

Flora bacteriana asociada a cultivos de jitomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) en el Estado de Puebla, México

Rocío Pérez Y Terrón

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

rociperez33@hotmail.com

Jesús Muñoz Rojas

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Jesús Rafael Herrera Huesca

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Resumen

El jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) pertenece a la familia *Solanaceae*, es una hortaliza cultivada normalmente como anual. Su importancia en México radica en la gran cantidad de hectáreas sembradas anualmente y su alto consumo. A nivel mundial, México cuenta con el décimo lugar en producción de jitomate (2010) siendo Sinaloa y Baja California sus principales productores.

Este trabajo se describe la flora bacteriana del Estado de Puebla, México, asociada a cultivos de jitomate bajo condiciones de invernadero, colectado de 4 localidades: Izúcar de Matamoros, Tecali de Herrera, Tehuacán y Tecamachalco. Se extrajeron, aislaron y caracterizaron un total de 69 cepas bacterianas a partir de suelo, hojas y frutos de jitomate, utilizando pruebas fenotípicas bioquímicas y galerías API20E y API20NE de Biomerieux, identificándose 17 especies bacterianas diferentes. Las más frecuentes fueron

Burkholderia cepacia, *Burkholderia gladioli*, *Pasteurella pneumotropica*, *Chryseobacterium indologenes* y *Pseudomonas luteola*. Ninguna ha sido reportada como patógena. Dos cepas pertenecen al género *Pantoea*, que no se había reportado como especie asociada a jitomate, como sucedió con la especie *P. ananatis* que reportamos como patógeno de maíz. El análisis de la composición del suelo no mostró relación con las cepas presentes en los cultivos.

Palabras clave: Jitomate, patógeno, fenotipo/ *Tomato, pathogenic, phenotype*

Introducción

1.

El jitomate pertenece a la familia *Solanaceae* y su nombre científico habitual es *Lycopersicum esculentum*, Mill aunque modernamente se tiende hacia la denominación *Lycopersicon lycopersicum*, es una hortaliza cultivada normalmente como anual, pero cuya duración vegetativa en condiciones climáticas favorables puede prolongarse varios años, su importancia en México radica en la gran cantidad de hectáreas que son sembradas anualmente y su alto consumo (Ramos *et al*, 2006).

La planta posee un sistema radicular amplio, constituido por una raíz principal que puede alcanzar hasta 50-60 cm de profundidad, provista de una gran cantidad de ramificaciones secundarias y reforzadas por la presencia de un gran número de raíces adventicias surgidas desde las bases de los tallos. El tallo del tomate es anguloso, recubierto en toda su longitud de pelos perfectamente visibles, muchos de los cuales, al ser de naturaleza glandular, le confieren a la planta un olor característico. En un principio el porte del tallo es erguido, hasta que llega un momento en que por simples razones de peso rastrea sobre el suelo (Cih *et al*, 2011).

Las hojas se disponen sobre los tallos alternadamente, y son compuestas e imparipinnadas, constituidas generalmente por 7-9 foliolos lobulados o dentados, pudiendo aparecer en el raquis de la hoja pequeños foliolillos. De la misma manera que el tallo, están recubiertas de pelos glandulares que confieren, un olor característico a la planta de tomate (Terry *et al*, 2005). La floración del tomate se produce en forma de racimos simples o ramificados (distintos tipos de climas) en diferentes pisos o estratos, siendo lo normal que cada inflorescencia pueda haber entre 3-10 flores, aunque en ocasiones puede llegar hasta 50 (Cih *et al*, 2011).

El fruto del tomate es una baya globosa o piriforme de color generalmente rojo en la maduración, aunque algunas variedades pueden presentar otras coloraciones, como amarillo, violeta, etc. La superficie de la baya puede ser lisa o acostillada y en su interior se delimitan claramente los glóbulos carpelares, que pueden variar entre 2 y 30. La placentación puede o no ser regular, el diámetro de los frutos varía entre 3 y 16 cm, para clasificar los frutos de acuerdo a su calidad, es necesario tomar en cuenta las siguientes características: firmeza del fruto, limpieza del fruto, uniformidad en madurez y tamaño, forma de los frutos y sanidad, una planta con algún deterioro bacteriano produciría frutos deformes o que no cumplan con estas características (Santiago *et al*, 1998).

Las semillas son grisáceas, de tamaño pequeño, discoidal y recubierto por vellosidades. En 1 g puede haber hasta 350 semillas y su capacidad germinativa dura cuatro o cinco años, en la tabla 1 se muestra la composición nutritiva del jitomate (Ramos *et al*, 2006).

Tabla 1. Porcentaje de la composición nutritiva del jitomate en 100 g del producto comestible.

Agua	94	%
Hidratos de carbono	4	g
Grasas	-	-
Proteínas	1	g
Cenizas	0,3	g
Otros (ácidos, licopeno, etc.)	0,7	g
Vitamina A	1.700	UI
Vitamina B1	0,10	mg
Vitamina B2	0.02	mg
Niacina	0,60	mg
Vitamina C	21	mg
pH	4-4,5	mg
Calcio	13	mg
Fosforo	27	mg
Hierro	0,5	mg
Sodio	3	mg
Potasio	244	mg
Valor energético	22-24	Cal.

El tomate es una planta propia de climas cálidos requiere entre 15 y 30 °C y siendo su ciclo natural de cultivo entre la primavera y verano, (Santiago *et al*, 1998).

Para conseguir un desarrollo óptimo, el jitomate necesita cierto, siendo importante la temperatura nocturna, sobre todo durante la fructificación. La humedad relativa del aire requerida es de 55-60%. (Cih *et al*, 2011) Las variedades nativas de jitomate en México, presentan una amplia diversificación morfológica y un alto grado de adaptación que permiten encontrar en los cultivares locales y regionales, características bien definidas (Moreno, 2010).

1.1.1 A nivel mundial, México cuenta con el décimo lugar en producción de jitomate (tomate rojo), en el año 2010 la siembra se realizó en una superficie total de 54,510.59 hectáreas, obteniendo una superficie cosechada de 52,088.59 hectáreas (43.73 toneladas por hectárea). Durante 2010 en el Estado de Puebla, la producción de este fruto se realizó en una superficie sembrada total de 855 hectáreas, cosechando 843 hectáreas, dando una producción de 29, 953 toneladas (SIAP, 2010).

