

***Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, CAUSANTE DE LA PUDRICION  
BLANDA DEL PLATANO 'HARTON' (*Musa* AAB) EN VENEZUELA**

Luis R. Cedeño M.<sup>1,3</sup>, Beatriz M. Nieves M.<sup>2</sup> y Ernesto L. Palacios Prü<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Apdo. 220; <sup>2</sup> Laboratorio de Microbiología, Facultad de Farmacia, Apdo. 142 y <sup>3</sup> Centro de Microscopía Electrónica, Apdo. 163, respectivamente, Universidad de los Andes, Mérida 5101, Estado Mérida.

Recibido: 5 de Febrero de 1990

**RESUMEN**

Cedeño M., L. R., Nieves M., B. M. y Palacios Prü, E. L. 1990. *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* causante de la pudrición blanda del plátano 'Hartón' (*Musa* AAB) en Venezuela. Fitopatología Venezolana 3: 6-9

Por primera vez, se señala a *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* como el agente causal de la pudrición del pseudotallo del plátano 'Hartón' (*Musa* AAB), en la región al sur del Lago de Maracaibo. La bacteria es Gram negativa, anaeróbica facultativa, no desarrolla esporas, reduce la sacarosa, produce ácido a partir del  $\alpha$  - metil glucósido y sus células tienen forma cilíndrica con extremos redondeados, flagelación peritrica y dimensiones promedio de 1,75  $\mu$ m de largo y 0,70  $\mu$ m de diámetro. Inoculaciones realizadas en plantas y segmentos de pseudotallos sanos del mismo material, permitieron reproducir síntomas similares a los registrados en el campo. En rodajas de tubérculos de papas, el germen patógeno provocó el desarrollo de la pudrición blanda que característicamente producen las especies de bacterias pertenecientes al grupo "carotovora" del género *Erwinia*.

**ABSTRACT**

Cedeño M., L. R., Nieves M., B. M., and Palacios Prü, E. L. 1990. *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, soft-rot disease causal agent of 'Hartón' plantain (*Musa* AAB) in Venezuela. Fitopatología Venezolana 3: 6-9

*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* is reported for the first time as the causal agent of the soft-rot disease that affects 'Hartón' plantain stems (*Musa* AAB), in the zone located south of Maracaibo lake, Venezuela. This bacterium is a Gram negative, anaerobic facultative, non-spore forming, sucrose reductant and acid producer from  $\alpha$  - methyl glucoside. Its cells are rod-shaped with peritrichous flagella and average size of 0.70  $\mu$ m x 1.75  $\mu$ m. Inoculated plantain stems developed symptoms similar to those observed in the field. On potato tuber slices, *E. carotovora* subsp. *atroseptica* induced the soft-rot symptoms characteristically produced by bacteria included in the "carotovora" group of the genus *Erwinia*.

**INTRODUCCION**

El plátano 'Hartón' (*Musa* AAB), constituye el más valioso recurso económico del cual disponen los productores agrícolas que residen a lo largo de la cuenca del lago de Maracaibo (15). Desde 1986, en distintas localidades pertenecientes a los estados Mérida y Zulia, constantemente se han observado plantas de plátano 'Hartón' con síntomas típicos de una enfermedad del tipo pudrición blanda en los pseudotallos. Usualmente, la enfermedad se manifiesta como manchas oscuras de apariencia húmeda que, en condiciones de ambiente favorable, se agrandan rápidamente en todas las direcciones hasta circundar el pseudotallo. Los tejidos infectados aparecen macerados, muestran abundante acuosidad y emiten un fuerte olor fétido. El peso de los racimos y la acción del viento, facilitan el doblamiento de las plantas a nivel de los sitios de mayor afección. Las plantas que sufren infecciones severas producen frutos de escaso valor comercial.

Análisis preliminares señalaron como presunta causante de esta anomalía a una bacteria miembro de la familia Enterobacteriaceae. Posteriormente, se condujo una investigación con el propósito fundamental de conocer la identidad del patógeno incitante de la enfermedad anteriormente descrita.

