

FECHAS DE SIEMBRA E INCIDENCIA DE EMPOASCA spp. EN FRIJOL

CARLOS MIRANDA *

Introducción

En la Estación Experimental de San Andrés se han comenzado a estudiar desde fines de 1965 diferentes fechas de siembra con el objeto de determinar en qué fecha ocurre una mayor o menor incidencia de la Chicharrita *Empoasca* spp., probable vector de enfermedades virosas, ya que conociendo este factor podemos adelantar o atrasar las siembras de frijol comercial y con ello poder escapar al ataque de este insecto chupador.

Materiales y Métodos

Las fechas de siembra que se estudian fueron las siguientes: 1) primera fecha de siembra: 6 de diciembre de 1965; 2) segunda fecha de siembra: 21 de diciembre de 1965; 3) tercera fecha de siembra: 6 de enero de 1966; y 4) cuarta fecha de siembra: 21 de enero de 1966.

Las variedades sembradas en cada una de las fechas son las siguientes: 27-R, considerando tolerante para efecto del estudio; Tineco 270, considerando medianamente tolerante; y S-382-R, considerando susceptible.

El tamaño del lote donde se estableció cada variedad fue de 150 metros cuadrados.

La siembra se efectuó a chorrillo, dejando una separación entre surcos de 0.60 metros; para la fertilización se usó en el momento de la siembra la fórmula 20-20-0 utilizando 195 kilos por hectárea; otra práctica

* Jefe de Sección de Parasitología Vegetal, DGIA, El Salvador.

que se siguió en el experimento fue la utilización de insecticidas tales como el D.D.T. 10% en una dosis de 19.54 kilos por hectárea, para el control de insectos ajenos al estudio como las tortuguillas (*Diabrotica* spp.)

Únicamente se usó insecticida en casos necesarios.

Resultados Obtenidos

Los resultados de rendimiento obtenidos en cada fecha se consignan en el Cuadro 1.

CUADRO 1. RENDIMIENTOS DE 3 VARIEDADES DE FRIJOL SEMBRADAS EN 4 FECHAS DE SIEMBRA.

Variedades	Rendimiento en kg/ha			
	6 dic. 1965	21 dic. 1965	6 ene. 1966	21 ene. 1966
382-R	636	533	30	0
Tineco 270	788	515	129	30
27-R	1,000	1,182	485	121

Los datos obtenidos en el presente ensayo ofrecen grandes promesas a los cultivadores de frijol por el escape que ofrecen los cultivos sembrados en las fechas 6 y 21 de diciembre, a las enfermedades virosas conocidas como mosaico común, moteado amarillo y falso ("Curly-Top").

Los resultados descritos son de únicamente un año por lo que se repetirá el ensayo durante el período 1966 y 1967.

ESTUDIO SOBRE DOS AISLAMIENTOS VIROSOS DEL FRIJOL EN COSTA RICA

JOSE I. MURILLO V.*

Introducción

En 1963 se presentó en el Cantón de Cañas, provincia de Guanacaste, una enfermedad del frijol con síntomas muy severos, tales como corrugamiento, moteado, enanismo y bajos rendimientos, sospechándose que se trataba de una enfermedad virosa. Usando dos aislamientos, designados A y B, obtenidos de plantas enfermas se logró transmitir mecánicamente la enfermedad bajo condiciones de laboratorio. El presente estudio trata de caracterizar estos aislamientos virosos respecto a su transmisión, ámbito de hospederos, resistencia a la inactividad y efecto en los rendimientos.

Materiales y Métodos

Todas las inoculaciones, tanto mecánicas como por insectos, se efectuaron en plantas jóvenes de 10 a 12 días de edad, de buen crecimiento y que apenas presentaban sus primeras hojas. El inóculo se obtuvo macerando en morteros esterilizados las partes más

* Ministerio de Agricultura de Costa Rica.

jóvenes de las plantas infectadas. El extracto obtenido se frotó cuidadosamente en la superficie de hojas que habían sido espolvoreadas previamente con carbóndum. Una vez inoculadas, las plantas eran colocadas en el invernadero donde recibían suficiente luz.

