



# Identificación de bacterias fitopatógenas y sus efectos en la producción de vegetales de invernaderos en tres provincias de la República Dominicana

<sup>1,2</sup>Danilo O. Soto Galán, <sup>1,2</sup>Andreina Cuello, <sup>3</sup>Heidy Y. Pérez,  
<sup>1,4,5</sup>Luis A Matos Casado

*<sup>1</sup>Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias (FCAV), Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD). <sup>2</sup>Departamento de Sanidad Vegetal, Ministerio de Agricultura. <sup>3</sup>Ministerio de Salud Pública, <sup>4</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA), FCAV-UASD, <sup>5</sup>Centro de Tecnologías Agrícolas (CENTA), Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IDLAF).*



## INTRODUCCION

La producción de vegetales en ambiente protegido es una de las actividades económicas de mayor crecimiento en el sector agrícola nacional

Aproximadamente 12 millones de metros cuadrados en producción

Para el 2019 se estimó una producción de 147 millones de libras de los diferentes vegetales producidos

Ochenta y tres millones de libras para exportación y 64 millones para consumo local



## INTRODUCCION

Exportaciones por valor superior a los 95 millones de dólares

Se estima que cada 1200 metros cuadrados genera un empleo

Solo en San José de Ocoa existen 1.2 millones de metros sembrados de tomates y 1.7 millones de pimientos, esta superficie fluctúa según la época del año

Una de las principales limitantes que tiene la producción en invernaderos son las plagas y enfermedades

## Problemática de Investigación

Cada vez son mas frecuentes los daños causados por plagas y enfermedades en los cultivos de invernaderos

Presencia de patologías desconocidas o poco estudiadas en los centros de producción

En algunos casos, limitada distribución, pero de efectos considerables en términos de pérdidas económicas



## Problemática de Investigación

### Patologías comunes en invernaderos

- Marchitamiento y muerte de plantas
- Manchas foliares seguido de marchitez
- Manchas foliares
- Manchas y pudrición en frutos



## Objetivos

- Determinar los agentes causales de patologías asociadas a bacteriosis
- Determinar las características biológicas de los géneros identificados
- Determinar prevalencia los géneros identificados como agentes causales





## **Materiales y Métodos**

### **Alcance y localización del estudio**

El estudio abarcó 12 localidades de tres provincias, San José de Ocoa, La Vega y Duarte

Setenta dos (72) muestras colectadas entre tomates, pimientos y pepinos

La analítica se realizó en el laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias de la UASD

## Materiales y Métodos

El material vegetal fue tomado de hojas, tallos y raíces con síntomas de necrosamiento vascular y marchitamiento

