en la proporción de 400 ppm (incluyendo Actidiona 100 ppm y Neomicina 200 ppm), comprobó que era más selectivo, siendo posible detectar la presencia de P. solanacearum en suelos naturalmente infestados.

C) Medio YC con TZC

A falta del medio de TZC, el medio YS (Dye, 1968) puede ser utilizado con éxito, agregando TZC en la misma concentración (0,005%) y usando el mismo procedimiento.

Medio básico YS:

NH ₄ H ₂ PO ₄	0,5 g	(Dihidrofosfato de amonio)
K ₂ HPO ₄	0,5 g	(Fosfato ácido de potasio)
Mg SO ₄ · 7H ₂ O.....	0,2 g	(Sulfato de magnesio)
Extracto de levadura.....	5,0 g	
Agar	12,0 g	
Agua destilada.....	1000 ml.	

pH = 6,8 a 7,2

Los medios de cultivo descritos deben ser preparados entre uno y dos días antes de su uso, a fin de secar el agua de condensación de la superficie del medio.

IV. IDENTIFICACION DE P. SOLANACEARUM

A) Medio TZC. Las colonias virulentas aparecen fluídas, ligeramente enraizadas, de coloración blanca crema, con el centro rosáceo. Frecuentemente son irregulares y raramente redondeadas. Las colonias no virulentas son redondas, butirosas, de coloración rojiza. Muchos contaminantes tienen también esta apariencia.

B) Coloración con "Sudan Black"

Las células de P. solanacearum, provenientes de cultivos o examinadas directamente de exudados de plantas, exhiben una coloración bipolar (Smith, 1896), debido a la presencia de inclusiones de polí beta-hidroxibutirato (Hayward, 1960). Pueden ser observadas en láminas fijadas y teñidas con safranina, fucsina o azul de metileno, mientras que el "Sudan Black" es apropiado para la coloración de estos lípidos (Burdon, 1946).

Preparación del colorante:

a) preparar la lámina y fijar en la llama; b) cubrir la lámina con el colorante "Sudan Black" durante 15 minutos; c) escurrir el exceso y dejar secar al aire; d) lavar la lámina en agua corriente y secar; e) teñir con safranina (0,5%) durante 13 segundos. Lavar y secar.

Los extremos de las células de P. solanacearum toman una coloración azul oscura o azul ceniza, mientras que el citoplasma permanece rosáceo.

C) Otras características de P. solanacearum

Además de los caracteres mencionados, P. solanacearum exhibe las siguientes propiedades:

- Tiene metabolismo respiratorio aeróbico
- Presenta catalasa y oxidasa positivas
- Produce ureasa
- Reduce el nitrato a nitrito
- Posee baja tolerancia a NaCl (2%)
- Produce de pigmento variable de un aislamiento a otro.
- No produce fluorescencia o pigmentos de tipo fenazina o carotenoide.

V. CLASIFICACION DE P. SOLANACEARUM

Los sistemas de clasificación para P. solanacearum más utilizados actualmente son aquellos que subdividen la bacteria en 3 razas (Buddenhagen et al., 1962) o en 4 bioformas (Hayward, 1964).

La clasificación en razas reconoce:

Raza 1, afecta solanáceas en general y varias otras plantas cultivadas de muchas familias;

Raza 2, ataca las musáceas (banana, plátano, abacá y heliconias);

Raza 3, específica de papa, afecta otros hospederos en condiciones especiales.

Este sistema natural, basado en patogenicidad de hospedantes puede proporcionar interpretaciones equivocadas, toda vez que aislar la bacteria de determinada planta no significa que el patógeno esté mejor adaptado al hospedante (French, 1979).

La clasificación en bioformas fue elaborada por Hayward (1964) quien estableció 4 biotipos, en base a la utilización de los disacáridos, lactosa y maltosa y en la oxidación de los alcoholes (hexosas), manitol y sorbitol.

Determinación de bioformas.

A) Medio básico:

NH ₄ H ₂ PO ₄	1,0 g	(Dihidrofosfato de amonio)
KCL.....	0,2 g	(Cloruro de potasio)
Mg SO ₄ . 7H ₂ O.....	0,2 g	(Sulfato de magnesio)
Peptona.....	1,0 g	
Azul de bromotimol.....	0,08 g	
Agar.....	3,0 g	
Agua destilada.....	1000 ml	

Ajustar el pH con NaOH (40%) hasta 7,0-7,1. Dispensar el medio en frascos (90 ml cada uno) y esterilizar en autoclave (121°C/30 min).

B) Soluciones de carbohidratos

Esterilizar los carbohidratos separadamente, en soluciones de 10%, distribuyéndolos en cantidades de 10 ml. Esterilizar en autoclave los

alcoholes-hexosas a 110°C/20 minutos. Los disacáridos (lactosa y maltosa) deben ser esterilizados por filtración o tindalización (3 días sucesivos).

C) Para usarlo, fundir el medio básico, enfriar a 60°C y mezclarlo con la solución (10 ml) de carbohidrato, dando la concentración final de 1% en el medio. Distribuir 4 ml/tubo.

