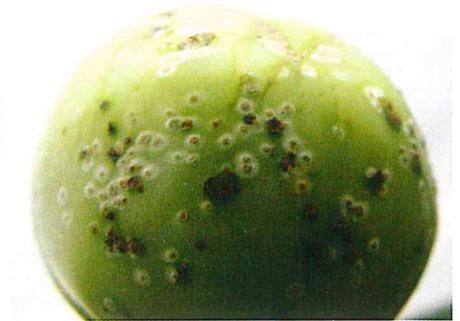


Cáncer del jitomate

Dr. Cristian Nava Díaz - Fitopatología, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados, cnava@colpos.mx



Síntomas de *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* en fruto de jitomate

INTRODUCCIÓN

La bacteria *Clavibacter michiganensis* contiene cinco subespecies especializadas de acuerdo con el hospedante que atacan: *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus* afecta papa; *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis* causa la marchitez del maíz; *C. michiganensis* subsp. *insidiosus* ocasiona la marchitez de la alfalfa; *C. michiganensis* subsp. *tessellarius* ocasiona el mosaico del trigo y *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* induce el ojo de pájaro, cancro o cáncer bacteriano del jitomate (CAB, 2007; Schaad *et al.* 2001). *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith 1910) Davis *et al.* 1984 tiene como principales hospedantes a *Lycopersicon esculentum*, *Capsicum annum* y *Solanum nigrum* (CAB, 2007).

El cáncer bacteriano es una enfermedad transmitida por semilla que representa una limitante para la producción de jitomate pues reduce el rendimiento, tanto en calidad como en cantidad. En parcelas comerciales se han observado pérdidas que alcanzan hasta el 80% (Gleason *et al.* 1993; Borokiene, 2006) que significan alrededor de \$300 000 dólares por ciclo por productor (Hausbeck *et al.* 2000).

En invernaderos el cáncer bacteriano puede ser devastador debido al ambiente húmedo y cálido, factores que son propicios para el desarrollo de la enfermedad.

DESCRIPCIÓN

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* tiene forma bacilar, no móvil, Gram positiva, aeróbica, forma colonias de color amarillo con crecimiento mucoso a 30 °C en medio de cultivo YDC, crece en TTC, no fluorescente, oxidasa negativa, catalasa positiva, crece en 6% NaCl, hidroliza almidón, produce H₂S de peptona y no forma esporas de resistencia (Schaad *et al.* 2001).

La amplificación de elementos repetitivos (rep-PCR) utilizando REP, BOX y ERIC identifica cuatro grupos genéticos denominados A, B, C, y D (Louws *et al.* 1998).

La virulencia es controlada por genes localizados en los plásmidos pCM1 y pCM2 (Meletzus *et al.* 1993). El gen *celA* ubicado en pCM1 es el encargado de producir glucanasas y celulasas las que desintegran los tejidos y ocasionan la marchitez (Jahr *et al.* 2000).

