

PODREDUMBRE ASOCIADA A INFECCIONES DE TSWV EN LECHUGA

Por: Francesc García e Inmaculada Folch*

INTRODUCCION

Desde la aparición y diagnóstico de los primeros brotes en Cataluña de TSWV (Tomato Spotted Wilt Virus) en octubre de 1989 (Cambrils-Baix Camp-) sobre tomateras, han ido sucediéndose las determinaciones en numerosas especies tanto en cultivos hortícolas, como ornamentales.

En todas ellas pueden aparecer un sínfin de síntomas bastante característicos para determinadas especies. Así por ejemplo, el bronceado típico que se observa en los foliolos de tomatera, se convierte en el pimiento, en dibujos más o menos geométricos, anillos y a veces necrosis apical en hojas, con deformaciones y anillado en los frutos. En rosal podemos observar unos síntomas similares a los producidos por fitotoxicidad, sobre todo con tratamientos hormonales o con herbicidas del tipo 2,4D. En éste se puede observar un aspecto deshilachado de los foliolos, con abigarramiento de los botones florales y yemas, brotación deficiente, clorosis y necrosis al cabo de poco tiempo del intento de brotación.

En lechuga, en cambio, se manifiesta como unas manchas necróticas bien definidas al principio más o menos circulares (hasta unos 10 mm de ϕ) preferentemente en las hojas más jóvenes. Las manchas, pueden llegar a confluir entre ellas produciendo una necrosis generalizada en toda la hoja. En casos avanzados o extremos, puede ir progresando hasta producir la muerte de la planta.

Paralelamente a los síntomas de TSWV, se ha venido observando con mucha frecuencia que algunas plantas presentaban una considerable podredumbre húmeda de tipo bacteriano. Esta podredumbre partía de la necrosis producida inicialmente por la virosis, progresaba basipetamente hasta alcanzar la parte central de la lechuga (cogollo) y llegaba incluso a invadir el tallo. Esta complicación agravaba aún más el problema de la infección vírica y, más aún, cuando la progresión de esta

afección se podía producir en post-cosecha, debido a que:

—La podredumbre puede afectar inicialmente a la parte más interna de la planta, por lo cual puede pasar desapercibida.

—La evolución en condiciones favorables (no excesivamente especiales) es muy rápida.

—Puede interesar a plantas sanas que estén en contacto con las afectadas.

En el presente trabajo se ha intentado identificar las especies bacterianas que puedan estar implicadas en este fenómeno de podredumbre, que acompaña en muchas ocasiones a las infecciones de TSWV.

MATERIAL Y METODOS

Para este seguimiento se utilizaron lechugas con síntomas de TSWV, con y sin podredumbre aparente. Ante el supuesto que podía intervenir en el proceso el sistema de riego empleado, se han separado en dos lotes: riego por aspersión y riego localizado al suelo.

Para la determinación del TSWV se utilizó el método serológico E.L.I.S.A., descrito por Clark y Adams (1977). Las microplacas de poliestireno fueron tapizadas con anticuerpos anti-TSWV e incubadas durante 3-4 horas a 37°C, seguidamente se incubaron con los extractos vegetales durante una noche a 4°C y finalmente el conjugado durante 3 horas a 37°C. Después de 1 hora tras la incorporación del sustrato, se lee la absorbancia a 405 nm.

El aislamiento de la flora bacteriana, se realizó mediante dilaceración y homogenización de la zona de avance de la necrosis, lavando previamente con agua corriente, desinfectando la superficie con sulfato de oxiquinoleína, aclarando con alcohol de 70° (dos veces) y finalmente agua destilada estéril. A continuación se realizó la siembra en medio King B por el sistema de agotamiento en placa. Se utilizó este medio porque nos permite determinar las *Pseudomonas* del grupo fluorescente.

De las diferentes colonias se realizaron los repicados pertinentes hasta compro-

bar su pureza y se determinó el Gram mediante la técnica del OHK 3%. Seguidamente se determinó la especie por el método M.I.S. (Microbial Identification System), que consiste en la identificación mediante los perfiles de ácidos grasos. Paralelamente las especies predominantes se mandaron al I.V.I.A. (Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias) para su confirmación.

Por otra parte se realizaron unas inoculaciones para observar el comportamiento de las diferentes cepas obtenidas.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Todas las lechugas seleccionadas con síntomas claros de TSWV resultaron positivas con el test E.L.I.S.A. Para relacionar los sistemas de riegos con las manifestaciones bacterianas causantes de la podredumbre se separaron en dos lotes con los resultados que refleja la tabla 1.