La inoculación de los medios se hace agregando dos anzadas de una suspensión bacteriana. Incubar a 28°C y examinar hasta los 14 días. El cambio de coloración del medio para amarillo indica reacción positiva (fermentación de disacáridos u oxidación de alcoholes).

Bioformas				
Utilización/ Oxidación	1	2	3	4
Lactosa	-	+	+	-
Maltosa	-	+	+	-
Manitol	-	-	+	+
Sorbitol	-	-	+	+

Una correlación entre bioforma y raza, puede ser obtenida así:

Raza 1 = bioformas 1, 3 y 4, aislados de no musáceas.

Raza 2 = son los aislados de musáceas.

Raza 3 = bioforma 2.

VI. MANUTENCION Y PRESERVACION DE P. SOLANACEARUM

La manutención de P. solanacearum en cultivo es problemática. Esta especie bacteriana pierde con facilidad sus características biológicas en medio artificial, experimentando mutaciones diversas, especialmente en cuanto a patogenicidad. Por tanto, el cultivo periódico de P. solanacearum es indeseable.

Preservación significa la conservación del cultivo a largo plazo, manteniendo todo su potencial biológico. Varios métodos son conocidos para la preservación de cultivos bacterianos. P. solanacearum puede ser conservada durante largos períodos utilizando por ejemplo: a) cobertura con aceite mineral, b) agua estéril y c) liofilización.

La técnica de conservación escogida dependerá de las condiciones y disponibilidades de cada laboratorio en particular.

a) Uso de aceite mineral

Con este proceso se puede preservar el cultivo durante meses ya que esencialmente previene el desecamiento y la oxidación del medio, además de suprimir el crecimiento por la exclusión del oxígeno.

El aceite mineral (de uso medicinal) utilizado para recubrir el cultivo puede ser esterilizado en autoclave a 121°C/20 minutos.

El procedimiento es simple: la bacteria se cultiva en medio inclinado (en tubos de rosca) que proporcione buen crecimiento; el cultivo se recubre con el aceite mineral, siempre 1 a 2 cm encima del agar. El aceite mineral puede ser substituído por parafina líquida (esterilizada a 160°C/2 horas). Almacenar a temperatura ambiental y proceder al repicado periódico (seis meses) a fin de observar el estado del cultivo.

b) Agua estéril

Cuando ocurra un alto índice de mutantes avirulentos en cultivos de P. solanacearum, éstos pueden ser preservados en ampollas o tubos con agua destilada (agua deionizada o potable) estéril.

Procedimiento: cultivar la bacteria en medio de TZC y seleccionar colonias de tipo virulento; repicar para el medio básico (sin TZC). Después del crecimiento del cultivo, transferir (una anzada) a los tubos (con tapa de rosca) con 5 a 10 ml de agua estéril. Proceder a repicar periódicamente (cada seis meses) en medio TZC y purificar nuevamente en el caso de aparecer gran número de mutantes avirulentos (50% de las colonias).

P. solanacearum puede ser preservada por este método durante largos períodos, de hasta cinco años o más. Además, el método no es caro y su manejo es bastante fácil.

c) Preservación por liofilización

Este método consiste básicamente en desecar células bacterianas a bajas temperaturas ("freeze-drying") y almacenarlas en ampollas selladas al vacío. La liofilización es particularmente útil para preservar las colecciones de cultivos, donde son almacenados grandes cantidades de cultivos por largos períodos.

De manera general para la liofilización de cultivos bacterianos se siguen los siguientes procedimientos:

1) Selección de las ampollas: está relacionada con el tipo de equipo disponible y con la técnica de liofilización (grupo o múltiple; con o sin precongelamiento, etc.). Para múltiple normalmente se utilizan tubos de 0,7 x 12 cm (diámetro externo y longitud respectivamente) y capacidad para 0,5 ml.

2) Preparación de las ampollas: es recomendable esterilizar las ampollas inicialmente con calor seco (160°C/2 horas). Después, preparar las ampollas para recibir el cultivo: depositar en el fondo de cada ampolla una pequeña porción de algodón hidrófilo y colocar una tira de papel de filtro (2,0 x 0,5 cm) con la identificación del cultivo. Luego, taponar la ampolla con algodón no absorbente y esterilizar en autoclave (120°C/30 minutos).

3) Selección de substancia crioprotectora: para bacterias, usualmente son utilizados como crioprotectores la sacarosa, la leche, el glicerol o el sulfóxido de dimetilo.

- La sacarosa es utilizada en concentración final de 12%. Puede ser preparada a partir de una solución madre de 24% (p/v), esterilizada en autoclave. Al mezclarla con porciones iguales de la suspensión bacteriana en agua destilada da la concentración final deseada.
- La leche desnatada se utiliza en solución acuosa a 20% (p/v) en preparaciones para liofilización del tipo de grupo ("batch").
- El glicerol (Difco No. 0282), se utiliza en la concentración final de 10%.
- La sacarosa/peptona se esterilizan separadamente soluciones de 14% de sacarosa y 14% de peptona. Se mezclan en partes iguales antes de usar, para obtener una concentración final de 7%.

