

CAPÍTULO 9

Bacteriosis Vascular (o Añublo Bacteriano) de la Yuca Causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*

Valérie Verdier*

Introducción

Uno de los factores limitantes de la producción de yuca es la bacteriosis vascular, más conocida como CBB (del inglés *Cassava Bacterial Blight*). Esta enfermedad se distribuye extensamente tanto en África como en América del Sur.

Las pérdidas causadas por la bacteriosis varían. Si las condiciones del medio son favorables para el desarrollo de la enfermedad y si no se adopta alguna práctica agronómica tendiente a controlarla, las pérdidas pueden alcanzar 100% en sólo dos a tres ciclos de cultivo. La enfermedad se disemina de un área a otra, y de una época de crecimiento a la siguiente, principalmente por la plantación de estacas infectadas y, también, por herramientas, insectos y lluvia, que dispersan la enfermedad en áreas pequeñas.

La severidad de la enfermedad varía mucho según el cultivar, la fertilidad del suelo y el clima, así como por la cantidad de inóculo presente en la zona. El cultivo repetido de variedades altamente susceptibles, sin hacer rotación, lleva a una disminución de la fertilidad del suelo, lo cual incrementa la predisposición de la yuca a la enfermedad.

El agente causal de la enfermedad es la bacteria *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (*Xam*). Este patógeno induce una gran variedad de síntomas. En Colombia, la

enfermedad fue muy destructiva en 1971; desde entonces, se informa de su presencia en las principales zonas de cultivo de la yuca del país (Lozano, 1986; Restrepo y Verdier, 1997).

Síntomas

Xam es un patógeno sistémico y epífita, que se caracteriza por inducir una amplia combinación de síntomas: manchas angulares en las hojas, añublo (quemazón), marchitamiento, exudados en el tallo, lesiones en el tallo y muerte (Figura 9-1).

La infección comienza con una fase epífita del patógeno en las hojas, que contribuye a construir el inóculo, lo que incrementa de forma significativa la probabilidad de una futura infección a través de estomas y heridas. Las manchas en las hojas aparecen como áreas angulares húmedas, claramente distinguibles en la cara inferior de las hojas. El añublo o quemazón de la hoja puede deberse a una toxina (ácido 3-metilpropiónico) producido por *Xam*. La bacteria coloniza los espacios intercelulares en el mesófilo de la hoja y se multiplica rápidamente, produciendo grandes cantidades de matriz exopolisacárida. Las manchas de las hojas exudan una sustancia amarillenta y pegajosa que se concentra en gotas, principalmente en el envés de las hojas. Los exudados bacterianos se esparcen a otras plantas cuando las gotas de lluvia caen y salpican durante la estación lluviosa y, en menor grado, mediante insectos. La multiplicación del patógeno y la consecuente producción de exudado bacteriano bloquea los tejidos vasculares, llevando al marchitamiento de las hojas.

* Ph.D., Fitopatología, Líder del Proyecto Bacteriosis de Yuca, Unidad de Biotecnología, CIAT e IRD. CIAT, Cali, Colombia. E-mail: v.verdier@cgiar.org

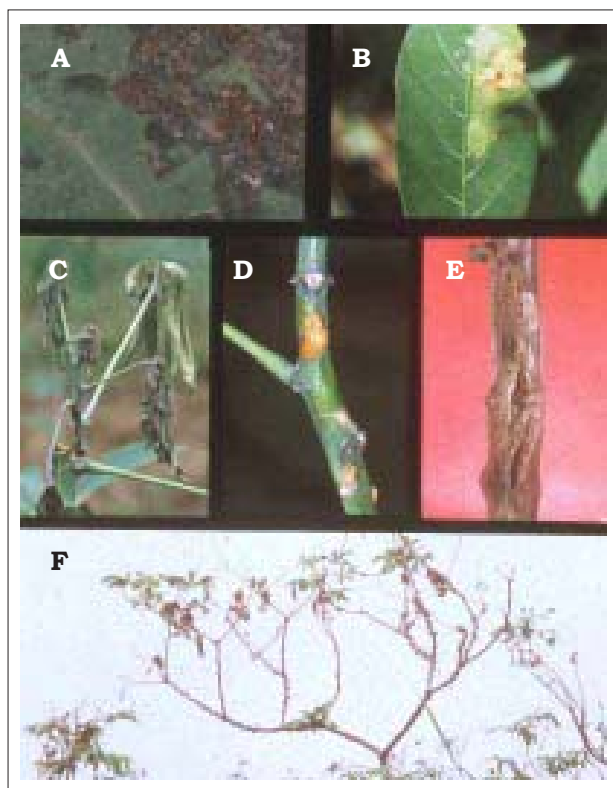


Figura 9-1. Síntomas causados por la bacteria *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* en yuca.
 (A) Manchas angulares.
 (B) Quemazón (añublo).
 (C) Marchitamiento.
 (D) Exudado del tallo.
 (E) Lesiones profundas en el tallo.
 (F) Desfoliación y muerte de la planta.

