

# ETIOLOGIA DE LA MANCHA FOLIAR Y ENNEGRECIMIENTO DE LOS HACES VASCULARES DE CRUCIFERAS CULTIVADAS EN EL ESTADO DE AGUASCALIENTES

M. en C. Onésimo Moreno Rico

## RESUMEN

Se determinó el agente etiológico de una enfermedad que causa la necrosis y ennegrecimiento de los haces vasculares de los tallos, y necrosis de color oscuro en las hojas más internas de las coquecitas de col de Bruselas. En las hojas, tanto de este cultivo, como en col, coliflor y brócoli forma manchas cloróticas, generalmente en forma de "V" que posteriormente se necrosan y unen. La incidencia de esta enfermedad se determinó en 10 parcelas de brócoli situadas en una finca agrícola dedicada al cultivo de estas hortalizas en el Municipio de Aguascalientes, Ags.

Los aislamientos, pruebas de patogenicidad, reproducción de los síntomas típicos realizados, así como la concordancia de las características morfológicas y fisiológicas del agente causal, permitieron determinar que la enfermedad es causada por la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

La enfermedad fue encontrada en 7 de 10 parcelas con una incidencia promedio de 27.2%. Sus rangos fluctuaron de 0 a 59%. En base a las observaciones y datos obtenidos, esta enfermedad no causó daños económicos de consideración ya que no destruye a toda la planta. Sin embargo, es un peligro potencial y puede generar problemas graves como los que ocasionó en col de Bruselas (al que afecta sistémicamente) en 1984, en el Estado de Aguascalientes, donde un 60% de la producción de exportación se perdió.

## INTRODUCCION

En el estado de Aguascalientes, en los últimos años se ha incrementado el área de cultivo de algunas Crucíferas como la col (*Brassica oleracea* var. *capitata*), col de Bruselas (*B. oleracea* var. *gemnifera*), coliflor (*B. oleracea* var. *botrytis*) y brócoli (*B. oleracea* var. *italica*). Esto se debe a lo redituable del cultivo y a que un porcentaje importante de la producción se exporta a los E.U.A. y a otros países. Algunos agricultores de Aguascalientes que siembran grandes extensiones de estas Crucíferas, señalan que hay más de 1,200 has cultivadas, obteniéndose 2.5 ciclos de cultivo al año <sup>4</sup>.

Los rendimientos de estos cultivos pueden ser reducidos por varios factores abióticos y bióticos (<sup>1 8 9 10</sup>). Al respecto, se ha observado que en éstos se presenta una enfermedad que causa la necrosis y ennegrecimiento de los haces vasculares de los tallos y necrosis oscura de las hojas más internas de las coquecitas de col de Bruselas, que resultó en un 60% de pérdidas en la producción de exportación de esta hortaliza en 1984 <sup>4</sup>. Además, en las hojas de estos cultivos, causa manchas cloróticas que posteriormente se necrosan y unen, lo que puede destruir gran parte de éstas.

En base a que los síntomas antes descritos son similares a los que causa *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, bacteria que se considera la enfermedad más importante de las Crucíferas cultivadas <sup>10</sup>, a las pérdidas que ha ocasionado esta enfermedad, y a la importancia del cultivo de estas hortalizas en Aguascalientes, se

realizó este trabajo con la finalidad de identificar al agente causal y conocer su incidencia en el cultivo de brócoli.

## MATERIALES Y METODOS

Se realizaron visitas periódicas a los cultivos ya señalados, en el Municipio de Aguascalientes, para observar el desarrollo de los síntomas y realizar su descripción. Además, se colectaron muestras de tallos, coquecitas (de col de Bruselas) y hojas de estos cultivos para realizar el aislamiento, pruebas de patogenicidad e identificación del patógeno.

**Aislamiento del patógeno.** A partir de los diversos órganos afectados, se tomaron secciones de tejido vegetal del límite del avance de las lesiones, de 5 X 5 mm<sup>2</sup>, se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 1% durante 1-2 min, y en condiciones asépticas, se enjuagaron en agua destilada estéril, se sembraron en el medio de cultivo extracto de levadura-carbonato de calcio-dextrosa-agar (YDC) y se incubaron 48-72 hrs. a 28° C <sup>1 3</sup>.