**MATERIALES Y METODOS**

**Aislamiento.** El patógeno fue aislado de pseudotallos naturalmente contaminados. Pequeñas porciones de tejidos, cortadas de los márgenes de avance de las lesiones, fueron sumergidas por 5 min en una solución acuosa de hipoclorito de sodio 0,525%, lavadas en tres cambios de agua destilada estéril, secadas en papel filtro e inmediatamente sembradas en placas de papa-

dextrosa-agar (PDA) que se incubaron a temperatura ambiente. A fin de descartar la posible participación de algún otro agente de naturaleza fúngica, también se realizaron aislamientos en agar diluido al 1,5% en agua destilada estéril. Las colonias bacterianas que se desarrollaron en PDA, fueron subcultivadas a 35  $\pm$  1°C, en medios de agar-infusión de cerebro-corazón y agar de MacConkey, a fin de obtener los cultivos puros que se utilizarían en las pruebas de identificación y patogenicidad.

**Identificación.** Para identificar la bacteria, las cepas aisladas fueron sometidas a análisis de caracterización, tinción de Gram y comportamiento fisiológico y bioquímico, siguiendo las indicaciones especificadas en el Manual de Bergey (2) y en la Guía de Laboratorio para la Identificación de Bacterias Fitopatógenas (18). Las características y la condición flagelar fueron investigadas mediante la aplicación de la técnica de tinción negativa recopilada por Hayat (11) y el procedimiento de tinción flagelar publicado por Kodaka *et al.* (13).

**Patogenicidad.** En la prueba de evaluación de la acción patógena de la bacteria se utilizaron cuatro plantas sanas de plátano 'Hartón' de 3-4 meses de edad. En cada planta se inyectaron 3 ml de una suspensión bacterial ( $10^6$  -  $10^{10}$  células/ml), preparada con agua destilada estéril y cultivos crecidos durante 18 h, a 35  $\pm$  1°C, en caldo de infusión de cerebro - corazón. Después de aplicado el tratamiento, en el sitio de punción se colocaron piezas de algodón humedecido con agua destilada estéril, cubriéndose todo el sistema con envolturas plásticas transparentes e incubándose las plantas bajo condiciones de invernadero. Igualmente, se infectaron segmentos de pseudotallos de aproximadamente 15 cm de longitud, mediante la infiltración de la misma suspensión bacterial a través de heridas practicadas con un bisturí estéril. Los

segmentos así tratados se colocaron en cámaras húmedas, preparadas con bandejas plásticas de cierre hermético que fueron incubadas por 3 d en estufa a 30°C y más tarde transferidas a condiciones normales de laboratorio. Las plantas y los segmentos de pseudotallos utilizados como testigos sólo recibieron aplicación de solución salina estéril.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Todos los aislamientos practicados originaron colonias bacterianas y en ninguno se observó la presencia de hongos. La bacteria aislada presentó forma cilíndrica con extremos redondeados, dimensiones promedios de 1,75µm de largo y 0,70µm de diam, flagelación típicamente peritrica y no produce esporas (Fig. 1 B,C). Los resultados obtenidos en las distintas pruebas fisiológicas y bioquímicas, aparecen señaladas en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Comportamiento fisiológico y bioquímico de la bacteria aislada de plátano 'Hartón' afectado por la pudrición blanda del pseudotallo.

| Comportamiento frente al oxígeno | Anaerobio Facultativo |
|----------------------------------|-----------------------|
| Glucosa                          | Acido y gas           |
| Lactosa                          | Acido                 |
| α - Metil glucosido              | Acido                 |
| Indol                            | -                     |
| Catalasa                         | +                     |
| H <sub>2</sub> S                 | -                     |
| Ureasa                           | -                     |
| Lipasa                           | -                     |
| Pudrición de rodajas de papa     | +                     |
| Citrato como fuente de carbono   | +                     |
| Rojo de metilo                   | -                     |
| Coagulación de la leche          | +                     |
| Hidrólisis de la fenilalanina    | -                     |
| Hidrólisis de la gelatina        | +                     |
| Descarboxilación de lisina       | -                     |
| Lecitinasa                       | -                     |
| Sensibilidad a eritromicina      | -                     |
| Reducción de la sacarosa         | +                     |
| Reducción de los nitratos        | +                     |