Los clones altamente susceptibles pueden ser deshojados por completo. La bacteria entra a los vasos del xilema haciendo una lisis de la pared celular del tejido y se multiplica rápidamente en el sistema vascular, extendiéndose a todas las partes de la planta, produciéndole la muerte. Los síntomas pueden aparecer también en los frutos como áreas humedecidas. El patógeno también puede estar localizado en la vaina foliar o en el embrión. Las semillas procedentes de frutos infectados pueden estar deformadas y la tasa es de germinación baja. Usualmente, las raíces de plantas infectadas no presentan síntomas, excepto por algunas variedades susceptibles que pueden tener manchas secas y putrefactas alrededor de líneas vasculares necrosadas. Esta característica de putrefacción es exclusiva de los

tejidos vasculares; otros tejidos de la raíz permanecen normales.

Las pérdidas están, generalmente, correlacionadas con el número de estacas infectadas utilizadas en la siembra. Cuando las plantas son infectadas, su parte aérea pueden ser destruida por completo. Nuevos rebrotes se desarrollan del tallo, ya sea por encima o por debajo de la tierra. Estos jóvenes rebrotes son susceptibles en extremo y en condiciones de lluvia se infectan rápidamente. Si el material de siembra está infectado, los brotes que produzca se marchitarán y pronto morirán.

Etiología

Inicialmente, el agente causal de la bacteriosis fue llamado *Bacillus manihotis* Arthaud-Berthet (Bondar en 1912 y 1915) y, luego, *Phytomonas manihotis* (Arthaud-Berthet and Bondar) Viegas. Tiempo después, este nombre fue cambiado por *Xanthomonas manihotis* (Arthaud-Berthet) Starr y a *X. campestris* pv. *manihotis* (Berthet y Bondar en 1915). Recientemente, Vauterin et al. (1995), propusieron el nombre *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (*Xam*).

La bacteria crece en un medio con sucrosa, produciendo colonias sin pigmentación; es un bastoncillo Gram negativo que mide 0.5 x 1.0 mm, con un único flagelo polar. Excepto por la falta de pigmentación, la mayoría de sus características fisiológicas y bioquímicas son típicas de las xantomonadas.

En concordancia con los aspectos descritos en el *Bergey's Manual*, más de 90% de las cepas de *Xam* evaluadas hidrolizan Tween 60, Tween 80 y almidón; crecen en presencia de 0.001% (peso/volumen) de Hg (NO₃), pero no en 0.05% (peso/volumen) de cloruro de trifeniltetrazolio o en 0.001% (peso/volumen) de verde de malaquita; muestran actividad β-glucosidasa; forman ácido a partir de melibiosa pero no a partir de D-ribosa o de lactosa; crecen en ácido DL-glicérico, pero no en ácido mícico, ácido sacárico o etano; usan L-treonina como su única fuente de nitrógeno y son sensibles a 10 g de gentamicina y ácido fusídico.

Según Restrepo y Verdier (1997), se ha observado variación considerable entre las cepas

de *Xam* en relación con sus caracteres bioquímicos, fisiológicos, serológicos y genómicos, analizados por medio del polimorfismo en el tamaño de los fragmentos de restricción (RFLP), o por el polimorfismo en el tamaño de fragmentos amplificados (AFLP) (Restrepo et al., 1999).

Diferentes tipos de sondas *Xam* están siendo utilizadas para la caracterización por RFLP, ya sea genómicas o plasmídicas. Sondas universales, como *ribotyping* también han sido utilizadas. Las cepas africanas de *Xam* pertenecen a uno de los cinco *ribotypes* identificados en América del Sur, y con los análisis de RFLP con una sonda plasmídica se permitió distinguir 14 haplotipos diferentes. Un alto nivel de polimorfismo del ADN se detectó en cepas de América del Sur (Restrepo y Verdier, 1997).

En Colombia, cepas de *Xam* colectadas en tres zonas ecológicas (ECZ) fueron geográficamente diferenciadas (Restrepo y Verdier, 1997). Recientemente fue evidenciada una distribución microgeográfica de la diversidad genética de *Xam* (Restrepo et al., 2000a).

Las diferencias en virulencia entre cepas de *Xam* fueron descritas por primera vez por Robbs et al. (1972). Esta variación en virulencia también fue observada entre cepas de Brasil y África, las cuales mostraron diferencias en la velocidad de desarrollo de los síntomas, lo que sugiere una variación en la agresividad. Hace poco, 10 patotipos fueron definidos en las cepas de *Xam* en Venezuela, empleando cinco variedades de yuca como diferenciales (Verdier et al., 1998a). Luego, un grupo de variedades diferenciales de yuca fue propuesto para discriminar la virulencia de *Xam* en Colombia (Restrepo et al., 2000b). Los diferentes patotipos fueron también identificados entre un grupo de cepas que representan la diversidad genética al interior de *Xam* en Colombia.

Ciclo de la Enfermedad y Epidemiología

El proceso de infección comienza con la multiplicación epífita del patógeno, la cual ocurre generalmente cerca de los estomas. La penetración en la hoja se realiza a través de las

aperturas estomáticas o por heridas. Bastan 12 horas de alta humedad relativa para el establecimiento bacteriano. La temperatura más apropiada para la infección es alrededor de los 23 °C.