Cualquiera de las sustancias crioprotectoras mencionadas puede ser utilizada; es difícil predecir cuál es la más adecuada así como la concentración óptima para cada cultivo en particular. El autor ha verificado buenos resultados con la mezcla de 10% de sacarosa 10% y 10% de peptona en la proporción de 4:1.

4) Preparación de los cultivos: las células bacterianas que serán preservadas como suspensión en crioprotector, deben ser colectadas en la fase final del crecimiento logarítmico. Las sustancias mucocomplejas extracelulares parecen estar relacionadas con la protección de las células durante la liofilización, por lo tanto, es deseable cultivar la bacteria en medios que induzcan esta formación.

Se han obtenido resultados satisfactorios con el cultivo de P. solanacearum en el medio YDC (Dye, 1968) o GPA (Starr et al., 1960). Las colonias virulentas en medio TZC son repicadas al medio YDC e incubadas por 24 a 48 horas. P. solanacearum no deberá ser colectada directamente del medio TZC, pues esta sal ejerce efecto deletéreo sobre las células bacterianas durante el procesamiento. Resuspender el cultivo en el crioprotector, para formar una suspensión densa, en cantidad suficiente para la presentación de 20 a 30 ampollas (0,1 a 0,2 ml de la suspensión por ampolla, distribuidos con pipeta Pasteur).

5) Procesamiento de la liofilización y el almacenamiento: el procedimiento difiere según el equipo utilizado. El tiempo de liofilización no deberá ser inferior a seis horas, a fin de asegurar un adecuado secamiento del cultivo. La presión final debe estar en torno de 10^{-2} a 10^{-3} Torr. Al final de la liofilización, la ampolla debe ser sellada con llama y en el vacío. Para facilitar el sellado, una constricción (y espesamiento) deberá ser hecha al medio de la ampolla, generalmente a una altura de 7 cm de la base. Al final de la operación, probar las ampollas con un equipo de alta frecuencia y descartar las ampollas defectuosas. Por lo menos dos ampollas deben ser abiertas y probadas en cuanto a viabilidad y pureza del cultivo. Almacenar las ampollas al abrigo de luz.

De una manera simple, estos métodos resumen las técnicas para aislamiento, identificación y preservación de P. solanacearum. Para informaciones adicionales, consultar las siguientes referencias: Lelliott, 1965; Jenkins y Kelman, 1976; NZ DSIR, 1971 y ATCC Methods, 1980.

LITERATURA CITADA

1. AMARAL, J.F. do 1962. Câmara super-úmida e o seu emprego na identificação da murcha bacteriana causada por Pseudomonas solanacearum (Smith). Biológico, 29: 141-142.
2. AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION METHODS, 1980. I. Laboratory Manual on Preservation, Freezing and Freeze-Drying, as applied to Algae, Bacteria, Fungi and Protozoa, H. Hatt (Ed.). 51 pp.
3. BUDDENHAGEN, I.W., L. SEQUEIRA and A. KELMAN. 1962. Designation of races in Pseudomonas solanacearum. Phytopathology 52: 726 (Abstr.).
4. BURDON, K.J. 1946. Fatty material in bacteria and fungi revealed by staining dried, fixed slide preparations. J. Bacteriol. 52: 665-678.
5. DYE, D.W. 1968. A taxonomic study of the genus Erwinia. I. The "amylovora" group. N.Z. Jl. Sci. 11: 590-607.
6. FRENCH, E.R. 1979. Classification, distribution and origin of Pseudomonas solanacearum. In: Developments in control of Potato Bacterial Diseases. Report of a Planning Conference. CIP. June 12-15. Lima-Peru. p. 28-35.
7. HARRIS, D.C. 1976. Media for estimating a strain of Pseudomonas solanacearum in Kenyan soils by the dilution plate technique. In: SEQUEIRA, L. and KELMAN, A. 1976. Proc. 1st. Int. Planning Conf. and Workshop on the Ecology and Control of Bacterial Wilt caused by Pseudomonas solanacearum. Raleigh, N.C. July, 18-24.
8. HAYWARD, A.C. 1960. A method for characterizing Pseudomonas solanacearum. Nature 186: 405-406.
_____. 1964. Characteristics of Pseudomonas solanacearum. J. Appl. Bacteriol. 27: 265-277.
9. JENKINS, S. and A. KELMAN. 1976. Techniques for the study of Pseudomonas solanacearum. In: SEQUEIRA, L. & KELMAN, A. (Edits.) 1976. Proc. 1st. Int. Planning Conf. and Workshop on the Ecology and Control of Bacterial Wilt caused by Pseudomonas solanacearum. Raleigh, N.C. July 18-24.
10. KELMAN, A. 1954. The relationship of pathogenicity in Pseudomonas solanacearum to colony appearance on a tetrazolium medium. Phytopathology 44: 693-695.
11. LELLIOTT, R.A. 1965. The preservation of plant pathogenic bacteria. J. Appl. Bacteriol. 28: 181-193.
12. NEW ZEALAND REFERENCE CULTURE COLLECTION OF MICRO-ORGANISMS. NZ DSIR Information series No. 82. D.W. Dye. Secretary. 10 p.