***C. michiganensis* subsp. *michiganensis* afecta jitomate, chile y hierba mora.**

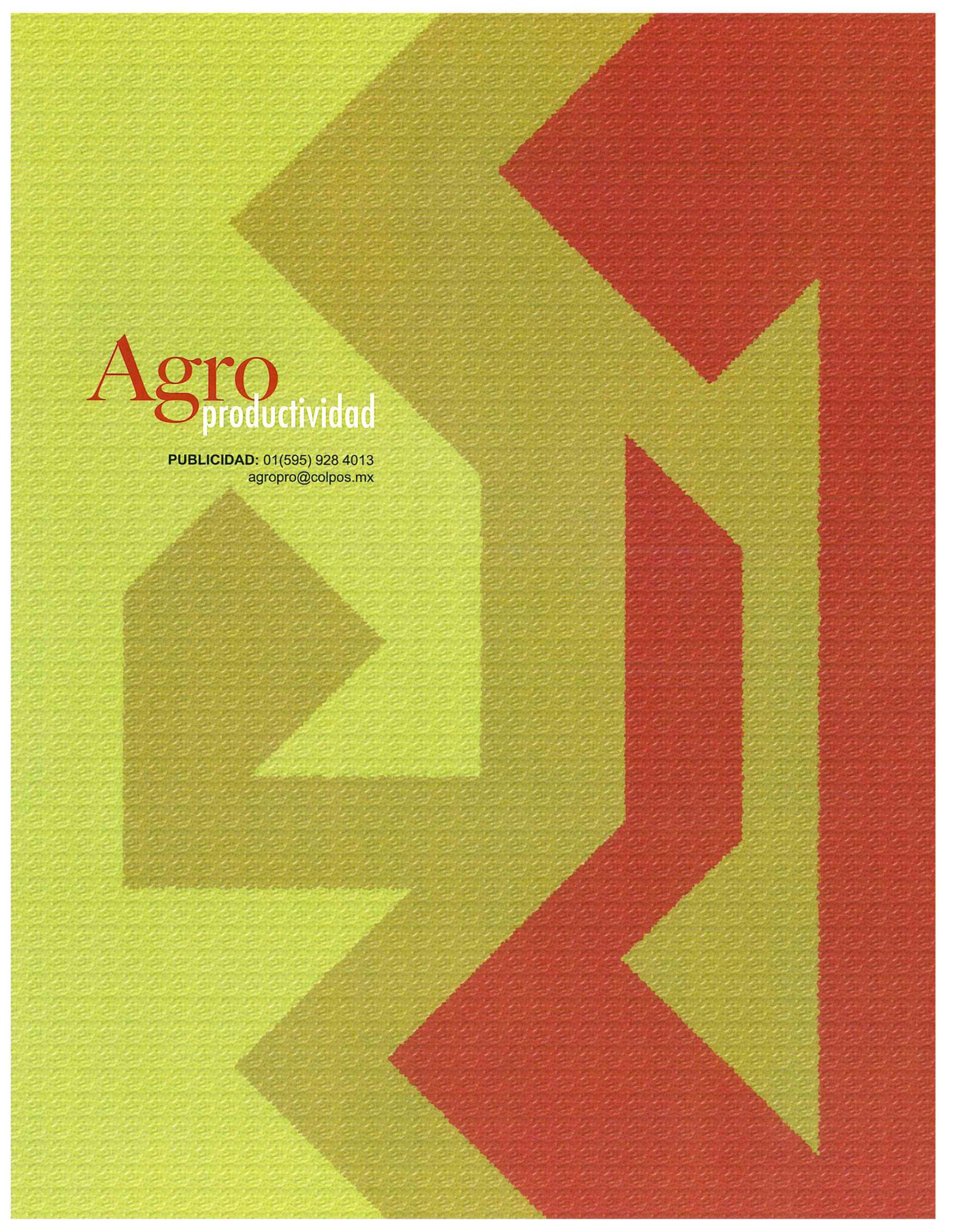
CICLO DE VIDA

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* es una enfermedad transmitida por semilla. El 0.01% de la semilla infectada es capaz de iniciar una epidemia con consecuencias desastrosas (Hausbeck *et al.* 2000).

La bacteria es un excelente colonizador de la superficie de las hojas. En condiciones controladas, la población aumenta de 7 400 000 a 210 000 000 unidades formadoras de colonias (UFC) por hoja en 7 semanas (Carlton, 1998). Graves daños fueron observados en campo cuando los trasplantes tenían 100 000 000 UFC/g de tejido (Hausbeck *et al.* 2000).

La bacteria penetra por los estomas, hidátodos, tricomas, heridas e incluso la raíz y coloniza los espacios intercelulares. En 7 días invade los vasos conductores. En 14 días coloniza abundantemente el tejido vascular. Sale por medio de las gotas de eglutación, que son las responsables de mantener una alta población epifita del patógeno (Carlton, 1998). Es capaz de diseminarse por medio de herramientas de trabajo, riego, viento y durante las labores culturales como poda, injerto, eliminación de brotes, tutorado, etc. (CAB, 2007).

Sobrevive de una estación a otra en los residuos de la cosecha u hospederos alternos (CAB, 2007).