Aparentemente, la duración del fotoperíodo no afecta el establecimiento de la bacteria. *Xam* es un patógeno vascular que se interna en los vasos luego de una fase preliminar de desarrollo intercelular en el mesófilo. Si los tallos lignificados se infectan, la bacteria se mantiene en los tejidos vasculares, donde puede sobrevivir hasta por 30 meses. Las interacciones hospedero-patógeno han sido estudiadas bajo condiciones controladas utilizando métodos histológicos y citoquímicos.

Los estudios de la fase epífita de la enfermedad están bien documentados, tanto en el campo como en condiciones in vitro. Un estudio citoquímico del desarrollo de una cepa agresiva en un hospedero susceptible mostró que *Xam* degrada la lamela media y la pared celular (Boher et al., 1995). Esto sugiere que la actividad lítica de la bacteria favorece su progresión intercelular y su penetración en los haces vasculares. La matriz extracelular bacteriana (xanthan), producida en todas las fases de la patogénesis, está bastante asociada con la degradación de las estructuras parietales del hospedero.

Las semillas pueden ser infectadas por la acción de la lluvia, por inoculación mecánica o por translocación del patógeno mediante los vasos del xilema. Un alto porcentaje de semillas colectadas de cultivos infectados con CBB porta el patógeno; sin embargo, éstas no muestran síntomas ya que la bacteria se mantiene latente en el embrión. La dormancia se rompe poco después de la germinación. Aunque las semillas germinen normalmente, los síntomas aparecerán en los tallos y en las hojas.

El uso de estacas infectadas es la principal causa de la persistencia del patógeno de un ciclo de crecimiento a otro; otra causa es su forma de esparcirse en el terreno. En distancias cortas, el patógeno se esparce principalmente a través del rompimiento de las gotas de lluvia y por herramientas contaminadas. Las herramientas usadas en la cosecha de yuca se utilizan simultáneamente para cortar estacas para las plantaciones siguientes. En consecuencia, el

patógeno puede difundirse fácilmente a estacas sanas tomadas de tallos asintomáticos; éstos, sin embargo, albergan al patógeno. Debido a que las heridas facilitan la infección, el tránsito de personas y animales en los campos de yuca, especialmente durante o después de lluvias, puede contribuir a la propagación del patógeno.

Otras fuentes potenciales de inóculo son suelos o aguas de irrigación contaminados, aunque su papel en la infección es menor ya que el patógeno sobrevive poco en el suelo. Por el contrario, puede sobrevivir epífitamente en muchas malezas que pueden servir luego como fuentes de inóculo. Los insectos también pueden diseminar la bacteria y esta acción llega, por mucho, a 10% de su dispersión en distancias cortas.

Durante épocas de sequía, el desarrollo de la enfermedad se reduce, pero la bacteria permanece viable en los tejidos de plantas afectadas y en los exudados, brindando fuentes de inóculo cuando llega la época lluviosa.

Incidencia de la Enfermedad

La cantidad de daños causados por CBB varía en diferentes lugares del mundo, pero puede ser considerable. Las pérdidas en los cultivos pueden alcanzar 30% cuando las estacas tomadas de material infectado se plantan en una parcela limpia. Si las condiciones ambientales son favorables y no se toman medidas de control, las pérdidas pueden llegar a 100% en tres ciclos de cosecha.

Cuando patógenos débiles como *Colletotrichum* spp. y *Choanephora cucurbitarum* invaden tejidos infectados con CBB, el efecto sinérgico de estos patógenos incrementa la severidad de la enfermedad. Sus efectos combinados pueden producir pérdidas hasta de 90% de la cosecha en el primer ciclo.

A principios de los años 70, epidemias de CBB en Zaire causaron pérdidas del cultivo de la yuca (75%), pero el daño total fue aún mayor, ya que las hojas, ricas en proteína y utilizadas por ello en la dieta, también fueron destruidas. Hubo una grave hambruna. Durante este período, las pérdidas del cultivo en África central fueron de 80%. En 1974, una epidemia se reportó en

Minas Gerais, Brasil, causando pérdidas de 50% en una plantación de más de 10,000 hectáreas.

Las pérdidas en otras regiones de América fluctuaron entre 5% y 40%, en 1975. En Asia no se han estimado las pérdidas ya que el patógeno es de introducción reciente (posiblemente a mediados de los años 60). La enfermedad es endémica en regiones de América y África, donde causa pérdidas significativas. La CBB es moderadamente importante en Tailandia y China, aunque su incidencia ha aumentado (especialmente en China) durante los 2 últimos años.

La severidad de la enfermedad se incrementa cuando hay fluctuaciones amplias en temperatura de la noche al día (15 a 30 °C). Esto explica la moderada a baja severidad de CBB en áreas con temperaturas relativamente estables. Este efecto de la temperatura sobre la enfermedad ha ayudado a los investigadores a pronosticar la importancia relativa de ésta en cada región y a desarrollar recomendaciones prácticas para su control.