1.1.2

Existen innumerables problemas que afectan la explotación del tomate, reportándose como importantes los causados por insectos y enfermedades. Entre las enfermedades más comunes está la “dormidera” o marchitez del jitomate causada por *Ralstonia solanaceae* (García *et al*, 1999) la cual representa un riesgo potencial como factor limitante de la producción del cultivo. La importancia de esta bacteria se ha dado ya que ha causado pérdidas de un 29% en la producción de frutos frescos (Quezada *et al*, 2008). Además esta bacteria causa podredumbre y marchitez no solo en las Solanáceas cultivadas sino también en plantas de más de cincuenta familias, por la gravedad que causa a los cultivos está considerado en la Unión Europea como organismo de cuarentena, ya que se trata de una de las bacterias más adaptadas para sobrevivir en diferentes hábitats, además de plantas esta bacteria puede sobrevivir en suelo y en corrientes de agua durante largos periodos, siendo una de las bacterias más peligrosas para la agricultura (Gómez *et al*, 2005).

Xanthomonas camprestris es otra de las bacterias que atacan a los cultivos de jitomate, síntoma conocido como mancha bacteriana, es un bacilo móvil con un solo flagelo polar, la sintomatología por esta bacteria se nota principalmente en las hojas, esta se demuestra como manchas de casi 3 mm de diámetro, irregulares y de color gris púrpura, que presentan un halo amarillo estrecho con la parte central de color negro (Carrillo *et al*, 2001a). Cuando son numerosas estas manchas, se produce defoliación o hacen que las hojas queden rasgadas. Las manchas producidas por las nervaduras son a veces angulares mientras que aquellas no restringidas tienden a ser redondas; el haz de las hojas, estas manchas con frecuencia son hundidas. Tanto en condiciones de invernadero como en campo en los cultivos de tomate y chile dañan hojas, peciolo, tallos y frutos, también se manifiesta como efecto de la enfermedad la disminución de la producción, así como de la calidad de los frutos (Carrillo *et al*, 2001b).

Clavibacter michiganensis es el agente responsable del chancro bacteriano del tomate, enfermedad sistémica que produce marchitez y muerte en plantas de jitomate, es la principal bacteriosis a nivel mundial de este cultivo, y está considerado en la Unión Europea como organismo de cuarentena (Tejeda, 2006). Este patógeno había sido identificado esporádicamente en distintas zonas en España desde 1978. *C. michiganensis* es un bacilo pleomórfico, no tiene flagelos, gram positivo, aeróbico, sin capsula (Schaad *et al*, 1999). Cuando se muestran síntomas en plántulas estas se achaparran y los tejidos vasculares adquieren una coloración crema amarillado o café, y las lesiones en los tallos se hacen visibles (Velásquez y Medina, 2005).

Pseudomonas syringae es una bacteria aerobia en forma de bastón cuyas células presentan flagelos polares y son gram negativas. Esta bacteria en plantas de jitomate puede causar lesiones en las hojas, pedúnculos, pedicelos, tallos, sépalos y frutos; en los folíolos causa lesiones redondas a ovales o elongadas de color negro o café, los frutos inmaduros son los afectados con esta bacteria, ya que su pH ácido es óptimo para el

desarrollo de las colonias, los frutos severamente afectados son de poca aceptación por el mercado en fresco y su calidad para uso industrial se reduce ya que las lesiones también permanecen adheridas a la piel del fruto (Velásquez y Medina, 2005).

Por lo anterior nuestro objetivo fue describir la flora bacteriana asociada a cultivos de jitomate en invernaderos del Estado de Puebla. Para ello se obtuvieron muestras de suelo, hoja y fruto de plantas de jitomate en producción del Estado de Puebla e identificar las cepas bacterianas presentes mediante pruebas bioquímicas y de identificación preliminar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un muestreo en las principales áreas productoras de tomate en el Estado de Puebla según datos preliminares, se eligió las 3 principales zonas productoras del Estado de Puebla, los Municipios: Izúcar de Matamoros (paralelos 18° 22' 06" - 18° 42' 18" latitud norte, y 98° 19' 18" - 99° 33' 2" longitud oeste con una altitud de 1,280 msnm.). Tecamachalco (paralelos 18° 22' 06"-18° 36' 12" latitud_norte y los meridianos 97° 15' 24"-97° 37' 24" longitud oeste con una altitud de 2.220 msnm.) y Tehuacán (paralelos 18° 47' 06"-18° 57' 06" latitud_norte, y los meridianos 98° 47' 06"-99° 57' 06" longitud oeste con una altitud de 1,633 msnm) así como una zona más que fue el Municipio de Tecali de Herrera solo por la cercanía con la capital (paralelos 18° 48' 24"-18° 57' 54" latitud_norte 98° 48' 24"-99° 57' 54" longitud oeste a una altitud de 2.220 msnm.), por su cercanía con la capital de Puebla, las coordenadas geográficas fueron tomadas con GPS y estos datos verificados en INEGI.

La primera etapa se basó de la obtención de las cepas bacterianas a partir de las muestras que se colectaron en campo; suelo, hoja y fruto, también incluye su preservación para posteriores trabajos.

El método de colecta fue dirigido, y el tipo de estudio fue longitudinal, tomando como referencia para muestrear, 5 plantas sintomáticas (marchitez, muerte foliar o cambio en la coloración) de diferentes partes del invernadero, también se tomó una muestra de suelo (150 gramos) y de la planta seleccionada se colectaron dos frutos previos a madurar y hojas (figura 1).



Figura 1. Colecta de muestras de suelo, hoja y fruto. Transporte en bolsas de polipapel.

Los frutos y hojas se lavaron con agua estéril durante 1 minuto posteriormente se desinfectaron colocándolos en vasos de precipitado de 500 ml hasta cubrir la muestra con solución de hipoclorito al 3% esto con la finalidad de desinfectar y evitar el crecimiento de hongos contaminantes, después de la desinfección, las muestras se enjuagaron 3 veces con agua destilada estéril (en zona estéril). Se pesó 1 gramo de fruto, hoja y suelo, posteriormente en un mortero (estéril) a cada gramo de muestra se le agregó 1 mililitro de agua destilada estéril, y se trituró hasta obtener una solución homogénea.