**Prueba de patogenicidad.** La patogenicidad de las bacterias que se aislaron se comprobó usando la técnica empleada por Schultz et al <sup>7</sup>. Esta, consistió en inocular 10 plántulas de brócoli var. Green Duke y 10 de coliflor var. Imperial (las más cultivadas en la región) de 3-4 semanas de edad, con un cultivo de las colonias sospechosas desarrolladas en YDC 48-72 hrs. La inoculación se realizó mediante una aguja hipodérmica calibre 27 impregnada con las bacterias; con la cual se realizó una punción en el peciolo de la hoja más grande de las plántulas a 1 cm de la lámina foliar. Cinco plántulas de brócoli y cinco de coliflor fueron punzadas con una aguja estéril para que actuaran como testigo. Todas las plántulas se colocaron en cámara húmeda a 26-27 °C durante 2-3 semanas. Posteriormente, se realizó al patógeno como ya se indicó anteriormente, a partir de las plántulas que enfermaron.

**Identificación del patógeno.** Para esto, se determinaron las características morfológicas y fisiológicas indicadas en el Cuadro 1, mismas que son referidas por Schaad <sup>5</sup> y el manual Bergey's <sup>2</sup>.

**Incidencia de la enfermedad:** La incidencia se determinó durante los días 30-VIII-89 al 14-IX-89 en 10 parcelas de brócoli de 1 ha. cada una, de una finca agrícola de aproximadamente 600 has. dedicadas al cultivo de las hortalizas mencionadas, situada en el Municipio de Aguascalientes, Ags. Se utilizó un muestreo dirigido que consistió en la observación cuidadosa de 10 plantas en uno de cada 10 surcos, en los cuales tanto las plantas como los surcos estaban separados por aproximadamente, 10 m.

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

**Descripción de síntomas.** Además de los síntomas ya indicados en col de Bruselas, se observó que las coquecitas dañadas presentaron pudrición blanda, probablemente a causa de la invasión secundaria por *Erwinia caratovorae* y *Pseudomonas marginalis* <sup>10</sup>. En las

hojas de estos cultivos, el patógeno formó manchas cloróticas pequeñas, que se generan en las heridas (por insectos masticadores) y bordes de las hojas, que generalmente, tienen forma de "V" con el vértice dirigido hacia la nervadura central. Estas lesiones crecen en tamaño, se unen, necrosan, secan y toman una coloración pardo-claro, y las nervaduras que se encuentran en éstas adquieren un color negro (figura 1). Estos síntomas concuerdan con los que produce *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* agente etiológico de la "pudrición negra" o "nervadura negra" de las Crucíferas<sup>1,8,9,10</sup>. En invierno se han observado cultivos de col de Bruselas con síntomas en haces vasculares de los tallos y en las colecitas, pero ninguno en las hojas. Esto se debe a que las condiciones climáticas no son favorables al desarrollo del patógeno ni a la manifestación de síntomas externos en ellas<sup>10</sup>.

**Aislamiento y prueba de patogenicidad.** En todos los aislamientos realizados, creció una bacteria que forma colonias de color amarillo, que reprodujo los síntomas observados en campo. Las hojas de las plántulas de brócoli y coliflor mostraron los síntomas de clorosis en forma de "V" y posterior necrosis a los 16-18 días después de la inoculación (figura 2). Esporádicamente, se aisló otra que formó colonias blanquecinas (que no se identificó).

**Identificación del patógeno.** En el Cuadro 1 se observan los resultados obtenidos para la determinación de las características

morfológicas y fisiológicas de la bacteria patógena comparada con las de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. En éste, se muestra que la bacteria en estudio coincide en todas las características con *X. campestris* pv. *campestris*.

La bacteria fue identificada como *X. campestris* pv. *campestris*, en base a que la sintomatología observada en campo y la reproducida en el laboratorio, así como todos los resultados de las pruebas aplicadas (Cuadro 1), corresponden a lo descrito por otros investigadores<sup>2,5,6,7,8</sup>.

**Incidencia de la enfermedad.** En el cuadro 2 se observan los resultados obtenidos en este rubro. En él, se aprecia que la incidencia varió de 0% (parcelas 2, 3 y 9) a 59% (parcela 1) con un promedio de 22.2%. A pesar de que se encontraron 6 parcelas con un porcentaje de incidencia superior a 20%, esta enfermedad, aparentemente no causó daños económicos de consideración ya que no destruye a las plantas por completo. Estos resultados coinciden con los estudios publicados de las regiones costeras con clima frío del Noreste de Europa y Norteamérica<sup>10</sup>. Además, fueron pocas las plantas que presentaron un daño superior al 40% del área foliar, lo que efectivamente reduciría la producción<sup>8</sup>. Sin embargo, esta enfermedad se puede considerar como un peligro potencial en las Crucíferas cultivadas, ya que puede causar pérdidas graves en la producción como los mencionados para col de Bruselas<sup>4,8</sup>.