Estos datos permitieron ubicar a la bacteria investigada en el género *Erwinia* (12). A finales de los años sesenta. Dye (3,4,5,6), dividió el género *Erwinia* en los grupos "amilovora", "carotovora", "herbícola" y "erwinias atípicas". Según Dye (4), las bacterias que conforman el grupo "carotovora" son variedades de la especie *E. carotovora* (Jones) Holland, a las cuales llamó *E. carotovora* var. *carotovora*, *E. carotovora* var. *atroseptica*, *E. carotovora* var. *chrysanthemii*, *E. carotovora* var. *rhapontici* y *E. carotovora* var. *cypripedii*. Sin embargo, en el Manual de Bergey (2), sólo se mencionan como variantes a *E. carotovora* var. *carotovora* y *E. carotovora* var. *atroseptica*. La designación oficial que actualmente se acepta para *E. carotovora* var. *atroseptica* es *E. carotovora* subsp. *atroseptica* (12).

En el grupo "carotovora" están incluidas las bacterias que ocasionan las enfermedades del tipo pudrición blanda en los tejidos carnosos y suculentos de un extenso rango de especies vegetales, siendo *E. carotovora* subsp. *carotovora* y *E. carotovora* subsp. *atroseptica* las principales causantes

de esta anomalía (10). El nombre vulgar de la enfermedad se deriva del reblandecimiento que presentan los tejidos infectados (1). Los daños suelen ocurrir en el propio campo, durante las distintas etapas de comercialización y muy particularmente en los sitios de almacenamiento (20,21). Fundamentalmente, las bacterias invaden los tejidos a través de heridas y se establecen en los espacios intercelulares, donde producen enzimas que provocan maceración (10). Las células pierden agua, se plasmolizan, colapsan y mueren (1). La diseminación de las bacterias es facilitada por los materiales contaminados, los insectos, los agricultores y los implementos utilizados en las labores agrícolas (7,21). Graham y Harrison (9), señalan que los aerosoles generados por las aguas de lluvia y los sistemas de riego por aspersión, contribuyen a diseminar las especies del género *Erwinia*. Por otra parte, Graham (8) y Logan (14), afirman que las bacterias que causan pudrición blanda no sobreviven bien en los suelos de las regiones de clima templado.

El patógeno que ocasiona la pudrición blanda del plátano 'Hartón' en el área al sur del lago de Maracaibo, fue identificado como *E. carotovora* subsp. *atroseptica*. Consistentemente, la bacteria produjo sustancias reductoras y ácido, a partir de la sacarosa y del α-metil glucósido, respectivamente. En Venezuela, la enfermedad se conoce desde 1970 cuando Ordosgoitty, Santos y Haddad (16), la descubrieron en las plantaciones de plátano al sur del lago de Maracaibo. Años más tarde, Ordosgoitty, Santos y Haddad (17), también la diagnosticaron en las regiones de Barlovento (Edo. Miranda) y Cariaco (Edo. Sucre) y señalaron como agente causal a una variante de la especie *E. carotovora*. En 1964, Victoria y Barros (19), propusieron a *E. carotovora* var. *paradisiaca* como la incitante de la pudrición blanda que ataca al plátano de la región occidental de Colombia. Según estos investigadores (19), las infecciones primarias se producen en los restos de pecíolos que permanecen adheridos a los pseudotallos después de realizado el corte de las hojas y desde allí la bacteria se propaga a los pecíolos sanos por contacto.

