

EL CEDRO (*CEDRELA ODORATA*), NUEVO HOSPEDANTE DE *PSEUDOMONAS CICHORII*

Neyda Arencibia

Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera de Siboney Km 6, La Redonda,
Santiago de Cuba

RESUMEN

En plantas de cedro (*Cedrela odorata* Lin.), se observaron manchas pequeñas, color pardo oscuro, de forma angular y rodeadas de clorosis que se presentaban en gran número sobre las hojas de plantas de aproximadamente dos meses de edad. Finalmente se ponían totalmente amarillas. La patología descrita fue detectada en agosto de 1986 en el vivero forestal El Manguito, provincia de Santiago de Cuba. Como resultado del análisis realizado a las muestras, se aisló una bacteria cuyas características morfológicas, culturales, fisiológicas y bioquímicas la identifican como *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp. Estos aislamientos fueron sensibles a los antibióticos estreptomycin, tetraciclina y kanamicina. El trabajo constituye la primera información de esta especie bacteriana en cedro.

Palabras claves: *Cedrela odorata*, *Pseudomonas cichorii*

ABSTRACT

In cedar plants (*Cedrela odorata* Lin.), a lot of brown dark small spots, in angular shape and surrounded of chlorosis, were observed. They are over the leaves of plants of approximately two month. Finally they are turned totally yellow. Pathology described was detected in August 1986, in forest tree nursery El Manguito, Santiago de Cuba. As results of analysis realized to the samples, a bacterium whose morphological, cultural, physiological, biochemical characteristics identifies as *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp was isolated. These isolates were sensible to the antibiotics streptomycin, tetracycline and kanamycine. This is the first information of this bacterial specie in cedar.

Key words: *Cedrela odorata*, *Pseudomonas cichorii*

INTRODUCCIÓN

El cedro (*Cedrela odorata* Lin.) es considerado de gran valor económico, ya que su excelente madera es una de las más valiosas en el mercado maderero mundial [Hochmut, 1981]. Esta cualidad, unida a los esfuerzos que se realizan actualmente para la repoblación forestal en las montañas de Cuba, según la política orientada por el partido, hace que este cultivo adquiera gran importancia, por lo que se deben tomar medidas que ayuden al normal desarrollo y la calidad en las plantaciones. Una de las vías es lograr mantener las plantaciones sanas, por lo que es importante conocer las enfermedades que puedan afectarlas, para prevenirlas y erradicarlas. Al respecto, Hochmut (1981) y Echevarría (1986), señalan que el cedro puede ser afectado por plagas y enfermedades fúngicas. Sin embargo, no

se han encontrado referencias de daños causados por enfermedades bacterianas.

En agosto de 1986 se presentó en plantas de cedro una enfermedad desconocida hasta el momento en el país. Los síntomas consistían en manchas pequeñas, color pardo oscuro, de forma angular y rodeadas de clorosis, que se presentaban en gran número sobre las hojas de plantas de aproximadamente dos meses de edad. Finalmente, estas se ponían totalmente amarillas. La patología descrita fue detectada en el vivero forestal El Manguito, provincia de Santiago de Cuba.

El hecho de encontrarnos en presencia de un síntoma nuevo, cuyas características hacían suponer era de origen bacteriano, hizo que se emprendiera el estudio de la patología y determinación de su agente causal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar los aislamientos se utilizó agar nutriente. Estos se hicieron a partir de las zonas que mostraban los síntomas. Al cabo de las 48 horas se seleccionaron varias colonias, las cuales se pasaron al medio B de King *et al.* (1954).

Los cultivos bacterianos que produjeron pigmento fluorescente fueron infiltrados en hojas de tabaco variedad Burley, según la técnica descrita por Klement (1963). Se obtuvieron en total seis cepas que fueron capaces de inducir reacción hipersensitiva (HR) positiva. Todos estos aislamientos se caracterizaron morfológica y bioquímicamente mediante pruebas que se relacionan a continuación:

Tinción de Gram, modificación de Hucker (1957), citado por Harrigan y Mc Cance (1966), coloración de flagelos por la técnica de Rodees (1958), LOPAT según Lelliot *et al.* (1966). Diferenciación del metabolismo oxidativo-fermentativo de la glucosa, catalasa, amilasa, gelatinasa, lipasa, producción de sulfhídrico, producción de indol, acción sobre la leche tornasolada, nitrato-reductasa, acetoina, tartrato, citrato, rojo de metilo, según Harrigan y Mc Cance (1966) y Dye (1962).

