REVISTA FORESTAL BARACOA
V. 17, No. 2, 1987

REPORTE DE MANCHA BACTERIANA EN Caesalpinia violacea CAUSADA POR Xanthomonas SP

ANGELA DUARTE[1] Y MARIETTA M. CORDOVES[2]

RESUMEN

En recorridos efectuados a viveros forestales de las provincias de Pinar del Río y Camagüey, en los meses de junio y julio de 1985, se observaron en posturas de yarúa Caesalpinia violacea (Mill.) Standl., manchas foliares angulares húmedas, de color pardo oscuro o negras, límitadas por las nerviaciones, y fácilmente distinguidas en la haz y en el enves de las hojas.

A los aislamientos obtenidos se les realizaron estudios morfológicos, bioquímicos y prueba de patogenicidad.

Manuscrito recibido para Su publicación 21 de julio de 1987

[1] Investigador agregado

Instituto de Investigaciones Forestales
Calle 174 No. 1723 e/ 17B y 17C, Reparto Siboney, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba

[2] Ingeniera agrónoma

Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Camagüey
Avenida Finlay No. 1017, km 2 1/2 entre Avenida Circunvalante y Fábrica de Nitrógeno, Camagüey, Cuba

P o rel resultado de las pruebas se determinb que el agente causal se corresponde con una bacteria del género Xanthomo nas del grupo campestris.

INTRODUCCION

Caesalpinia violacea (Mill.) Standl. es una especie que ha sido informada en la porción occidental de la provincia de Pinar del Río, en suelos pedregosos y Rojos Arenosos de costa alta; no parece tolerar bien ni la hurnedad excesiva ni la sombra (Fors, 1965; F o r s y Reyes, 1967).

En estos momentos por el amplio plan de reforestación que se ejecuta en nuestro país, la especie Caesalpinis violacea (Mill.) Standl. (yarúa) puede ser observada en viveros de la provincia de Camagüey, donde se desarrolla una intensa actividad con el fin de incrementar a masa forestal.

En visitas efectuadas durante los meses de j u n i y julio de 1985 a los viveros forestales "La Experiencia" y "Sebastopol", en la provincia de Camagüey y al vivero de la Empresa" L a Palma" en Bahía Honda, Pinar del Río, se observó la presencia de sintornas f o l i a r e en posturas de yarúa. Ectos consistían en manchas irregulares humedns, de color nardo oscuro a neyro limitadas por l a s nerviaciones y fácilmente distinguibles en la haz y el envés de la hoja,

Smith (1943) relaciona en su trabajo !a descripción realizada por Nakata y Takimoto en Japón en 1923 sobre !a mancha bacteriana en Hiibiscus sp. causada por Bacterium hibisci, así como las características morfológicas y culturales de dicha bacteria descritas por Bryan en 1928.

Los géneros Erwinia y Xanthomonas también han sido identificados como causantes de enfermedades en especies forestales en zonas europeas fundarnentalmente (Urosevic 1966a,b; Hildebrand y Schorth, 1967; Dnyansagar y Mohile, 1967; Urosevic 1973; Kam, 1978; Papdiwal, 1978; Gremmen, 1970, 1980).

En Cuba hasta ahora no se ha realizado un trabajo sistembtico de identificacibn de bacterias fitopatbgenas sobre brboles forestales; en 1972, Leontovyc .nforma sobre la presencia de Xanthomonas rubrilineans (Lee et al.) Starr et Busk. en la especie Khaya nyasica y Khaya ivorensis. En 1981 Boadr y Leontovyc inforrnan, además, Xanthomonas sp. y Corynebacterium sobrela espcie nyasica.

En posturas de Eucaliptus sp. Swietenia macrophylla King e Hibiscus sp. fue informada la presencia de Xanthomonas sp. por Cordovés y Jiménez (1984). También en Hibiscus elatus se detect6 Pseudomonas cichorii (Swingle) Stapp. (Rodríguez, 1984).

En Caesalpinia violacea, que es la especie forestal que nos ocupa sólo se ha informado la presencia en un caso de necrosis de la corteza, presumiblemente causada por una bacteria.

Con el objetivo de establecer el diagnóstico de la enfermedad aparecida en yarúa, en los viveros de las provincias de Pinar del Río y Camagüey se realizaron los análisis de laboratorio descritos en este trabajo.

MATERIALES Y METODOS

AISLAMIENTO

Las hojas de yarúa fueron lavadas en abundante agua corriente y después con agua destilada estéril posteriormente se sembraron porciones bien maceradas, de las zonas afectadas, en agar nutriente y YDC (extracto de levadura–glucosa carbonato–agar). Las placas se incubaron a 28 ± (1)ºC.

A las 72 horas se seleccionaron las colonias que predominaban en ambos medios y fueron pasadas a cuñas de YDC.

PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

La patogenicidad fue probada en posturas de yarúa con los aisiamientos obtenidos. Se emplearon suspensiones que contenian, aproximadamente, 10^8 cel/mL según escala de Mc Feriand, las que se inocularon por aspersión sobre las hojas.

