

1990 B

Reg. No. 083394102

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



***"IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS EN
CULTIVO DE JITOMATE"***

TESIS PROFESIONAL

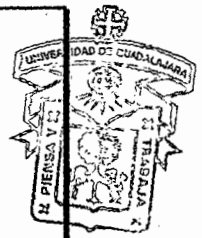
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

P R E S E N T A

MARTHA CECILIA MADRIGAL VILLALOBOS

GUADALAJARA, JALISCO. FEBRERO DE 1998

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

AGRADECIMIENTOS

Y

DEDICATORIAS

A Rosy Domínguez:

Por su confianza, su amistad, su paciencia, pero sobre todo su cariño en el tiempo y dedicación que me brindó durante el transcurso de nuestro trabajo. Maestra Rosy, la quiero mucho, Dios la bendiga y nos la conserve siempre para que siga alentando y motivando a estudiantes con su gran corazón.

A Don Rogelio Domínguez:

Un agradecimiento muy especial porque dondequiera que se encuentre se que se complace en ver realizado mi trabajo, gracias por la confianza y el cariño que siempre me tuvo.

A Dr. Sergio Aguilar:

Por su valiosa ayuda en la realización de éste trabajo, su confianza y su paciencia que siempre me motivaron a salir adelante.

A mis padres:

Por haberme dado la vida, su amor, la oportunidad y el apoyo para desarrollarme, su ayuda y comprensión en todos los momentos de mi vida.

A mis hermanos compañeros y amigos:

Por su amistad, el apoyo y la confianza que siempre me han demostrado. Los quiero mucho.

TITULO

“ IDENTIFICACION DE BACTERIAS PATOGENAS EN CULTIVO DE
JITOMATE “

AUTOR

MARTHA CECILIA MADRIGAL VILLALOBOS

DIRECTOR

Q.F.B. ROSA MARIA DOMINGUEZ ARIAS

INDICE

INTRODUCCION

	Página
I. Introducción _____	1
II. Generalidades _____	3
III. Hipótesis y Objetivo _____	31
IV. Material y Método _____	32
V. Resultados _____	37
VI. Discusión _____	39
VII. Conclusiones _____	42
VII. Bibliografía _____	44

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

INTRODUCCION

IDENTIFICACION DE BACTERIAS PATOGENAS EN CULTIVO DE JITOMATE

INTRODUCCION:

El jitomate es un fruto considerado la hortaliza número uno, tanto por el volumen de la producción, como por la necesidad que de él se tiene en todas las cocinas del mundo, en estado fresco y procesado en diversas formas. También es utilizado como materia prima en la industria para la elaboración de otros alimentos; de ahí la importancia de tener cosechas de jitomate en óptimas condiciones. ^(2,3)

La preferencia del consumidor por el fruto fresco, está influenciada de manera importante por la apariencia, textura, calidad sensorial, consideraciones nutricionales, pero sobre todo, por la ausencia de procesos patológicos en el mismo. ⁽⁹⁾

El jitomate es una planta originaria del Perú, Ecuador y México, países en donde se encuentran varias formas silvestres. Fue introducido en Europa por los italianos en el siglo XVI. Al principio se cultivaba como planta de ornato, pero a partir de 1900, se extendió el cultivo para alimento humano. En la actualidad, el cultivo se realiza principalmente en zonas desde templadas a cálidas, existiendo notables diferencias en los sistemas y técnicas de cultivo empleadas por los horticultores. ⁽²⁾

La producción mundial de jitomate es aproximadamente, de 36'000,000 toneladas por año, cultivadas en 1'800,000 hectáreas. El área cultivada comprende más o menos un 30% del total de las hortalizas. Esta situación justifica el desarrollo de grandes esfuerzos para resolver los problemas que limitan su producción. ⁽²⁾

El jitomate es una especie hortícola altamente sensible al ataque de plagas y enfermedades, esto puede ser debido a los factores genéticos de la variedad o a factores externos del medio ambiente. Por estas razones es importante que existan diferentes zonas productoras, y así se justifica la necesidad de ensayar variedades aceptables de cultivo adaptadas al suelo, clima y demás requisitos de crecimiento, auxiliándose de un control sanitario efectivo para limitar la incidencia de diferentes enfermedades. ^(2,4)

Una vigilancia bien integrada en el manejo de agroecosistemas y un buen control biológico y químico, dará la garantía para la obtención de un cultivo sano. ⁽⁴⁾

Los cultivos de jitomate son susceptibles a diferentes tipos de enfermedades, principalmente causadas por hongos, bacterias, y virus. Ahora bien, para que una enfermedad se pueda desarrollar, es importante que un patógeno virulento entre en contacto con una parte sensible de un huésped susceptible, además de que exista un medio ambiente propicio para producir un daño al huésped. ⁽⁶⁾

Por lo tanto, es esencial aportar información sobre cada uno de los microorganismos patógenos que rodean al cultivo, así como las características de las enfermedades que producen y su relación con el medio ambiente en el cual se desarrolla dicho cultivo. ⁽⁴⁾

El presente estudio pretende evaluar la incidencia de los principales géneros de bacterias que producen enfermedades infecciosas en los cultivos de jitomate (*Lycopersicon esculentum*) en la región de Tizapán El Alto, Jalisco.



IMPORTANCIA ECONOMICA

Los frutos y hortalizas suculentos se pudren fácilmente a consecuencia del ataque de microorganismos, durante el periodo que transcurre desde el momento de la siembra, hasta la cosecha y su destino final: el consumidor. Este daño es más evidente en aquellas zonas agrícolas en donde no se utilizan buenas técnicas de siembra y que además, carecen de adecuadas condiciones de almacenaje, y en donde es necesario vender y consumir la cosecha rápidamente. Esto limita el periodo durante el cual se dispone de frutos y hortalizas frescas en detrimento de productores y consumidores y da origen a una marcada fluctuación en los precios. (20)

Si bien es cierto que las pérdidas en cosechas por enfermedades bacterianas son difíciles de evaluar y generalmente de menor importancia que las causadas por hongos y virus; también en algunos casos, una cosecha que pudiera aprovecharse, no se logra, porque el patógeno bacteriano es destructivo en toda la estación de cultivo. La importancia económica de las enfermedades bacterianas es mayor en climas subtropicales que templados. (1)

En estudios de 1974 a 1977 y 1980, más del 23 % del fruto en el mercado del área de Nueva York, se perdió por desórdenes bióticos y abióticos. Las enfermedades bióticas (podredumbres postcosecha) sumaron el 80 % de las pérdidas en todo el sistema y virtualmente todas las pérdidas fueron a nivel del consumidor. El promedio de pérdidas en el mundo probablemente excedan éstos valores; una razón es porque la moderna tecnología en el manejo de las cosechas (el uso de biocidas y refrigeración), y los cultivos de jitomate (de tejido firme) no están disponibles en todas las regiones. También los agricultores,

rutinariamente cosechan jitomates maduros, lo cual incrementa la incidencia del daño a la cosecha, heridas en la cutícula del fruto, enfermedades en el campo e infecciones latentes por patógenos que infectan el fruto. (6)

Algunas de las enfermedades más comunes que se presentan en los cultivos son las llamadas desfigurantes, las cuales cambian la apariencia de los productos vegetales y por lo tanto reducen su valor comercial. Al recorrer los mercados de México, se aprecia que éste tipo de enfermedades es sumamente frecuente, a tal grado que ciertas manchas de frutas y hortalizas son consideradas como un componente de su aspecto normal. Otras enfermedades son las denominadas inhabilitantes, en las que se imposibilita al producto vegetal para su consumo por la producción de toxinas en el mismo. (20)

Con el fin de ejemplificar la importancia económica de las enfermedades en plantas, se cita lo ocurrido en 1968 en la zona agrícola del Valle de Culiacán, Sinaloa. En ese año se presentó un periodo de lluvias durante los días 26 al 28 de enero y de nuevo los días 2, 13 y 14 de febrero, acompañado por temperaturas de 10 a 12 °C, durante 6 horas o más al día, en tanto que la humedad relativa se mantuvo a más del 80 %. Contribuyeron además días nublados. Como consecuencia de éstas condiciones ambientales, hizo su aparición *Phytophthora infestans* a nivel epifítico, por primera vez en esa área, en los primeros días de febrero en las plantas de jitomate de exportación y para consumo nacional, calculadas en 7,625 hectáreas. A pesar de las medidas de control químico que se llevaron a cabo, aunque tardíamente y que consecuentemente, incrementaron los costos normales de cultivo, se registró una pérdida de 31,144 toneladas de frutos de jitomate, equivalente a un 20 % de la producción total. (20)

En el estado de Jalisco, específicamente el municipio de Tizapán El Alto, no es la excepción y también se presentan pérdidas en los cultivos de jitomate por diversas causas, principalmente por tizones, mancha bacteriana y por moho azul.

La prevención de pérdidas económicas por enfermedades bacterianas en el cultivo del jitomate, requiere del esfuerzo conciente de productores de plántulas, agricultores, compañías semilleras, así como de fumigadores y proveedores de insumos). (5)

Además de un sistema de control, en el cual se reduzca el daño por enfermedades hasta niveles económicos aceptables. (20)

Para efectuar éste control, es importante conocer los agentes etiológicos y la incidencia de ellos en las diversas zonas afectadas.