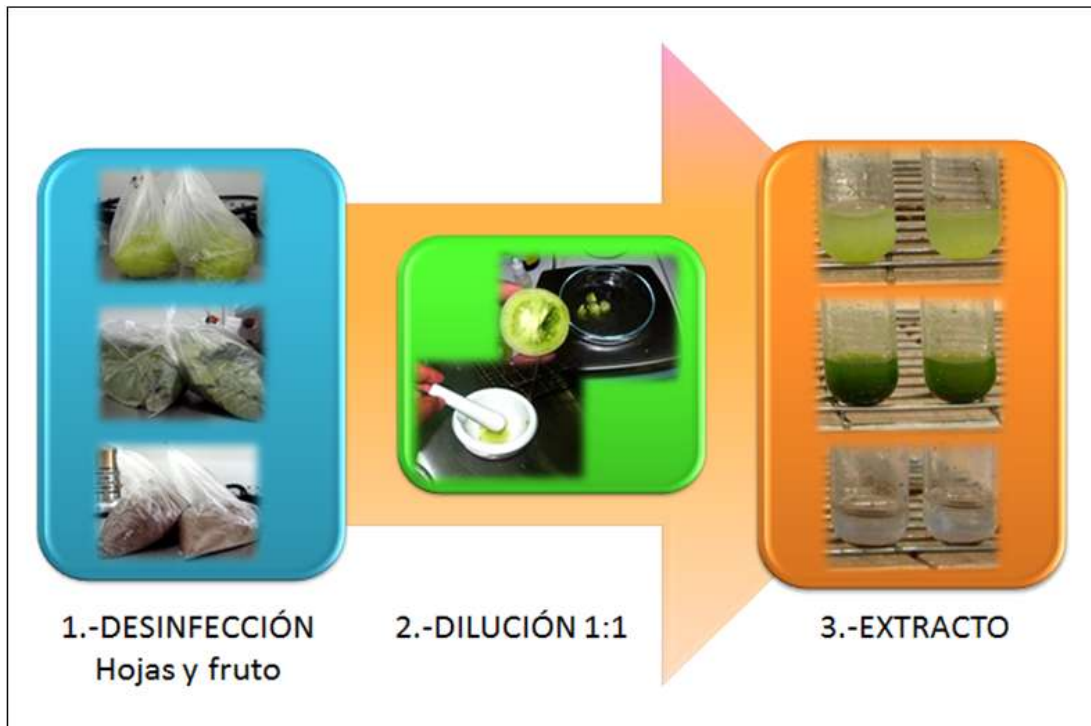


Figura 2. Obtención de extractos para cultivo de cepas bacterianas. 1.- Desinfección de muestras (solo hoja y fruto) 2.- Dilución 1:1 en agua destilada y trituración de las muestras 3.- Extracto listo para sembrar.

Aislamiento

Una vez obtenidos los extractos de suelo, hoja y fruto, se sembró en medio de Luria. La siembra se realizó estriando el medio Bertany (LB), con la carga de muestra en el asa bacteriológica y se dejó en crecimiento durante 24 horas, una vez que transcurrió ese tiempo se observó crecimiento de las primeras colonias, de cada colonia con morfología diferente se tomó una muestra con asa bacteriológica recta y se sembró nuevamente en medio LB sólido para obtener cepas aisladas (se repitió el proceso hasta obtener cepas visiblemente puras), se procedió a su crio-preservación con el método de enfriamiento y protegidas por glicerol para quedar disponibles para posteriores análisis.

Se realizaron técnicas para identificación bacteriana, desde pruebas de morfología microscópica (tinción de gram) pruebas en cultivos selectivos y diferenciales (pruebas bioquímicas) y de identificación preliminar (sistema de galerías API 20E y API20NE).

Las pruebas bioquímicas realizadas fueron las siguientes a menos que se requiriera una prueba adicional para corroborar especie: Medio MIO, Agar citrato de Simmons, Agar LIA (Agar hierro-lisina), Agar TSI (Hierro y triple azúcar), Prueba de Oxidación-Fermentación, Agar MacConkey, Chromagar orientador, Prueba de oxidasa, Prueba de Catalasa. En todas las pruebas bioquímicas se siguieron los procedimientos y técnicas del fabricante.

Para la identificación de cepas bacterianas se utilizó el sistema de galerías API20E y API20NE de la marca Biomeriux, útil para identificar bacterias entéricas y no entéricas, es entre los sistemas de identificación más rápidos, el más conocido. Posee un gran número de pruebas bioquímicas, las cuales se presentan como sustratos liofilizados en una galería de pozos y se requiere sólo de un inóculo estandarizado a partir de cultivos puros y frescos, y un tiempo de incubación posterior que depende de la galería de pruebas que se haya escogido. La identificación se realiza partiendo de un sistema de códigos que se introducen en una computadora cargada con un software específico y que identifica la bacteria mediante un banco de datos (Velazco *et al*, 2008).

Galerías API20E

Para llevar a cabo la prueba api20E primero se llenó los espacios de la cámara de incubación con agua destilada estéril, posteriormente se colocó dentro la galería API20E.

La inoculación de las galerías API20E se realizó directamente con bacterias creciendo en medio LB cultivadas de 24 horas, en cada microtubo se colocaron 130 microlitros del cultivo desde ONPG hasta NO₃ con una micropipeta cuidando la formación de burbujas en el fondo de los microtubos colocando ligeramente de manera vertical la cámara de incubación hacia adelante, una vez todos con la muestra depositada los microtubos CIT, VP y GEL, se llenan hasta la cúpula con el cultivo bacteriano, mientras que ADH, LDC, ODC,

H₂S, URE se llenaron con glicerina líquida para crear ambiente de anaerobiosis, se cerró la cámara de incubación y se dejó en una incubadora a 36°C durante 18 a 24 horas.

La lectura de la galería después de la incubación debe hacerse remitiéndose a la tabla de lectura adicionada, en caso de que 3 o más ensayos resultaran positivos, se anotó en la hoja de resultados todas las reacciones espontáneas y después se revelaron los ensayos que necesitaron adición de reactivos, tal y como indica el manual de procedimiento de Biomeriux.

Galerías API20NE

Para llevar a cabo la prueba API20NE primero se llenó los espacios de la cámara de incubación con agua destilada estéril, posteriormente se colocó dentro la galería API20NE. La inoculación de las galerías API20NE se realizó directamente con bacterias creciendo en medio LB cultivadas de 24 horas, cada microtubo se colocaron 130 microlitros del cultivo desde NO₃ hasta PNPG con una micropipeta cuidando la formación de burbujas en el fondo de los microtubos colocando ligeramente de manera vertical la cámara de incubación hacia adelante, una vez todos con la muestra depositada los microtubos se abre una ampolla de API AUX médium y se transfirió unos 200 microlitros de la suspensión procedente y se homogeneizó evitando la formación de burbujas, con esta solución se relleno hasta la cúpula los microtubos desde GLU hasta PAC teniendo cuidado de que se cree un menisco horizontal ligeramente convexo pero jamás cóncavo. Por último se llenó con glicerina líquida hasta la cúpula los microtubos GLU, ADH y URE para crear ambiente de anaerobiosis, se cerró la cámara de incubación y se dejó en una incubadora a 29°C durante 24 horas.