Para la utilización de carbohidratos, se empleó el medio basal libre de peptona, según Dowson (1957). Los azúcares utilizados fueron glucosa, manitol, rhamnosa, dulcitol, lactosa y fructosa.

La patogenicidad de los aislamientos se efectuó en plantas de cedro, de aproximadamente dos meses de edad. Se asperjaron estas con una suspensión bacteriana de 10^8 UFC/mL, a partir de cultivos de 24 horas, sobre medio agar nutriente inclinado. Además, se inocularon estas cepas sobre plantas de pimiento (*Capiscum annuum* Lin.) variedad Medalla de Oro, con el mismo método de inoculación. Las plantas permanecieron en condiciones de laboratorio.

Se realizaron siembras a partir de los peciolos de las plantas de cedro que presentaban síntomas, para conocer si la bacteria afectaba los haces vasculares.

Para la prueba de aglutinación en portaobjetos se utilizaron cultivos puros de 24 horas [Kiraly *et al.*, 1970]. Se probó cada una de las cepas con antisuero de *P. cichorii* producido por el Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. La dilución del antisuero fue de 1:40.

La sensibilidad de los antibióticos se reveló en el medio B de King *et al.* (1954) por el método de los discos impregnados. Los antibióticos utilizados fueron estreptomycin, eritromicina, novobiocina, penicilina, tetraciclina, piopen y kanamicina.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontró que los aislamientos estudiados resultaron patógenos al cedro y al pimiento. En hojas de cedro se observaron manchas pequeñas, color pardo oscuro, de forma angular y rodeadas de clorosis. Con el transcurso de los días las hojas se pusieron totalmente amarillas. A las plantas afectadas se les eliminaron todas las ramas. No se observó en las hojas nuevas síntomas de enfermedad.

La bacteria sólo se realizó de síntomas en hojas, no así de los peciolos, donde no se manifestaron síntomas, lo cual demostró que la enfermedad no afecta los haces vasculares.

En las hojas de pimiento se observaron manchas acuosas, grasientas e irregulares que comenzaron por el borde, y se extendieron a toda la hoja, poniéndola transparente. La yema terminal se ablandó para, finalmente, colapsar.

Los aislamientos que resultaron patógenos se denominaron C210-1, C210-2, C210-3, C285-1, C285-2, C285-3, los que se aislaron en agosto de 1986 y son procedentes de la Empresa Forestal Integral Sierra Maestra, vivero El Manguito, Municipio de Songo La Maya.

Las células de las bacterias son bacilares, gramnegativas, motiles con uno o dos flagelos polares. En agar nutriente, a las 48 horas, se observaron colonias blancas, bordes enteros, redondeadas, ligeramente elevadas en el centro y algo concéntricas. Los resultados del LOPAT se reflejan en la *Tabla 1*.

Los datos sobre las pruebas bioquímicas se muestran en la *Tabla 2*. La prueba de aglutinación demostró que las cepas aglutinaban con el antisuero empleado. Los resultados del antibiograma se reflejan en la *Tabla 3*, donde se muestra la sensibilidad de los aislamientos a la estreptomycin, tetraciclina, kanamicina y resistencia a la penicilina, eritromicina, piopen y novobiocina.