Por éste motivo es necesario realizar estudios de diagnóstico microbiológico y de las condiciones ambientales que prevalecen durante el desarrollo del cultivo.

GENERALIDADES

I. Caracterización del área geográfica de estudio.

El municipio de Tizapán El Alto, Jalisco, se localiza al sureste del estado, a 110 Km. de la ciudad de Guadalajara y le corresponden las coordenadas 102°36'06" a 103°09'40" longitud oeste y 20°02'40" a 20°26'15" latitud norte, a una altura de 1,532 metros sobre el nivel del mar.

Limita al norte con la laguna de Chapala, al sur con el municipio de la Manzanilla de la Paz, al oriente con el estado de Michoacán y al poniente con el municipio de Tuxcueca.

El clima ha sido clasificado como semiseco con otoño, invierno y primavera secos y semicálido sin estación invernal definida. Pero a la vez el clima proporciona lluvias suficientes como para obtener cosechas con rendimientos que se cuentan entre los más altos del estado.

La temperatura anual es de 19.5 °C y una precipitación media de 720.8 mm, con régimen de lluvias en los meses de junio, julio y agosto. Los vientos dominantes son en dirección noroeste y sureste.

El perfil del municipio es variado, pero la mayor parte de su territorio es plano, con alturas de 1,500 a 1,600 metros sobre el nivel del mar.

En menor proporción se presentan zonas semiplanas con elevaciones de 1,600 a 1,800 metros sobre el nivel del mar, y zonas accidentadas con alturas de 1,800 a 2,100 metros sobre el nivel del mar. (21)

El suelo está constituido por terrenos cuaternarios, denominados como vertisoles en la clasificación FAO - UNESCO (26) así se compone principalmente por arena, arcilla y limo.

mayor parte tiene uso agrícola para el cultivo de maíz, sorgo garbanzo, frijol avena, jitomate y maguey. (22)

II. Clasificación botánica y cultivo del jitomate (*Lycopersicon esculentum*)

El jitomate cultivado es una de las nueve especies pertenecientes al género *Lycopersicon*, ubicada dentro de la diversa familia de las solanáceas. ⁽⁶⁾

Existen varios tipos botánicos: (Según el tipo de fruto).

1. Comune Jitomate común
2. Grandifolium Jitomate hoja de papa
3. Validum Jitomate erecto arbustivo
4. Cerasiforme Jitomate cereza
5. Piriforme Jitomate pera. ⁽²⁾

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

Las variedades se pueden clasificar por varias características

a) Según el hábito de crecimiento:

I.- Planta determinada.- De tipo arbustivo, de porte bajo, pequeño y producción precoz.

II.- Planta de tipo indeterminado.- Crece hasta dos metros o más según el empalado que se aplique. El crecimiento vegetativo es continuo.

b) Según el tipo de producción.

I.- Precoces: Cosecha de 80 a 85 días

II.- Intermedias: Cosecha de 85 a 90 días (fruto grueso)

III.- Tardías: Cosecha a más de 90 días (algunos tipos indeterminados y chontos).⁽³⁾

c) Según el tipo de madurez de los frutos

I.- Uniforme: Toda la superficie del fruto a madurar, cambia al mismo tiempo de verde a roja.

II.- Estándar: La zona alrededor del pedicelo es la última en cambiar de color, por lo cual se observan "hombros verdes" al momento de madurar las bayas. ⁽³⁾

d) De acuerdo con la utilización de los frutos.

I.- Para mesa: Jitomates medianos y grandes. multiloculares, jugosos, y de maduración estándar.

II.- Para procesamiento: Jitomates pequeños de forma alargada, redonda o piriforme, color rojo intenso, dos a tres lóculos, poco contenido de semillas, pulpa gruesa, alto contenido de sólidos solubles y baja acidez (4.2) media como pH . (3)

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL



RAIZ: Depende del sistema de cultivo. Los jitomates sembrados en forma directa tienen un sistema radicular pivotante, profundo y poco ramificado, en tanto que los sembrados por trasplante poseen raíces muy ramificadas y superficiales. ⁽³⁾

TALLO: Es de consistencia herbácea (algo lignificado en las plantas viejas), por lo cual la planta no se sostiene por sí sola y es necesario el empleo de tutores para su cultivo. ⁽³⁾

RAMAS: De consistencia herbácea, su hábito de crecimiento es simpodial, ésto es, que en las axilas de las hojas se producen nuevas ramas, las cuales terminan en una yema floral y en las axilas de las hojas de éstas se desarrolla un nuevo ciclo de brazos laterales. ⁽³⁾

HOJA: Las hojas son compuestas y están recubiertas de una fina vellosidad y se encuentran en forma alterna. Los bordes son lobulados, excepto en el tipo "hoja de papa", que los tiene enteros. Hay formas pecioladas y sésiles. ⁽³⁾

FLORES: Son perfectas pentámeras o hexámeras. Los estambres de cinco a siete, se encuentran soldados entre sí, formando un cono estaminal alrededor del peciolo, cuyo estigma en la mayoría de los casos se encuentra por debajo de la superficie del cono estaminal, con lo cual se asegura la autopolinización. Las variedades de fruto grande presentan menor número de flores por inflorescencia que las que producen fruto pequeño y el cuajamiento de los mismos ocurre de las inflorescencias inferiores a las superiores. Normalmente abren 1 o 2 flores por día. Las inflorescencias se presentan cada una o tres hojas en promedio, según la planta sea determinada o indeterminada. Una vez que ocurre la antesis floral, los estigmas son receptivos y la apertura de las anteras ocurre de las 24-48 hrs. siguientes en forma ventral. Cuando el polen toca el estigma toma un mínimo de 12 hrs. para que ocurra la fecundación. Después de fecundado el óvulo transcurren entre siete y nueve semanas para una completa madurez de los frutos. ⁽³⁾

FRUTOS: Es una baya de forma y tamaño variable, según el número de lóculos que van desde uno a diez. Mac Guillivray y Ford, consideran el fruto dividido en cinco partes a saber: pared externa e interna, tejido locular, pulpa gelatinosa, piel y semillas. ⁽³⁾

SEMILLAS: Según Hawthorn y Pollard, la semilla es ligeramente pubescente y aplanada, el embrión está colocado en espiral, embebido en el endospermo. Su viabilidad es de tres a cuatro años en refrigeración y recipientes sellados. Las buenas semillas tienen entre 85 y 95 % de germinación. En un fruto se pueden encontrar entre 100 y 300 semillas, según su tamaño.

CARACTERISTICAS DE CULTIVO.

El jitomate es una planta que prospera entre climas de cálido a frío moderado, encontrándose en zonas tropicales, en alturas que van desde los 0 a 2,100 mts. A mayores alturas es esencial el uso de invernaderos. La temperatura óptima para la germinación se encuentra entre 15.5°C y 29.5°C, con un máximo de 35°C y un mínimo de 10°C. El crecimiento de las plántulas se detiene a 10 °C en promedio. La mejor coloración de la bayas se obtiene a temperaturas entre los 18 a 24 °C y si pasa de 29 °C los frutos tienden a ponerse amarillentos. (3)

Esta especie puede prosperar bien en zonas áridas y semiáridas, siempre y cuando se disponga de riego y generalmente se puede decir, que la época seca es la mejor. Los vientos fuertes, tanto secos como húmedos, causan caída de las flores y bajo cuajamiento de los frutos, por daños al estigma y a los granos de polen. (3)

Otro factor importante es la humedad ambiental, si es demasiado alta favorece el desarrollo de una serie de patógenos que atacan el fruto y el follaje. Las lluvias fuertes también causan la caída de las flores por el lavado del polen. (3)

La buena luminosidad es importante para obtener colores intensos, pared delgada y alto contenido de sólidos. Las zonas productoras deben tener de 1,000 a 1,500 horas de luz al año. (3)

Después de la polinización y fertilización el crecimiento del fruto ocurre a través de la división celular, seguida por un alargamiento de las células. El período de tiempo desde la

polinización hasta la maduración del fruto varía de seis, hasta diez semanas; dependiendo de la temperatura y la variedad. ⁽⁶⁾

También la forma del fruto puede contribuir a la calidad por el acercamiento o desviación de las normas aceptadas en la estética preferida por los consumidores, aunque parece no tener un efecto directo en la calidad sensorial del jitomate. Sin embargo el porcentaje de material locular interno de tejido del pericarpio con frecuencia reflejado en la forma del fruto, puede influir a la aportación relativa de cada tipo de tejido para una completa calidad sensorial. ⁽⁷⁾

Cuando los jitomates empiezan a madurar producen un color rojo típico y cerca de una completa madurez el color es asociado con el logro de una calidad sensorial y de suavidad deseada. En frutos normalmente madurados, el color verde del fondo desaparece debido al cese en la producción de clorofila, el proceso es acompañado por la simultánea producción de carotenos, la mayoría licopenos, beta carotenos y algunas xantofilas. ⁽⁷⁾

En cuanto a la textura del fruto, ésta es una función de la dureza de la piel, la firmeza del tejido y del porcentaje en la consistencia del pericarpio radial en el material gelatinoso locular interno. Los principales constituyentes de la pared celular son la celulosa, hemicelulosa, sustancias pécticas y proteínas. ⁽⁷⁾

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

Los diferentes tipos de enfermedades en plantas de manera general, se concretan como sigue:

A.- Quemaduras y Cáncer (Gangrena).