13. ROBBS, C.F. 1962. Descrição de um metodo pratico para a constatação de Pseudomonas solanacearum (Smith), em tubérculos suspeitos de batatinha (Solanum tuberosum L.). Olericultura 2: 146-149.
- _____, 1966. Alguns métodos rápidos para a identificação de bacterias patogénicas em batata-semente. Agronomia 24: 33-39.
14. SMITH, E.F. 1896. A bacterial disease of the tomato, eggplant and Irish potato (Bacillus solanacearum nov. sp.). U.S. Dept. Agric., Div. Veg. Phys. and Path., Bul. 12: 1-28.
15. STARR, M.P., W. BLAU and G. COSENS. 1960. The blue pigment of Pseudomonas lemonnierii. Biochem. Z. 333: 328-334.

EVALUACION DE CAMPO PARA CLONES DEL CIP MEJORADOS
POR RESISTENCIA A LA MARCHITEZ BACTERIANA

E.R. French*

El programa de mejoramiento por resistencia a marchitez bacteriana ha desarrollado clones con resistencia derivada de Solanum phureja. Esta resistencia es controlada por pocos genes y es específica para una o más variantes de la bacteria. Estas variantes pueden pertenecer tanto a la raza 1 como a la raza 3 de Pseudomonas solanacearum. La raza 1 se caracteriza por tener muchos hospedantes en varias familias de plantas incluyendo especies cultivadas y malezas; comúnmente, muchas solanáceas son susceptibles. Esta raza se encuentra con más frecuencia en climas cálidos (tropicales y subtropicales bajos). La raza 3 es específica de la papa pero a veces puede infectar otro cultivo o maleza de un lugar dado. Esta ocurre principalmente en climas fríos, tanto tropicales de altura como de zona templada, o en plantas de papa en clima cálido que crecen de tubérculos-semillas producidos en climas fríos.

Generalmente la raza 1 persiste en el suelo por muchos años por lo que tiene muchos hospedantes, mientras que la raza 3 tiende a desaparecer en pocos años (puede incluso desaparecer tan rápidamente que dificulte realizar evaluaciones). Por observación o conocimiento previo puede que sea posible juzgar qué raza se tiene, pero, si hay duda al respecto, el CIP puede dar información sobre cómo recolectar y enviar muestras para su identificación.

Ambas razas pueden ocurrir en un mismo campo en zonas tropicales de altitud baja a intermedia (0-1500 m). Ubicar un clon con resistencia a variantes de cada una de las dos razas es posible, pero es poco probable. Es más probable que los clones desarrollados hasta la fecha posean resistencia a variantes de la raza 3 más bien que a las de la raza 1. Como las variantes de la raza 1 ocurren con más frecuencia en climas calientes, la resistencia a ellas probablemente no sea completa sino sólo un cierto grado de resistencia, es decir, se enferman menos plantas. Además no se debe olvidar que el daño por nematodos acentúa la incidencia de marchitez bacteriana.

Establecimiento de un campo para evaluación

La selección de plantas resistentes exige un campo con una razonable uniformidad de infección. Generalmente, es preferible escoger un campo con un historial conocido de infección por marchitez o con facilidad para observar marchitez bacteriana y registrar su distribución o con ambas características. Si se ha ubicado un campo con potencial de inóculo bajo, se puede sembrar un cultivo susceptible y observar la incidencia natural de marchitez. Si usted juzga que esa incidencia es insuficiente o está mal distribuida, compense inoculando.

Si no se encuentran cerca campos así, entonces será necesario infestar un suelo, pero los resultados pueden ser impredecibles: o se tiene un potencial insuficiente de inóculo, o se tiene uno tan alto que todo lo que se siembre muera rápidamente.

* Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú.

Para infestar el suelo de un campo, siembre tubérculos cosechados de un cultivo con marchitez y permita el desarrollo de la enfermedad, fomentándolo con riego (si fuera necesario y posible) para mantener un alto nivel de humedad de suelo. Como alternativa, siembre un cultivo susceptible e inocúlelo.

La inoculación puede ser difícil porque quizás no se cuente con las instalaciones y la experiencia para aislar y multiplicar la bacteria. Los tubérculos de plantas enfermas son una buena fuente de inóculo. Parta tubérculos aparentemente sanos procedentes de plantas que se marchitaron y escoja los que tienen exudado en el anillo vascular. Con el exudado se prepara una suspensión lechosa para inocular. La inoculación se puede realizar cortando, con unas tijeras mojadas en el inóculo, las puntas de 2 a 3 hojas por planta o inyectando con jeringa y aguja gruesa en la axila de 2 ó 3 hojas. La enfermedad debe desarrollarse si la temperatura promedio es 20°C o más.

Una vez que comienzan a marchitarse las plantas se puede sembrar una prueba un mes después. Arranque plantas de numeración impar en el surco y reemplácelas con las plantas en prueba. Tanto las bacterias que queden en el suelo como los restos del sistema radicular servirán de inóculo; además exudarán bacterias de las raíces de las plantas enfermas que quedan.