Ya con anterioridad se habían realizado las pruebas de oxidasa, movilidad, indol, McConkey y prueba de Oxidación y Fermentación para el llenado completo de la hoja de datos, la interpretación de datos, se obtiene un perfil numérico, en la hoja de resultados los test están separados en grupos de 3 y se asigna para cada uno un valor. Sumando en el

interior de cada grupo los números que corresponden a reacciones positivas, se obtienen 9 cifras para API20E y 7 cifras para API20NE.

La identificación se realizó mediante el software numérico de la base de datos de Biomeriux desde la página del fabricante y proveedor en www.apiweb.com

RESULTADOS

Se aislaron un total de 69 cepas, de las cuales 24 pertenecen a Izúcar de Matamoros, 5 a la localidad de Tecali de Herrera, 20 son de Tehuacán y 20 se aislaron de Tecamachalco, de las cuales se identificaron 17 géneros bacterianos diferentes.

Izúcar de Matamoros

Para la localidad de Izúcar de Matamoros se obtuvo el mayor número de cepas aisladas en las cuatro zonas en que se muestrearon dando un total de 24 cepas bacterianas, de las cuales 5 cepas corresponden de fruto (17%), 11 cepas de hoja (46%) y 9 cepas (37%) se aislaron de suelo. Se identificaron 8 géneros, en hoja corresponden a los géneros *Pantoea spp* 3 (1), *Burkholderia cepacia* (4), *Burkholderia gladioli* (1), *Psychrobacter phenylpyruvicus* (1) y 4 cepas no identificadas, de suelo se obtuvieron los géneros *Burkholderia cepacia* (3), *Chryseobacterium meningosepticum* (1), *Pasteurella pneumotropica* (2), *Burkholderia gladioli* (1), *Pseudomonas luteola* (1) y una cepa no se logró identificar, por ultimo para las muestras de fruto se identificaron los géneros *Pasteurella trehalosi* (1), *Pasteurella pneumotropica* (1) *Burkholderia gladioli* (1) y una cepa no se identificó (figura 3).

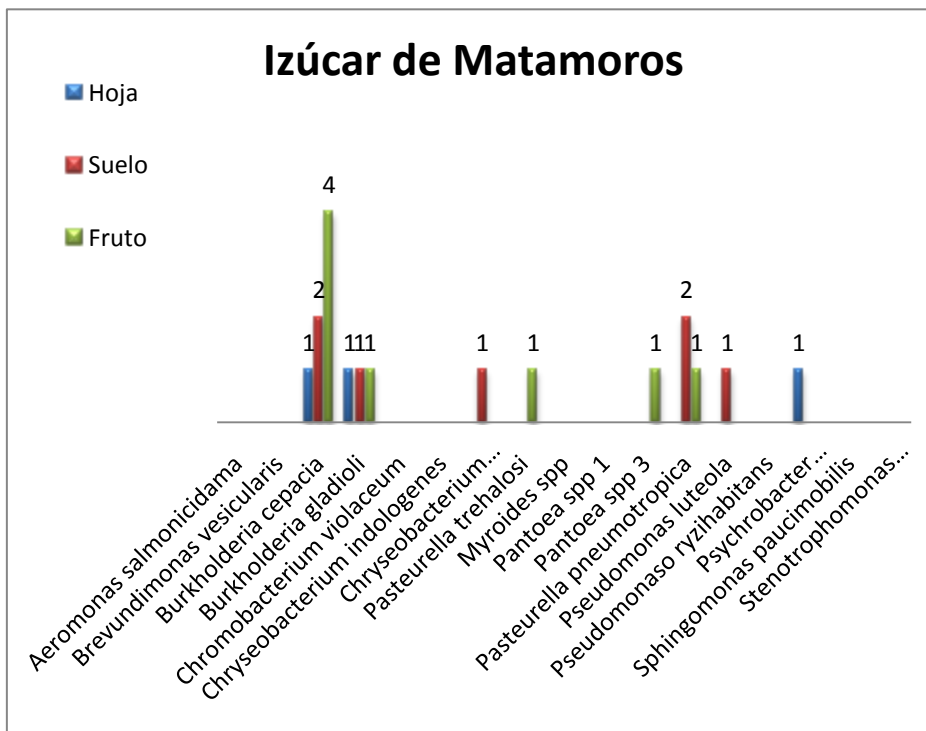


Figura 3. Cepas aisladas e identificadas del municipio de Izúcar de Matamoros

Tecali de Herrera

En localidad de Tecali de Herrera se obtuvo el número más bajo de aislamientos bacterianos, solo se aislaron 5 cepas de las cuales 1 corresponde a hoja (20%) y las 4 restantes a suelo (80%) de esta localidad no se obtuvieron cepas bacterianas a partir de fruto. Se identificaron un total de 3 cepas, en hoja corresponden a los géneros *Burkholderia cepacia* (1) y en suelo los géneros *Chryseobacterium indologenes* (1), *Pasteurella pneumotropica/ Mannheimia haemolytica* (1) para fruto no se aislaron cepas bacterianas y de 2 no lograron identificarse (figura 4).