Inician como zonas localizadas de muerte celular (necrosis), y se observa en hojas, manchas en el fruto o muerte de las flores (quemaduras), o lesiones en el tallo (gangrena o chancro). La enfermedad puede permanecer localizada o ser sistémica y diseminarse a través de la planta. La causa precisa de la muerte celular es aún incierta. ⁽¹⁾

B.- Marchitamiento vascular.

Este término es usado para enfermedades donde los vasos del xilema son invadidos por patógenos necrogénicos (que producen necrosis), y el marchitamiento es el síntoma más obvio. Los polisacáridos extracelulares con frecuencia tienen un rol en el desarrollo de la enfermedad, pero también pueden estar implicadas las enzimas que degradan la pared y alteraciones en el balance de los reguladores del crecimiento de la planta. ^(1,25)



BIBLIOTECA CENTRAL

C.- Podredumbre blanda.

Esto ocurre cuando existe separación de las células del huésped (maceración de tejido), llevando el tejido al colapso; el material muerto permanece suave y húmedo. ^(1,25)

D.- Ulceración (vesículas).

Se forman como resultado de la proliferación celular con producción de una gangrena o chancro en el tejido en crecimiento raíz, tallo u hojas. ^(1,25)

PROGRESION DE LA ENFERMEDAD.

Una vez que la bacteria se ha establecido en los espacios intercelulares y se empieza a multiplicar, necesita interceptar nutrientes que difunden las células hidratadas de la pared del apoplasto y es importante como éste puede abastecer de nutrientes y agua para la multiplicación inicial. Ahora bien, la invasión se inicia y progresa a altos porcentajes cuando la actividad de agua (A_w) es elevada y las temperaturas cercanas a las óptimas, pero se restringe severamente en condiciones secas. ⁽¹⁾

La mayoría de los patógenos bacterianos colonizan los espacios intercelulares de las células del parénquima en hojas y tallos. Las bacterias que invaden los vasos del xilema (patógenos vasculares) pueden también afectar las células adyacentes del parénquima. El floema funcional es colonizado por procariotes solamente.

Los nutrientes en el xilema son muy bajos, y una vez que el patógeno ha alcanzado éste nivel, necesitará de nutrientes, el flujo continuo de éstos en el xilema pueden ser suficientes al principio, pero no por largo tiempo. La combinación de la bacteria, sus polisacáridos, los productos de la planta inducidos por la bacteria y burbujas de aire bloquearán los vasos y detendrán el flujo. Los patógenos vasculares romperán las paredes de los vasos y de ésta manera obtendrán los nutrientes. Las células del parénquima del xilema son otra fuente potencial de nutrientes, si el patógeno induce rompimiento de la membrana o muerte de las células de la planta. ⁽¹⁾

También las bacterias frecuentemente colonizan el tejido de la planta, en donde las células se están expandiendo rápidamente y se colocan bajo el nuevo material, así que aparte de los efectos sobre las células de la planta inducidos por el patógeno, debe haber un cambio constante en la superficie de la pared celular conforme madura la planta. ⁽¹⁾

Los polisacáridos fibrilares de las paredes de tejido parenquimatoso de dicotiledóneas consiste principalmente de celulosa y la matriz está compuesta de polímeros de pectina altamente ramificados, un grupo heterogéneo de polisacáridos, glicoproteínas y proteoglicanos. ⁽¹⁾

De todos los constituyentes de la pared celular, los polímeros de pectina son los más fácilmente degradados por las bacterias (tanto saprófitas como patógenas). Durante la

maceración de las pectinas por parte del patógeno, ésto significa el rompimiento de las mismas de la pared celular, así que las células se separan y la integridad de la membrana se pierde. ⁽¹⁾

En el caso de la membrana y las vacuolas unidas a ésta, como su papel más importante es la regulación del contenido de agua en la célula, si sufren algún daño por patógenos, ésto significaría una rápida muerte celular. La vacuola también es un importante reservorio de enzimas hidrolíticas y una gran variedad de moléculas orgánicas, incluyendo sustancias fenólicas, azúcares y glucósidos, los cuales una vez liberados son rápidamente hidrolizados por las enzimas de la planta. Los productos de la hidrólisis incluyen cianuro de hidrógeno altamente tóxico (HCN). Aparte del efecto sobre el crecimiento bacteriano, los polifenoles inhiben la actividad de las enzimas degradadoras de pectina y otras; por lo tanto la muerte celular de la planta es un evento peligroso por la invasión del patógeno, a menos de que signifique que, destoxifique éstas sustancias, tolere su presencia o escape de su influencia. ⁽¹⁾

En cuanto a la bacteria se refiere, todos aquellos patógenos para plantas se encuentran en forma de bacilos. Los patógenos Gram positivos se circunscriben a las bacterias corineiformes. ⁽¹⁾

Las bacterias Gram positivas tienen una pared gruesa de peptidoglicano en el exterior de la membrana citoplásmica, y las enzimas hidrolíticas son comúnmente liberadas al medio circundante. En las bacterias Gram negativas, los peptidoglicanos forman una capa delgada sobre la membrana citoplásmica y fuera de ésta hay una membrana externa rica en lípidos. Entre las dos membranas se encuentra el periplasma, el cual contiene aminoácidos y azúcares

unidos a proteínas y enzimas hidrolíticas. Tales enzimas son extracelulares y son liberadas dentro del medio circundante e incluyen enzimas degradadoras de pectina y otras enzimas degradadoras de la pared celular como son las celulasas, xilanasas, pectinasas, proteinasas, y fosfolipasas. ⁽¹⁾

Con excepción de algunos corineiformes, la mayoría de los patógenos de plantas son móviles. Los flagelos son polares (*Pseudomonas* y *Xanthomonas*), o peritricos (*Erwinia* y *Agrobacterium*) y son importantes para la quimiotaxis y la entrada al tejido de la planta. Las fimbrias en la patogenia de la planta no han sido extensivamente estudiadas, pero se les atribuye un papel en la adhesión a las superficies de las plantas, aunque no de manera específica. ⁽¹⁾

Los patógenos para plantas varían en su temperatura óptima de crecimiento, pero la mayoría se desarrolla entre 25° y 30°C. Muchos muestran disminución del crecimiento por encima de 30°C (*E. amylovora*, *P. syringae*), pero algunos crecen bien cerca de 35°C (*X. campestris* pvs., *P. solanacearum*). *P. syringae* y otros patógenos se multiplican a 0°C pero sólo lentamente. ⁽¹⁾

La mayoría de patógenos de plantas son aerobios estrictos. Las excepciones son las especies de *Erwinia* sp., pero de éstas sólo las que maceran el tejido crecen bien en medios de cultivo bajo condiciones aerobias. ⁽¹⁾

A diferencia de ciertos hongos, las bacterias no tienen mecanismos de penetración a las superficies de las plantas. Por ejemplo *A. tumefaciens*, depende de una lesión para entrar, al igual que *Erwinia* sp. La invasión por vías de entrada natural es característica de los

patógenos Gram negativos productores de necrosis y es asociado con la movilidad. En contraste con los patógenos corineiformes, los cuales frecuentemente entran al tejido vía lesión son comúnmente no móviles. Los patógenos que producen necrosis pueden entrar a la planta por vías de entrada natural, tales como las puntas de raíces laterales, poros de agua y aire (estomata y lenticelas), y glándulas secretoras. El viento lluvia y granizo dañan y exponen los vasos del xilema por rompimiento o estallamiento de las venas de las hojas, exponiendo así a la hoja como una entrada directa al tallo. El tejido cortical también estará expuesto y habrá temporalmente un medio húmedo y como resultado una amplia variedad de bacterias serán succionadas dentro de los vasos del xilema, llegando también a los espacios intercelulares y células del parénquima. ⁽¹⁾

Después de la entrada, muchos patógenos (que producen necrosis), se establecen mejor en plantas de tejido joven en donde las células se están aún expandiendo. El porcentaje de crecimiento relativo de las células del huésped y el patógeno estarán influenciados por factores ambientales. ⁽¹⁾

En el caso de los patógenos que producen maceración del tejido, los factores ambientales también son de gran importancia, sólo que aquí se trata de un patógeno anaerobio facultativo. La entrada normalmente es a través de heridas o por lenticelas, éstas últimas cuando se encuentran secas no son tan vulnerables, pero cuando hay en la superficie una película de agua, las condiciones son especialmente favorables para el crecimiento del patógeno y el tejido es más susceptible a la actividad de las enzimas degradadoras de pectina. ⁽¹⁾

Una vez establecido en los espacios intercelulares, entre las células del parénquima o en los vasos del xilema, el patógeno habrá de multiplicarse a poblaciones elevadas, a fin de poder producir enfermedad en el hospedero. ⁽¹⁾

Son cinco géneros bacterianos principales los cuales producen enfermedades en plantas (además de hongos y virus). Estos incluyen *Pseudomonas* sp., *Erwinia* sp., *Agrobacterium* sp., *Corynebacterium* sp. y *Xanthomonas* sp. Estas bacterias sobreviven sobre residuos de cosechas, en semillas, malezas hospederas (tanto epífitas como en tejido enfermo), suelo y agua, y pueden diseminarse por medios mecánicos, insectos y semillas infectadas. El agua de lluvia o irrigación es un medio efectivo para la diseminación de las bacterias. ⁽⁶⁾

A continuación se da una descripción de cada enfermedad en particular con sus características:

CHANCRO BACTERIANO.