Distribución Geográfica en Colombia

Entre 1995 y 2000 se visitaron las principales ecozonas (ECZ) donde se cultiva la yuca en Colombia. Las ECZ se definen en función de las condiciones climáticas, del tipo de suelo, de la importancia del ecosistema predominante y de las principales limitantes del cultivo, tanto bióticas como abióticas:

- ECZ1 es la zona tropical subhúmeda.
- ECZ2 son las sabanas con suelos ácidos de los Llanos Orientales.
- ECZ5 es la zona tropical de altura de los Andes.
- ECZ7 es la zona semiárida situada en la región de la Guajira.

En cada ECZ se visitaron diferentes sitios y se evaluaron diferentes parcelas respecto a la presencia de bacteriosis. En cada parcela se escogen, al menos, 15 plantas al azar y se califican según una escala de 1 a 5, donde 1 califica la planta sin síntomas y 5 una planta

muerta por bacteriosis. Las evaluaciones se hacen en los periodos óptimos (épocas lluviosas) para la observación de los síntomas. En cada campo se recolecta tejido vegetal de hojas o tallos infectados por *Xam* para confirmar la presencia del patógeno.

En la ECZ1 (Costa Norte), la enfermedad fue detectada en todas las fincas o parcelas visitadas y se manifestó con fuerte intensidad. Las variedades más utilizadas son MCOL 2215 (Venezolana) y MCOL 1505, las cuales resultaron muy susceptibles a la bacteriosis cuando fueron evaluadas en el invernadero. En esta ECZ, el clima es favorable al desarrollo de la enfermedad y es uno de los factores que explican la incidencia de la CBB. En efecto, se ha demostrado que cuando alternan épocas secas y lluviosas, y cuando la humedad relativa es muy alta y hay una diferencia importante entre las temperaturas máxima y mínima del día, están dadas las condiciones óptimas para la bacteriosis (Lozano y Sequiera, 1974).

En la ECZ2 (Llanos Orientales), la enfermedad se presenta con gran intensidad. En la ECZ1 y ECZ2, la gran incidencia del patógeno también puede explicarse por la intensidad con la que se cultiva la yuca en estas zonas y porque el patógeno ha estado presente en ellas durante mucho tiempo. Por otro lado, la poca disponibilidad de estacas hace que los campesinos intercambien material vegetal, que puede estar contaminado, y así diseminan variantes de *Xam* o introducen el patógeno en regiones en las que no se había detectado la CBB.

En la ECZ5 (Andes a gran altura), la enfermedad está ampliamente distribuida. Geográficamente aislada de las demás por las montañas, está condicionada por la altura y sólo permite la introducción de muy pocas variedades de yuca. Esto limita el contexto genético del hospedero y, en ciertas parcelas (tal vez la mayoría), sólo se encuentra un genotipo llamado Algodona, que fue descubierto por los campesinos de la región. El patógeno se ve así enfrentado a una población homogénea que no ejerce una presión de cambio.

En la ECZ7 (región semiárida de la Guajira) no se detectó la enfermedad en el campo, ni la bacteria en las muestras recolectadas.

Recientemente, la enfermedad se ha detectado con relativa severidad en el departamento de Quindío y al sur del Valle del Cauca. En general, las parcelas situadas en ecosistemas forestales están libres de la enfermedad.

Resistencia a *Xam*

La reacción de resistencia a *Xam* por parte de *Manihot esculenta* se caracteriza, principalmente, por una respuesta de hipersensibilidad a escala vascular que no ha sido observada a nivel foliar; en este caso, la respuesta es más de tipo defensivo que de hipersensibilidad real.

La resistencia a CBB se expresa como un desarrollo lento de la enfermedad en hojas y tallos. Kpemoua et al. (1996) demostraron que en variedades resistentes y a escala celular, hay una acumulación de compuestos osmofílicos en las vacuolas y una lignificación rápida de las paredes celulares que están en contacto con el parásito. Se observó, además, formación rápida de tilosis que obstruye los haces vasculares y, también, la producción de fenoles y refuerzos de barreras estructurales (lignina, calosa y deposición de suberina). De esta forma, una variedad resistente impide el progreso de la bacteria y no hay formación de exudado (Boher et al., 1994).

En general, se presentan las mismas reacciones en los tejidos de variedades susceptibles o resistentes; la diferencia radica en que se presentan más temprano y con mayor intensidad en las resistentes, de manera que la respuesta defensiva disminuye la extensión de la enfermedad (Kpemoua et al., 1996).

Una característica muy importante es el incremento de células productoras de fenol, encontradas primero en el floema y luego en el xilema de las variedades resistentes que han sido infectadas. Se sabe que los compuestos fenólicos tienen un papel fundamental en la resistencia de la planta a los patógenos; otros compuestos se sintetizan únicamente después de la inducción por la bacteria, entre otras, las nuevas ligninas. La fertilización con potasio incrementa la resistencia a *Xam* porque posiblemente mejora los mecanismos de lignificación en los tejidos vasculares.

Evaluación de la resistencia

La evaluación de la resistencia a la CBB puede hacerse en varios niveles, desde el campo hasta los cultivos in vitro, pasando por el invernadero, las plántulas y las semillas.