Las plantas usadas en la prueba del ámbito de hospederos provinieron de semillas seleccionadas y germinadas en platos con vermiculita esterilizada; transplantadas posteriormente a macetas individuales que tenían suelo esterilizado.

En las pruebas de inactivación termal se probaron inicialmente temperaturas a intervalos de 15°C y luego de 3°C. Para la inactivación por dilución se probaron niveles que comprendían desde 1 en 10 hasta 1 en 10⁶. La inactivación por envejecimiento *in vitro* se realizó colocando extracto de plantas enfermas en frascos Erlenmeyer cerrados herméticamente, protegidos de la luz y almacenados a 20°C. La prueba de inactivación

en tejido seco se hizo colocando plantas enfermas a temperatura ambiente e inoculando periódicamente parte de éstas en plantas sanas.

Las pruebas de transmisión por insectos se realizaron con colonias separadas de *Diabrotica adelpha* Harold, mantenidas en jaulas, una de las cuales además de tener plantas enfermas tenía plantas sanas, y la otra únicamente plantas sanas. Después de 8 días las plantas tratadas, así como los testigos, fueron puestos en el invernadero para observar los síntomas, luego cada uno de ellos se inoculó en hospederos que mostraran lesiones locales, para verificar la presencia del virus.

El efecto en el rendimiento se evaluó mediante un arreglo factorial que combinaba ambos aislamientos y un testigo y cuatro variedades de frijol, usando un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones.

Resultados

Diecisiete variedades de la especie *Phaseolus vulgaris* L., inoculadas mecánicamente para estudiar el ámbito de hospederos, fueron infectadas por los aislamientos virales bajo estudio. La mayoría de estas variedades mostraron síntomas sistémicos y algunas de ellas lesiones locales bien definidas presentándose también casos que concurrían ambos tipos de síntomas. Se probaron, además, catorce especies, entre ellas algunas leguminosas como puede observarse en el Cuadro 1. Los aislamientos se comportaron distintamente en estas inoculaciones; así, el aislamiento A logró infectar *Ph. vulgaris* L., *Pisum sativum* L., *Vicia faba* L., *Cicer arietinum* L., *Vigna sinensis* Endl. *Ph. lunatus* L. y *Glycine max.* Merr., en tanto que el aislamiento B infectó únicamente *Ph. vulgaris* L., *Ph. lunatus* L., y *G. max* Merr. Cabe apuntar que especies como *C. arietinum*, *Ph. lunatus*, *V. sinensis* y *G. max* no mostraron síntomas después de haber sido inoculadas pero se recuperó de ellas el virus como lo indicó la infección de hospederos indicadores.

Al estudiar la resistencia a la inactivación se consideró: a) Inactivación termal; b) Inactivación por dilución; c) Inactivación por envejecimiento *in vitro*, y d) Inactivación por envejecimiento en tejido seco.

Los resultados obtenidos (Cuadro 2), indican que ambos aislamientos difirieron poco en su resistencia a la inactivación pero ésta fue más alta que la registrada para los virus más comunes del frijol.

Con el fin de conocer si los aislamientos A y B eran transmitidos por medio de la semilla, se colectaron y sembraron 1000 semillas de plantas inoculadas de cada una de las variedades México 29 N, S 382 R, S 182 N y México 80 R; 22 días después de haber sido sembradas tales semillas, se recogieron las plantas con síntomas sugestivos de la presencia de los aislamientos y se inocularon n plantas jóvenes de la variedad Blanco 157. Los resultados obtenidos aparecen en el Cuadro 3 e indican un bajo porcentaje de transmisión; el más alto, 0.6%, correspondió a la variedad S 382 R inoculada con el aislamiento B.