Aunque suele aparecer de vez en cuando, ésta enfermedad es muy contagiosa y destructiva en los jitomates. Detectada por primera vez en Grand Rapids, Michigan, a comienzos de la primera década de 1900, ahora se conoce en todo el mundo.

En Norteamérica han aparecido costosas epidemias de manera periódica. El chancro bacteriano tuvo una fuerte repercusión en Ohio, en la década de 1930; después se tomó en

un problema en el occidente de Carolina del Norte a comienzos de los sesenta y actualmente ha vuelto a convertirse en epidemia en la parte Norte del medio Oeste Estadounidense.

Corynebacterium michiganense (subespecie *michiganensis*), es el agente causal, que además de infectar al jitomate lo hace en otras plantas e inverna en ellas, como las malezas dulcamara negra y perenne, etc. La bacteria puede sobrevivir por temporadas en los ratrojos del cultivo y en las estacas para amarrarlo. La semilla y los trasplantes infectados la pueden diseminar por grandes distancias.

Una vez que ha entrado en operación de campo o de vivero para trasplantes, el chancro se esparce fácilmente por las heridas, por el riego o la lluvia. Las operaciones de recorte o de trasplante, cultivos o pulverizaciones, podas o estaqueado pueden dañar a las plantas y abrir vías de invasión para la bacteria. Esta puede penetrar por las heridas más insignificantes como los vellos de las hojas que se rompen con el impacto de las máquinas rociadoras. La bacteria se esparce también al salpicar del agua de lluvia o de riego, las plantas son particularmente sensibles a la infección cuando tienen las hojas mojadas.

SINTOMAS: Pueden demorar varias semanas en aparecer, después de la infección, haciendo difícil precisar el avance de la enfermedad. Las infecciones vasculares causan marchitez, clorosis y la muerte eventual del follaje. Estos síntomas a menudo aparecen en un sólo lado de la planta. Si se corta el tallo, se nota una decoloración café rojiza en los haces vasculares.

Al avanzar la enfermedad, se pueden desarrollar lesiones en el tallo, los peciolo y las caras inferiores del follaje. A veces es posible notar un exudado amarillento que contiene bacterias en los extremos de los tallos cuando se cortan. La infección superficial de las hojas

bacterias en los extremos de los tallos cuando se cortan. La infección superficial de las hojas es capaz de causar necrosis en el follaje -usualmente comenzando por los bordes de las hojas- que avanza hasta que mueren completamente la hoja y el peciolo. La infección temprana de la hoja resulta en la aparición de manchas redondas como “ojo de pájaro”, lesiones necróticas pequeñas con halos blancos. ⁽⁵⁾

PECA BACTERIANA O BACTERIOSIS.

La peca bacteriana se encuentra en toda Norteamérica, particularmente en zonas húmedas y frescas. También ocurre en Europa y Asia.

La enfermedad se ha convertido en un problema grave de los invernaderos y camellones en los que se producen trasplantes, donde su diseminación es asistida por los equipos de riego por aspersión. La peca es producida por *Pseudomonas syringae* (pv *tomato*). Aparentemente éste microorganismo no ataca a otras especies de hortalizas pero puede sobrevivir en ciertas plantas no hospederas. La bacteria se encuentra comúnmente en muchos cultivos y maleza en las frescas zonas costeras de California.

La distribución tan amplia de la peca puede atribuirse parcialmente a su capacidad de ser llevada por la semilla. Su dispersión a largas distancias ocurre también en los trasplantes. El microorganismo es capaz de sobrevivir de una estación a otra en varias malezas hospederas, en el suelo y en los rastrojos infectados del cultivo. El inóculo procedente de allí, puede infectar al jitomate cuando las hojas están mojadas por el riego o la lluvia. El

heridas. Las temperaturas frescas inferiores a 21° C son las más favorables para el desarrollo de la enfermedad.

SINTOMAS: Aparecen una semana después de la infección y son muy similares a los de la mancha bacteriana.

Pseudomonas syringae (pv *tomato*) puede infectar cualquier parte de la planta, pero sus síntomas son más obvios en el follaje, los tallos y el fruto. Al comienzo éstos síntomas semejan manchitas empapadas redondas que luego se toman necróticas y crecen hasta alcanzar un diámetro de 16 mm. A menudo se encuentran rodeadas por un halo amarillo. En infecciones severas éstas manchas se juntan para formar lesiones mayores, generalmente a lo largo del borde de las hojas. Las lesiones en el fruto son color café levemente hundidas con halos más oscuros. ⁽⁵⁾

MANCHA BACTERIANA.

La mancha bacteriana es causada por el microorganismo *Xanthomonas campestris* (pv *vesicatoria*), de la que existen diferentes variedades; unas infectan únicamente al jitomate, y otras también al chile.

En norteamérica ésta enfermedad ha significado un problema importante de característica perenne hacia el sureste, aunque ha aumentado su frecuencia hacia el norte de los E.U.

Aún cuando la mancha bacteriana no sobrevive mucho tiempo sola en el suelo, si logra hacerlo en el jitomate y chile infectados. También puede sobrevivir en las semillas de frutos infectados y en ciertas especies de malezas y cultivos.

A diferencia de la peca, el desarrollo de la mancha es favorecido por las temperaturas cálidas. La enfermedad se puede diseminar rápidamente durante los periodos de lluvia, humedad y temperaturas altas. Penetra a la planta a través de aberturas naturales, lesiones por insectos o mecánicas y rupturas de los vellos de las hojas. Los síntomas generalmente aparecen una semana después de producida la infección.

SINTOMAS: Las infecciones se presentan en las hojas, tallos y los frutos e inicialmente son similares a las lesiones ocasionadas por la peca bacteriana. Sin embargo las lesiones de la mancha son generalmente más grandes y llegan a medir hasta 0.64 cm., son oscuras y al principio de su desarrollo pueden presentar un halo blanquecino similar al del chancro bacteriano.

Las lesiones de las hojas son oscuras y pequeñas aunque después de un periodo de alta humedad se unen sobre todo hacia los márgenes de la hoja. Posteriormente se presenta la caída de las hojas dañadas.

Sobre los tallos, las marcas ocasionadas por ésta enfermedad son muy parecidas a las de la peca bacteriana. ⁽⁵⁾

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

MARCHITAMIENTO DE LAS SOLANACEAS.

Producido por *Pseudomonas solanacearum*, su incidencia se encuentra restringida a áreas tropicales de todo el mundo.

SÍNTOMAS: Las hojas basales se marchitan y sigue inmediatamente la marchitez en toda la planta. Cuando se corta el tallo, se observa una ligera exudación grisácea; más tarde la médula se vuelve marrón y hueca.

Una rápida ayuda para el diagnóstico es meter un trozo de tallo recién cortado en agua: un exudado blanco y lechoso va a fluir desde el extremo basal del tallo.

La bacteria sobrevive en el suelo y puede infectar a través de las raíces o por heridas de podas o es introducida por insectos masticadores. La enfermedad se desarrolla mejor con tiempo cálido y con niveles de humedad en el suelo bastante altos. ⁽⁴⁾

PODREDUMBRE HUMEDA BACTERIANA.

El primer reporte de ésta enfermedad fué hecho por L.R. Jones en 1901. Las lesiones sobre el fruto enfermo típicamente tienen un aroma y textura desagradable. Por lo menos cuatro bacterias pectolíticas causan esta enfermedad en el fruto del jitomate. En ambientes cálidos y húmedos tres de las cuatro bacterias pueden también macerar la médula y la epidermis del tallo.

SÍNTOMAS: Las lesiones sobre el tallo primero aparecen como áreas pequeñas hundidas de color pálido a oscuro, adyacentes o asociadas con daños y aberturas o entradas naturales. La bacteria puede entrar a través de llagas, heridas en la epidermis sobre lesiones o cicatrices en el tallo o sobre poros abiertos, lo mismo ocurre en el fruto. Los primeros síntomas externos de lesiones internas incluyen una extrema suavidad sobre las partes de la superficie y áreas oscuras húmedas adyacentes a la cicatriz del tallo o del poro, el contenido de la lesión es un líquido con o sin burbujas de gas y tienen un pH de 5.4 o más alto (el pH normal del tejido del fruto o lesiones con producción de ácido es de 4.2 a 4.6).

Ciertas lesiones pueden parecer fluorescentes cuando son expuestas a luz ultravioleta. La mayoría de las bacterias que producen esta enfermedad son cepas de *Erwinia carotovora* sub-especie *carotovora*, *Pectobacterium carotovorus*, *Erwinia carotovora* subespecie *atroseptica* y cepas pectolíticas de *Pseudomonas fluorescens* aunque las lesiones causadas por éstas últimas no se expanden tan rápidamente como las causadas por *Erwinia* sp.

También cepas pectolíticas de *Bacillus* sp. se han reportado como causantes de esta enfermedad en el jitomate, pero solamente a temperaturas relativamente altas (30° C).

Ninguna de éstas bacterias penetran al fruto directamente, sino que lo hacen solamente por heridas o entradas naturales.

Las bacterias que producen esta enfermedad son ubicuas y sobreviven a parte del hospedero, en una gran variedad de sentidos. *Erwinia* sp., parece sobrevivir como epífita sobre varios órganos frescos de plantas en muy bajas poblaciones, en suelo o ambientes acuáticos. *Pseudomonas* sp. son habitantes normales del suelo.