Para la evaluación en el campo se usa la siguiente escala (Figura 9-2):

1. Ausencia de síntomas.
2. Sólo manchas angulares, sin marchitamiento.
3. Manchas angulares extensivas y marchitamiento foliar, exudación de goma en los tallos y pecíolos.
4. Manchas angulares extensas, marchitez, defoliación y resecaamiento de la parte apical.
5. Resecaamiento apical y muerte vegetativa.

Se evalúan plantas cultivadas durante tres ó cuatro ciclos, y en cada ciclo se hacen cuatro observaciones.

Este tipo de evaluación es muy útil en las zonas donde la presión de la enfermedad es alta, ya que permite conocer el desarrollo y avance de ésta. Asimismo, este tipo de evaluación no requiere inversión en materiales de inoculación ni en mantenimiento de plantas en condiciones especiales. En Colombia, esta evaluación se practica en las diferentes ecozonas donde se cultiva la yuca, como los Llanos Orientales, la Costa Atlántica y la zona Andina. Cuando la presencia del inóculo es baja, se pueden hacer aspersiones de cepas locales de la bacteria junto con arena o algún material abrasivo que cause heridas en las hojas y facilite así la penetración del patógeno.

La inoculación se hace en los tallos un mes después de plantar las estacas maduras. Los aislamientos de la bacteria se ponen a crecer en medio LPGA, con 12 horas de anterioridad a la inoculación. Para inocular, se toma una colonia del cultivo bacteriano con la punta de una aguja o con un palillo, directamente de la caja petri, y se introduce en el tallo hacia la parte apical de la planta. La cantidad aproximada de bacteria que se inocula es de 10^8 UFC/punción. Según la disponibilidad de material, para cada pareja [de aislamiento bacteriano y variedad] se hacen 10 repeticiones.

Las observaciones se hacen a los 8, 15 y 30 días después de la inoculación. Las condiciones óptimas para el desarrollo de la enfermedad son 30 °C y una humedad relativa saturante. Las observaciones de síntomas se califican mediante una escala de 1 a 5 (Figura 9-3):

1. Zona necrótica alrededor del punto de inoculación.
2. Exudado en el punto de inoculación.
3. Marchitamiento sin que importe la cantidad de exudado (una o dos hojas).
4. Marchitamiento de más de dos hojas.
5. Marchitamiento total de la planta.

De esta manera se obtiene una apreciación categórica (cuantificable) de las observaciones realizadas.

Adicionalmente se ha descrito un método sencillo de inoculación de plántulas in vitro, realizado en condiciones estériles sobre plántulas de 6 semanas de edad (Verdier et al., 1990). El inóculo se calibra a 10^8 ufc/ml y se deposita con un pincel en la superficie inferior y superior de las dos primeras hojas (las de mayor edad); las plantas se mantienen en cámara climática a 28 °C con un fotoperíodo de 16 horas de día y 8 de noche.

Control

Las pérdidas causadas por CBB pueden reducirse si se utiliza una combinación de prácticas agronómicas y métodos de detección, y empleando la resistencia varietal. Las medidas descritas a continuación han tenido éxito en la reducción de la incidencia de CBB e incluso en la erradicación del patógeno.

Prácticas culturales

La rotación de cultivos controla la bacteriosis sólo si las estacas usadas para sembrar yuca se encuentran libres de la enfermedad. Todas las partes de desecho de plantas infectadas deben ser sepultadas, ya que en el suelo el patógeno no logra sobrevivir mucho tiempo; o deben ser retiradas e incineradas.



Figura 9-2. Escala de síntomas usada en el campo (ver texto).