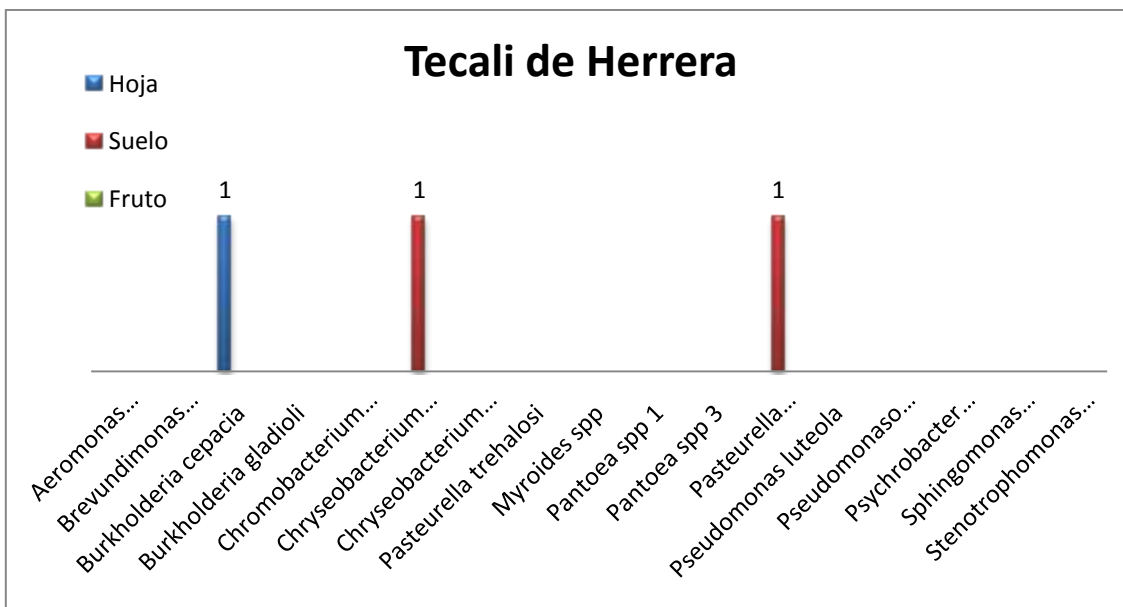
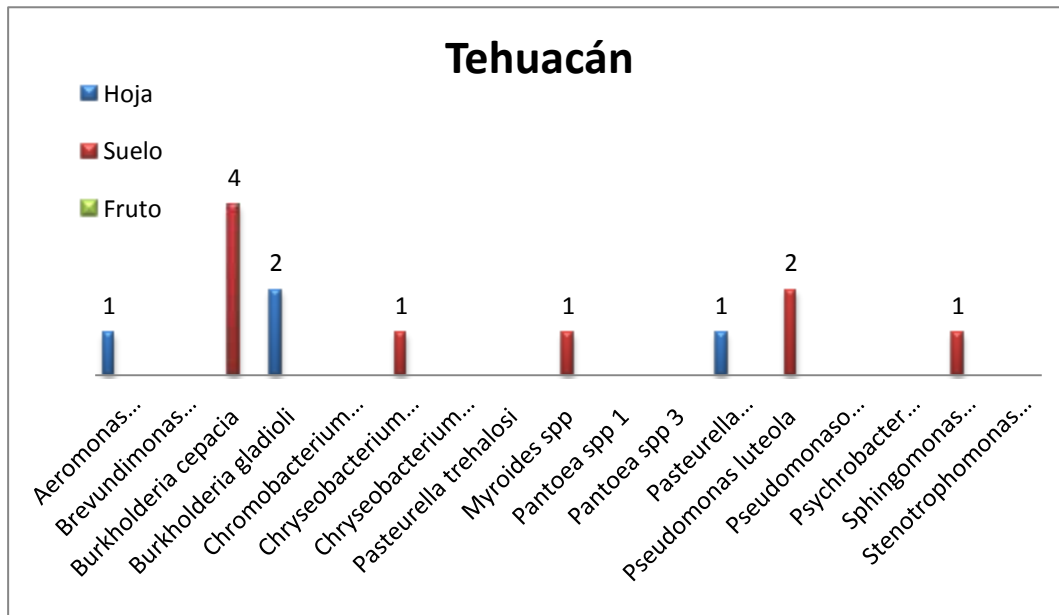


Figura 4. Cepas aisladas e identificadas del municipio de Tecali de Herrera

Tehuacán

Para Tehuacán se aislaron un total de 20 cepas de bacterias, en esta comunidad no se obtuvieron cepas de fruto, sino 5 cepas de las muestras de hoja (25%), 15 cepas se aislaron de suelo (75%); de esta localidad no se obtuvieron cepas bacterianas de fruto. (Figura 5). Se identificaron un total de 7 géneros, en hoja se obtuvieron los géneros *Aeromonas salmonicida* (1), *Pasteurella pneumotropica* (1), y 3 cepas no se identificaron, para las muestras de suelo se identificó *Burkholderia cepacia* (4), *Burkholderia gladioli* (2), *Myroides spp* (1), *Pseudomonas luteola* (2), *Sphingomonas paucimobilis* (1) y 5 cepas no se identificaron.



Tecamachalco

En la localidad de Tecamachalco se aislaron un total de 20 cepas bacterianas, de hojas se obtuvieron 9 cepas (45%) y de suelo se aislaron 11 cepas (55%); de esta localidad no se obtuvieron cepas bacterianas de fruto (Figura 6). En el municipio de Tecamachalco se identificaron 11 géneros, en hoja se obtuvieron *Brevundimonas vesicularis* (1), *Burkholderia cepacia* (1), *Burkholderia gladioli* (1), *Chryseobacterium meningosepticum* (2), *Pantoea spp 1* (1), *Pasteurella pneumotropica* (1), *Pseudomonas oryzihabitans* (1), una no se identificó y para suelo se obtuvieron los géneros *Burkholderia cepacia* (2), *Burkholderia gladioli* (1), *Chromobacterium violaceum* (1), *Chryseobacterium meningosepticum* (2), *Pseudomonas luteola* (1), *Sphingomonas paucimobilis* (1), *Stenotrophomonas maltophilia* (1), y no identificadas dos cepas, para fruto no se obtuvieron cepas bacterianas.

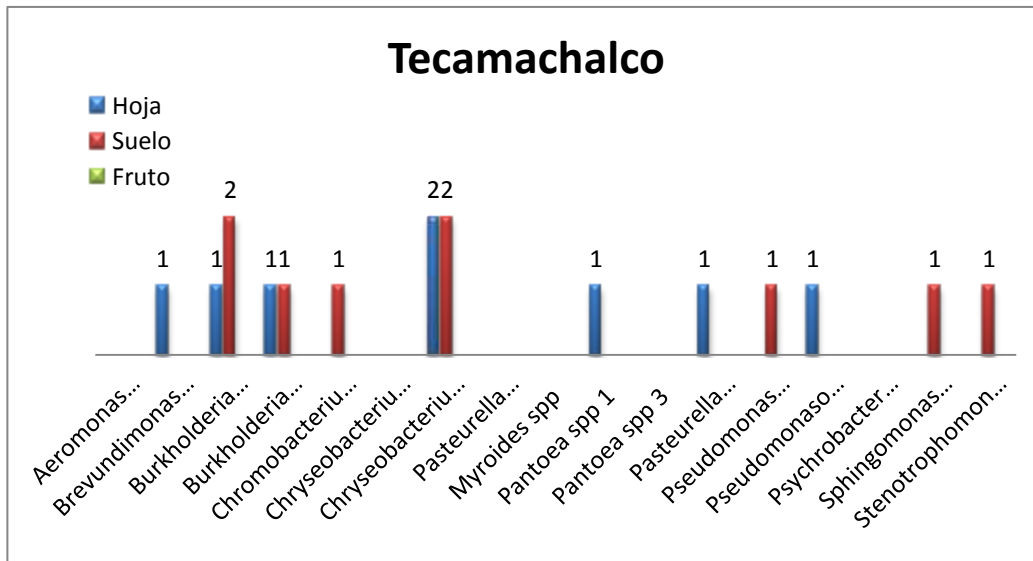


Figura 6.. Géneros bacterianos obtenidos de las diferentes muestras en el Municipio de Tecamachalco (NI: no identificadas).

