Diagnóstico de Enfermedades Ocasionadas por Bacterias Fitopatógenas

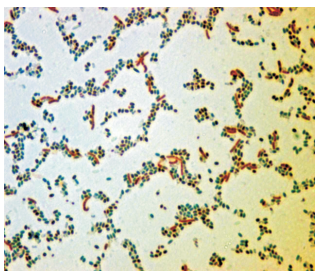
Cristian Nava Díaz, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5 Montecillo, México, CP 56230, México. Correspondencia: cnava@colpos.mx

El primer contacto con el diagnóstico de enfermedades ocasionadas por bacterias fue cuando tuve la fortuna de tomar el curso de bacterias fitopatógenas, que ofrecía el Dr. Leopoldo Fucikovsky Zak en el Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados, durante agosto- diciembre de 1995. Fue entonces que entendí que el diagnóstico es el proceso de identificar el agente causal de una enfermedad en plantas por medio de síntomas, signos y los resultados de varias pruebas, aplicando en el proceso el método científico.

Esta aventura de diagnosticar el agente causal de una enfermedad bacteriana iniciaba con el reconocimiento del hospedante, la observación, documentación y descripción de los síntomas.

El siguiente paso, que es clave en un diagnóstico, es la comprobación de la patogenicidad por medio de inoculación en el hospedante, reproducción de síntomas y reaislamiento (Postulados de Koch). Esto puede llevar varias semanas e incluso meses, por lo que paralelamente se puede realizar una prueba rápida (con resultados en 48 horas) que consiste en infiltrar una suspensión bacteriana en el envés de hojas de tabaco y exponer la planta a la luz para observar la reacción de hipersensibilidad.

Una vez confirmada la patogenicidad se procede con la caracterización morfológica de la colonia en medio de cultivo y las pruebas bioquímicas entre las que sobresalen: tinción de Gram, crecimiento aeróbico o anaeróbico, catalasa, oxidasa, levana, hidrólisis de gelatina, reducción de nitratos, pudrición de papa, producción de endosporas, pigmentos amarillos o fluorescentes, utilización de fructuosa, glucosa, galactosa, sacarosa, etc.reducción de nitratos, pudrición de papa, producción de endosporas, pigmentos amarillos o fluorescentes, utilización de fructuosa, glucosa, galactosa, sacarosa, etc.

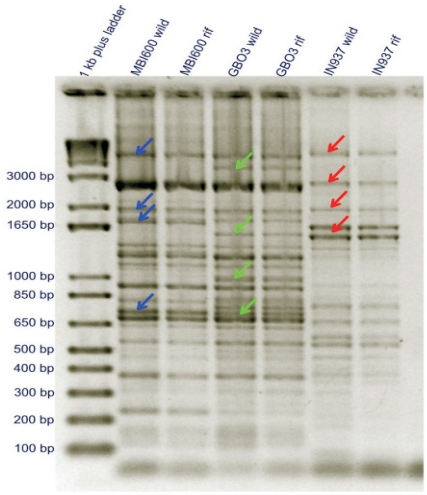


La preparación de estos reactivos puede ser una actividad extenuante. Es una fortuna que tiempo después estaban disponibles las tiras API (Biomerieux) donde las bacterias directamente de la caja Petri se suspenden en un medio de dispersión que es aplicado a cada una de las celdas en la tira. A pesar de que en un lapso de 24 h se pueden obtener resultados de múltiples pruebas, algunas de ellas (así como el diagnóstico numérico que incluye) están orientadas a la identificación de patógenos de humano y pueden ser de poca utilidad en el diagnóstico de bacterias fitopatógenas.

El diagnóstico de bacterias fitopatógenas incluye en su arsenal de herramientas la prueba de ELISA-DAS. Una variante de esta prueba son las inmunotiras que tienen la ventaja de ser portátiles y ofrecer resultados casi instantáneos con el riesgo ocasional de obtener falso positivos.

Aunque menos conocida, la extracción y comparación de ácidos grasos, es útil en el proceso de identificación. Para ello, las bacterias se siembran en medio de cultivo TSBA donde se incuban durante 24 h a 28 °C. La bondad de esta técnica es que la saponificación, metilación, extracción y lavado de ácidos grasos se puede realizar en un laboratorio modesto. El análisis y comparación requieren de un equipo sofisticado que ofrece como resultado un índice de similaridad entre la muestra y lo que existe en la base de datos del equipo.

El uso de ácidos nucleicos para el diagnóstico de bacterias fitopatógenas fue útil desde sus inicios. La reacción en cadena de la polimerasa es una de las herramientas más utilizadas con este fin. Una variante (rep-PCR) que utiliza iniciadores ERIC, REP o BOX resulta en la amplificación de múltiples fragmentos que en un gel de agarosa forman patrones específicos considerados como huellas digitales que incluso pueden identificar a nivel infraespecífico.



La amplificación de un fragmento específico del genoma de las bacterias (generalmente la región ITS) y su comparación en una base de datos (NCBI) ha mostrado sus bondades en el diagnóstico de bacterias. Una de las principales ventajas de este tipo de diagnóstico es la rapidez con la que se pueden obtener los resultados.

En la actualidad, la mayor parte de los laboratorios de pruebas, a recomendación del Centro Nacional de Referencia de Diagnóstico Fitosanitario, combinan la mayor cantidad de técnicas, como algunas de las mencionadas en el presente escrito, con la finalidad de ofrecer a sus clientes un diagnóstico rápido y preciso.

Referencias Bibliográficas

Gerhardt, P,. Murray, R.G.E., Wood, W.A., and Krieg, N.R. 1994. Methods for general and molecular bacteriology. American Society for Microbiology. USA: 791p.

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Stanley, J.T. and Williams S.T. 2000. Bergey's manual of determinative bacteriology. Ninth edition. Lippincott Williams Wilkins. USA: 787p.

Klement, Z., Rudolph, K. and Sands, D.C. 1990. Methods in phytobacteriology. H. Stillman Publishers. Budapest: 568p.

Schaad, N.D., Jones, J. B. and Chun, W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. Third edition. APS Pres. USA: 373p.