Desinfectado y sembrado en medios de cultivos generales y específicos

Crecimiento fue purificado luego evaluación características de las colonias

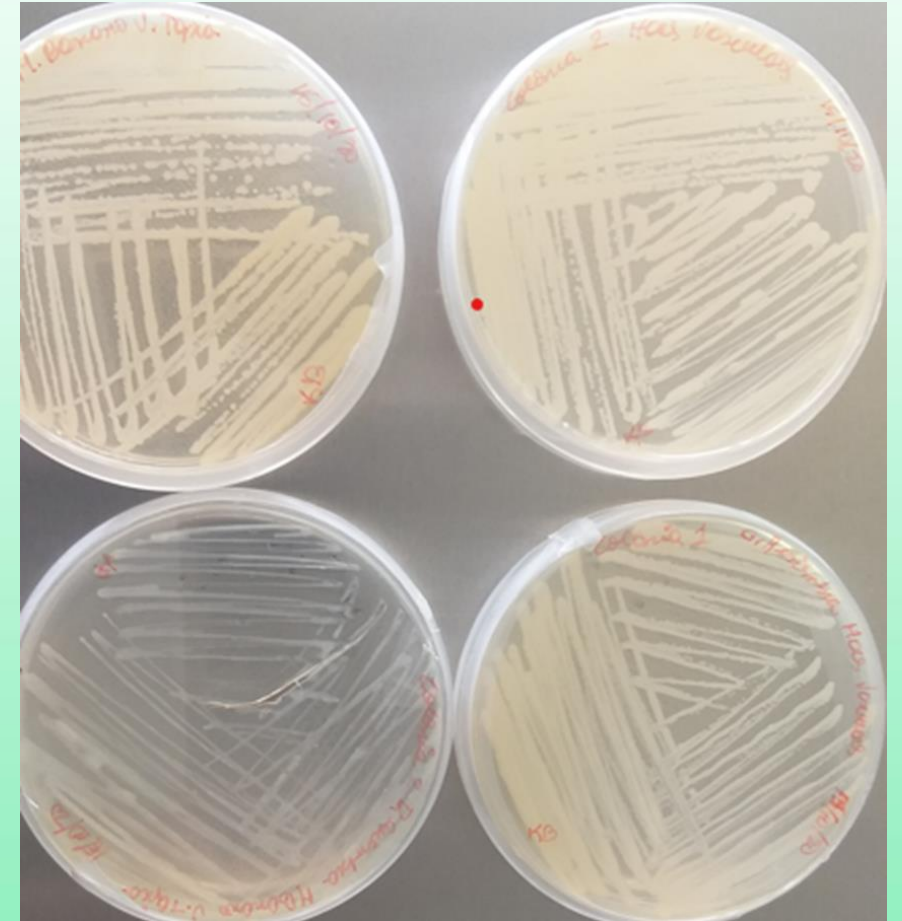




## Materiales y Métodos

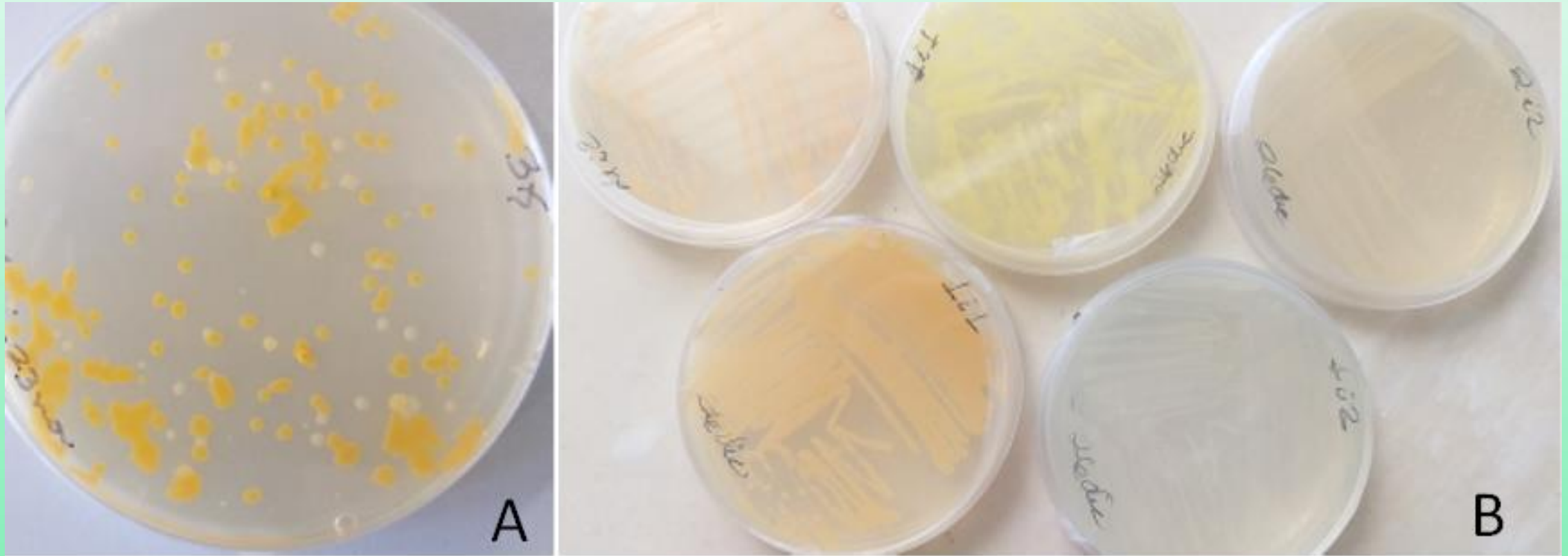
Se colectaron muestras de plantas de tomates que mostraban síntomas causados por bacterias