Siembra de un experimento de evaluación

El diseño experimental depende principalmente de la cantidad de tubérculos disponibles por clon. Veamos tres casos:

- 1) Familias de tubérculos donde cada tubérculo es un clon diferente;
- 2) Clones selectos, previamente evaluados y multiplicados, donde hay cinco tubérculos de cada clon, y
- 3) Selecciones avanzadas para cada una de las cuales hay disponibilidad de 20 ó más tubérculos. (Ver anexo I.)

1. Familias de tubérculos. Siembre intercalando con un cultivo o variedad de papa susceptible, de manera que las distancias sean 80 cm entre plantas en prueba y 90-100 cm entre surcos. Las plantas susceptibles pueden ser sembradas cada 80 cm, unas semanas antes. Siembre los tubérculos de cada familia consecutivamente en un surco intercalados con la variedad susceptible, continuando si fuera necesario en el surco siguiente. Anote cuidadosamente esta secuencia y ponga una estaca para cada planta, o al menos para cada cinco plantas (Fig. 1).

2. Clones selectos. Contando con cinco tubérculos por clon se tienen dos posibilidades.

- a) sembrar los cinco en una parcela, lo cual puede dar resultados no confiables cuando el potencial de inóculo varía de parcela a parcela, o
- b) utilizar parcelas de a una planta y establecer cinco repeticiones en un diseño de bloque completamente al azar (Fig. 2).

La segunda posibilidad es más difícil de preparar y conducir, pero da datos confiables.

FIGURA 1. Diseño experimental para la siembra de familias de tubérculos. Se alterna un susceptible (S) con plantas de prueba (P) tanto a lo largo de los surcos como entre surcos, excepto en el perímetro donde todos son S. La distancia entre plantas es 40 cm y entre surcos 100 cm.

BORDE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Familia A	S	P A1	S	P A2	S	P A3	S	P A4	S	P A5	S	S
Fam. A & B	S	S	P A6	S	P B1	S	P B2	S	P B3	S	P B4	S
Familia C	S	P C1	S	P C2	S	P C3	S	P C4	S	P C5	S	S
Familia D	S	S	P D1	S	P D2	S	P D3	S	P D4	S	P D5	S
BORDE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

FIGURA 2. Siembra completamente al azar de cinco tubérculos por clon, intercalada con un susceptible (S). La distancia entre plantas es 60 cm y entre surcos 100 cm.

BORDE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Surco 1 Parcela N°	S	A3 1	S	A1 2	S1	A4 3	S1	A1 4	S	A2 5	S	S
Surco 2 Parcela N°	S	S	A4 6	S	A2 7	S	A3 8	S	A2 9	S	A4 10	S
Surco 3 Parcela N°	S	A3 11	S	A1 12	S	A2 13	S	A4 14	S	A3 15	S	S
Surco 4 Parcela N°	S	S	A2 16	S	A1 17	S	A3 18	S	A1 19	S	A4 20	S
BORDE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

3. Selecciones avanzadas. Clones que hayan pasado ambas pruebas (de familia de tubérculos y de clones selectos), y que hayan demostrado buen potencial por su resistencia y por sus características agronómicas, son multiplicados y distribuidos para pruebas en lugares donde se hayan establecido buenos campos de prueba. Como tales clones son pocos, pueden ser comparados, en siembras en bloque al azar, con selecciones previas o variedades locales. Estas selecciones avanzadas se siembran usando prácticas culturales normales a excepción de aumentar la distancia entre plantas y surcos para poder observar mejor y contar el número de plantas enfermas por parcela. Los 20 tubérculos pueden ser utilizados en bloques de a cinco, con cuatro repeticiones. El intercalado con un susceptible puede no ser necesario. Para registrar mayor rendimiento y diferencias salientes en características agronómicas (tipo de follaje, forma de planta, forma de tubérculo, color de piel y de carne, etc.) se puede utilizar el código numérico dado por Bryan, 1983*.

Registro de datos

Tres factores son importantes:

- 1) Marchitez de plantas
- 2) Infección de tubérculos (síntomas visibles o infección vascular latente) y
- 3) Rendimiento de tubérculos utilizables.

Es necesario mantener un registro semanal para establecer la fecha en que la planta se marchita y muere a causa de P. solanacearum, o si la muerte es por otras causas. Se deben controlar insectos y hongos. Cabe notar que si no hay un control adecuado del tizón tardío no se podrán registrar los datos de marchitez.

El Anexo II es un formulario para la toma de datos, llenado con ejemplos de datos para familias de tubérculos, clones selectos y selecciones avanzadas. Se adjunta además un formulario que puede ser fotocopiado para su uso o se pueden pedir copias al CIP. Un segundo juego puede ser modificado para registrar características agronómicas.

Para mayor información sobre la sintomatología, consulte el Compendio de Enfermedades de la Papa, publicado por el CIP**.

Interpretación de datos

Los resultados variarán según el clima (temperatura, precipitación). Es importante escoger bien la estación del año y la fecha de siembra. Para climas frescos probablemente sea posible seleccionar clones completamente resistentes a pesar de crear las condiciones más favorables posibles para la bacteria.

Para climas más cálidos quizás sólo sea posible seleccionar clones que sufren menos que otros.