Las pruebas de patogenicidad permitieron corroborar que *E. carotovora* subsp. *atroseptica* es la causante de la enfermedad. A los 3 d siguientes a la inoculación, todas las plantas tratadas con la suspensión bacteriana, mostraron síntomas muy semejantes a los observados en el campo. En su fase inicial, el daño se manifiesta en la forma de pequeñas lesiones marrón oscuro que más tarde se agrandan y originan apreciables áreas necróticas de aspecto húmedo. Sin embargo, a causa de la ausencia de los racimos, ninguna planta sufrió doblamiento. En los segmentos de los pseudotallos inoculados e incubados en cámara húmeda, se originaron lesiones de color amarillo pálido, translúcidas y de apariencia húmeda, limitadas por un margen rojizo que más tarde adquiere una tonalidad castaño-oscuro (Fig. 1 A). Los tejidos dañados mostraron una consistencia blanda. Sin embargo, en ningún caso se apreció el olor nauseabundo que usualmente emana de los tejidos afectados por pudriciones blandas. Las rodajas de papas que se infectaron artificialmente, también desarrollaron el síntoma de pudrición blanda que caracteriza la acción destructora de las bacterias pertenecientes al grupo "carotovora" del género *Erwinia*.

Por primera vez en Venezuela se señala a la especie *E. carotovora* subsp. *atroseptica* como la bacteria incitante de la pudrición blanda que ataca los pseudotallos del plátano 'Hartón'.

