

- 3) KING, A.B.S. y J.L. SAUDERS. 1984. El manejo integrado de Plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. Overseas Development Administration. Londres. 182.p.
- 4) PORTILLO, H. 1988. Un método práctico de muestreo para *Empoasca* spp. en el cultivo del frijol. Tesis Ing. Agrónomo. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano. 27 p.
- 5) SCHOONHOVEN, A. y C. CARDONA, 1985. Plagas que atacan el follaje. En frijol: Investigación y producción. CIAT, Cali, Colombia. 263-278.
- 6) SOBRADO, C., K.L. ANDREWS, A. RUEDA y H. PORTILLO. 1986. Un muestreador absoluto para *Empoasca* spp. Memoria XXXII Reunión Anual del PCCMCA. San Salvador, El Salvador. (en prensa).

LONGEVIDAD DE *Xanthomonas campestris* pv *phaseoli* EN RESIDUOS
DE COSECHA INFECTADOS NATURALMENTE EN EL CAMPO.

Estela Peña Matos*, Eladio Arnaud S.** y Freddy Saladin ***

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue determinar el tiempo máximo de duración del patógeno causante de la Bacteriosis común en el cultivo de frijol, en residuos de cosecha sobre la superficie de suelo y enterrados a 20 centímetros de profundidad.

Fueron establecidos dos ensayos durante el período 1986-88 en la Estación Experimental de Arroyo Loro en colaboración con los proyectos Título XII y COSUDE-CIAT.

La metodología utilizada fue de seleccionar 600 gramos de residuos de cosecha infectados en el campo y distribuidos en paquetes de 10 gramos en fundas de sarang.

El diseño utilizado fue de un arreglo de parcelas distribuidas en un bloque al azar con tres repeticiones. Las parcelas grandes las constituyeron los residuos sobre y bajo la superficie del suelo. Las subparcelas correspondieron a 10 tiempos de muestreos cada 30 días. Como medio de cultivo para aislar el patógeno se utilizó MxP, haciéndose la prueba de patogenidad en cada aislamiento.

* Asistente Laboratorio de Fitopatología, Estación E. de Arroyo Loro-EEAL, San Juan de las Maguana, Proyecto Título XII ; ** Encargado de Estación de Arroyo Loro-EEAL-Proyecto Título XII y *** Encargado Programa Nacional de Leguminosas Alimenticias-DIA Coordinador Proyecto Título XII. República Dominicana.

Los resultados obtenidos muestran que el patógeno en residuos de cosecha enterrados presentaba una longevidad máxima de 30 días mientras que en los residuos sobre la superficie del suelo, el patógeno estaba presente hasta los 5 meses manteniendo un buen grado de virulencia al ser inoculados.

INTRODUCCION

La longevidad del inóculo primario tiene una importancia básica para el desarrollo de una bacteria fitopatógeno a nivel de producir una epidemia ó epifitia de un cultivo susceptible de dicha enfermedad, como es el caso de la Bacteriosis común del frijol.

Su habilidad depende de las capacidad de escapar a las condiciones ambientales adversas, así como de los factores internos propios del patógeno.

En sentido general, las bacterias fitopatógenas no forman esporas de conservación o estructuras comparables con las de los hongos y nemátodos; ellas permanecen en estado de dormancia durante el período de latencia en asociación con agentes animados o inanimados, entre los cuales pueden señalar:

- a) Semillas
- b) Plantas perennes hospederas o partes de las mismas.
- c) Insectos
- d) Epifitas
- e) Residuos de plantas
- f) Suelos y otros materiales no hospederos

En el desarrollo epidemiológico de las enfermedades que afectan al cultivo de frijol en República Dominicana, el estudio sobre la persistencia en residuos de cosecha de la enfermedad denominada Bacteriosis común del frijol producida por *Xanthomonas Campestris* pv. *phaseoli* es de vital importancia en aquellas zonas de producción en las cuales se realizan dos ciclos consecutivos de cosecha durante las épocas de Otoño e Invierno, como es el caso del Valle de San Juan de la Maguana, en el cual se siembra una superficie de 200,000 tareas equivalente a unas 12,578 hectáreas durante los ciclos de producción de Otoño (Sept. Nov.) y de Invierno (Dic. Abril).

En este Valle se reportaron pérdidas producidas por esta enfermedad que reducen sensiblemente los rendimientos de frijol en esta zona de importancia básica en la producción de esta leguminosas de grano que amerita la conducción de estudios para determinar la longevidad de *Xanthomonas campestris* p.v. *phaseoli* en residuos de cosecha de campos de producción infectados de manera natural.