Los testigos se trararon con agua destilada estéril. Todas las plantas se mantuvieron en chmara húmeda durante 48 horas después de las inoculaciones.

CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS

Tincibn de Gram según el mbtodo modificado por Hucker y tincibn de flagelos por el método de Rhodes.

CARACTERISTICAS CULTURALES

Las características fueron establecidas sobre los medios agar nutriente y YDC.

Diferenciación del metabolismo de los carbohidratos en medio O/F de Hugh y Leifson (1953) con contenido de glucosa, producción de catalasa, nitrato reductasa, indol, SH_2, tolerancia al NaCl al 2, 3, y 10%.

Todas las técnicas según Harrigan y McCance (1968).

Acciónsobre la leche con bromocresol púrpura y el rojo de metilo, hidróiisis de ácido a partir de arabinosa, rammnosa, dulcitol y salicina, utización de tartratos, benzoato y tnalonato, crecimiento a 35ºC.

Estas técnicas se desarrollaron según Dye (1962).

Hidrólisis del almidón y gelatina segbn Montero y Stefanova (1981).

Sensilidad a los antiblóticos

Se probó la senslbilidad de los aislados ante los antibióticos en placas de agar nutriente por el método de los discos; estos últimos fueron suministrados por el Instltuto Finlay del Ministerlo de Salud Pública.

Los antibióticos probados fueron los slguientes: eritromicina 2 µg, estreptomicina 10 µg penicilina 10 unidades y tetraciclina 10 µg.

RESULTADOS Y DISCUSION

En las posturas de yarúa inoculadas aparecieron los primeros síntomas a partir de los cinco días y consistieron en manchas angulares y hbmedas distribuidas en el limbo de la hoja. Las plantas testigos no mostraron sintomas.

De todas las muestras, se aislaron en agar nutriente colonias amarillas,, circulares translhcidas, brillantes lisas y de bordes enteros a las 48 horas. En YDC los aislamientos fueron amarillo mucosos a las 48 horas. Las bacterias bacilos, gramnegativos y con un flagelo polar, crecieron a 35ºC, no redujeron nitratos ni produjeron indol; aerobios, produjeron catalasa y SH_2. Hidrolizaron Tween 80, almidón y gelatina. Se obtuvo una fuerte aglutinación con inmunosuero de Xanthomonas campestris pv. phaseoli.

Los resultados de las pruebas fisiológicas y bioquímicas aparecen en la Tabla 1.

TABLA 1. Resultado de las pruebas fisiológicas y bioquimicas de 11 aislamientos del organismo causante de la mancha bacteriana en yarúa.

Prueba	Resultado	Tiempo
Metabolismo oxidativo-fermentativo (O/F)	Oxidativo	5 días
Produccibn de nitrato reductasa	-	7 dias
Produccibn de indol		7 dias
Produccibn de catalasa	+	
Producción de SH_2	+	3 dias
Hidrblisis del Tween 80	+	4 dias
Hidrblisis del almidón	+	24 horas
Hidrólisis de la gelatina		24 horas
Accibn sobre la leche con bromocresol púrpura	Alcalina y aciarada	7 dias
Accibn sobre rojo de metilo	-	7 dias
Acido de arabinosa	t	6 dias
Acido de dulcitol	-	21 dias
Acido de ramnosa	-	21 dias
Acido de salicina	-	21 dias
Tolerancia al ClNa 2 %	t	15 días
3 %	+ -	15 dias
5 %	-	15 dias
10 %	-	15 dias
Crecimiento a 35ºC en agar nutriente	+	14 días

Todos los aislados resultaron sensibles a la estreptomicina y a la tetraciclina, lo que se muestra en la Tabla 2.

Al comparar 10s resultados obtenidos en este trabajo con la clasificación de Bergey (Krieg y Holt, **1984)** y los trabajos de Dye (1**962)** para la determinación del género Xanthormonas, se comprueba que **el** organismo aislado de yurúa(Caesalpinia violacea (Mill.) Stand!.) en las provincias de Pinar del Río y Camagüey se corresponden por sus caracteristicas con las bacterias de géneroXanthomonas del grupo campestris.

TABLA 2 Sensibilidad a los antibióticos de 11 aislarnientos de organismo causante de la mancha bacteriana en yarba.

Antibiótico	Resultado	Tiempo
Eritromicina 2 μg	-	3 días
Estreptomicina 10 μg		3 dlas
Penicilina 10 unidades	-	3 dlas
Tetraciclina 10 μg		3 días

CONCLUSIONES

1. La bacteria causante de esta enfermedad en la especie forestal yarha (Caesalpinia violacea (Mill.) Standl.) en los viveros de Pinar del Río y Camagüey se identificó corno Xanthomonas sp. del grupo campestris.
2. No se encontró ninguna diferencia entre los aislamientos obtenidos en las provincias de Pinar del Río y Camagüey.
3. La enfermedad, además de estar presente en los viveros que producen yarha, no ocasiona daños de consideración en las posturas; se observó además, que a medida que éstas se desarrollan, va desapareciendo el síntoma producto de la caida de las hojas.