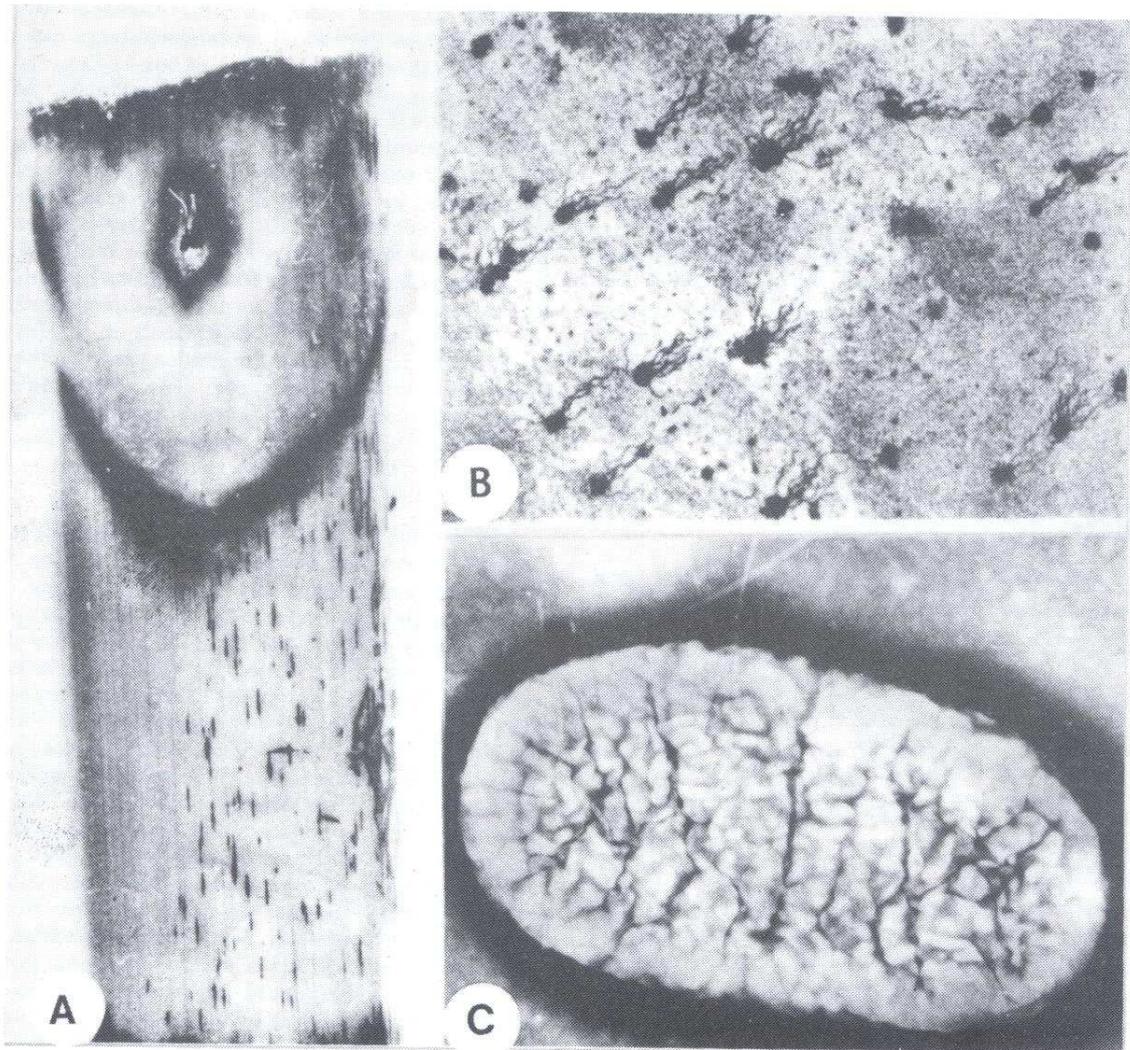


Fig. 1. *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. A) Síntomas típicos de la pudrición blanda causada por este patógeno, en segmento de pseudotallo de plátano "Hartón"; B) Condición flagelar peritrica de la bacteria, revelada mediante la tinción de Kodaka *et al.* (1972) x 562.5; C) Imagen al microscopio electrónico de transmisión en la cual se aprecian las características morfológicas de la especie x 52.500.

#### LITERATURA CITADA

1. Agrios, G.N. 1973. Plant Pathology. Academic Press, New York. pp. 364-361.
2. Buchanan, R.E. and Gibbons, E.E. (eds.) 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th. Ed. The Williams and Wilkins Co., Baltimore 1268 pp.
3. Dye, D.W. 1968. A taxonomic study of the genus *Erwinia*. I. The "amylovora" group. New Zealand Journal of Science 11: 590-607
4. Dye, D.W. 1969a. A taxonomic study of the genus *Erwinia* II. The "carotovora" group. New Zealand Journal of Science 12:81-97.
5. Dye, D.W. 1969b. A taxonomic study of the genus *Erwinia*. III. The "herbicola" group. New Zealand Journal of Science 12: 223-236.
6. Dye, D.W. 1969c. A taxonomic study of the genus *Erwinia*. IV. "Atypical erwinias." New Zealand Journal of Science 12: 833-839
7. Galli, F., Tokeshi, H., Torres de Carvalho, P., Balmer, E., Kimati, H., Nogueira Cardoso, C. y Lima Salgado, C. 1968. Doenças das Plantas e seu Control. Manual de Fitopatologia. Biblioteca Agronómica Ceres, Sao Paulo, Brasil. pp. 558-561.
8. Graham, D.C. 1958. Overwintering of soft rot bacteria in scottish soils. Nature (London) 181: 61.
9. Graham, D.C. and Harrison, M.D. 1975. Potential spread of *Erwinia* spp. in aerosols. Phytopathology 65: 739-741.
10. Harrison, M.D. and Nielsen, L.W. 1981. Diseases in the presence of infectious pathogens: bacteria. In: W.J. Hooker. (ed.). Compendium of potato diseases. pp. 23-29. American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
11. Hayat, M.A. 1972. Basic Electron Microscopy Techniques. Van Nostrand Reinhold Company, London. pp. 90-91.
12. Kelman, A. and Dickey, R.S. 1980. Soft rot or "carotovora" group. In: N.W. Schaad (ed.). Guide for Identification of plant Pathogenic Bacteria. pp. 31-35. Bacteriology Committee of American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
13. Kodaka, H., Armifeld, A.Y., Lombard, G.L. and Dowell, Jr., V.R. 1972. Practical procedure for demonstrating bacterial flagella. Journal of Clinical Microbiology 16: 948-952.
14. Logan, C. 1969. The survival of the potato blackleg pathogen overwinter. Record Agriculture Research Ministry Agriculture North Ireland 17: 115-121.
15. Nava, C. y Sosa, L. 1979. Producción de plátano en la cuenca del lago de Maracaibo. Agro-Técnico, Inst. de Investigaciones Agronómicas, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. 15 pp.
16. Ordosgoitty F., A., Santos P., R. y Haddad G., O. 1970. Peligrosa enfermedad afecta platanales del sur del lago de Maracaibo.