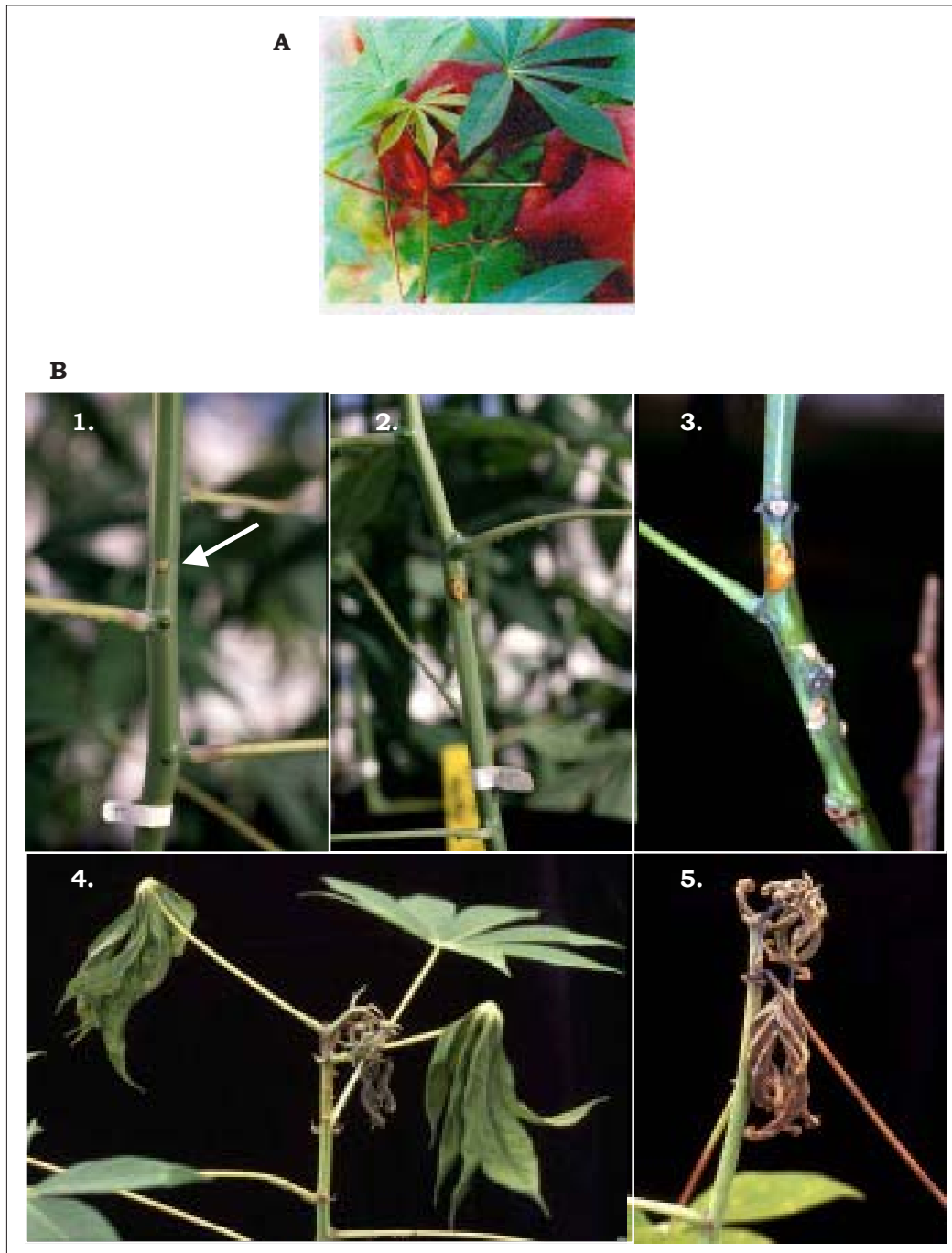


Figura 9-3. (A) Inoculación en el tallo. (B) Escala de síntomas usada en el invernadero (ver texto). Esta técnica se utiliza para evaluar la resistencia o susceptibilidad de una variedad de yuca al patógeno.

Un intervalo de 6 meses entre dos cultivos de yuca es suficiente para prevenir la transmisión del patógeno en el suelo. Es muy importante tener un control cuidadoso de las malezas, ya que el patógeno puede sobrevivir epífitamente en ellas por largos períodos. Las rotaciones del

cultivo de yuca con maíz o sorgo reducen efectivamente la infección primaria de CBB causada por las gotas de lluvia que salpican; cuatro ciclos consecutivos de rotación reducen la incidencia y la severidad de la enfermedad a niveles económicamente insignificantes.

Las pérdidas pueden reducirse cambiando el tiempo de siembra, especialmente en áreas subtropicales de cultivo. La yuca se planta, generalmente, a comienzos de la época lluviosa, cuando las condiciones son óptimas para la infección y la dispersión del patógeno. Pero el cultivo puede sembrarse hacia finales de la estación de lluvias, cuando las condiciones ambientales son más secas, reduciendo así la incidencia de la CBB. Un material de siembra limpio es esencial para mantener la enfermedad en niveles bajos.

Un método para producir estacas libres de bacterias es hacer enraizar las estacas de plantas infectadas o no infectadas en agua estéril y luego recoger la parte apical de los rebrotes. Este método sirve para limpiar clones o estacas infectados. La poda de partes aéreas de plantas infectadas algunas veces ayuda a disminuir la dispersión de la enfermedad y la infección secundaria. El éxito de este método depende de la susceptibilidad de la variedad y del intervalo entre la infección inicial y la poda. El método es más exitoso con variedades de yuca resistentes y moderadamente resistentes que están levemente infectadas.

Mejoramiento de la nutrición del cultivo

El contenido orgánico del suelo puede mejorarse enterrando los residuos del cultivo en pequeños contenedores (lo que restringe además la supervivencia del patógeno), aplicando estiércol o alternando la yuca con leguminosas. El potasio aumenta la resistencia a *Xam*, pero es difícil de obtener por los pequeños propietarios.

Mejoramiento de la calidad del material de siembra

Se logra con la selección cuidadosa de tallos saludables cuando se obtienen las estacas, pero los agricultores no están acostumbrados a seleccionar sus estacas según este criterio. Sin embargo, pueden ser capacitados para reconocer los síntomas de la bacteriosis vascular y escoger, por tanto, los tallos limpios o con poca contaminación para sus nuevas siembras; esto se recomienda también para el control de otras enfermedades de la yuca. El material sano para plantar puede producirse en *sitios controlados de propagación*, medida importante, especialmente en zonas de baja o media presión de parásitos.