CUADRO 1

COMPARACION DE LAS CARACTERISTICAS DE LA BACTERIA AISLADA DE CRUCIFERAS CULTIVADAS EN AGUASCALIENTES CON LAS DE *X. campestris* pv. *campestris*

CARACTERISTICAS	Bacteria aislada	<i>Xanthomonas campestris</i>
A) Para género		
Colonias amarillas en YDC .....	+	+ a
Fluorescencia en medio KB .....	—	— a
Tinción de Gram .....	—	— a
Flagelación monótrica .....	+	+ a
Metabolismo oxidativo (aerobio) .....	+	+ a
Crecimiento en el medio D-1 .....	—	— a
Producción de catalasa .....	+	+ b
Producción de oxidasa .....	—	— b
Hidrólisis de almidón .....	+	+ b
Reducción de nitratos .....	—	— b
Producción de indol .....	—	— b
Producción de ácido en leche púrpura	—	— b
Uso de asparagina como fuente de carbono y nitrógeno	—	— b
Producción de H <sub>2</sub> S .....	+	+ b
B) Para especie		
Licuación de la gelatina .....	+	+ a
Crecimiento mucoide en YDC .....	+	+ a
Crecimiento a 35°C .....	+	+ a
Digestión de la caseína .....	+	+ a
Producción de ácido a partir de:		
Arabinosa .....	+	+ a
Glucosa .....	+	+ a
Manosa .....	+	+ a
Galactosa .....	+	+ b
Producción de ureasa .....	—	— a
Tolerancia al NaCl 2—5 % .....	+	+ b

a Schaad 1988. b Manual Bergey's 1974.



CUADRO 2

PARCELAS Y FECHAS EN LAS QUE SE DETERMINO LA INCIDENCIA DE *X. campestris*  
pv. *campestris* en Aguascalientes, Ags.

Parcela	Fecha	plantas enfermas	plantas sanas	Incidencia
1	30-8-89	59	41	59 %
2	5-9-89	0	100	0 %
3	5-9-89	0	100	0 %
4	6-9-89	24	76	24 %
5	6-9-89	30	70	30 %
6	7-9-89	56	44	56 %
7	7-9-89	14	86	14 %
8	12-9-89	29	71	29 %
9	12-9-89	0	100	0 %
10	14-9-89	22	78	22 %
		Suma	222	
		Media	22.2 %	



Figura 1. A) Planta de brócoli que muestra los síntomas de la enfermedad en estudio. B) Detalle de los síntomas.



Figura 2. A la derecha, plántula de brócoli que muestra los síntomas que reprodujo la bacteria que forma colonias amarillas. A la izquierda, plántula testigo.

Este trabajo fue presentado en el XVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, celebrado en Culiacán, Sinaloa, del 26 al 30 de marzo de 1990.

Un resumen de este artículo se encuentra en la página 10 de las memorias de este congreso.

#### LITERATURA CITADA

- <sup>1</sup> Agrios, N.G. 1986. Fitopatología. Editorial Limusa, México 756 p.
- <sup>2</sup> Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E. 1975. Bergey's manual of the determinative bacteriology, 8th Ed. Williams and Wilkins Co. Baltimore, U.S.A. 1268 p.
- <sup>3</sup> Jaimes, S.F. 1977. Manual de prácticas de bacterias fitopatógenas, E.N.A., Chapingo, México. 119 p.
- <sup>4</sup> Moreno R.O. 1985-1990. Archivo de informes de servicios fitosanitarios (Función de extensión universitaria del Depto. de Microbiología). Centro Básico, Universidad Autónoma de Aguascalientes.
- <sup>5</sup> Schaad, N.W. 1988. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 2nd. edition. APS Press. U.S.A. 164 p.
- <sup>6</sup> Schaad, N.W. and White, C.W. 1974. Survival of *Xanthomonas campestris* in soil. Phytopathology 64:1518-1520.
- <sup>7</sup> Schultz, T. et al. 1986. Control of *Xanthomonas campestris* in crucifer seed with slurry treatment of calcium hypochloride. Plant Diseases 70:1027-1039.
- <sup>8</sup> University of California. 1985. Integrated pest management for cole crops and lettuce, Statewide integrated pest management project. Division of agriculture and natural resources. Publication 3307. U.S.A. 110 p.
- <sup>9</sup> Walker, Ch. J. 1973. Patología vegetal. Ediciones Omega. Segunda edición. España, 818 p.
- <sup>10</sup> Williams, H.P. 1980. Black-rot: A continuing threat to world crucifers. Plant Diseases 64:736-742.