Desarrollo Integral 3: 32-33.

17. Ordosgoitty F., A., Santos P., R. y Haddad G., O. 1970. La pudrición acuosa del pseudotallo del plátano y su presencia en las regiones plataneras de Venezuela. *Agronomía Tropical*, 24: 247-258.
18. Schaad, N.W.(ed.) 1980. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Bacteriology Committee of American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. 72 pp.
19. Victoria, J.I. y Barros, O. 1969. Etiología de una nueva enfermedad del platano (*Musa paradisiaca* L.) en Colombia. *Revista Instituto Colombiano Agropecuario* 4: 173-190.
20. Walker, J.C. 1959. Enfermedades de las Hortalizas. A. Arnal Verderal (trad.). Salvat Editores, S.A. Barcelona, España. pp. 105-125.
21. Walker, J.D. 1965. Patología Vegetal. A. Aguirre Azpeitia (Trad.). Ediciones Omega, S.A., Barcelona, España. pp. 126-189.

8. Kilpatrick, R.A. and Johnson, H.W. 1956. Sporulation of *Cercospora* species on carrot leaf decoction agar. *Phytopathology* 46: 180-181.
9. Mulder, J.L. and Holliday, P. 1974. *Cercospora sorghi*. Description of pathogenic Fungi and Bacteria N° 419. *Commonw. Mycol. Inst. Kew, Surrey, England*. 2 pp.
10. Nagel, C.M. 1934. Conidial production in species of *Cercospora* in pure culture. *Phytopathology* 24: 1101-1110.
11. Salvador, D. y Garrido, M.J. 1988. Medios de Cultivo para la esporulación del hongo causante de la mancha en cadena del sorgo (*Sorghum bicolor*). *Fitopatol. Venez.* 1: 45 (Resumen).
12. Salvador, D. y Garrido, M.J. 1988. Patogenicidad del hongo causante de la mancha en cadena del sorgo. *Fitopatol. Venez.* 1:46 (Resumen).
13. Salvador, D. y Garrido, M.J. 1988. Técnicas para el aislamiento del hongo causante de la mancha en cadena del sorgo. *Fitopatol. Venez.* 1:46 (Resumen).
14. Smith, D.H. 1971. A simple method for producing *Cercospora arachidicola* conidial inoculum. *Phytopathology* 61: 1414.
15. Ulloa, M. y Hanlin, R.T. 1978. *Atlas de Micología Básica*. México, Concepto, S.A. 157 pp.
16. Vatakis, M.G. and Walters, H.J. 1979. Production of conidia by *Cercospora kikuchii* in culture. *Phytopathology* 69: 832-833.
17. Wall, G.C., Odvody, G.N., and Frederiksen, R.A. 1983. A field inoculation technique for *Cercospora sorghi* in sorghum. *Phytopathology* 73: 507.

## ***Nectria haematococca*, AGENTE CAUSAL DE LA MUERTE REPENTINA DE LA PARCHITA EN VENEZUELA**

**Luis R. Cedeño<sup>1,2</sup>, Ernesto L. Palacios Prü<sup>2</sup>, Nelson J. Márquez<sup>1</sup> y Manuel E. Tavira<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Apdo. 220 y <sup>2</sup>Centro de Microscopía Electrónica, Apdo. 163, respectivamente, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Estado Mérida.