Análisis de suelo en los cultivos de jitomate

Con la finalidad de indagar la posible relación entre las características asociadas al suelo que contenía a las plantas de jitomate y las bacterias aisladas de este, se realizó un análisis que incluye las propiedades mínimas del suelo. Con los resultados que se muestran a continuación.

Tabla 2. Propiedades del suelo del Municipio de Izúcar de Matamoros.

Izúcar	pH		Materia orgánica (%)		Nitrógeno (%)		Fosforo (ppm)	
S1	7.42	alcalino	2.35	medio	0.14	Mediano	1.13	bajo
S2	7.3	neutro	3.99	rico	0.16	medianamente rico	1.3	bajo
S3	7.2	neutro	3.99	rico	0.17	medianamente rico	1.4	bajo
S4	7.4	alcalino	2.35	medio	0.14	Mediano	1.13	bajo
S5	7.3	neutro	3.99	rico	0.17	medianamente rico	1.4	bajo
Muestra			Potasio (meq/100g)		Calcio (meq/100g)		Magnesio (meq/100g)	
S1			0.25	bajo	4	Baja	7	alta
S2			0.25	bajo	3	Baja	9	alta
S3			0.25	bajo	3	Baja	8	alta
S4			0.25	bajo	4	Baja	7	alta
S5			0.25	bajo	3	Baja	9	alta

Tabla 3. Propiedades del suelo del Municipio de Tecali de Herrera.

Tecali	pH		Materia orgánica (%)		Nitrógeno (%)		Fósforo (ppm)	
TS1	7.53	Alcalino	5.1	Extremadamente	0.0	Med.	1.96	Bajo
				Rico	7	Pobre		
TS2	7.38	Alcalino	2.09	Medio	0.1	Mediano	2.02	Bajo
TS3	7.39	Alcalino	5.25	Extremadamente	0.1	Mediano	1	Bajo
				Rico	4			
TS4	6.89	Neutro	4.24	Extremadamente	0.1	Med Rico	2.1	Bajo
				Rico	7			
Muestra			Potasio (meq/100g)		Calcio (meq/100g)		Magnesio (meq/100g)	
Ts1			0.3	Medio	4	Baja	5	Alta
			3					
Ts2			0.2	Bajo	4	Baja	4	Alta
			9					
Ts3			0.4	Medio	3	Baja	5	Alta
			2					
Ts4			0.2	Bajo	3	Baja	3	Alta
			1					

Tabla 4. Propiedades del suelo del Municipio de Tehuacán.

Tehuacán	pH		Materia orgánica (%)		Nitrógeno (%)		Fosforo (ppm)	
1S1	7.12	Neutro	2.5	Med-Rico	0.11	Med-Pobre	4.3	Bajo
1S2	7.65	Alcalino	0.6	Pobre	0.11	Med-Pobre	4.62	Bajo
1S3	7.61	Alcalino	1.6	Med-Pobre	0.21	Med-Rico	4.11	Bajo
1S4	7.61	Alcalino	0.6	Pobre	0.03	Med-Pobre	4.78	Bajo
1S5	7.18	Neutro	1.1	Pobre	0.11	Med-Pobre	5.02	Bajo
Muestra			Potasio (meq/100g)		Calcio (meq/100g)		Magnesio (meq/100g)	
1S1			0.3	Medio	10	Media	2	Media
1S2			0.2	Bajo	6	Media	1	Baja
1S3			0.6	Alto	38	Alta	8	Alta
1S4			0.6	Alto	5	Media	4	Alta
1S5			0.6	Alto	38	Alta	28	Alta

Tabla 5. Características generales del suelo de las distintas zonas de muestreo y cepas encontradas con mayor frecuencia.

		Prop. de Suelo		Macronutrientes					
	Cepas bacterianas frecuentes	PH	M. orgánica %	Nitrógeno %	Fosforo ppm	Potasio ppm	Calcio ppm	Magnesio ppm	
	<i>Burkholderia cepacia</i>	7.32	3.33	0.16	1.27	0.25	3.40	8.00	
Izúcar	<i>Pasteurella pneumotropica</i>		rico	Med	bajo	bajo	bajo	alto	
	<i>Burkholderia gladioli</i>			rico					
	<i>Burkholderia cepacia</i>	7.30	4.17	0.12	1.77	0.31	3.50	4.25	
	<i>Chryseobacterium indologenes</i>		rico	Med	bajo	medio	bajo	medio	
Tecali	<i>Pasteurella pneumotropica</i>								
	<i>Burkholderia cepacia</i>	7.43	1.32	0.12	4.57	0.51	19.40	8.60	
Tehuacán	<i>Burkholderia gladioli</i>		pobre	Med	bajo	alto	alto	alto	
	<i>Pseudomonas luteola</i>			pobre					
	<i>Burkholderia gladioli</i>	7.97	1.58	0.13	3.87	0.53	30.40	12.00	
	<i>Burkholderia cepacia</i>		pobre	Med	bajo	alto	alto	alto	
Tecam.	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>			pobre					

Importancia del género *Pantoea* en los cultivos

El género *Pantoea* tiene una gran importancia ya que es uno de los que causa más estragos en los cultivos que afecta, en México afecta a maíz (*Pantoea stewartii* causando marchitez de Stewart), frijol (marchitamiento bacteriano) y mijo causando marchitez (Pérez, 2008). En Cuba *Erwinia sp* afecta a cultivos de henequén y está en la lista de enfermedades bacterianas presentes en el país (Cruz *et al*, 2002). En Venezuela se reportó afectando cultivos de *Gloxinia alba* (planta de ornato explotada comercialmente en invernadero) lo que pudo asociarse con el ataque de la bacteria *Pantoea agglomerans* (Jiménez *et al*, 2007), mientras tanto en Colombia se aisló la cepa bacteriana 9C de *Pantoea sp* del interior de la caña de azúcar (Cordero *et al*, 2008). Otros cultivos en que se encontraron daños por el género *Pantoea* son piña, causando pudrición (*Pantoea ananas*) la enfermedad *pink disease* (*Pantoea citrea*), en cebolla causando necrosis (*Pantoea agglomerans*) (López *et al*, 2011) pino romerón, cedro rosado, encenillo y pagoda (Orozco y Martínez, 2009). En México, realizamos el primer reporte de *Pantoea ananatis* produciendo patogenicidad en cultivos de maíz (Pérez y Terrón *et al*, 2009). En general los daños a cultivos por el género *Pantoea* que se pueden encontrar son lesiones acuosas, marchitez vascular en plántulas, hojas necrosadas linealmente en plantas maduras, este género puede causar que la planta no alcance un desarrollo óptimo para fines de producción, o en el peor de los casos, la muerte de la misma (Rocha *et al*, 2009).

