

PERMANENCIA DE *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, AGENTE CAUSAL DEL CANCRO BACTERIANO DEL TOMATE EN SUELO Y RASTROJO.

Responsable: Diego Maeso.

Colaboradores: Wilma Walasek, Alfredo Fernández.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad conocida como “cancro bacteriano del tomate” causada por la bacteria *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) es uno de los problemas sanitarios más importantes del cultivo tanto a campo como en invernadero. El control de este problema es sumamente difícil ya que combina dos características importantes: la capacidad de supervivencia del patógeno en semillas, restos del cultivo, suelo, materiales inertes (rafias, cañas, herramientas, etc.) y la facilidad de diseminación ya sea a través de agua o heridas (desbrote, deshoje, riegos, etc.). Desde hace algunas temporadas en INIA LB hemos comenzado trabajos experimentales acerca de la epidemiología de esta enfermedad en nuestras condiciones de forma de obtener información que pueda ser utilizada en su manejo integrado. De esa forma, se confirmó su capacidad de transmisión por semilla y la eficiencia de algunos métodos de desinfección de ésta, se confirmó la importancia del agua en la transmisión vía raíces, la relativa efectividad de algunos productos desinfectantes, y la capacidad de sobrevivir entre cultivos (aún por más de dos años). Con este mismo objetivo se realizó el presente experimento para estimar la potencialidad del suelo tomado de cultivos atacados y restos de plantas afectadas como fuente de inóculo de Cmm.

MATERIALES Y MÉTODOS

En febrero 2009 se prepararon los elementos a usar como fuente de inóculo. Se colectó suelo en la base de plantas afectadas con cancro bacteriano (diagnóstico confirmado por serología) y sectores de tallos de las mismas. Se guardó la mitad del suelo en bolsa de plastillera en laboratorio y el resto se distribuyó en almácigas las cuales fueron conservadas en condiciones de campo con el agregado de una porción de tallo afectado de 5 cm. de longitud. Porciones de tallo similares se colocaron en sobres de tela malla, también en condiciones de campo. Estos elementos serán usados en experimentos semestrales para determinar la permanencia de Cmm en los mismos.

El 18/2/2010 (a un año de la recolección de las fuentes de inóculo) se sembró el primer experimento de la serie con cuatro tratamientos:

- 1) suelo de un cuadro sin antecedentes de la enfermedad, esterilizado (autoclavado 120° C por 20 minutos),
- 2) al suelo usado en 1) se agregaron 20 g del suelo extraído en el cultivo enfermo (el equivalente a una celda de almáciga),
- 3) ídem a 1) pero con el agregado del suelo y la porción de tallo almacenados a campo y
- 4) ídem a 1) con el agregado de una porción de tallo enfermo conservado a campo.

Cada tratamiento constó de cuarenta macetas plásticas (12 cm. de diámetro, 1000 cc de capacidad) las cuales fueron mantenidas en invernadero de vidrio. Se utilizó semilla del cultivar Loica desinfectada con agua caliente.

Se realizaron dos evaluaciones externas de síntomas (63 y 83 días después de la siembra, dps) y una de estado del sistema vascular (cortándolo longitudinalmente) el 31/5 (102 dps).

A partir de los 70 dps se realizaron aislamientos en agar nutriente de todas las plantas (70, 82, 95 y 104 dps). Se conservaron las bacterias obtenidas, a las cuales se les realizó la reacción de gram mediante el método de KOH (Cmm es la única bacteria que afecta tomate gram positiva) y la reacción de hipersensibilidad en *Mirabilis jalapa*. Finalmente todas las plantas fueron analizadas mediante la prueba DAS-ELISA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el cuadro 1 se observan los resultados del experimento. Se encontraron diferencias en cuanto a los resultados obtenidos en las distintas evaluaciones, por lo que los porcentajes de “probable” infección con Cmm deben analizarse por separado. Las posibles razones de esta falta de concordancia pueden ser debidas a limitaciones técnicas o discrepancia entre lo evaluado en cada oportunidad. En ese sentido, por serología se pueden obtener reacciones positivas con cepas de Cmm no patógenas o con patogenicidad disminuida. Mediante el cultivo en laboratorio se pueden aislar bacterias que finalmente no sean Cmm o que, siendo Cmm, no produzcan lesiones vasculares, o lo inverso, debido a problemas de muestreo o de metodología no haberse podido aislar Cmm presentes en la muestra. Por lo tanto, los resultados deben tomarse como orientación, en conjunto y su importancia radica en marcar diferencias acerca de la importancia relativa de las diferentes fuentes de inóculo y la posibilidad de Cmm de permanecer en las mismas.

Cuadro 1. Permanencia de Cmm en suelo y trozos de tallo. Porcentaje de plantas con resultados atribuibles a Cmm según los análisis practicados.

Tratamiento ¹	Con síntomas			Con bacterias aisladas ² (70-104 dps)	Reacción de Gram Positiva (KOH)	HR en <i>M. jalapa</i>	DAS ELISA
	En cultivo		En corte longitudinal de tallo				
	22/4 (63 dps)	11/5 (83 dps)	31/5 (102 dps)				
1. Suelo estéril	2.5	2.5	0	0	0	0	0
2. Suelo “enfermo”	60	40	25	22.5	7.5	5	10
3. Suelo “enfermo” + porción de tallo “enfermo”	60	67.5	22.5	22.5	7.5	7.5	5
4. Porción de tallo “enfermo”	45	52.5	17.5	25	5	5	5

¹ Los tratamientos consistieron en agregados a una base de suelo esterilizado por autoclave

² Plantas de las que se aislaron colonias similares a Cmm (por apariencia).

COMENTARIOS

- Cmm permaneció viable tanto en suelo como en restos de cultivo por un año. El experimento será repetido semestralmente para determinar hasta cuándo se mantiene el patógeno en estas fuentes.
- No existieron grandes diferencias entre la capacidad del suelo o de los restos como fuente de inóculo logrando generar perjuicio al sistema vascular en 17-25% de las repeticiones.
- Este trabajo confirma la capacidad de permanencia de Cmm por estas vías entre dos temporadas, lo cual junto a la semilla y el agua son aspectos muy importantes a considerar en el manejo de la enfermedad.