ABSTRACT

REPORT OF BACTERIAL STAIN IN Caesalpinia violacea BY Xanthomonas SP

In a survey of forest nurseries in the provinces of Pinar del Río and Camagüey, during the months of June and July of 1985, foliar stains were observed on seedlings of Caesalpinia violacea (Mill) Standl. These were wet angular spots, dark brown or black, limited by the nervations and easily distinguished on both sides of the leaves.

Isolates were obtained and morphology, biochemistry and pathogenic tests were made.

Results have proven that the causing agent corresponds to a bacteria from genus Xanthomonas group campestris.

BIBLIOGRAFIA

BOADO, ISABEL y R. LEONTOVYC. Identificación de los microorganismos que producen las agallas y la gomosis en Khaya nyasica. Revista Forestal Baracoa 11 (2): 35–45, 1981.

CORDOVES, MARIETTA y GILDA JIMENEZ. La mancha bacteriana de las especies forestales causada por Xanthomonas sp. Libro Resumen de la Segunda Jornada Científico Forestal. -- Camagüey: 1984.

DYE, D. W. The inadequacy of the usual determinative test for the identification of Xanthomonas spp. New Zealand Journal of Science 5 (4): 393–416, 1962.

DNYASAGAR, V. R. and M. K. MOHILE. Xanthomonas an Thespesia lamps. Dalz. and Gibs Cur Sci 36 (3): 78–9, 1967. Compilado en Forestry Abstract 28 (4): 1967.

FORS, A. J. Maderas cubanas. -- 3 ed. -- La Habana: INRA, 1965. -- 162 p.

FORS, A. J. y REYES. Manual de silvicultura. -- 3. ed,-- La Habana: INRA, 1967. -- 251 p.

GREMMEN, J. and M. de **KAM.** Research on poplar canker (Xanthomonas populi sub-sp populi) in the Netheriands. European Journal of Forestry Pathology 10 (1) 48-53, 1980. [Compilado en Forestry Abstracts 28 **(41,** 1967]

GREMMEN, J. and M. de **KAM.** Erwinia salicis as the cause of dieback in Salix alba in the Netherlands and its identity with Pseudomonas salicipideda. Nether Lands J. Journal of Pathology 76 (4), 1970. [Compilado en Forestry Abstracts 32 (1): 1971.]

HARRIGAN, W.F. and MARGARET. Métodos de laboratorio en microbiología. -- ,León : Editorial Academis, 1968. -- 426 p.

HILDEBRAND,, **D.** C. and M. N. SCHORTH. A new specie of Erwinia causing the drippy nut disease of Live Oaks. Phytophatology 57 (3): 1967. [Compilado en Forestry Abstract 28 (4), 1967.]

KAM, M. DE. Xanthomonas populi sub sp. salicis cause of bacterial canker in Salix dasyciada. European Journal of Forestry-Pathology *8* ***(5/6):*** **334-37,** 1978. [Compilado en Forestry Abstracts 40 (9), **1979J**

LEONTOWC, R. Fitopatología forestal: Informe preparado para el Gobierno de Cuba.-- La Habana: CIF, 1972.-- 84 p.

MONTERO, NORA y MARUSIA STEFANOVA. Un mbtodo rápido para detectar la hidrólisis de la gelatina y el almidón en la identificación de bacterias. -- Frimera Jornada Cientifico-Técnica de Sanidad Vegetal. -- Holguin: 1981.

KRIEG, N.R. and J. G. HOLT. Bergeyls manual of systematic bacteriology.-- Baltimore (London): Williams and Wilkins,1984.

PAPDIWAL, P.B. A new bacterial disease of Casearia tomentosa. Biovigyanam 4 (2): 167-168, 1978. [Compilado en Forestry Abstracts 41 (7), 1980.]

RODRIGUEZ, ANA MARIA. Mancha bacteriana en Hibiscus elatus Lin. causada por Pseudornonas cichorii (swingle) Stapp.-- Libro Resumen de la Primera Jornada Cientifico-Tbcnica de Sanidad Vegetal. -- Holguín: 1984.

SCHADD, N. W. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria.-- Minesota: The American Phytopathological Society, 1980. -- 72 p.

SMITH, O.C. A leaf spot of Hibiscus sp. induced by Phytomonas svringae. Phytopathology 33: 82–84, 1943.

SAW, C. DOO. Bacte-ial wilt of teak seediings Union Burma J. Life Sci. 1 (1): 43–45, 1968. [Compilado de Forestry Abstracts 30 (1): 1969.]

URQSEVIC, B. Canker of poplars due to Bacterium Erwinia cancerosena n sp. Lesnicky Casopis 12 (39) 1966b.

UROSEVIC, B. Poplar carker caused by the bacterium Erwinia cancerosena sp. nov. Lesnicky Casopis 12 (6) 1966a. [Compilado en Forestry Abstrects 28 (3), 1967.1

UROSEVIC, B. New and little know disease of leaves and green sprouts of popiars found in Checoslovaquia. Comrnunicationes Institute Forestales Checosloveniae 8: 159–173, 1973.