DISCUSIÓN

La flora bacteriana encontrada en las localidades estudiadas en el Estado de Puebla se describe a continuación comenzando con las más frecuentes, ninguna de las cepas fue reportada con anterioridad causando enfermedades en cultivos de jitomate.

El género bacteriano encontrado con mayor frecuencia fue *Burkholderia cepacia* del cual se aislaron en total de 15 cepas, no se ha reportado como patógeno para cultivos con importancia económica, es un bacilo gram negativo que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y se aísla del suelo, agua, plantas y verduras (Frías, 2008) pertenece a la familia *Pseudomonadaceae*; existen siete especies del género *Burkholderia* de las cuales sólo dos producen patología en seres humanos: *B. cepacia* y *B. pseudomallei*, sin embargo no se han reportado lesiones o infección en cultivos de plantas por esta bacteria, *Burkholderia cepacia*, es un patógeno oportunista en enfermos de fibrosis quística y presenta una gran capacidad degradativa de contaminantes orgánicos (INEP, 2000).

Es segundo género bacteriano con mayor frecuencia fue *Burkholderia gladioli* del cual fueron aisladas 7 cepas de este género, este género bacteriano si se ha reportado afectando a cultivos con importancia económica, *Burkholderia gladioli* (anteriormente *Pseudomonas gladioli* y *P. marginata*), se descubrió inicialmente como el patógeno causal de la pudrición en bulbos de gladiolos; otros hospedantes son la cebolla, iris, fresia, orquídeas, arroz y maíz (Gijón *et al*, 2008), Las bacterias de este género pueden ser patógenas para el hombre y los animales, como *Burkholderia mallei* agente causal del muermo o para las plantas (INEP, 2000). Este microorganismo habita la superficie de varias plantas. Ha sido aislada comúnmente a partir de *Gladiolus spp*; *Iris spp.* y cebollas para las cuales se cree es patógena. Ecológicamente son saprófitos que intervienen en el reciclaje de materia orgánica. Se ha reportado las enfermedades por *Burkholderia glumae* constituyen un limitante en el cultivo de arroz (Pérez y Cristo, 2011).

El tercer genero con mayor frecuencia fue *Pasteurella pneumotropica*, correspondiente a este género se aislaron 6 cepas y este género no se ha reportdo como patógeno de cultivos con importancia económica, es únicamente patógeno para los animales, aunque

ocasionalmente puede producir infecciones potencialmente graves en humanos como un absceso epidural espinal (Fernández *et al.* 2011).

Del género *Chryseobacterium meningosepticum* se obtuvieron 6 cepas, el cual no ha sido reportado con anterioridad afectando a cultivos con importancia económica, (Kitchin *et al.*, 2009). Fueron aisladas 4 cepas de *Pseudomonas luteola* este género no se ha reportado como patógeno para cultivos con importancia económica, presenta una resistencia intrínseca a muchos grupos de antibióticos asociados a infecciones óticas y, menos frecuentemente cutáneas, en animales de compañía. (Escribano *et al.*, 2009).

Fueron obtenidas 2 cepas de *Chryseobacterium indologenes*, este género no se ha reportado como patógeno para cultivos con importancia económica. *C. indologenes* se encuentra en el suelo, plantas, alimentos, agua dulce, salada y potable (resiste la cloración) (Sakurada, 2008). Correspondiente a *Sphingomonas paucimobilis* se aislaron 2 cepas, este género no se ha reportado como patógeno para cultivos con importancia económica, está ampliamente distribuida en el medio natural, sobre todo en agua y el suelo, *S. paucimobilis* es un patógeno oportunista (Kilic *et al.*, 2007). Los otros géneros se encontraron con menor frecuencia y no están reportados como patógenos de plantas.

El número mayor de cepas aisladas en las cuatro zonas corresponde a suelo, seguido de hoja y por ultimo de fruto que solo se aisló de muestras de la localidad de Izúcar de Matamoros, las cepas aisladas correspondientes al género *Pantoea* se extrajeron a partir de hoja de las localidades de Izúcar de Matamoros y Tecamachalco como se puede observar en la tabla 16. Aunque en México, realizamos el primer reporte de *Pantoea ananatis* produciendo patogenicidad en cultivos de maíz (Pérez y Terrón *et al.*, 2009), y la hemos encontrado asociada a chile y frijol, sin embargo, no se han reportado casos de infección o pérdidas a cultivos de jitomate por el género *Pantoea*, con este trabajo se

pudo establecer que este género se encuentra parasitando a plantas de jitomate pero no afectando de manera grave su desarrollo a las plántulas.

Conclusión

- Se aislaron un total de 69 cepas bacterianas de las cuales se identificaron 17 géneros diferentes (4 localidades)
- Géneros más frecuentes: Burkholderia cepacia, Burkholderia gladioli, Pasteurella pneumotropica, Chryseobacterium meningosepticum y Pseudomonas luteola
- Se ha corroborado la especie de algunas cepas mediante análisis de secuencias 16S rDNA.
- No se encontró relación entre la composición del suelo y la flora bacteriana presente
- Se aisló al género Pantoea spp. en Izúcar de Matamoros y Tecamachalco a partir de muestra de hoja.
- **Este género no se había descrito previamente en México en cultivos de jitomate**
- Adicionalmente se probó la patogenicidad de cepas de Pantoea in vitro en plántulas de jitomate (estudio no mostrado).