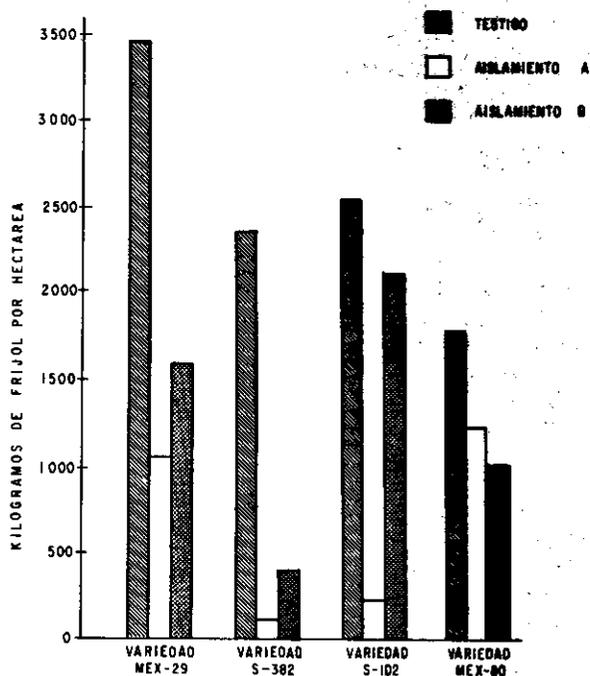


Figura 1.— Interacción de los aislamientos A y B por cuatro variedades de frijol

En los experimentos de campo se observó que las plantas usadas como controles presentaban síntomas semejantes a los de las plantas inoculadas, posiblemente como resultado de transmisión por insectos. Para corroborar esta hipótesis, se estudió una especie del género *Diabrotica* que atacaba con frecuencia el cultivo en forma muy severa. Dieciséis plantas probadas resultaron infectadas comprobándose que la especie *D. adelpha* Harold, transmite el virus cuando se alimenta primero en plantas infectadas y luego en plantas sanas.

Se estudió también el efecto de estos aislamientos en las variedades de frijol México 29 N, S-382-R, S-182-N y México-80-R que se combinaron en un arreglo factorial con los aislamientos A, B y un testigo. El análisis estadístico indicó diferencias altamente significativas en el rendimiento de las variedades, entre los inóculos usados y una interacción de aislamientos por variedades indicada gráficamente en la Figura 1 que, además, ilustra la considerable diferencia en rendimiento de las plantas inoculadas y el testigo. El aislamiento A produjo su más severo efecto en la variedad S-382-R, reduciendo su producción en un 93.78%. El aislamiento B también produjo su máximo efecto en esta misma variedad y redujo su producción 82.93%. Es evidente que existe una considerable reducción de los rendimientos como resultado de la infección de las variedades por los aislamientos virales usados.

Discusión

Los aislamientos A y B están íntimamente relacionados entre sí y a su vez con los virus que incitan el mosaico sureño en Estados Unidos (2, 4, 5), y el mosaico severo de México (3), existiendo base para creer que sean cepas de éstos.

CUADRO 1. RESUMEN DE LAS PLANTAS PROBADAS Y CARACTERISTICAS PRESENTADAS CON CADA UNO DE LOS AISLAMIENTOS.