Recibido: 11 de Junio de 1990

### **RESUMEN**

Cedeño, L.R., Palacios Prü, E.L., Márquez, N.J. y Tavira, M.E. 1990. *Nectria haematococca*, agente causal de la muerte repentina de la parchita en Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 3. 15-18

En Venezuela por primera vez se registra a la especie *Nectria haematococca* Berkeley & Broome, teleomorfo de *Fusarium solani* (Mart.) Appel & Wollenw. emmend. Snyder & Hansen, como agente causal de la enfermedad de muerte repentina que ataca a las plantas de parchita en la región al sur del lago de Maracaibo. Las plantas infectadas se marchitan y colapsan violentamente, a causa de la pronunciada descomposición que sufren las raíces y los tejidos que conforman la porción inferior del tallo. En los medios de cultivo de papa-dextrosa-agar y Czapek-Dow agar, el hongo produce colonias de notable coloración azul. Los peritecios se desarrollaron en la porción cortical basal de plantas naturalmente contaminadas, en placas de papa-zanahoria-agar iluminadas con luz fluorescente y sobre segmentos esteriles de pasto Bermuda (*Cynodon dactylon* Pers.), colocados en la superficie de colonias crecidas en medio de agua-agar. Las inoculaciones solo resultaron positivas cuando se realizaron a través de heridas, indicando que el hongo es un patógeno débil que requiere la existencia de lesiones predisponentes. En el campo, la región del cuello de las plantas enfermas frecuentemente se observó invadida por hormigas de los géneros *Solenopsis* y *Cromatogaster*; sin embargo, se desconoce la participación de las mismas en el desarrollo de la enfermedad.

Palabras claves adicionales: *Passiflora edulis* y *Fusarium solani*

### **ABSTRACT**

Cedeño, L.R., Palacios Prü, E.L., Márquez, N.J. and Tavira, M.E. 1990. *Nectria haematococca*, causal agent of the sudden death of passion fruit plants in Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 3. 15-18

The species *Nectria haematococca* Berkeley & Broome, teleomorph of *Fusarium solani* (Mart.) Appel & Wollenw. emmend. Snyder & Hansen, is recorded for the first time in Venezuela as the causal agent of the sudden death disease which attacks passion fruit plants in the region located south of Maracaibo lake. The infected plants suffer wilt and sudden collapse, caused by the pronounced decomposition of the roots and the tissues of the lower portion of the stem. In potato-dextrose-agar and Czapek-Dow agar culture media, the fungus produced noticeable blue-colored colonies. Perithecia were formed on the cortical basal portion of naturally contaminated plants, on potato-carrot- agar plates illuminated with fluorescent light and on segments of bermuda grass (*Cynodon dactylon* Pers.) placed on the surface of water-agar medium. Only those plants inoculated with the fungus by wounding were infected, indicating that species is a weak pathogen which requires the presence of predisposing lesions. Ants of the genera *Solenopsis* and *Cromatogaster* were frequently found in the field associated with the damaged plants, but it is unknown whether they play any role in the development of the disease.

Additional key words: *Passiflora edulis* and *Fusarium solani*

### **INTRODUCCION**

Durante 1989, en el Asentamiento Campesino Muyapá, localizado en el Distrito Justo Briceño del Estado Mérida, se notó la presencia de una enfermedad que ocasiona la muerte repentina de las plantas de parchita (*Passiflora edulis* Sims., Passifloraceae). Inspecciones realizadas en diferentes sitios de la región al sur del lago de Maracaibo, permitieron conocer que la enfermedad se encuentra ampliamente extendida y amenaza con hacer desaparecer las siembras de parchita existentes en el área. A causa de la descomposición que sufren en las raíces y en la porción inferior del tallo, las plantas afectadas se marchitan y colapsan violentamente (Fig. 1A). La corteza

de los órganos lesionados presenta abundantes grietas y se desprende sin mucha dificultad; mientras que los tejidos internos, excepto la médula, aparecen decolorados. Síntomas similares se detectaron en plantas de badea (*Passiflora quadrangularis* L.) cultivadas en sitios de la misma zona. En ambos cultivos se observaron peritecios de color rojo y de aspecto verrugoso. De los tejidos infectados frecuentemente se aisló una especie de *Fusarium* que en los medios de cultivo de papa-dextrosa-agar y Czapek-Dow agar produce una notable coloración azul.

La literatura señala a las especies de hongos *Fusarium*