La producción y distribución de estacas de alta calidad es una etapa esencial en el perfeccionamiento de la producción de la yuca y ha demostrado ser valiosa. Esta práctica ha sido descuidada en Colombia y debería recibir más atención.

El funcionamiento y manejo de estos campos de propagación, que servirían para suplir a los pequeños agricultores, no está aún organizado. Esos sitios facilitarían un mejor control de la sanidad del cultivo, la mejor distribución de variedades nuevas y el control de la introducción de patógenos y plagas nuevas. Los semilleros de yuca que proporcionarían las estacas deberían estar situados preferiblemente en áreas forestales, donde es posible evitar la CBB.

Aplicación de los métodos de detección

Los patógenos y plagas de la yuca se diseminan, en gran medida, en el intercambio de estacas de yuca; la bacteriosis fue introducida de esta manera en África y Asia. Muchos de los patógenos de la yuca, incluyendo a CBB, pueden ser dispersados también mediante la semilla botánica.

El material vegetativo y las semillas deben ser colectados únicamente de plantas sanas en cultivos presumiblemente libres de bacteriosis. Estos cultivos deben ser inspeccionados más de una vez antes de la colección, especialmente a mediados y finales de la época lluviosa cuando la bacteriosis tiende a ser más severa, para así determinar el estatus sanitario en conjunto. Cualquier semilla o estaca anormal debe ser descartada. Para evitar la diseminación de la bacteria y otros patógenos portados en la semilla, deben revisarse las semillas visualmente con mucho cuidado, seleccionarlas según su densidad y luego secarlas al calor.

Existen diferentes métodos para detectar *Xam* de acuerdo con la cuarentena fitosanitaria internacional. El procedimiento de PCR es sencillo y demora 2 horas (Verdier et al., 1998b). Este método permite detectar 300 UFC/ml en tejidos vegetales; su evaluación, debido a su especificidad y sensibilidad, tiene un potencial considerable como procedimiento confiable en la detección e identificación del patógeno causante del añublo bacteriano en tejido vegetal infectado.

Un procedimiento de PCR anidado también se encuentra disponible para la detección de *Xam* en semilla de yuca (Ojeda y Verdier, 2000). El PCR anidado incrementa la sensibilidad de la detección y permite identificar el patógeno exitosamente en semillas o embriones provenientes de semillas. El material puede ser evaluado en tan sólo un día.

El procedimiento de *dot-blot* utiliza un fragmento de ADN que es una sonda específica para un patovar. Este es un método simple y específico para detectar colonias de *Xam*, recuperadas a partir de tejidos vegetales y también para evaluar colonias de supuestos aislamientos de *Xam* (Verdier y Mosquera, 1999). La presencia del patógeno puede ser identificada directamente en tejidos vegetales de yuca (hojas, estacas, frutos, semillas y embriones). Es una técnica muy sensible y rápida que permite la evaluación a gran escala de estacas a un costo relativamente bajo y con poco equipo. Bacterias viables pueden ser detectadas también mediante un ensayo de plating en medio semiselectivo para *Xam* (Fessehaie et al., 1999).

Control biológico

Aplicaciones foliares de cepas de *Pseudomonas putida* pueden reducir significativamente el número de manchas angulares por hoja y el número de hojas quemadas por planta en clones susceptibles de yuca. En un estudio se impregnaron por aspersión plantas de yuca con una solución de 1×10^9 células por ml de bacteria benéfica en agua, cuatro veces por mes durante la estación lluviosa, comenzando un mes después de la siembra. La producción de raíces se incrementó 2.7 veces en promedio. Aunque el uso de estos agentes de biocontrol parece prometedor para plantaciones comerciales, se requiere mayor investigación para determinar si efectivamente esta práctica es recomendable.

Variedades resistentes

El método más apropiado y realista al control de la CBB es a través de la resistencia del hospedero. Cierta número de variedades adoptadas poseen una resistencia considerable a la CBB y han permanecido resistentes durante muchos años.

La base genética de esta resistencia está actualmente limitada, pero debería ser ampliada

utilizando otras especies de *Manihot* e híbridos naturales de *M. esculenta* y *M. glaziovii*, y debe introducirse en gran cantidad de variedades locales adaptadas.

Es posible considerar el estudio de otro tipo de resistencia, tal como el bloqueo rápido del desarrollo del parásito mediante una reacción de hipersensibilidad obtenida de otras especies del género *Manihot*. Esta sugerencia debe ser considerada por los genetistas; ahora bien, esta resistencia sería monogénica u oligogénica y por esto, probablemente, sería menos durable que el tipo poligénico existente. Los tallos de las plantas resistentes no son inmunes a la contaminación después de varios ciclos de cultivo y es necesario, por tanto, someterlos a limpieza regular.

Estudios realizados recientemente en condiciones de invernadero y de campo con el fin de entender la genética de la resistencia a CBB en una población F1 de yuca, permitieron caracterizar diferentes QTLs (loci para características cuantitativas, en los cromosomas) de resistencia a cepas de *Xam* (Jorge et al., 2000).