* Bryan, J.E. 1983. Pathogen tested potato cultivars for distribution. International Potato Center, Lima, Perú.

** Hooker, W.J. (ed): 1980. Compendio de Enfermedades de la Papa. Trad. del inglés por T. Ames de Icochea. Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú.

Se dan ejemplos de resultados en el Anexo II. El miembro de la familia A, clon A-1, es aparentemente resistente y de rendimiento satisfactorio. A-2 es susceptible y se descarta. A-3 es aparentemente resistente y de buen rendimiento por lo cual también es seleccionado.

El clon selecto A-1, cuando fue probado en cinco repeticiones de a una planta, fue infectado en cuatro de las cinco repeticiones y fue descartado.

El clon selecto A-3 se comportó bien en las cinco repeticiones, exceptuando un nivel bajo de infección latente en los tubérculos que se hizo evidente después de almacenarlos. Este clon entró a un estudio comparativo con la designación de selección avanzada A-3.

La selección avanzada A-3 crea un dilema: casi no mostró marchitez, tiene buen rendimiento y poca infección latente (todas las repeticiones fueron similares a la que se muestra). Sería riesgoso usarla para establecer una variedad si no se contara con un buen programa de semilla.

La selección avanzada A-7 (la repetición dada es representativa de las cinco) es fácil de interpretar. No hubo plantas marchitas ni se presentaron síntomas en tubérculos. Se le puede considerar tentativamente como altamente resistente bajo las condiciones de prueba empleadas (clima, variante de la bacteria, etc.)

ANEXO I.

Definiciones para los fines de este artículo:

Familia de tubérculos: Un juego de tubérculos, individuos de una sola progenie identificados con un número de seis dígitos (el primer dígito indica el programa de mejoramiento del CIP, los siguientes dos el año del cruzamiento y los tres restantes identifican la familia). Las selecciones de una familia se denominan clones, cada uno de los cuales recibe el mismo número de la familia más un punto decimal seguido de su numeración propia que consiste de uno a tres dígitos. Por ejemplo, la familia de tubérculos 382508 está compuesta de 100 tubérculos individuales (cada uno de un genotipo distinto), y se seleccionan cuatro de éstos, los clones 382508.7, 382508.31, 382508.54 y 382508.86.

Clones selectos: Individuos seleccionados de familias de tubérculos a través de pruebas adicionales. Conservan la misma numeración que en la familia de tubérculos pero son ensayados en juegos de cinco o más tubérculos.

Selecciones avanzadas: Clones selectos que han sido escogidos en pruebas de campo con otros clones selectos y han sido incrementados como variedades potenciales. Estos pueden ser identificados por el sistema de numeración antes ilustrado correspondiente al número de clon, o mediante un número de seis dígitos cuando pertenecen al programa de semilla libre de enfermedades del CIP, pero su origen no es el programa de mejoramiento del CIP.

ANEXO II

Formulario para registrar marchitez bacteriana

Parcela N°/ Código	Semanas después de la siembra ^a							Cosecha ^b			Almacenamiento ^c				
	3	4	5	6	7	8		E	S	Peso S	E (3s)	S	E (6s)	S	
<i>Familia A-1</i>	1	1	1	1	1	1		0	9	990	0	9	0	9	
<i>A-2</i>	1	1	1	M	M	X		3	4	210	4	0			
<i>A-3</i>	1	1	1	1	1	1		0	10	1150	0	10	0	10	
<i>etc.</i>															
<i>1. Clon A-3</i>	1	1	1	1	1	1		0	11	1220	0	11	1	10	
<i>2. A-1</i>	0	1	1	1	M	X		3	5	760	2	3	1	2	
<i>3 A-4</i>	1	1	M	M	X			0	0	0					
<i>etc.</i>															
<i>1. Selec. A-7</i>	<i>Altura mediana, flores blancas, llora el surco</i>														
<i>Planta N°1</i>	1	1	1	1	1	1		0	9	920	<i>(Conglomerado, 4 tubérculos de cada planta</i>				
<i>2</i>	1	1	1	1	1	1		0	7	850	<i>bérculos de cada planta</i>				
<i>3</i>	0	1	1	1	1	1		0	12	1080	0	20	0	20	
<i>4</i>	1	1	1	1	1	1		0	11	1150					
<i>5</i>	1	1	1	1	1	1		0	8	900	<i>Tub. lisos, blancos</i>				
<i>TOTAL</i>									47	4900	<i>carne crema.</i>				
<i>Promedio</i>									9,4	980					
<i>2. Selec. A-3</i>	<i>Plantas altas, flor lila</i>														
<i>Planta N°1</i>	1	1	1	1	1	1		0	11	1150					
<i>2</i>	1	1	1	1	M	M		2	10	1100	3	17	2	15	
<i>3</i>	1	1	1	1	1	1		0	16	1400					
<i>4</i>	1	1	1	1	1	Z		0	14	1450	<i>Ojos poco profundos rosado oscuros.</i>				
<i>5</i>	1	1	1	1	1	1		0	12	1320	<i>Piel rosado claro</i>				
									63	6420	<i>Carne amarilla</i>				
									12.6	1284					

a/ Evaluar según:

- O = no emerge aún
- 1 = emergido
- M = marchitando
- X = marchito, no recuperable
- Z = muerte por otra causa

b/ E – S: Número de tubérculos enfermos (E) o sanos (S) – según síntomas externos.
 Peso S: Peso de tubérculos sanos, en gramos.

c/ Número de tubérculos E ó S después de almacenar 3 y 6 semanas, cortando para la evaluación final.