ESPECIE	SINTOMAS				RECUPERACION	
	Sistemáticos		Lesiones Locales		A	B
	Aislamiento		Aislamiento			
A	B	A	B			
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.						
Var. Mex-81	+	+	-	-	+	+
Var. Stringless Green						
Refugee	+	+	-	-	+	+
Var. Colombia 109-R	+	+	-	-	+	+
Var. Jamapa	+	+	-	-	+	+
Var. Mex-24	+	+	-	-	+	+
Var. S-182	+	+	-	-	+	+
Var. Pinto 111	+	+	+	+	+	+
Var. Blanco 157	+	+	+	+	+	+
Var. Kentucky Wonder						
Brown	+	+	+	+	+	+
Var. Sutter Pink			+	+	+	+
Var. Mex-72-N	+	+	-	-	+	+
Var. Great Northern						
U.I. # 60			+	+	+	+
Var. Mex-29	+	+	-	-	+	+
Var. Mex-80	+	+	-	-	+	+
Var. S-382	+	+	-	-	+	+
Var. Tendergreen	+	+	-	-	+	+
Var. Dwarf Bean	+	+	-	-	+	+
<i>Pisum sativum</i> L.	+	-	-	-	+	-
<i>Vicia faba</i> L.	+	-	-	-	+	-
<i>Cicer arietinum</i> L.	-	-	-	-	+	-
<i>Phaseolus lunatus</i> L.	-	-	-	-	+	+
<i>Vigna sinensis</i> Endl.						
Var. Black-eye	-	-	-	-	-	-
Var. R-35	+	+	-	-	+	-
<i>Glycine max.</i> Merr.	-	-	-	-	+	+
<i>Trifolium repens</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Chenopodium album</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Gomphrena globosa</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Nicotiana tabacum</i> L. ^{***}	-	-	-	-	-	-
<i>Cucumis sativus</i> L.	-	-	-	-	-	-
<i>Brassica pekinensis</i>	-	-	-	-	-	-
(lour) Rupr.						
<i>Lycopersicon esculentum</i>						
Mill	-	-	-	-	-	-
<i>Physalis floridana</i> Rldb	-	-	-	-	-	-

* Presencia de síntomas.
 ** Ausencia de síntomas.
 *** Var. White Burley.

CUADRO 2. RESISTENCIA A LA INACTIVACION DE LOS AISLAMIENTOS A y B.

Aislamiento	Termal	Dilución	INACTIVACION	
			Envejecimiento in vitro	Envejecimiento en tejido seco
A	92-95°C	1:1 × 10 ⁸	112-140 días	35-47 días
B	89-92°C	1:1 × 10 ⁷	168-172 días	35-47 días

CUADRO 3. TRANSMISION POR SEMILLA DE LOS AISLAMIENTOS A y B USANDO LA VARIEDAD BLANCO 157 COMO HOSPEDERO INDICADOR DE LESIONES LOCALES.

Variedad	Tratamiento	Plantas sospechosas	Plantas que dieron lesiones locales	Porcentaje de infección
Mex-29-N	Ais. A	34	0	0.0
	Ais. B	34	5	0.5
	Testigo	0		0.0
S-382-R	Ais. A	32	1	0.1
	Ais. B	32	6	0.6
	Testigo	0		0.0
S-182-N	Ais. A	49	4	0.4
	Ais. B	38	0	0.0
	Testigo	0		0.0
Mex-80-R	Ais. A	20	0	0.0
	Ais. B	24	3	0.3
	Testigo	0		0.0

Los síntomas producidos por estos aislamientos son similares en sus primeras etapas de desarrollo a los producidos por los virus del mosaico común y amarillo, pero luego se vuelven más severos y al final son semejantes a los producidos por el mosaico sureño y el mosaico severo de México. La severidad y rapidez con que aparecieron los síntomas dependió de la susceptibilidad de la variedad inoculada, de la concentración del inóculo y la actividad fisiológica de la planta. Todas las variedades de frijol probadas resultaron susceptibles; algunas de ellas mostraron lesiones locales y luego síntomas sistémicos como sucede con el Mosaico Severo de México (3). Además de *Ph. vulgaris* L., el aislamiento A logró infectar *P. sativum* L., *V. faba* L., *C. arietinum* L., *Ph. lunatus* L., *V. sinensis* Endl. y *G. max* Merr., y el aislamiento B *Ph. lunatus* L. y *G. max* Merr.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Yerkes y Patiño (3), quienes informan que el virus del mosaico severo logró infectar *Ph. lunatus* L., *G. max* Merr. y *V. sinensis* Endl., además de *Ph. vulgaris* L. Coinciden también con los informes de Zaumeyer (5) de que el mosaico sureño también infecta *Ph. lunatus* L. y *G. max* Merr. Estos aislamientos no lograron infectar *Nicotiana tabacum* L. y *Lycopersicon esculentum* Mill., descartando la posibilidad de que sean cepas del mosaico del tabaco las que infectan al frijol.