Objetivos : Determinar la persistencia de Xc pv. *Phaseoli* en residuos de plantas infectadas naturalmente sobre la superficie del suelo y enterradas a 20 cm. de profundidad.

REVISION DE LITERATURA

Los estudios realizados en zonas templadas (2,3,4) han determinado que *Xanthomonas phaseoli* y *X. phaseoli* var. *fusca* pueden sobrevivir de un ciclo a otro dentro de residuos de cosecha. Según éstos, los residuos deben estar localizados en la superficie del suelo o a menos de 20 cm. de profundidad.

Otros autores (1) han determinado que en el estado de Michigan no pudieron aislar *Xc. pv. Phaseoli* de tejido de plantas infestadas durante la estación de Invierno-Octubre, por lo que no constituían una fuente de inóculo primario de esta enfermedad bajo las condiciones del estudio.

Schuster y Coyne (5) consideran que la supervivencia en el trópico puede ser mayor que en las zonas templadas, debido a las oportunidades que existen para que las poblaciones aumenten continuamente y que sobrevivan como bacterias epifíticas sobre plantas perennes hospederas.

MATERIALES Y METODOS

Se tomaron 600 gramos de hojas y vainas infectadas de bacteriosis común procedente de campos de producción y se distribuyeron en partidas de 10 gr./funda de sarang.

Para cada tiempo de muestreo se utilizaron dos fundas de serag/repetición.

El diseño utilizado fue un arreglo de parcelas divididas con tres repeticiones en el cual, las parcelas grandes estaban constituidas por el método de colocación de las muestras en las fundas sobre la superficie del suelo y enterradas a 20 centímetros de profundidad. Las subparcelas comprendieron los períodos de muestreo.

El ensayo se estableció durante dos años consecutivos" 30-11-86 al 24-4-87 y del 26-11-87 al 24-6-88, en el primer año se hizo la evaluación durante un período de 150 días, mientras que en el segundo año se extendió 210 días.

Para el aislamiento del patógeno se utilizó un medio semi selectivo denominado LARRY CLAFLIN 8-9 Medium (N x P), cuya composición es la siguiente:

- 1) $\text{PO}_4 \text{ H}_2\text{K}$0.8 gr
- 2) $\text{PO}_4 \text{ Hk}_2$0.6 gr
- 3) AGAR.....7.5 gr
- 4) Glucosa.....1.0 gr
- 5) Almidón de papa.....4.0 gr

Estos ingredientes se preparan normalmente para un volumen de 1 litro del medio de cultivo, para lo cual se esteriliza en autoclave a 15 libras de presión, a una temperatura de 121°C durante 15 minutos.

Se deja enfriar y en baño de maria se le añade una mezcla de los siguientes antibióticos a razón de 10 ml de la suspensión por cada litro

del medio, para evitar el desarrollo de otro microorganismos diferentes a *Xanthomonas*:

- a) Cephalexin monohidrato..... 2 mgr/ml de agua
- b) Sulfato de Gentamicin.....10 mgr/ml de agua
- c) Hemisulfato de Kasugamicin.....10 mgr/ml de agua

Luego se le añade una solución de Daconil 2878 a razón de 1.2 gr. por cada 38.8 mililitros de agua. La primera muestra se tomó a las 24 horas de iniciado el estudio, seguidos de muestreos mensuales. Para la toma de muestras, se utilizan 10 gramos de los tejidos infectados, se sumergen en una solución Buffer por 2 horas en movimiento de rotación. Luego se toma un volumen de 0.1 ml. de la suspensión y se le agrega 0.9ml. de la solución Buffer y se hacen las diluciones correspondientes 10^1 - 10^6 en serie de 4 tubos.

Finalmente, se procede a la siembra en placa de petri, utilizando dos placas por cada dilución lo que corresponde a 8 placas de petri por repetición/tiempo de muestreo.

La lectura se realiza a los 3-4 días a partir de la siembra, el número de colonias de *X.c.p.v. phaseoli* se determina por el color amarillo, aspecto viscoso y por la hidrólisis del almidón en el medio de cultivo mediante la formación de un halo clorótico.

El número de colonias a ser consideradas por placa es de 1-400 colonias, a partir de esta cantidad se considera como incontables.

RESULTADOS Y DISCUSION

1ero. Ciclo: 30 Noviembre 1986 - 24 Abril de 1987.