Participantes

ARGENTINA

Alicia Melegari

Universidad Nacional de Mar del Plata
Facultad Ciencias Agrarias - Depto. Agronomía
Casilla Correos 276 - 7620 Balcarce

Irma M. de Mitidieri

Pablo Bianchini

Estación Experimental Agropecuaria San Pedro - INTA
Ruta 9 - Km 170 Telf: 329-25075
2030 San Pedro - Bs. As.

BRASIL

Armando Takatsu

Universidad de Brasilia - Depto. de Virología Vegetal
70.910 Brasília - DF Telf: (061) 272.0000 (Ramal 2192)

Charles F. Robbs

Universidad Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ
Antiga Rodovia Rio-São Paulo - Km 47 Telf: (021) 788.2300
23.460 Seropédica (Itaguaí) - Rio de Janeiro.

Hilario da Silva Miranda Filho

Instituto Agronómico de Campinas (IAC)
Cx. Postal 28 Telf: 192-419057
13.100 Campinas - São Paulo

José Tadeu Athayde

EMCAPA

Cx. Postal 391 Telf: (027) 226.0533 (Ramal 138)
29.000 Vitória - Espírito Santo

Alvacir A. Fedalto

(Ramal 245)

Carlos A. Lopes

(Ramal 240)

Claudilo Bittencourt da Silva

(Ramal 240)

Fermin de la Puente

(Ramal 246)

Flavio A. Couto

(Ramal 203)

Francisco B. Reifschneider

(Ramal 242)

Leonardo de Brito Giordano

(Ramal 234)

Ossami Furumoto

(Ramal 246)

EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças - CNPH
Cx. Postal (11) 1316 Telf: (061) 556.5011
70.000 Brasília-DF

Octavio A. Drummond

EPAMIG

Av. Amazonas 115 - 7° andar

Cx. Postal 515 Telf: (031) 222.6544

30.000 Belo Horizonte - Minas Gerais

COLOMBIA

Gustavo Granada

ICA

Apartado Aéreo 233 Telf: 28162 (Ext. 231)

Palmira

Rafael Navarro

ICA

Apartado Aéreo 51764 Telf: 712459

Medellín

PERU

Edgardo Torres

Universidad de Huánuco "Hermilio Valdizán"

Dos de Mayo 680 Telf: 2340

Huánuco

URUGUAY

Felipe Canale

Dirección General de Sanidad Vegetal

Millan 4703

Montevideo

CIP

Eduardo R. French

Peter Schmiediche

Centro Internacional de la Papa

Apartado 5969 Telf. 366920

Lima - Perú

Oscar A. Hidalgo

Centro Internacional de la Papa

c/o Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças - CNPH

EMBRAPA - Cx. Postal (11) 1316 Telf. 556.2384

70.000 Brasilia-DF - Brasil

Oscar S. Malamud

José Luis Zapata

Centro Internacional de la Papa

Apartado 92654 Telf. 281.9468

Bogotá 8, D.E.

Colombia

INVITADOS

- Leopoldo Fucikovsky Z.
Centro de Fitopatología
Colegio de Postgraduados
56230 Chapingo
México

- Julio Rodrigues Neto
Instituto Biológico
Cx. Postal 70
13.100 Campinas
São Paulo - Brasil

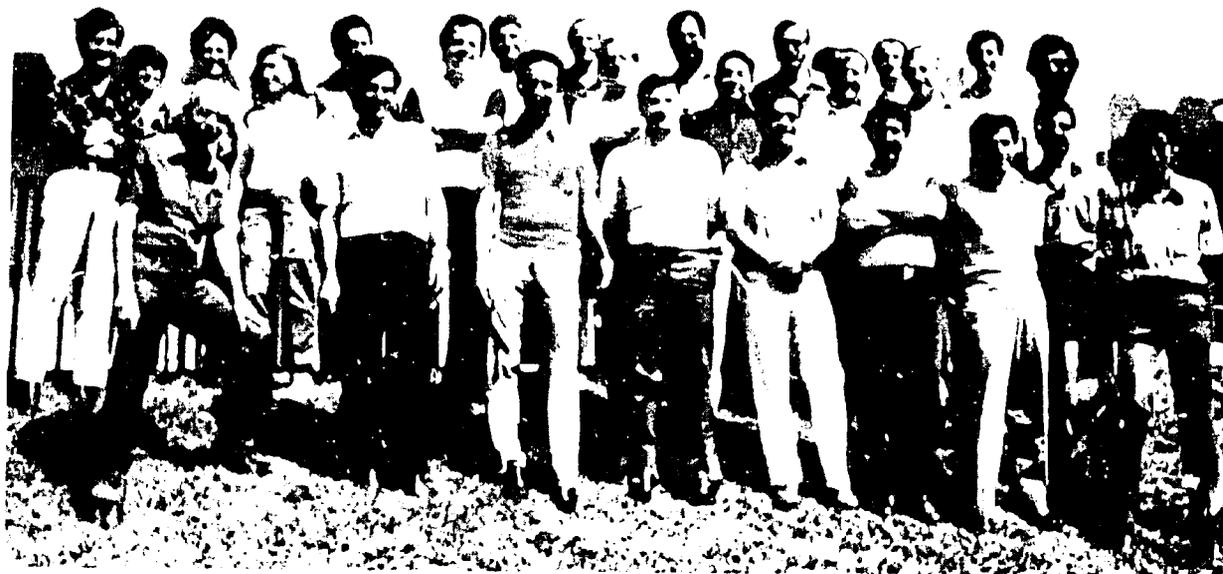
10:00-10:30	Café	
10:30-11:30	Diagnosís de la Marchitez Bacteriana con énfasis en latencia	E.R. French
11:30-12:30	Campo-bio: Aspectos epidemiológicos	F. Reifschneider
12:30-14:00	Almuerzo	
14:00-15:30	Demostraciones: Aislamiento, identificación y mantenimiento de <u>P. solanacearum</u>	C.A. Lopes (Coordinador)
15:30-17:30	Trabajos prácticos relacionados.	