Una forma de inoculación del fruto ocurre cuando las llagas o heridas entran en contacto con agua contaminada, equipo o contenedores. El fruto sumergido en agua en la empacadora también es inoculado cuando absorbe pequeños volúmenes de agua a través de heridas o poros en el tallo. Si cantidades insignificantes de agua son absorbidas, entonces los patógenos localizados sobre la superficie del fruto adyacente a una entrada natural también entrarán. ⁽⁷⁾

Erwinia sp. se encuentra dentro de las bacterias fitopatógenas que atacan a los frutos y hortalizas. *Erwinia* sp. y *Xanthomonas* sp., producen podredumbre húmeda bacteriana, ya que elaboran enzimas que actúan sobre la pectina que existe en la lámina media de los tejidos de las plantas, que pierden su solidez y toman una consistencia de papilla. Los líquidos tisulares transportan las bacterias y transmiten las enfermedades a las partes sanas de las plantas. La exudación o aparición de jugos celulares enfermos que originan la infección de otros tubérculos, sobre todo a través de posibles grietas y si hay humedad suficiente, también a partir de las lenticelas. ⁽⁸⁾

En estudios recientes se ha comprobado la importancia de los agentes etiológicos de las enfermedades bacterianas en cultivos de jitomate, no sólo por el proceso patológico que producen, sino por su participación en la obtención de cultivos del jitomate resistentes a éstos microorganismos como se cita en los siguientes ejemplos:

El marchitamiento causado por *P. solanacearum* es una enfermedad devastadora particularmente sobre cosechas de solanáceas en áreas tropicales y subtropicales. Para el control de éste patógeno vascular llevado a través del suelo, las prácticas de cultivo y la utilización de productos químicos son ya insuficientes, ahora la medida más ampliamente distribuída, es por ésta razón, el uso de cultivos resistentes.

El control de la enfermedad es difícil, puesto que *P. solanacearum* tiene un amplio rango de hospederos, ésta ampliamente distribuída en la naturaleza y tiene una vasta variabilidad genética.

En algunos estudios se han observado infecciones latentes en los principales hospederos de *P. solanacearum*, como lo es el jitomate y la berenjena, en los cuales los mecanismos de resistencia parecen ser similares: la diseminación de *P. solanacearum* estuvo limitada en los cultivos resistentes.

En Abril de 1995, se observaron síntomas típicos de mancha bacteriana producida sobre jitomate e identificada como *P. syringae* pv. *maculicola*, en un campo comercial en la Plata, Argentina. Las plantas afectadas tuvieron manchas pequeñas color café con bordes irregulares rodeadas de halos cloróticos. Las manchas tuvieron aproximadamente 1 mm. de diámetro y cubrían la mayor parte de la superficie de la hoja. La incidencia de la enfermedad fué del 100 %. Ningún hongo patogénico fué asociado con las plantas sintomáticas. (16)

En otro ejemplo se realizaron experimentos de injerto para comprender los mecanismos de resistencia del jitomate hacia *P. solanacearum*.

El injerto de cultivos de jitomate (*L. esculentum*) susceptibles al marchitamiento bacteriano sobre raíces de plantas resistentes es un medio de control hacia *P. solanacearum*. La resistencia de plantas injertadas se atribuye generalmente a la ausencia de colonización bacteriana en raíces y tallo de jitomates resistentes.

En resumen, la diseminación de *P. solanacearum* está limitada a los tejidos vasculares de cultivos resistentes, contrariamente a lo que sucede con los cultivos susceptibles. Lo importante era observar si la limitación de la diseminación bacteriana fué suficiente para evitar la infección de los vástagos resultantes.

La limitación de la diseminación bacteriana en cultivos resistentes puede evitar la generalización de la infección a los tejidos vasculares completos. En contraste en cultivos susceptibles una reacción de defensa retardada podría resultar en la generalización de la infección bacteriana. (14)

El Centro Asiático de Investigación y Desarrollo de Vegetales en Taiwan (AVRDC), ha desarrollado líneas de jitomate que han sido ampliamente distribuidas en el sureste de Asia, pero algunas de éstas líneas seleccionadas para la resistencia al marchitamiento por bacterias en Taiwan, fueron susceptibles cuando crecieron en otras localidades. Las razones para las reacciones inconstantes a ésta enfermedad pueden ser debido a las diferencias en las cepas del patógeno o a efectos ambientales sobre el jitomate y el patógeno.

La evaluación de plasma germinal de jitomate resistente al marchitamiento producido por bacterias, sobre muchos ambientes, se considera ser la estrategia más efectiva para identificar las mejores fuentes de resistencia hacia ésta enfermedad. (15)

HIPOTESIS

Y

OBJETIVO

HIPOTESIS:

Las condiciones de cultivo, así como el clima, tipo de semilla, técnicas de siembra, tipo de suelo, nutrición de la planta, tienen gran influencia en el desarrollo de infecciones en los cultivos de jitomate (*Lycopersicon esculentum*).

OBJETIVO:

Identificar los principales géneros de bacterias patógenas en el cultivo de jitomate (*Lycopersicon esculentum*) de Tizapán El Alto, Jalisco.

MATERIAL

Y

METODO

MATERIAL

Material de uso frecuente en el laboratorio de Microbiología.

REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO

- Solución de ácido clorhídrico 0.1 N
- Solución de hidróxido de sodio 0.1 N
- Solución de ácido tartárico 10 %
- Solución de alfa naftol al 5 %
- Solución de hidróxido de potasio al 40 %
- Indicador rojo de metilo 0.1 %
- Solución de cloruro férrico al 10%
- Reactivo de diclorhidrato de dimetil -*p*- fenilendiamina
- Solución de peróxido de hidrógeno al 33 %
- Reactivo de Kovac o Erlich
- Medio de LIA
- Medio de TSI
- Medio de SIM
- Medio de MR-VP
- Medio de UREA
- Agar de Fenilalanina
- Agar de Citrato Simmons
- Agar de Cuenta Estándar
- Agar de Mac Conkey

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

METODO

La metodología empleada se dividió en cuatro etapas.

a) Visita a la zona de cultivo afectada:

Se realizó una visita a los cultivos de jitomate (*L. esculentum*) del municipio de Tizapán El Alto, Jalisco, para observar las condiciones en que éstos se encontraban, por ejemplo: el tipo de lesiones que presentaban, si la planta era pequeña, robusta, con mucho follaje, tipo de fruto, etc. Y por otra parte observar las condiciones ambientales que prevalecían en ese momento. La visita se efectuó en agosto de 1995 y se encontró un clima de tipo cálido y húmedo con seminublados, viento y lluvias con una temperatura ambiental mínima de 10 a 18°C y máxima de 27°C.

b) Revisión de las condiciones de cultivo:

El método de cultivo utilizado fué por medio de trasplante, en el cual primero se colocan las semillas en los semilleros y éstos a su vez en un invernadero, la mayoría de las semillas fueron del tipo híbrido comercial siendo algunas de ellas: yaqui, río grande plus, lérica, missouri, orion y floradade; y una vez que germinaron (por lo general el 80 % del total de las semillas plantadas) y alcanzaron una altura de unos 10-15 cm., fueron trasplantados al campo.

La fecha de siembra fué a partir de junio, julio, y agosto y la cosecha de 65-90 días a partir de la siembra.

Las condiciones de nutrición que tuvieron las plantas fué la aplicación de fertilizantes a base de Nitrógeno, Fósforo y Potasio, a una dosis de 100-80-80 Kg. / Ha., utilizando Urea (46 % N), compuesto triple 17 combinada con amoníaco o nitrato de amonio (33 % N), además de otro llamado super fosfato de calcio triple con (46 % P₂O₅), y otro más a base de nitrato de potasio o llamado también nitrato chileno.

Un dato importante es el hecho de que la semilla utilizada tenía el genotipo para una planta de tipo determinado, que aún cuando ésta es una planta de porte pequeño y robusta, se desarrolló una planta demasiado pequeña, y que además presentaba mucha susceptibilidad a diferentes enfermedades. Además gran parte de follaje y fruto se encontraba muy cercano al suelo y por consiguiente sufría de marchitamientos por el exceso de humedad, y por la presencia de microorganismos que se encontraban en el suelo.

c) Toma de muestras para exámenes microbiológicos de plantas dañadas.

El muestreo para esta investigación se realizó en cultivos de jitomate (*L. esculentum*) localizados en la región de Tizapán El Alto, Jalisco; en cuatro etapas, durante un lapso de seis meses (de septiembre de 1995 a febrero de 1996); el criterio usado para el muestreo fue en base al tiempo necesario para el procesamiento de las muestras recolectadas en cada uno de éstos.