Tabla 1. Resultados del LOPAT con los aislamientos del cedro

Levan	Oxidasa	Papa	Arginina	Tabaco (HR)
-	+	-	-	+

Tabla 2. Pruebas fisiológicas y bioquímicas de los aislamientos de cedro

Pruebas	Resultados
Metabolismo de la glucosa	O
Catalasa	+
Amilasa	-
Gelatinasa	-
Lipasa	-
Producción de:	
Sulfídrico	-
Indol	-
Acción sobre la leche tornasolada	Alc
Nitrato-reductasa	+
Acetoina	-
Tartrato	+
Citrato	+
Rojo de metilo	-
Ácido a partir de:	
Glucosa	+
Manitol	+
Rhamnosa	+
Dulcitol	+
Lactosa	+
Fructosa	+

O: Oxidativo.

+: Crecimiento y acción.

-: No acción sobre los sustratos.

Alc: Reacción de alcalinización.

Tabla 3. Sensibilidad de los antibióticos

Antibióticos	C210-1	C210-2	C210-3	C285-1	C285-2	C285-3
Penicilina 10 mcg	-	-	-	-	-	-
Estreptomina 10 mcg	++	++	++	++	++	++
Eritromicina 2 mcg	-	-	-	-	-	-
Tetraciclina	+	+	+	+	+	+
Piopen 10 mcg	-	-	-	-	-	-
Nivobiocina 5 mcg	-	-	-	-	-	-
Kanamicina 10 mcg	+	+	+	+	+	+

Grados de sensibilidad:

++: Germen sensible (Diámetro de la zona de inhibición superior a los 15 milímetros).

+: Germen ligeramente sensible (Diámetro de la zona de inhibición inferior a 15 milímetros).

-: Germen resistente (No hay zona de inhibición).

CONCLUSIONES

• Las características morfológicas, bioquímicas y fisiológicas de los aislamientos concuerdan con el subgrupo 1-H [Sands *et al.*, 1970] de *Pseudomonas fluorescens*, así como con los resultados informados por Lelliot *et al.* (1966), Misaghi y Grogan (1969), Trivedi *et al.* (1978) y Rivera *et al.* (1981). El agente etiológico se identificó como *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp.

• Se estableció una comparación teórica entre los resultados de las pruebas bioquímicas de los aislamientos y los obtenidos por Rivera *et al.* (1981) en el cultivo del pimiento, los que se muestran en la Tabla 4. Se observó entre estos una gran similitud.

• Esta bacteria ha causado síntomas sobre numerosos hospedantes, tales como gerbera [Grogan *et al.*, 1977], lechuga y achicoria [Wehlburg y Meller, 1976; Malta y Garibaldi, 1970; Grogan *et al.*, 1977], pimiento [Rivera *et al.*, 1981], tomate [Wilkie y Dye, 1973], beleño gitano [Sattar *et al.*, 1986 y col [Wehlburg, 1965; Trivedi *et al.*, 1978]; sin embargo no se ha encontrado en ninguna de las literaturas consultadas datos sobre infecciones naturales de este patógeno en plantaciones de cedro [Echevarría, 1986; Sattar *et al.*, 1986].

• Esta bacteria solamente se ha detectado en la provincia de Santiago de Cuba en agosto de 1986 [Brooks, 1999].

Tabla 4. Similitud entre las características bioquímicas de nuestras cepas y las de *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp aisladas del cultivo del pimiento

Pruebas	Aislamiento de cedro	Aislamiento de pimiento
Metabolismo de la glucosa	0	0
Catalasa	+	+
Amilasa	-	-
Gelatinasa	-	-
Lipasa	-	-
Producción de:		
Sulfídrico	-	-
Indol	-	-
Acción sobre la leche tornasolada	Alc	Alc
Nitrato-reductasa	+	+
Ácido a partir de:		
Glucosa	+	+
Manitol	+	+

Rhamnosa	+	+
Dulcitol	+	+
Lactosa	+	+
Fructosa	+	+
Pigmento sobre King B	+	+
Levan	-	-
Oxidasa	+	+
Papa	-	-
Arginina	-	-
Tabaco (HR)	+	+

O: Oxidativo.

+: Crecimiento y acción.

-: No acción sobre los sustratos.

Alc: Reacción de alcalinización.