JUEVES 2

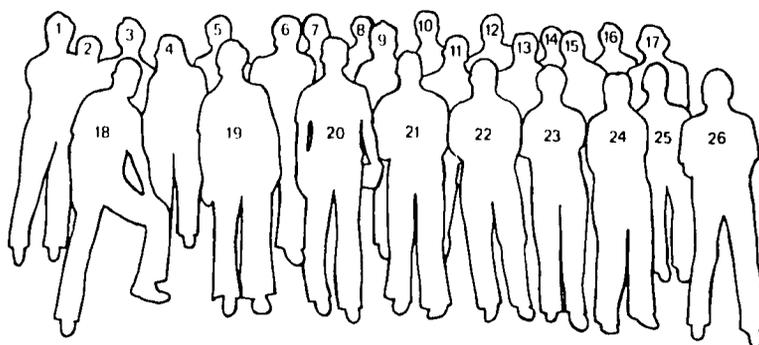
SESION IV	MEDIDAS DE CONTROL DE LA MARCHITEZ BACTERIANA Moderator: H. Miranda	
8:00- 9:00	Resistencia genética: fuentes de resistencia y mejoramiento genético	P. Schmiediche
9:00-10:00	Pruebas nacionales con clones mejorados	C.A.Lopes
10:00-10:30	Café	
10:30-11:30	Control integrado de la Marchitez Bacteriana	C. Robbs
11:30-12:30	Discusión sobre control	
12:30-14:00	Almuerzo	
14:00-15:00	Tolerancia de <u>P. solanacearum</u> en programas de producción de semilla	C.A. Lopes
15:00-17:00	Visita de campo e invernadero: Pruebas de material genético	

VIERNES 3

SESION V	PLANEAMIENTO Y COORDINACION DE ACTIVIDADES Coordinadores: C.A. Lopes y O. Malamud	
8:00-12:30	Planeamiento y coordinación de actividades de investigación y transferencia de tecnología en los países latinoamericanos y entre ellos	
12:30-14:00	Almuerzo	
14:00-15:30	Demostraciones: Técnicas de inoculación con <u>P. solanacearum</u>	O. Hidalgo (Coordinador)
15:30-17:00	Trabajos prácticos relacionados	
20:00	Clausura	



PARTICIPANTES



- | | |
|------------------------------|-----------------------------|
| 1. ARMANDO TAKATSU | 14. FRANCISCO REIFSCHNEIDER |
| 2. ALICIA MELEGARI | 15. PABLO BIANCHINI |
| 3. IRMA M. DE MITIDIERI | 16. CARLOS A. LOPES |
| 4. (Visitante) HIJA DE IRMA | 17. CLAUDIO BITTENCOURT |
| 5. VALDIR JOSUE RAMOS | 18. OCTAVIO DRUMMOND |
| 6. JOSE TADEU ATHAYDE | 19. MARCELO DE TARGA ARAUJO |
| 7. GUSTAVO GRANADA | 20. OSCAR A. HIDALGO |
| 8. EDUARDO FRENCH | 21. FELIPE CANALE |
| 9. CHARLES ROBBS | 22. EDGARDO TORRES |
| 10. HILARIO DA SILVA MIRANDA | 23. JOSE LUIS ZAPATA |
| 11. FERMIN DE LA PUENTE | 24. RAFAEL NAVARRO |
| 12. ALVACIR A. FEDALTO | 25. PAULO C. R. MENDEZ |
| 13. PETER SCHMIEDICHE | 26. OSSAMI FURUMOTO |

Foto de: OSCAR MALAMUD (también participó)

Esta publicación se imprimió en los talleres del
Departamento de Capacitación y Comunicaciones,
Centro Internacional de la Papa, Lima, Perú, setiembre, 1984

Tirada: 700

XII-P/Reg II-5-06-0-700