Ahora bien, se recolectaron 50 muestras de follaje (incluidos algunos tallos), y 50 de fruto en plantas de crecimiento determinado con lesiones características. Estas muestras se transportaron hacia el laboratorio en dos formas: las hojas en prensas y los frutos y tallos en frascos estériles.

d) Una vez en el laboratorio las muestras se procesaron de la siguiente manera: se lavaron cada una cuidadosamente con agua estéril, sobre todo aquellas que se encontraban muy cercanas al suelo,⁽¹⁸⁾ y se efectuó asépticamente un corte de la región lesionada del fruto y/o las hojas. Esta muestra se maceró con aproximadamente cinco veces su propio volumen con solución de Cloruro de Sodio al 0.85%, de éste macerado se preparó un frotis para tinción de Gram y se efectuaron diversas diluciones y se encontró que 1:100, es la más adecuada para la obtención de un crecimiento óptimo que permita la observación de las características coloniales. De ésta dilución se transfirió 0.1 ml. a placas con medio de cultivo Agar Cuenta Estándar (ACE) y Agar de Mac Conkey (el agar nutritivo (ACE) es el medio de cultivo mejor disponible para el aislamiento de la mayoría de los patógenos de plantas).⁽¹⁸⁾

Los medios selectivos no son necesarios y no se recomiendan para la mayoría de éste tipo de estudios, debido a que los medios de cultivo de crecimiento general contienen suficientes nutrientes para el desarrollo de éste tipo de bacterias.⁽¹⁸⁾ Es importante señalar que los medios utilizados deben tener una superficie lo más seca posible, puesto que si existe agua en la misma, las bacterias presentes se mueven y el resultado es una mezcla de crecimiento, del cual no se obtiene un cultivo de colonias aisladas, necesario para una adecuada identificación de las mismas.⁽¹⁸⁾

Por otra parte la siembra se realizó por la técnica de extensión en superficie con una varilla de vidrio, de manera que todo el inóculo fuera absorbido por el agar.

Luego se incubaron las placas en una estufa de cultivo a 25°-30°C (25°C es una temperatura satisfactoria para el crecimiento de patógenos bacterianos de plantas),⁽¹⁸⁾ por

36 hrs., tiempo después del cual, se observó la morfología colonial. (la mayoría de los patógenos crecen en un lapso de 36 a 72 hrs.)⁽¹⁸⁾

Después se seleccionaron aquellas colonias de interés para la realización de pruebas bioquímicas para llegar a la determinación del género bacteriano.

Las pruebas bioquímicas utilizadas fueron las siguientes:

- Prueba de citocromo oxidasa
- Prueba de actividad de catalasa
- Prueba de descarboxilación de Lisina
- Prueba de utilización de citrato
- Prueba de utilización de hidratos de carbono (TSI)
- Prueba de movilidad
- Prueba de producción de ácido sulfhídrico
- Prueba de producción de indol
- Prueba de Rojo de Metilo - Voges Proskauer
- Prueba de producción de ureasa
- Prueba de producción de fenilalanina desaminasa

La identificación bioquímica se llevó a cabo utilizando la clasificación de bacterias fitopatógenas de Manual de Bergey 9ª Edición.

(Tabla 1.)



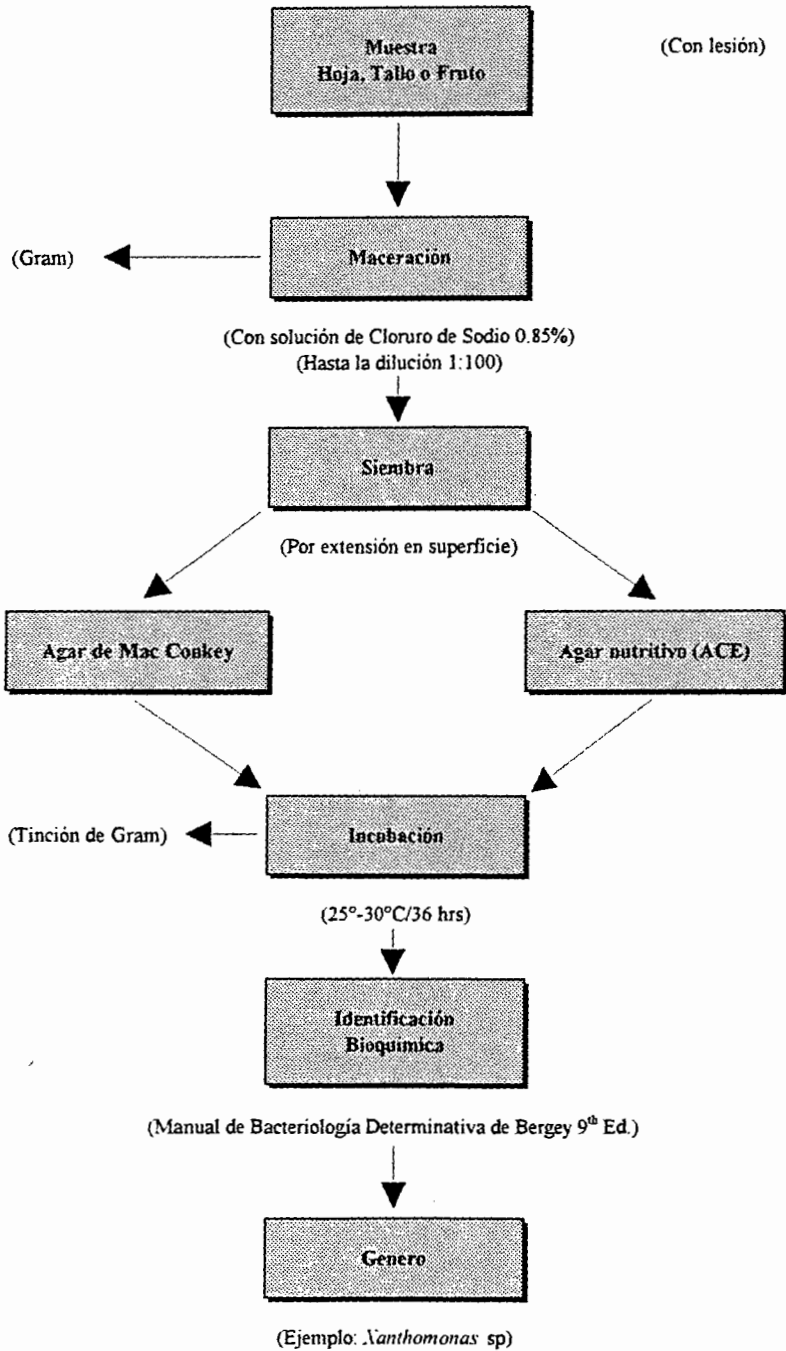


Tabla 1

IDENTIFICACION BIOQUIMICA DE LOS GENEROS BACTERIANOS

MEDIDAS P. BIOQUIMICAS	<i>Erwinia</i> sp 8.5-1.0 x 1-3µm	<i>Corynebacterium</i> sp 0.3-0.8 x 1.5-8.0µm	<i>Pseudomonas</i> sp 0.5-1.0 x 1.5-5.0µm	<i>Xanthomonas</i> sp 0.4-0.7 x 0.7-1.8µm	<i>Agrobacterium</i> sp 0.6-1.0 x 1.5-3.0µm
INDOL	-	-	-		-
ROJO DE METILO	+/-	-/+	-		
VOGES PROSKAUER	+	-	-		
CITRATO DE SIMMONS	+				-
GAS H ₂ S	-/+	no gas	-	-	v
MOVILIDAD	+	-	+	+	+
LISINA LIA	-		+	-/+	-
FENILALANINA	-		-	-	
GAS DE GLUCOSA	-	+	+/-	+/-	oxida glucosa
LACTOSA TSI	-/+ glucosa (+)	v	-	+/-	+
SACAROSA	-	-/+	-	+	+
OXIDASA	-	-	+	-	+/-
TEMPERATURA OPTIMA DE CRECIMIENTO	27°-30°C	37°C	22°-37°C	25°-30°C	25°-28°C
UREA	-	+/-			+
CATALASA	+	+	+	+	+
GRAM	bacilos Gm (-)	bacilos Gm (+)	bacilos Gm (-)	bacilos y cocos Gm (-) colonias amarillas	bacilos Gm (-)

+ 90% o más positivos

+ 90% o más negativos

+/- mayoría positivos

-/+ mayoría negativos

v diferentes tipos bioq

RESULTADOS

RESULTADOS



BIBLIOTECA CENTRAL

Inicialmente se procesaron algunas muestras para estandarizar la dilución en la que se obtendría el mejor aislamiento de las colonias de bacterias, obteniéndose en la dilución 1:100; siendo un total de 120 muestras procesadas de las que se aislaron e identificaron 100 cepas fitopatógenas de las cuales se encontraron cinco géneros importantes como son *Xanthomonas* sp., *Corynebacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Erwinia* sp., y *Agrobacterium* sp.

Identificación por géneros:

1) Género *Xanthomonas* sp.

En total se identificaron 44 cepas de éste género. El mayor número de aislamientos se realizaron en el primer muestreo, que fué en los meses de septiembre a octubre con 12 aislamientos, le sigue el cuarto muestreo de enero a febrero con 10 aislamientos, en cuarto lugar el tercer muestreo de diciembre a enero con 9 aislamientos, y en último lugar el segundo muestreo de octubre a noviembre con 4 aislamientos solamente.

2) Género *Corynebacterium* sp.

En los meses de estudio se identificaron 20 cepas de éste género, siendo mayor el porcentaje en el último muestreo que corresponde a los meses de enero a febrero y relativamente similares en los tres primeros muestreos que corresponden a los meses de septiembre a enero.

3) Género *Pseudomonas* sp.

Se registraron un total de 16 cepas de este género, manteniéndose la cantidad de aislamientos relativamente similares del 2 al 6 % en todos los meses de muestreo.