Algunos de estos QTLs están asociados con cepas particulares de *Xam*, lo que sugiere que existe una interacción específica entre la planta y el patógeno. Los marcadores moleculares identificados pueden utilizarse para selección asistida por marcadores (MAS), una técnica que ha logrado acelerar el largo proceso de hacer cruzamientos encaminados a conseguir resistencia a la bacteriosis.

Conclusiones

La CBB de la yuca es una enfermedad importante y de amplia distribución en Colombia; es urgente aplicar los métodos de control previamente descritos. La producción y distribución de estacas de alta calidad y libres del patógeno es una etapa esencial en el control de la enfermedad.

Los estudios que se llevan a cabo actualmente tanto sobre la genética del patógeno como sobre la genética de la yuca deben tener una aplicación práctica en el campo. En efecto, si los métodos de control biológico (utilización de antagonistas) o de control químico (aplicaciones

de compuestos cúpricos) no han dado los resultados esperados para reducir la incidencia de la enfermedad, la modificación de las *prácticas de cultivo* y, sobre todo, la introducción de *variedades resistentes* siguen siendo una alternativa eficaz para el control de la CBB.

Los resultados de la caracterización de la *estructura de poblaciones* de *Xam* tienen una aplicación práctica en la selección e introducción del material resistente. El mejorador puede ahora evaluar genotipos empleando un número reducido de cepas que reflejan la diversidad del patógeno que la planta debe enfrentar en la región en que se introduce la variedad.

Aunque actualmente se conocen bien los mecanismos de defensa de la planta frente al patógeno, se debe trabajar en la identificación de los genes de resistencia. El mapa genético de la yuca ha sido establecido y sirve de base para la búsqueda de marcadores ligados a la resistencia de la bacteriosis de la yuca. La disponibilidad de técnicas, como la transformación genética, permitirían la obtención rápida de nuevos materiales genéticos con resistencia a la CBB.

Referencias

- Boher B; Verdier V. 1994. Cassava bacterial blight in Africa: The state of knowledge and implications for designing control strategies. *African Crop Science Journal* 2(4):505-509.
- Boher B; Kpémoua K; Nicole M; Luisetti J; Geiger JP. 1995. Ultrastructure of interactions between cassava and *Xanthomonas campestris* p.v. *manihotis*: Cytochemistry of cellulose and pectin degradation in a susceptible cultivar. *The American Phytopathological Society (USA)* 85(7):777-788.
- Fessehaie A; Wydra K; Rudolph K. 1999. Development of a new semiselective medium for isolating *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* from plant material and soil. *Phytopathology* 87:591-597.
- Jorge V; Fregene MA; Duque MC; Bonierbale MW; Tohme J; Verdier V. 2000. Genetic mapping of resistance to bacterial blight disease in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Theoretical and Applied Genetics* 101(5-6):865-872.
- Kpémoua K; Boher B; Nicole M; Calatayud P; Geiger JP. 1996. Cytochemistry of defense responses in cassava infected by *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. *Canadian Journal of Microbiology* 42:1131-1143.
- Lozano JC; Sequeira L. 1974. Bacterial blight of cassava in Colombia: Etiology. *Phytopathology* 64(1):74-82.
- Lozano JC. 1986. Cassava bacterial blight: A manageable disease. *Plant Disease* 70(12):1089-1093.
- Ojeda S; Verdier V. 2000. Detecting *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in cassava true seeds by nested polymerase chain reaction assay. *Canadian Journal of Plant Pathology* 22(3):241-247.
- Restrepo S; Verdier V. 1997. Geographical differentiation of the population of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Colombia. *Applied and Environmental Microbiology* 63:4427-4434.
- Restrepo S; Duque MC; Tohme J; Verdier V. 1999. AFLP fingerprinting: An efficient technique for detecting genetic variation of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. *Microbiology* 145(1):107-114.
- Restrepo S; Vélez CM; Verdier V. 2000a. Measuring the genetic diversity of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* within different fields in Colombia. *Phytopathology* 90(7):683-690.
- Restrepo S; Duque MC; Verdier V. 2000b. Characterization of pathotypes among isolates of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Colombia. *Plant Pathology* 49(6):680-687.
- Robbs CF; Ribeiro RdL; Kimura O; Akiba J. 1972. Variações em *Xanthomonas manihotis*. *Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia* 5:67-75.
- Vauterin LHB; Kersters K; Swings J. 1995. Reclassification of *Xanthomonas*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 45:472-489.

Verdier V; Schmit J; Lemaitre M. 1990. Étude en microscopie électronique à balayage de l'installation de deux souches de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* sur feuilles de vitroplants de manioc. *Agronomie* 2:93-102.

Verdier V; Restrepo S; Mosquera G; Duque MC; Gerstl A; Laberry S RA. 1998a. Genetic and pathogenic variation of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Venezuela. *Plant Pathology* 47:601-608.

Verdier V; Mosquera G; Assigbétsé K. 1998b. Detection of the cassava bacterial blight pathogen, *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, by polymerase chain reaction. *Plant Disease* 82:79-83.

Verdier V; Mosquera G. 1999. Specific detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* with a DNA hybridization probe. *Journal of Phytopathology (Berl)* 147(7-8):417-423.