

Conocer las bacterias patógenas en cebolla

Para la identificación es necesario aislar el microorganismo, comprobar su patogenicidad en tejido vegetal sano y determinar el nombre científico de la bacteria a través de su morfología y su secuenciación genética. Esta actividad se realiza en conjunto con la Cátedra de Fitopatología de la Universidad Nacional del Sur (UNS). El objetivo del reconocimiento es adoptar estrategias de manejo más integrales o específicas enfocadas en la disminución del riesgo de infección e incidencia de la enfermedad.

Introducción

La podredumbre bacteriana de la cebolla se considera un problema mundial, causando pérdidas en la calidad y comercialización. En estados iniciales, luego de la cosecha, el bulbo no muestra síntomas bien definidos, sólo un ablandamiento del tejido del cuello, y puede exudar líquido del mismo si el bulbo es presionado. Al realizar un corte longitudinal se observa una o pocas catáfilas carnosas afectadas, avanzando desde el cuello hacia la base mostrando un aspecto acuoso, cocido, color amarillo a pardo, sin infectar a catáfilas adyacentes (*Schwartz & Mohan, 1996*). En estados más avanzados se percibe un olor desagradable, fuerte, que se debe a la invasión de otras bacterias secundarias y el bulbo puede pudrirse totalmente (*Delhey et al, 2015*). Existen infecciones que no muestran síntomas en catáfilas externas, afectando únicamente al brote interno en donde se observa una pudrición blanda y acuosa de toda la zona central del bulbo sin invadir las catáfilas carnosas más externas (*Bishop & Davis, 1990*).

Se han identificado numerosas bacterias que tienen la capacidad de producir pudrición de cebolla durante el cultivo y postcosecha, en Argentina hasta el momento han sido ocho especies (*Delhey et al, 2019*). Es difícil determinar el agente etiológico únicamente por la sintomatología en los bulbos afectados ya que los síntomas difieren según la especie que infecte, incluso especies diferentes expresan síntomas similares. La identificación del agente causal es importante porque la epidemiología difiere entre agentes y, por lo tanto, las estrategias para su manejo también (*Zaid et al., 2012*) sobre todo en áreas que se compruebe el predominio de una especie, dónde podría estudiarse, por ejemplo, la existencia de microorganismos que destruyan la célula bacteriana. Hay evidencias que indican que las pudriciones son causadas por un complejo de bacterias que se encuentran habitualmente en el suelo, plantas y animales, usando cómo vehículo de dispersión el agua. En estos casos dónde actúan numerosas especies de bacterias bajo la influencia de varios factores, cómo el tipo de suelo, las condiciones climáticas, la calidad del agua de riego, etc., el manejo está dado por la adopción de estrategias más integrales enfocadas en la disminución del riesgo de infección.

En el campo se produce la infección, mientras que su manifestación es mayormente posterior a la cosecha, avanzando según las condiciones de humedad y temperaturas durante postcosecha y almacenaje (*Schroeder & Du Toit, 2010*).

Procedimiento

Para la identificación del agente causal es necesario aislar al patógeno del tejido afectado y lograr un cultivo puro del mismo. Posteriormente se realizan pruebas de patogenicidad inoculando la bacteria en bulbos sanos para observar si se manifiesta podredumbre del tejido inoculado.

Aislamiento: Se separan las catáfilas de bulbos comerciales que presentan síntomas de pudrición provenientes de lotes con alta incidencia de podredumbre bacteriana. A partir de ellas se realiza un macerado y se siembra diluciones en agua estéril del mismo en medio de cultivo específico OEM (Zaid *et al.*, 2012), King B y agar nutritivo. Utilizando la metodología de siembra en estría se procede a repicar y obtener cultivos puros de las bacterias aisladas. Como un primer criterio de selección se continúa trabajando con las bacterias Gram (-). Con las colonias puras que superaron la tinción de Gram se realiza luego el test de Patogenicidad. Para ello se realizan diluciones en agua destilada estéril de colonias de 24-48hs. Para determinar la concentración bacteriana a inocular se utiliza la escala de referencia de turbidez de McFarland en una concentración de valor 6 (Fig. 1). Se inoculan 5 μ l de en catáfilas carnosas de bulbos sanos y desinfectados superficialmente con alcohol etílico al 70%. (Fig. 2).



Figura 1. Concentración inoculada, valor 6 en escala de turbidez de McFarland.