4) Género *Erwinia* sp.

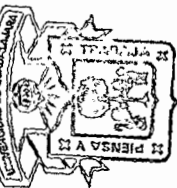
Se identificaron en total 13 cepas de este género, encontrándose 8 aislamientos en los meses de diciembre a enero contra solo 3 aislamientos en el muestreo de septiembre a octubre y sólo un aislamiento en los meses de octubre a noviembre y otro más en los meses de enero a febrero.

5) Género *Agrobacterium* sp.

Se registraron sólo 7 cepas de este género y aislándose solamente en los dos primeros muestreos en los meses de septiembre, octubre y noviembre con dos y tres aislamientos respectivamente y en los meses de diciembre, enero y febrero no se aisló ninguna cepa de este género.

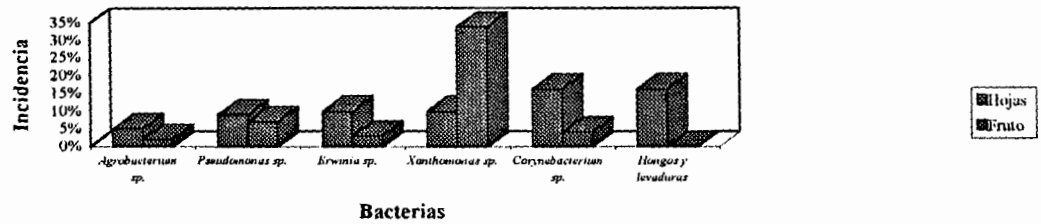
Por último se encontraron también en ciertos tipos de lesiones, el desarrollo de algunos hongos, observando su crecimiento colonial con micelio aéreo, el cual en los cultivos viejos cambió de un color claro a oscuro, y en las preparaciones en fresco, se observaron hifas septadas y ramificadas, además de esporas unicelulares. Y algunas otras lesiones con presencia de colonias de levaduras. Todo esto se observó tanto en muestras de follaje como de fruto en un porcentaje del 16 %.

(Tabla 2)

Bacterias aisladas de 100 muestras de Jitomate (*Lycopersicon esculentum*)

Nombre de la Bacteria	No. de Aislamientos	Lugar de aislamiento			
		Hoja (%)		Fruto (%)	
<i>Xanthomonas sp.</i>	44	10	10%	34	34%
<i>Corynebacterium sp.</i>	20	16	16%	4	4%
<i>Pseudomonas sp.</i>	16	9	9%	7	7%
<i>Erwinia sp.</i>	13	10	10%	3	3%
<i>Agrobacterium sp.</i>	7	5	5%	2	2%
TOTAL	100				

Bacterias aisladas de 100 muestras de Jitomate (*Lycopersicon esculentum*)



	HOJA		FRUTO
<i>Agrobacterium sp.</i>	5	<i>Agrobacterium sp.</i>	2
<i>Pseudomonas sp.</i>	9	<i>Pseudomonas sp.</i>	7
<i>Erwinia sp.</i>	10	<i>Erwinia sp.</i>	3
<i>Xanthomonas sp.</i>	10	<i>Xanthomonas sp.</i>	34
<i>Corynebacterium sp.</i>	16	<i>Corynebacterium sp.</i>	4
<i>Hongos y levaduras</i>	16		

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

DISCUSION

DISCUSION

Tanto en las grandes extensiones de cultivo de jitomate (*Lycopersicon esculentum*), como en las pequeñas zonas de producción de ésta hortaliza, se presentan problemas de enfermedades ocasionadas por bacterias y ésto se traduce en grandes pérdidas económicas por que las cosechas no se pueden utilizar en su totalidad.

Por ésta razón, éste trabajo surgió de la necesidad de conocer cuales son las causas que provocan que en nuestro estado existan también éste tipo de problemas, para en un momento determinado tomar medidas de prevención o de corrección adecuadas.

Se conoce que los cultivos de jitomate en general son afectados principalmente por hongos y virus, además de bacterias; por tal motivo éste estudio representa un avance preeliminar para apreciar la incidencia de los principales géneros bacterianos causantes de enfermedades que afectan al cultivo de jitomate (*Lycopersicon esculentum*), en Tizapán El Alto, Jalisco, ya que en la actualidad no se cuenta con suficiente información acerca de los mismos.

El análisis de los resultados obtenidos, en las lesiones observadas, muestra que los géneros bacterianos aislados (*Xanthomonas* sp. 44 %, *Corynebacterium* sp. 20 %, *Pseudomonas* sp. 16 % , *Erwinia* sp. 13 %, y *Agrobacterium* sp. 7 %) son aparentemente responsables de las infecciones encontradas en las hojas y frutos de las plantas analizadas, sin embargo, es importante señalar que las características propias del cultivo, así como la semilla utilizada y los factores ambientales tales como viento, lluvia y humedad favorecen de forma importante la diseminación del agente patógeno.

En lo que respecta a la semilla que utilizaron los agricultores, tenía el genotipo para dar lugar a una planta de crecimiento determinado, éste es, de porte bajo y robusta, sin embargo la planta que se desarrolló fué demasiado pequeña, lo cual provocó que gran parte de la misma, tanto el follaje como los frutos estuvieran en contacto con el suelo. Aunado a esto, un exceso de humedad, brindó las condiciones favorables para el desarrollo de una infección considerable, dando lugar a marchitamientos y podredumbres de la planta.

Por otra parte, considerando las condiciones nutricionales que tuvieron las plantas, las cuales fueron a base de N, P, y K en una dosis de 100 -80-80 Kg. / Ha., el tipo de suelo, que en su mayoría es arenoso, todo esto propició una alta fluctuación tanto de minerales como de humedad, entonces es muy probable que aún adicionando éstos minerales existieran deficiencias en la planta, y por lo tanto éstas se volvieron más susceptibles a presentar cualquier infección a causa de diferentes microorganismos. Los efectos inmediatos debido a la deficiencia de éstos minerales fueron la talla baja, el amarillamiento de hojas y frutos.

Continuando con los factores ambientales, éstos también cooperan al ingreso de los microorganismos al tejido de la planta. El viento, por ejemplo, favorece la diseminación transportando y depositando en cualquier parte de la planta y en el suelo al patógeno, y lo mismo sucede con la lluvia que además de trasladar a los microorganismos, también provoca heridas o cicatrices en el fruto o en el follaje, y una vez existiendo una entrada así, el patógeno penetra y rápidamente llega a colonizar y producir enfermedad en el hospedero. Estas lesiones son ricas en colonias de patógenos que encuentran condiciones favorables para su desarrollo.



Es importante hacer la observación de que durante las etapas de muestreo de ésta investigación predominó un clima fresco durante la mañana y la noche, y cálido el resto del día, así como algunos días con lluvia y vientos moderados. Las temperaturas mínimas fueron de 10-18°C y máximas de 25-27°C.

También es importante señalar que los porcentajes obtenidos en el presente trabajo demuestran una predominante infección de tipo bacteriano con respecto a otros microorganismos como hongos en el cultivo de jitomate, que tradicionalmente la literatura reporta de mayor importancia en infecciones de cultivo de jitomate.

Debido a que las cepas en cada uno de los aislamientos se clasificaron hasta nivel de género, se desconocen las especies que predominaron en cada uno de ellos, ésto es importante ya que esos datos nos podrían proporcionar información sobre el rango de especificidad sobre el hospedero, así como el grado de patogenicidad; en éste sentido quedaría en tentativa un estudio para llegar hasta dicho nivel.

Además, es conveniente recomendar que éste tipo de estudios deben realizarse en cada estación de cultivo, y en otras zonas productoras, para observar si en cada una de éstas se presentan los mismos géneros bacterianos; ya que algunos cultivos presentan reacciones distintas hacia la enfermedad, haciendo referencia a un estudio realizado en Taiwan por el AVRDC, en donde se han obtenido líneas de jitomate resistentes al marchitamiento bacteriano, las cuales fueron susceptibles a la misma enfermedad cuando se cultivaron en otras zonas, se cree que las razones a las inconstantes reacciones pueden ser la diferencia en las cepas del patógeno o a los efectos del ambiente sobre el jitomate y el patógeno. (16)

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1.- Conforme a los resultados obtenidos en el presente estudio se puede concluir, que el cultivo del jitomate (*Lycopersicon esculentum*), debido a su fenotipo-genotipo el cual está dado por el tipo de semilla utilizada, las condiciones de nutrición y ambientales, además del hábito de crecimiento de la planta, se considera entonces como un cultivo susceptible de adquirir diferentes tipos de infecciones de etiología bacteriana y de otros microorganismos.

2.- En el total de las lesiones de las muestras analizadas se encontraron las cepas de los géneros bacterianos esperados (*Xanthomonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Corynebacterium* sp., *Erwinia* sp., y *Agrobacterium* sp.), similares a los reportados en la bibliografía como los principales patógenos de plantas, sin embargo no es difícil que en las lesiones de jitomate (*L. esculentum*) se presenten otro tipo de microorganismos como hongos y virus.

3.- De todas las muestras analizadas, los mayores porcentajes de identificaciones fueron a nivel de follaje, deduciendo por lo tanto, que éste último es más susceptible a cualquier tipo de infección que el resto de la planta, excepto en el caso del género *Xanthomonas* sp. (44%) que se presentó en mayor proporción en fruto que en follaje.