Bibliografía

1. Carrillo Fasio, José Armando; García Estrada Raymundo Saúl, Allende Molar Raúl, Márquez Zequera Isidro, Millán Ocampo Sabino, Gaxiola Espinoza Gustavo. (2001b). Sensibilidad a cobre de las cepas de *Xantomonas campestris* pv *vesicatoria* (doige) Sociedad Mexicana de Fitopatología A.C. Ciudad Obregón, México 19(01): 72-77.
2. Cih- Dzul, Imelda Rosana; Jaramillo Villanueva, J. Luis; Tornero Campante, M. Alberto y Schwentesius Rindermann, Rita. (2011). Caracterización de los sistemas de producción de Tomate (*Lycopersicon esculentum* mill.) En el estado de Jalisco, México. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 14: 501-512.
3. Cordero Elvia, Jorge; Ortega R., Patricia y Ortega, Eduardo (2008). La inoculación de plantas con *Pantoea* sp., bacteria solubilizadora de fosfatos, incrementa la concentración de P en los tejidos foliares. Rev. Colomb de Biotecnol. 10 (1): 111-121.
4. Cruz, Mercedes; Amat, Zenaida; Calles, Armando; Valdés, Caridad. (2002). Primer reporte en cuba de *pantoea herbicola* (sin. *Erwinia Herbícola*), con daños en henequén fitosanidad, redalyc. (6): 45-46.
5. Escribano C.; Ordeix L.; Pol, A. G. y P. Brazis, Puigdemont, (2009). Sensibilidad de *Pseudomonas spp.* frente a las quinolonas en infecciones óticas y cutáneas en el perro y el gato. UAB. Clin. Vet. Peq. Anim, 29 (4): 203-207.
6. Fernández Fernández, F. Javier; Puerta Louro, Rubén, Rodríguez Conde, Irene y de la Fuente Aguado, Javier (2011). Epidural abscess caused by *Pasteurella pneumotropica*. Enferm Infecc Microbiol Clin. 29(8): 631-638.
7. Frías Salcedo, José Antonio (2008). *Burkholderia cepacia* (B. cepacia) Nuevo patógeno de infecciones nosocomiales. Enfermedades Infecciosas y Microbiología, vol. 28, núm. 1: 19-23.

8. García, Rosaima; García, Alba y Delgado, Luisa. (1999). Marchitez bacteriana del tomate causada por el biovar 2^a, de *Ralstonia solanacearum* en algunas localidades del estado Merida-Venezuela. FONAIAP . Rev. Forest. Venez. 43 (2): 183-189.
9. Gijón, H. A.; Téliz, O. D.; Cárdenas, S. E.; De León, C.; Mora, A. A.; Mejía, S. D.; De la Torre, A. R y Quiroga, M. R. (2008). Leaf stripe and stem rot Caused by *Burkholderia gladioli*, a new disease of maize in México. Plant Dis, Number 8 (92) 12-49.
10. Gómez C, Eduardo; Alvarez, Elizabeth y Llano Germán (2005). Identificación y caracterización de cepas de *Ralstonia solanacearum* raza 2, agente causante de moko de plátano en Colombia. Fitopatología Colombiana Vol 28 (2) 70-75.
11. Kitchin, M.R.; Lekalakala, J.A.; Joshi A; Meyer, R.; Masekela, S.M.; Risenga, T.; Moodley, T.J.; Avenant, R.J. (2009). A forgotten nosocomial bacterium (*Chryseobacterium meningosepticum*) South Afr J Epidemiol Infect 24(4):38.
12. López Reyes, Lucía; Carcaño-Montiel, Moisés Graciano; Pérez-y-Terrón, Rocío y Fuentes-Ramírez, Luis Ernesto (2011). La biodiversidad en Puebla, Estudio de Estado.. La diversidad de especies: Diversidad en bacterias.. Comisión Nacional para el Uso de la Biodiversidad (4) 93-98.
13. Moreno Ramírez, Y. del Rocío (2010). Diversidad morfológica y agronómica de poblaciones nativas de jitomate del centro, sur y sureste de México. Colegio de Postgraduados. Institución de Enseñanza e investigación en ciencias agrícolas.
14. Pérez-y-Terrón, R; Villegas, M. C; Cuellar, A; Muñoz-Rojas, J.; Castañeda-Lucio, M.; Hernández-Lucas I.; Bustillos-Cristales, R.; Bautista-Sosa, L.; Munive, J. A.; Caicedo-Rivas R.; and Fuentes-Ramírez L. E. (2009). Detection of *Pantoea ananatis*, causal agent of leaf spot disease of maize, in Mexico. SCIRO PUBLISHING. *Australasian Plant Disease Notes* (4) 96–99.

15. Pérez, C. y Cristo, M.S. (2011). Enrique Advances in the integrated management *burkholderia glumae* bacteria In the crop of rice in the colombian Caribbean Rev. Colombiana cienc. Anim. 3(1): 111-124.
16. Ramos Ortega, Adriana; Carballo Carballo, Aquiles; Hernández Livera, Adrián; Corona Torres, Tarsicio y Sandoval Villa Manuel. (2006). Caracterización de líneas de jitomate en Hidroponía. Agricultura Técnica en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Pecuarias. 213-223.
17. Rocha Revilla, J.C.; Rodríguez Herrera R.; Aguilar González C.N.; Ramírez Ramírez, E. y Lara Victoriano, F. (2009). Detección de *Pantoea stewartii* directamente de la semilla de maíz utilizando INMUNO-PCR Centro Internacional de Servicios Fitosanitarios S.A. de C.V. 25(3): 245-252.
18. Santiago, Josafad; Mendoza, Mariano y Borrego, Fernando (1998). Evaluación del tomate (*Lycopersicum esculentum*, Mill) en invernadero. Agronomía Mesoamericana. 9(1): 59-65.
19. Schaad, N.W.; Berthier Schaad, Y; Sechler, A. y Knorr, D. (1999). Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in potato tubers by BIO-PCR and an automated real-time fluorescence detection system. Plant Disease, 83(12): 1095-1100.
20. Tejada Gómez, Yelaine (2006) Caracterización de *Ralstonia solanacearum* a través del estudio de su diversidad genética. Fitosanidad 10 (4) 299-303
21. Terry Alfonso, Elein; Leyva, Ángel y Hernández, Annia. (2005). Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el tomate (*licopersicum esculentum*, mill). Revista Colombiana de Biotecnología, Diciembre. 7(02) 47-74
22. Velásquez Valle, Rodolfo y Medina Aguilar, María. (2005). Enfermedades bacterianas del jitomate en Aguascalientes y Zacatecas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) 35(1) 2-29

23. Velazco, Judith; Aranque, Ma. Del Carmen; Araujo, Emma; Longa, Aurora; Nieves, Beatriz; Ramírez, Ana Carolina; Sánchez, Kiralba y Velazco, Elsa (2008). Manual práctico de Bacteriología Clínica. CODEPRE. Venezuela 21-39.

Páginas de internet

- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera online SIAP . Recuperado el viernes, 7 de junio de 2012. de <http://www.siap.gob.mx>