La diferencia en la resistencia a la inactivación termal se debe posiblemente a diferencias en la concentración del virus. Los resultados obtenidos en este estudio fueron semejantes a los de Yerkes y Patiño (3) quienes inactivaron el mosaico severo de México a temperaturas de 92 a 92.5°C y también similares a los que obtuvo Zaumeyer con el mosaico sureño.

El punto de inactivación termal de estos aislamientos aleja notoriamente de los del mosaico común y amarillo, eliminando así la posibilidad de que sean cepas de éstos. Los valores del punto de inactivación por dilución fueron muy altos, lo que induce a pensar

que son virus que alcanzan concentraciones muy altas. Los resultados obtenidos en este estudio con ambos aislamientos sobrepasan los obtenidos con el Mosaico Sureño y Mosaico Severo de México, que son los virus del frijol de más alta resistencia a la inactivación por dilución. Los períodos de inactivación por envejecimiento *in vitro* son mayores que los del mosaico severo de México (3) y menores que los del mosaico sureño (5). La resistencia a la inactivación usando tejido seco de plantas infectadas fue de 35 a 47 días, que difiere notoriamente del período de 7 meses obtenido por Yerkes y Patiño (3), para el virus del mosaico severo de México. Ambos aislamientos mostraron un bajo porcentaje de transmisión por medio de la semilla.

Estos resultados difieren de los obtenidos por Yerkes y Patiño (3) con el mosaico severo de México, que no fue transmitido por medio de la semilla en ninguna de las especies probadas. El bajo porcentaje de transmisión por la semilla se debe posiblemente a que el virus es inhibido en el embrión por deshidratación (1), como consecuencia de los cambios químicos que ocurren durante la maduración. Los medios naturales de transmisión de los virus determinan su diseminación, siendo posiblemente los insectos el medio más efectivo de diseminación de las enfermedades virósas. Es posible que además de *D. adelpha* Harold, otras especies del género *Diabrotica*, tales como *D. balteata* Leconte, *D. porracea* Harold y *D. viridula* Fabricius, sean vectores de estos virus. La notable disminución del rendimiento de las 4 variedades de frijol inoculadas con ambos aislamientos ilustra su gran importancia económica y el serio peligro potencial que representan, pese a no estar muy diseminados.

Los aislamientos A y B y el mosaico severo de México están estrechamente relacionados en sus características con el Mosaico Sureño e infectan las mismas especies. El aislamiento A es más semejante al mosaico severo de México que el aislamiento B, considerando que el primero logró infectar especies hospederas de mosaico severo de México no infectadas por el aislamiento B. Ambos aislamientos se diferenciaron del mosaico severo de México en ser transmitidos por medio de la semilla.

Los aislamientos A y B son probablemente cepas del mosaico sureño que difieren en su ámbito de hospederos.

Literatura Citada

1. Cheo, Pen Ching. Effect of seed maturation on inhibition of Southern Bean mosaic virus in bean. *Phytopathology* 45:17-21, 1955.
2. Walker, J. C. Enfermedades de las Hortalizas. Primera edición, 1959. p. 56-67.
3. Yerkes, William y Patiño, Graciano. The severe bean mosaic virus, a new bean virus from Mexico. *Phytopathology* 50:334-338. 1960.
4. Zaumeyer, W. J. y Fisher, H. H. Potentialities of Southern Bean Mosaic in the Field (Abstract). *Phytopathology* 41:567. 1951.
5. — y Thomas H. Rex. A Monographic Study of Bean Diseases and Methods For Their Control. U.S. Department of Agriculture. Technical Bulletin 868. pp. 90-124. 1957.