Se usaron varios medios de cultivos generales para aislamiento de bacterias YDC y King B



## Materiales y Métodos

### Purificación según características



Proceso de purificación de las colonias

## Materiales y Métodos

Determinación de tinción de Gram  
y pruebas KOH

Pruebas Bioquímicas

Tinción de Gram

Aamilasa

Pruebas KOH

Oxidasa

Catalasa

Pectinasa

Pigmentación en King B



## Materiales y Métodos

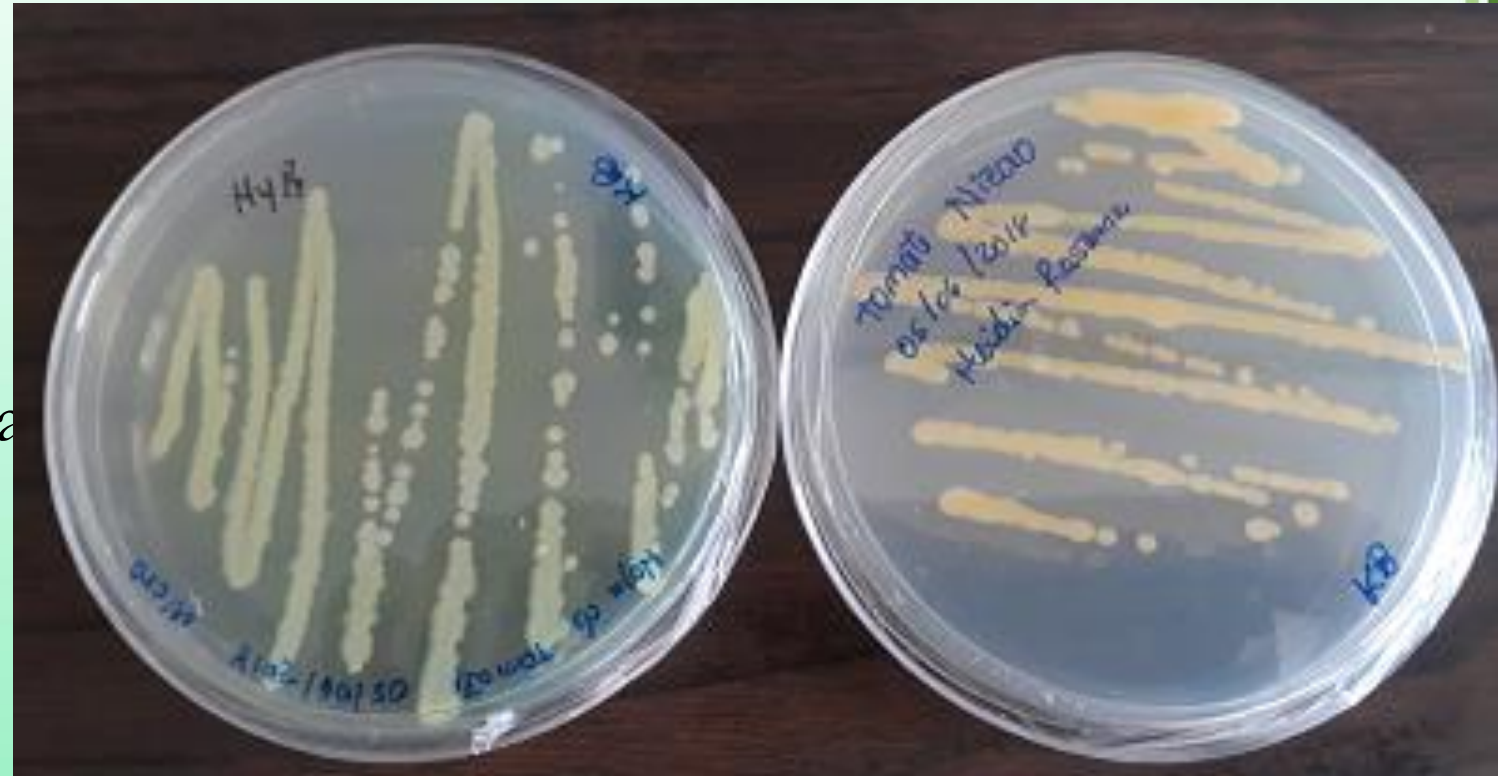
### Pruebas serológicas

ELISA e Inmunotiruillas de Agdia Corporation, Indiana, USA.