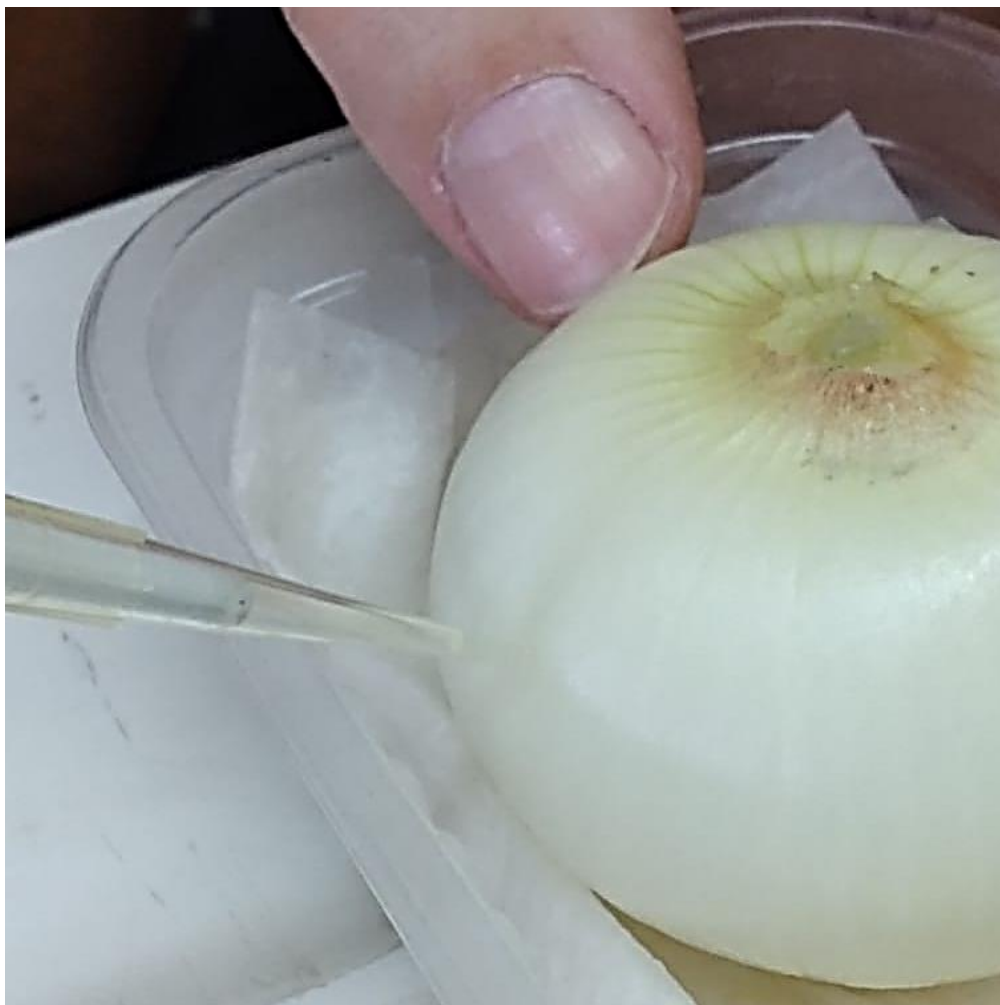


Figura 2. Inoculación en zona ecuatorial de bulbo sano.

Esta determinación se realiza generalmente por triplicado (Fig. 3) incubando los bulbos en cámara de cultivo (Modelo CCC420L – SECELEC-CCT-BB-CONICET) a 28°C en oscuridad (Fig. 4). Una cámara de este tipo se encuentra ubicada en la Cátedra de Fitopatología, Departamento de Agronomía, UNS. Las observaciones de síntomas y registros se realizan a partir del tercer día de inoculación, cada 24 horas durante 8 días.



Figura 3. Bulbos inoculados.



Figura 4. Incubación en cámara de cultivo

Perspectivas a futuro

La perspectiva a futuro es caracterizar molecularmente las bacterias que cumplan con los postulados de Koch, es decir, que produzcan síntomas en los bulbos inoculados (pudrición, cambio de color en el tejido, depresiones, etc.). Con los agentes etiológicos caracterizados se pretende estudiar la epidemiología y establecer estrategias de manejo que mitiguen el efecto de la enfermedad.



Referencias

- BISHOP A L & Davis R M. 1990. Internal decay of onions caused by *Enterobacter cloacae*. Plant Disease. 74: 692-694.
- DELHEY R, Kiehr M, Azpilicueta A, Frayssinet S. 2015. Diagnóstico y manejo de enfermedades de cebolla. 80p
- DELHEY R, Kiehr M, García Lorenzana U, Bellacomo C, Caracotche V, Frayssinet S, Zazzetta M, Sosa C & Kroneberger E. 2019. Podredumbres bacterianas de cebolla en Argentina. Situación actual y perspectivas a mediano plazo. Boletín de la Asociación Argentina de Fitopatólogos. ISSN: 2618-1932
- KIEHR M, Frayssinet S, Azpilicueta A, Kees E, Detzel MC, Zappacosta D & Delhey R. 2015. *Klebsiella oxytoca*, *Rahnella aquatilis* y *Pantoea sp.*: nuevas bacterias que causan podredumbre blanda en cebolla, en el Valle Bonaerense del Río Colorado. 38 Congreso Argentino de Horticultura. Bahía Blanca
- SCHROEDER BK & Du Toit L. 2010. Effects of postharvest onion curing parameters on *Enterobacter* bulb decay in storage. Plant Disease 94:1425-1430.
- SCHROEDER BK, Du Toit L & Schwartz H F. 2009. First Report of *Enterobacter cloacae* causing onion bulb rot in the Columbia basin of Washington State. Plant Disease. 93:323
- SCHWARTZ H, Krishna M. 1996. *Compendium of Onion and Garlic Diseases*. APS PRESS 54p
- ZOID A, Bonasera JM & Beer SV. 2012. OEM - A new medium for rapid isolation of onion-pathogenic and onion-associated bacteria. Journal of Microbiological Methods 91:520-526.