4.- Es necesario continuar con estudios durante todo el año y en diferentes localidades para delinear aquellas áreas y estación de cultivo donde las enfermedades bacterianas son

más severas, ésto con el fin de obtener variedades de cultivo de jitomate (*L. esculentum*) cada vez más resistentes a dichas enfermedades.

BIBLIOGRAFIA



BIBLIOGRAFIA

- 1.- Billing., E. Bacteria as Plant Pathogens.: American Society for Microbiology 1987.
USA, No. 14 ; p. 1-71.
- 2.- J.N.M., Van Haeff.: Tomates. Manuales para Educación Agropecuaria 1992. Producción Vegetal. Ed. Trillas. 16: p. 9-50.
- 3.- Calderón, F.: All about Tomatoes. Manual de Cultivos por Hidroponia 1995. I. p. 205-224.
- 4.- Santos, H.D., Sánchez, S.: Tomato Diseases. Manual de Cultivos por Hidroponia 1995. 1: p. 224-240.
- 5.- Asgrow, Reporte Agronómico.: Hortalizas, Frutas y Flores. Ed. Año Dos Mil 1994. p. 10, 11, 13 -14, 16, 18.
- 6.- Jones, J. B. , Stall, R. E. , Zitter, T. A. : Compendium of Tomato Diseases. APS Press 1991. p. 1-8, 25, 44-45, 47, USA.
- 7.- Eskin, N. A. M.: Quality and Preservation of Vegetables. CRC Press 1989. I. p. 54-60, 67.USA.
- 8.- Müller, G., Lietz, P., Munch, H.D.: Microbiología de los Alimentos Vegetales Ed. Acribia Zaragoza, (España) p. 61-212.
- 9.- Gould, W. A., Ph. D.: Tomato Production, Processing and Quality Evaluation. Sec. Ed. AVI Pub. Costo. Inc. USA. p. 18-25, 38-39, 44.
- 10.-Koneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, V.R., Sommers, H.M. : Diagnóstico Microbiológico. Ed. Panamericana. Argentina, 1983. p. 185-199, 326-334.

- 11.-Giono - Cerezo, S.; S. Aguilar - Benavides y col. : Manual de Laboratorio de Bacteriología Médica. Depto. de Microbiol. Esc. Nac. de Cienc. Biol. IPN, 4ª . Ed. 1983.
- 12.-Tamaro , D. : Manual de Horticultura. 13ª Ed. G. Gilli, S.A. Méx. 1988. p. 126.
- 13.-Grimault, V.,Prior, P.: Invasiveness of *Pseudomonas solanacearum* in tomato, eggplant and pepper: a comparative study. European Journal of Plant Pathology 1994. 100: p. 259-267.
- 14.-Grimault, V., Prior,P. : Grafting Tomato Cultivars Resistant of Susceptible to Bacterial Wilt: Analysis of Resistance Mechanisms. J. Phytopathol 1994. p. 141:330-334.
- 15.-Hanson, P.M., Wany, J.F., Licardo, O, Haudin, Mah, S.Y., Hartman, G.L., Lin,Y.C., Chen, J.T., : Variable Reaction of Tomato Lines to bacterial Wilt, Evaluated at Several Locations in Southeast Asia. Hortscience. 31, 1996 (1) p. 143-146.
- 16.-Alippi, A.M., Ronco, L.: First Report of Crucifer Bacterial Leaf Spot Caused by *Pseudomonas syringae* pv *maculicola* in Argentina. Plant. Dis. 1996. p. 80:223.
- 17.-Jauch, C.: Patología Vegetal. p. 71-78.3ª Ed. El Ateneo.1985.
- 18.- Johnston, A., Booth, C.: Plant Pathologist's Pocketbook. p. 30-45.2da. Ed.1970.
- 19.-Holt, J. G. , Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., Williams, S. T.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 1994 9th Ed. Williams & Wilkins. p. 71, 74, 93-94, 100, 104, 115, 125, 130, 151-157, 173,179,205-209, 571, 576, 585, 592-593. USA.
- 20.- De la I. de Bauer, M. L. : Fitopatología. Colegio de Postgraduados. Ed. Limusa, p. 12-13, 83-86, 203-211, 233-236, 296-301. Mex. 1987.
- 21.- Enciclopedia de Los Municipios de Jalisco: Los Municipios de Jalisco. 1a. Ed. 1988, p.

658-663.

- 22.- Secretaría de Programación y Presupuesto. Coordinación General de los Servicios Nacionales de Estadística e Informática. : Síntesis Geográfica de Jalisco. Mex., D.F. Enero, 1981. p. 79-86.
- 23.- Mac Faddin, J. F. : Pruebas. Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. Ed. Médica Panamericana. p. 39-49, 61-70, 94-102, 104-110, 112-120, 134-141, 154-159, 168-172, 183-188, 190-197. Mex. 1990.
- 24.- Housbeck, M. : Control de Enfermedades de Jitomate en el Campo. Bot. y Patol. de Plantas. NSDU Extensión y Servicio a Horticulturistas. USA, Abril 1995.
- 25.- Edmond, J. B., Senn, T. L., Andrews, F. S. : Fundamentals of Horticulture. 3a. Ed. CECSA. Jul. 1985 p. 110-134.
- 26.- INEGI: Carta Descriptiva Edafológica. 1979.

APENDICE

Agar de Hierro y Lisina

Se basa en la descarboxilación de la Lisina, formación de sulfuros y fermentación de glucosa.

También podemos detectar la desaminación del aminoácido Lisina. (23)

Agar Citrato de Simmons

Se usa para diferenciar las bacterias entéricas Gram negativas, basándose en la utilización del Citrato. (23)

Agar de Hierro y Triple Azúcar

Medio diferencial muy usado en la identificación de enterobacterias patógenas y saprófitas en los análisis bacteriológicos rutinarios de heces, principalmente. Se usa como clave para iniciar la identificación de enterobacterias en algunos esquemas del FDA. (23)

Medio SIM

Es un medio semisólido usado rutinariamente en la diferenciación e identificación de cultivos puros de enterobacterias, y que detecta la producción de sulfuros, indol y movilidad de las mismas. (23)

Medio MR-VP

Medio líquido empleado para efectuar las reacciones indicadas de rojo de metilo y acetil-metil-carbinol (Voges Proskauer) del grupo Escherichia / Enterobacter. (23)

Caldo Urea

Se usa para la identificación de bacterias, particularmente, para diferenciar los miembros del género *Proteus*, de *Salmonella* y *Shigela*. (23)

Agar de Fenilalanina

Se usa para determinar la capacidad de un microorganismo para desaminar al aminoácido fenilalanina, con formación de ácido fenilpirúvico. (23)

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

C.
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.

P R E S E N T E.

Por este conducto me permito solicitar a Usted se
corran los tramites necesarios para el registro de mi
anteproyecto de tesis titulado

Identificación y cuantificación de bacterias patógenas en cultivos de
tomate (*Lycopersicon esculentum*)

(ANEXO)

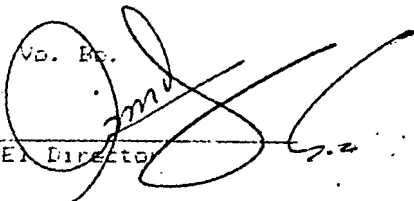
Así mismo pongo a su consideración al
QFB Rosa María Domínguez Arias
como Director de tesis.

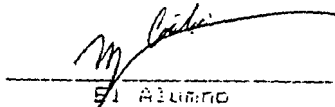
Sin otro particular, aprovecho la ocasión para
reiterarle mi consideración más distinguida.

ATENTAMENTE

Guadalajara, Jal. a 30 de Agosto

1954

Vd. Rv.

El Director


El Alumno

EXCLUSIVO COMISION DE TESIS

SINDICALES

FIRMA ENTENDIDO Y APROBADO

FECHA

SINDICALES	FIRMA ENTENDIDO Y APROBADO	FECHA

C. M.C. ARTURO OROZCO BAROCIO
 PRESIDENTE DEL COMITE DE TITULACION
 DE LA DIVISION DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y AMBIENTALES
 DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
 P R E S E N T E.

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de tesis que realizó el (la) pasante:

MADRIGAL VILLALOBOS MARTHA CECILIA con el título:
"IDENTIFICACION DE BACTERIAS PATOGENAS EN CULTIVO DE Jitomate"
 consideramos que ha quedado debidamente concluído, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorización de impresión y en su caso programación de fecha de exámenes de tesis y profesional respectivos.

Sin otro particular, agradecemos de antemano la atención que se sirva brindar a la presente y aprovechamos la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
 LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO, 23 DE ENERO DE 1998

EL DIRECTOR DE TESIS

Q.F.B. ROSA MA. DOMINGUEZ ARTAS
 NOMBRE Y FIRMA

EL ASESOR

DR. SERGIO AGUILAR BENAVIDES
 NOMBRE Y FIRMA

SINODALES

1.- DR. HUGO CASTAÑEDA VAZQUEZ
 NOMBRE COMPLETO

[Firma]
 FIRMA

2.- Q.F.B. MARGARITA BONILLA MORENO
 NOMBRE COMPLETO

[Firma]
 FIRMA

3.- DR. EDUARDO LOPEZ ALCOCER
 NOMBRE COMPLETO

[Firma]
 FIRMA