### Pruebas moleculares

Extracción de ADN

Amplificación de ADN por PCR



## Resultados y Discusión

De las 72 muestras analizadas

Veintisiete (27) *Ralstonia solanacearum*

17 en tomate

10 en pimientos

Veintiuna (21) *Clavibacter michiganensis*  
subespecie *michiganensis*

21 Tomates

Doce (12) *Pseudomonas* sp.

12 en tomates

Siete (7) *Erwinia persicina* en pepinos

Cinco (5) *Xanthomonas* sp



## Resultados y Discusión

Degradación de la pectina, *Pseudomonas* sp.



Respuesta hipersensitiva (HR) *R. solanacearum*  
en tabaco

## Resultados y Discusión

Secuencia de síntomas expresado por *Ralstonia solanacearum*



## Resultados y Discusión

Pruebas de patogenicidad usando *Ralstonia solanacearum*



Siete días post-inoculación



Catorce días post-inoculación



## Resultados y Discusión

Evolución de los síntomas foliares en tomate con *Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis* expresados por plantas de tomates



## Resultados y Discusión

Evolución de los síntomas foliares en tomate con *Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis* expresados por plantas de tomates



## Resultados y Discusión

Evolución de los síntomas foliares en tomate con *Pseudomonas* sp., expresados por plantas de tomates



## Resultados y Discusión

Pigmentación en King B con una especie de *Pseudomonas* sp.,



Prueba de catalasa

## Resultados y Discusión

Pigmentación en King B con una especie de *Xanthomonas* sp.,



## Resultados y Discusión

Evolución de síntomas de *Erwinia persicina* en frutos pepinos





## Resultados y Discusión

El género de mayor prevalencia resulto ser *Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis* la cual apareció en las tres provincias bajo estudio

*R. solanacearum* a pesar de que el número de muestras positivas a este bacteria fue mayor, no fue encontrada en la provincia Duarte

*Pseudomonas* sp., ocupó el tercer lugar basado en presencia en los invernaderos, seguidos por *Xanthomonas* sp.,



## Resultados y Discusión

Mientras tanto, *Ralstonia solanacearum*, *C michiganensis michiganensis* (*Cmm*) y *Pseudomonas* sp. se han encontrado tanto en la parte baja como zona alta de San José de Ocoa, similar situación se presenta en Jarabacoa y Constanza

*R. Solanacearum* y *Cmm* son bacterias de mucha importancia económica y los efectos sobre los cultivos de tomate y pimientos poner en riesgo la producción de estos cultivos





## Resultados y Discusión

La posible contaminación de las fuentes de agua que se usan en los invernaderos pudiese representar un factor importante en la producción de tomates y pimientos

En adición a la posible contaminación de las agua de riego, también  $Cmm$  es transmitida por semillas, lo que puede junto a la contaminación implicar mayores riesgos para la producción en invernaderos.

## Resultados y Discusión

Los sustratos contaminados son depositados en las proximidades de los invernaderos lo que pone en riesgo la producción a campo abierto en adición a la posible contaminación de las aguas de riego.



## Resultados y Discusión

Cuando la infección producida por *R. solanacearum*, *Cmm* y *Psuedomonas* sp., aparecen durante los primeros tres meses de haber sido plantado el cultivo, el productor no tiene tiempo para recuperar la inversión



*Ralstonia solanacearum* en  
pimientos

## Conclusión

Se encontraron cinco géneros de bacterias asociados a cultivos de invernaderos

*Ralstonia solanacearum*

*Clavibacter michiganensis* subesp., *michiganensis*

*Pseudomonas* sp.

*Xanthomonas* sp.

*Erwinia persicina*



ELISA para *Ralstonia solanacearum*

## Conclusión

El genero de mayor prevalencia fue *Clavibacter michiganensis* subesp., *michiganensis*

Mayor número de muestras de las 72 colectadas y analizadas se correspondieron con *Ralstonia solanacearum*

La zonas mas contaminadas en las tres provincias fueron Rancho Arriba y la Ciénaga en San José de Ocoa, seguido por Jarabacoa y Constanza



ELISA para *Ralstonia solanacearum*

# Gracias por su atención