En los análisis realizados a las muestras de residuos de cosecha sobre la superficie del suelo, se determinó la presencia de *Xc pv phaseoli* hasta los 150 días, mientras que para los residuos de cosecha bajo superficie del suelo, se realizaron análisis hasta los 90 días, período en el cual desarrollo del patógeno fue negativo. Los resultados obtenidos se indican en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Desarrollo de Colonias de *Xanthomonas campestris p.v. phaseoli* de Muestras de Residuos de Cosecha Durante un Período de 150 días.

Tiempo Muestreo	Residuos Sobre Superf.			Residuos Bajo Superf.		
	No. de Colonia	TG	CP	No.de Colonia	TG	CP
a) 24 horas	Incontab.	"	"	Incontab.	Grandes	-----
b) 30 días	"	"	"	No presencia de Colon.		
c) 60 días	"	"	"	No presencia de Colon.		
d) 90 días	"	"	"	No presencia de Colon.		
e) 120 días	387	301	87			
f) 150 días	18	10	8			

TG = Tamaño Grande; CP = Colonia Pequeña

Nota: El desarrollo de colonias de *X.C. p.v. phaseoli* era en número incontable en las diluciones 10^{-1} - 10^{-4} durante los primeros 90 días, mientras que a partir de los 120 días el No. de colonias fue decreciendo a partir de las diluciones 10^{-5} y 10^{-6} . El número total de colonias corresponde a la sumatoria de las tres repeticiones.

2do. Ciclo: 26 de Noviembre 1987 - 24 de Junio de 1988.

Los análisis de las muestras de residuos de cosecha enterrados a 20 centímetros de profundidad en el suelo, ratificaron los resultados obtenidos en el ciclo anterior en cuanto a longevidad del patógeno hasta un período máximo de 30 días.

Para el caso de los residuos de cosecha sobre la superficie del suelo, no se desarrollaron colonias de *Xc. pv. phaseoli* a partir de los 180 - 210 días.

Los resultados obtenidos se indican en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Desarrollo de Colonias de *Xanthomonas Campestris p.v. phaseoli* de Muestras de Residuos de Cosecha Durante un Período de 210 días.

Tiempo	Residuos	Sobre Superf	Residuos Bajo Superf.
Muestreo	No. de	TG CP	No.de TG CP
	Colonias		Colonias
a) 24 horas	Incontab.	" "	Incontab. " "
b) 30 días	"	" "	No presencia de Colon.
c) 60 días	"	" "	" " " "
d) 90 días	"	" "	" " " "
e) 120 días	394	318 76	
f) 150 días	128	96 35	
g) 180 días	No presencia de Colonia		
h) 210 días	"	" "	

TG = Tamaño Grande

CP = Colonia Pequeña

CONCLUSIONES

- La resistencia de *X.c. p.v. phaseoli* en residuos de cosecha sobre la superficie del suelo se mantiene hasta un período máximo de 150 días, conservando su virulencia al ser inoculados sobre plantas de frijol.
- La persistencia de *X.c. p.v. phaseoli* en residuos de cosecha enterrados a 20 centímetros de profundidad en el suelo no se mantiene por un período máximo de 30 días.

RECOMENDACIONES

Para plantaciones comerciales severamente afectadas por Bacteriosis común se trazan las siguientes pautas:

- 1ro. Enterrar los residuos de cosecha mediante arado profundo del suelo a una profundidad no menor de 20 centímetros.
- 2do. En el caso de no poder contar con equipo para arado profundo se recomienda la destrucción de los residuos de cosecha mediante la quema de los mismos.
- 3er. Se recomienda hacer rotaciones de cultivo o dejar el terreno en barbecho por un período no menor de 5 meses a partir de la cosecha a fin de eliminar como inóculo primario el patógeno sobre los residuos de cosecha.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- 1) SAETTLER, A.W. CAFATI, C.R. and WELLER, D.M. 1986. Nonover wintering of *Xanthomonas* bean blight bacteria in Michigan. Plant Disease 70:285-287.
- 2) SCHWARTZ, H.F. y GALVEZ E. GUILLERMO. 1980. Problemas de Producción del frijol: Enfermedades, Insectos Limitaciones Edáficas y Climáticas de *Phaseolus vulgaris* 157-160 pag.
- 3) SCHUSTER, M.L. and D.P. COYNE. 1975. Survival of Plant Parasitic bacteria. Nebraska Agr. Exp. Sta. Ress. Bull. No.268, 53 p.
- 4) SCHUSTER M.L. 1967. Survival of bean bacterial pathogen in the field and Greenhouse Under different enviromental Conditions. Phytopathology 57: 830. Summary.
- 5) SCHUSTER M.L. and D.P. COYNE 1977. 1977. Survivial of plant parasitic bacteria of plants grown in Tropics with emphasis on bean (*Phaseolus vulgaris*).