Agro productividad

PUBLICIDAD: 01(595) 928 4013
agropro@colpos.mx

SÍNTOMAS

Las semillas infectadas tienen una germinación normal y las plántulas en vivero generalmente no muestran síntomas (CAB, 2007).

Las hojas muestran áreas necróticas marginales e intervenales (Fig. 1).

Las plantas inicialmente presentan marchitez en un solo lado. En invernadero la marchitez ocurre durante el día y la planta se recupera en la noche. En casos avanzados la marchitez es irreversible (Fig. 2).

En la superficie de los tallos se observa un cancro típico. El tejido conductor del tallo y pecíolos es necrosado (Fig. 3).

Los frutos generalmente son pequeños, caen prematuramente y maduran a tiempos diferentes (Fig. 4) o presentan manchas superficiales rodeadas de un halo clorótico (Fig. 5).

DETECCIÓN

Los aislamientos de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* son relativamente uniformes y poseen sitios antigénicos comunes lo que facilita la producción de anticuerpos de utilidad en técnicas de diagnóstico como aglutinación, ELISA, inmunofluorescencia e instrumentos de flujo lateral.

Dentro de las técnicas moleculares para la detección de este patógeno se encuentra la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando los oligonucleótidos CMM5 (gccaataagcc-catatcaa) y CMM6 (cgctcaggaggctgc-taata) que amplifican un fragmento de 614 pares de bases (Schaad *et al.* 2001).

Además es posible su identificación mediante el análisis de ácidos grasos o la secuenciación del gen 16s ribosomal.

MUESTREO DE SEMILLA

El siguiente procedimiento ha sido estandarizado por ISTA-Plant Disease Comitee para la detección de *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* en semilla de jitomate (CAB, 2007).

Homogenice la semilla a muestrear. Obtenga 24 g de semilla (aproximadamente 10000 semillas).

Coloque la semilla en un bolsa de polietileno de paredes gruesas.

Adicione 150 ml de buffer de fosfatos-tween (7.75 g Na_2HPO_4 ; 1.65 g KH_2PO_4 ; 0.2 ml Tween 20; 1000 ml agua destilada; ajuste pH 7.4).

Incube a 4°C durante 15 minutos y posteriormente triture la muestra.

Coloque 0.1 ml de las diluciones 0, -1 y -2 (preparadas en buffer de fosfatos sin tween) sobre los medios de cultivo SCM y mSCM por triplicado. Disperse utilizando una varilla de vidrio.

Incube a 26°C durante 7-10 días.

Las colonias en SCM son convexas, irregulares, mucoides con puntos negros.

Las colonias en mSCM son de color gris, de 2-3 mm de diámetro (incrementando con el tiempo), translúcidas, con puntos negros.

Transfiera las colonias a YDC e incube a 24°C por 24-48 horas.

Identifique las colonias utilizando ELISA, una prueba de patogenicidad o extraiga los ácidos nucleicos y realice una PCR utilizando oligonucleótidos específicos.

MEDIOS DE CULTIVO

Medio semiselectivo para *Clavibacter michiganensis* SCM: 2g K_2HPO_4 ; 0.5g KH_2PO_4 ; 0.25g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1.5g ácido bórico; 10g sucrosa, 0.1g extracto de levadura; 15g agar; 980ml agua destilada; Esterilice a 121°C durante 15 min. Enfríe a 50°C. 100mg ácido nicotínico (en 20 ml agua destilada); 30mg ácido nalidixico (sal sódica en 1 ml 0.1 M NaOH); 10mg telurito de potasio (1ml 1% Chapman tellurite solution, Difco); 200mg cycloheximida (en 1 ml etanol absoluto).

Medio de cultivo semiselectivo modificado mSCM: 2.62 g $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; 0.5 g KH_2PO_4 ; 0.25 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1.5 g ácido bórico; 10g manosa; 0.1 g extracto de levadura; 980 ml agua destilada; 1 gota de pourite (Baxter Healthcare Corporation, Scientific Division, McGaw Park, IL 60085, USA); 12 g de agar. Esterilice y enfríe. Adicione 100 mg de ácido nicotínico; 30 mg de ácido nalidixico; 200 mg de cycloheximida.