REFERENCIAS

- Brooks, Agla: Comunicación personal, 1999.
- Dowson, D. W.: *Plant Disease Due to Bacteria*, Cambridge University Press, Cambridge, 1957, pp. 28-32.
- Dye, D. E.: «The Inadequacy of the Usual Determinative Test for the Identification of *Xanthomonas* spp.», *J. SCL.* 5: 393-416, 1962.
- Echevarría, E.: «Aspectos esenciales sobre barrenador de la madera *Apate monachus* (Coleoptera: Bostrychidae)», *Boletín de Reseñas Forestales*, 4, La Habana, 1986.
- Grogan, R. O. et al.: *Phytopathology* 67 (8): 957-960, Estados Unidos, 1977.
- Harrigan, W. F.; M. E. McCance: *Laboratory Methods in Microbiology*, Mass. Cambridge, Cambridge University Press, 1966.
- Hochmut, R.: «Métodos silviculturales para la protección de las Meliáceas contra el ataque del barrenador *Hypsipyla grandella*», *Boletín de Reseñas Forestales* no. 1, diciembre, CIDA, La Habana, pp. 7-15, 1981.
- King, E. O.; M. K. Ward; D. E. Raney: «Two Simple Media for the Demonstration of Pyocyanin and Fluorescin», *J. Lab. Clin. Med.* 44:301-307, 1954.
- Kiraly, Z. et al.: *Methods in Plant Pathology*, Akademiai Kiadó, Budapest, 1970, p. 49.
- Klement, Z.: «Rapid Detection of the Pathogenicity of Phytopathogenic», *Pseudomonads Nature* 199: 299-300, 1963.
- Lelliott, R. A.; E. Billing; A. C. Hayward: «A Determinate Scheme for the Fluorescent Plant Pathogenic *Pseudomonads*», *J. APPL. Bac.* 29: 470-489, 1966.
- Matta, A.; A. Garibaldi: «La batteriosi delle insalate de *Pseudomonas cichorii*», *Estratto de Informatore Fitopatológico*, 12: 3-5, 1970.
- Messiaen, C. M.; R. Lafen: *Les maladies des plantes maraicheres*, INRA, Paris, 1970.
- Misaghi, I.; R. O. Grogan: «Nutritional and Biochemical Comparisons of Plant-Pathogenic and Saprophytic Fluorescent *Pseudomonads*», *Phytopathology* 59: 1436-1450, 1969.
- Rhodes, M. C.: «The Cytology of *Pseudomonas* Spp. As Revealed by a Silver-Plating Staining Method», *J. Gen. Microbiol.* 18: 639-648, 1958.
- Rivera, Néida; Zenaida Amat; María Hevesi: «Putridión foliar del pimiento en Cuba causada por *Pseudomonas cichorii*», *Agrotecnia de Cuba*, 13 (2): 67-72, 1981.
- Roig, M. J. T.: *El cedro (Cedrela mexicana M. J. Roem). Estudio ecológico de las plantaciones existentes y recomendaciones para la propagación y el cultivo comercial*, pp. 5-49, 1964.
- Sands, D. C.; M. N. Schroth; D. C. Hildebrand: «Taxonomy of Phytopathogenic *Pseudomonads*», *J. Bact.* 101: 9-23, 1970.
- Sattar, A. K.; K. Janardhanan; A. Husain: «Bacterial Blight of Egyptian Henbane», *Plant Protection Bulletin* 3 (34): 161, 1986.
- Trivedi, B. B.; P. N. Patel; J. P. Verma: «Zonate Spot of Cabbage in India», *SCI. Cult.*, 44: 182-183, 1978.
- Wehlburg, C.: «Bacterial Spot of Cabbage in Florida», *Phytopathology* 55: 10082-1084, 1965.
- Wehlburg, C.; R. W. Meyer: «Bacterial Spot Rot of Iceberg (Crest Lark) Lettuce in the Florida Everglades», *Plant Dis. Rep.* 50: 1082-1084, 1966.
- Wilkie, J. P.; D. W. Dye: «*Pseudomonas cichorii* Causing Tomato and Celery Diseases in New Zealand», *N. Z. J. Agric. Res.* 17: 123-130, 1973.