Como se puede observar, el riego por aspersión favorece indudablemente la colonización bacteriana de la zona necrosada; el 2% encontrado en el riego localizado no hace si no confirmar esta hipótesis, ya que corresponde a muestras recogidas tras una precipitación considerable. Por lo tanto podemos deducir que un factor importante es la acumulación de agua en el cogollo, bien sea suministrada mediante el riego o bien de la lluvia, que proporciona un buen caldo de cultivo para los microorganismos.

Las especies encontradas (tabla 2), no se pueden catalogar de patógenas, ya que no producen por ellas mismas ninguna enfermedad conocida, son pues consideradas saprofitas. La mayoría de especies pertenecen al género *Pseudomonas* del grupo *fluorescens* (aspecto confirmado por los análisis realizados por M.M. López del I.V.I.A.).

En inoculaciones de lechugas sanas con y sin humedad saturada, se ha podido constatar que las que permanecían en ambiente de poca humedad, no han presentado en ningún momento síntomas de evolución de podredumbre. En cambio en las que se mantuvieron con una humedad alta, presentaron un halo necrótico de no más de 15 mm de diámetro alrededor del

(*) Laboratorio de Diagnóstico. Servicio de Protección de los Vegetales. Generalitat de Cataluña.



Lechuga con síntomas de TSWV y de bacteriosis.



Lechuga en un avanzado estado de putrefacción.

punto de inoculación. Tras realizar un nuevo aislamiento se pudo recuperar las especies inoculadas (*Ps. aureofaciens* i *Ps. chlororaphis*).

No obstante, el poco desarrollo obtenido en la inoculación, podría indicar el indudable papel que ejerce la infección de TSWV como indicador de una necrosis, proporcionando un excelente caldo de cultivo para estas especies, que aunque no son «patógenas», sí son capaces de colonizar el tejido vegetal en presencia de agua, tanto si es proporcionada por el sistema de riego o por la lluvia, creando un microclima extremadamente húmedo en la parte interna de la planta.

La presencia de estas bacterias tanto en las plantas afectadas por TSWV y con podredumbre manifiesta, como en las plantas sin esta sintomatología, nos permite suponer que el inóculo bacteriano se encuentra presente espontáneamente en la planta y por lo tanto sobre las necrosis y solo cuando las condiciones ambientales lo permitan, colonizarán de forma masiva y destructiva el tejido vegetal.

Las especies aisladas en este seguimiento pueden no ser las únicas responsables de las alteraciones de putrefacción que sufren las lechugas con TSWV. Se

pueden observar también podredumbres debidas a *Sclerotinia*, *Rhizoctonia*, *Botrytis*, *Ps. cichorii*, *Erwinia*, etc., pero que no necesitan (generalmente) de otros agentes que inicien el proceso.

RESUMEN

En muchas ocasiones los fitopatólogos nos empeñamos en etiquetar a los organismos patógenos dándole categoría de primarios, secundarios, etc. y despreciando casi de forma sistemática a los organismos saprofitos. Muchas veces olvidamos que es un conjunto de factores los que intervienen en la manifestación de una enfermedad y en algunas de ellas son precisamente los organismos denominados saprofitos los que ocasionan los daños irremediables.

En el presente trabajo se asocia una podredumbre secundaria a una infección pri-

maria por TSWV. Este virus ocasiona por sí mismo una irremisible pérdida de la planta infectada, en este caso lechuga, ya que afecta justamente a los órganos comerciales de ésta, las hojas. Por otra parte una podredumbre adicional, parece que no tenga mayores consecuencias, a no ser por su gran capacidad de expansión entre plantas sanas que han estado en contacto con ellas. Un 10% de plantas no comercializables con TSWV, pueden convertirse en 85% si hay presencia de podredumbre bacteriana.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos sinceramente la colaboración de María Milagros López del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, en la determinación de las cepas aisladas.

| | TSWV + | |
|------------|---------------|---------------|
| | Podredumbre + | Podredumbre - |
| ASPERSION | 100 % | 0 % |
| LOCALIZADO | 2 % | 98 % |

TABLA 1: Porcentajes de lechugas afectadas de podredumbre (+) y no afectadas (-) en relación al sistema de riego empleado.

| | POD + | POD - |
|-------------------------|-------|-------|
| <i>Ps. aureofaciens</i> | ++++ | ++++ |
| <i>Ps. chlororaphis</i> | +++ | +++ |
| <i>Ps. marginalis</i> | + | - |
| <i>Bacillus sp.</i> | + | + |
| <i>Serratia spp.</i> | ++ | - |
| <i>Salmonella sp.</i> | + | - |

++++ : Presencia en la práctica totalidad de las muestras.
 +++ : Presencia en la mayoría de las muestras.
 ++ : Presencia en algunas muestras.
 + : Presencia puntual o esporádica.
 - : Presencia nula.

TABLA 2: Relación de especies bacterianas aisladas de muestras con síntomas de podredumbre (POD +) y sin síntomas (POD -).