Figura 1. Necrosis marginal e intervenal en hojas



Figura 2. Marchitez y muerte de plantas



Figura 3. Corte transversal de tallo mostrando necrosis del tejido conductor

El cáncer del jitomate es una enfermedad transmitida por semilla.

Puede ocasionar pérdidas que oscilan entre 11 y 80%.



Figura 4. Frutos pequeños y maduración desfasada



Figura 5. Manchas rodeadas de halo clorótico (ojo de pájaro) en la superficie del fruto

Agradecemos al Programa de Apoyo Complementario para la Consolidación Institucional de Grupos de Investigación del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

Extracto de levadura-Carbonato de calcio YDC: 10 g extracto de levadura; 20 g CaCO_3 ; 20 g glucosa (esterilice por separado); 15 g agar; 1000 ml agua destilada (Schaad *et al.* 2001).

CONTROL

No existe un medio de control eficiente. Se puede evitar su ingreso mediante la exclusión. Por ejemplo, la Organización Europea de protección para las plantas (EPPO) restringe su movimiento mediante cuarentenas. En México se considera una plaga de importancia cuarentenaria A2 (presente de distribución restringida) y a punto de ser incluida en la Norma Oficial Mexicana 029 por la que se establecen los requisitos fitosanitarios y las especificaciones de semilla de importación.

Cuando la bacteria tiene una distribución restringida es posible su erradicación mediante la destrucción de plantas infectadas y residuos de la cosecha. La protección del cultivo puede ser: **Cultural.** Rotación de cultivos al menos de dos años. **Física.** Tratamiento a la semilla con agua caliente. **Biológica.** Bacterias promotores de crecimiento (*Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp.) e inductores de resistencia. **Química.** Reducción de poblaciones epifitas con estreptomina, hidróxido de cobre, mancozeb.

Actualmente no existen variedades resistentes. Los genes de resistencia fueron detectados en *L. hirsutum* LA407 (Francis *et al.* 2001).

Afecta la calidad (frutos manchados) y cantidad (muerte de plantas) de la producción.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

Burokiene, D. 2006. Early detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seedlings. *Agronomy Research* 4: 151-154

CAB. 2007. Crop Protection Compendium. <http://www.cabdirect.org/>

Carlton, W. M., Braun, E. J., and Gleason, M. L. 1998. Ingress of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* into tomato leaves through hydathodes. *Phytopathology* 88:525-529

Francis, D. M., Kabelka, E., Bell, J., Franchino, B., and St. Clair, D. 2001. Resistance to bacterial canker in tomato (*Lycopersicon hirsutum* LA407) and its progeny derived from crosses to *L. esculentum*. *Plant Dis.* 85:1171-1176

Gleason, M. L., Gitaitis, R. D., and Ricker, M. D. 1993. Recent progress in understanding and controlling bacterial canker of tomato in eastern North America. *Plant Dis.* 77:1069-1076

Hausbeck, M. K., Bell, J., Medina-Mora, C., Podolsky, R., and Fulbright, D. W. 2000. Effect of bactericides on population sizes and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on tomatoes in the greenhouse and on disease development and crop yield in the field. *Phytopathology* 90:38-44

Jahr, H., Dreier, J., Meletzus D., Bahro, R., and Eichenlaub, R. 2000. The endo β -1-4-glucanase CelA of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* is a pathogenicity determinant required for induction of bacterial wilt of tomato. *MPMI* 13(7) 703-714

Louws, F. J., Bell, J., Medina-Mora, C. M., Smart, C. D., Opgenorth, D., Ishimaru, C. A., Hausbeck, M. K., de Bruijn, F. J., and Fulbright, D. W. 1998. rep-PCR-mediated genomic fingerprinting: A rapid and effective method to identify *Clavibacter michiganensis*. *Phytopathology* 88:862-868

Meletzus, D., Bermpohl, A., Dreier, J., and Eichenlaub, R. 1993. Evidence for plasmid-encoded virulence factors in the phytopathogenic bacterium *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* NCPPB382. *J. Bacteriol.* 175:2131-2136

Schaad, N.W., Jones, J.B. and Chun, W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. Third edition. APS press. St. Paul Minnesota USA: 373p