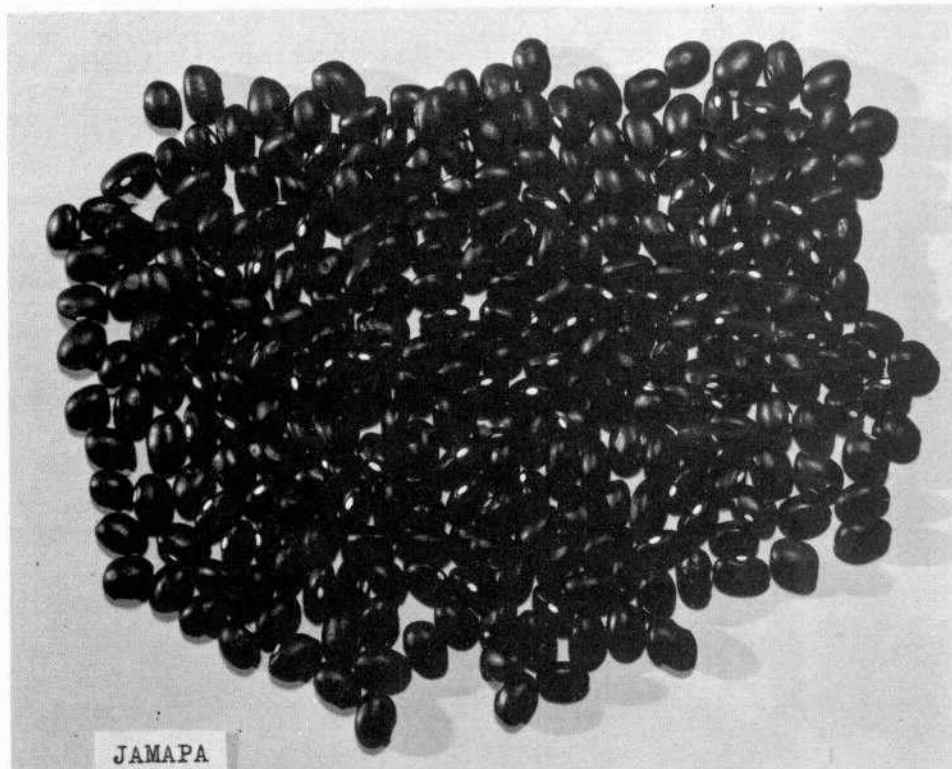


Frijol Jamapa, seleccionado en Veracruz, México, y que ahora sirve como testigo permanente en los ensayos regionales en Centroamérica.



conviene efectuar las pruebas en zonas ecológicas aptas para el cultivo del frijol y emplear las prácticas culturales que normalmente se recomiendan en plantaciones comerciales.

#### Literatura Citada

1. Crispín, M. A. Avances logrados en las investigaciones sobre el cultivo del frijol en México. In: Programa Cooperativo Centroamericano de Mejoramiento del Frijol. 2a. Reunión Centroamericana, San Salvador, El Salvador, 12-15 Marzo 1963. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA.
2. Echandi, E. Programa Regional de Frijol para Centroamérica. Extensión en las Américas 11(4): 29-33. 1966.
3. Gutiérrez, G. M. Resumen regional del ensayo cooperativo de frijol en 1965. In: Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos Alimenticios. XII Reunión Anual Managua, Nicaragua, Marzo 28-Abril 2, 1966.
4. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. PCCMCA. Mejoramiento del Frijol. 3a. Reunión Centroamericana, Antigua, Guatemala. 2-4 Marzo 1964. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, Costa Rica. Publicación Miscelánea 22.
5. International Crop Improvement Association. Minimum seed certification standards. Publication No. 20. Washington, D. C. 1963. 128 p.
6. Miranda C., S. Mejoramiento del frijol en México. Folleto Misceláneo No. 13. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, S.A.G. México. 1966. 36 p.
7. Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos Alimenticios. XIa. Reunión. Panamá, 16-19 Marzo 1965.
8. ———. XIIa. Reunión Anual, Managua, Nicaragua, Marzo 28-Abril 2 de 1966.
9. Pinchinat, A. M. El cultivo del frijol en Centroamérica. Extensión en las Américas. 11(2):27-32. 1966.
10. Vieira, C. "Rico-23". Nova variedade de feijao preto para a zona de Mata, Minas Gerais. Revista Ceres 11(61):22-26. 1959.
11. ———. Melhoramento de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no Estado de Minas Gerais. II. Esaios comparativos de variedades realizadas no periodo de 1962-1965. Revista Ceres 13(73):53-65. 1966.

## IDENTIFICACION DE BACTERIAS PATOGENAS EN FRIJOL\*

JOSE MIGUEL FERNANDEZ E.\*\*

### Introducción

En los últimos años las enfermedades bacteriales del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), han sido uno de los factores limitantes en su producción económica,

tanto en Costa Rica como en diferentes partes del mundo. Las bacterias patógenas que causan estas enfermedades son varias y entre ellas las más importantes son: *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) Dowson, *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* (Burkholder) Starr y Burkholder, *Pseudomonas phaseolicola* (Burkholder) Dowson y *Corynebacterium flaccumfaciens* (Hedges) Dowson (3). Todas estas enfermedades cau-

\* Trabajo presentado en la Universidad de Costa Rica como requisito parcial para optar el título de Ingeniero Agrónomo.

\*\* Comunicación personal.

san daños y pérdidas por varios millones de dólares, al infectar parcial o totalmente las grandes plantaciones de frijol (3).

En Costa Rica, Eddie Echandi y Luis Carlos González\*\* han encontrado serios ataques en plantaciones de frijol, comerciales y experimentales, cuya sintomatología hizo sospechar un ataque por bacterias, lo que se corroboró después mediante pruebas rápidas de laboratorio.

#### Materiales y Métodos

Durante la estación lluviosa se colectaron en siembras comerciales hojas de plantas jóvenes que presentaban manchas sintomáticas de infección por bacterias y se agruparon de acuerdo a la zona ecológica y el tipo de lesión.

Estas hojas se lavaron primero con agua destilada y después con alcohol etílico al 70%; se cortaron y maceraron pequeñas secciones de hoja al borde de la

lesión y este macerado se diluyó en PDA (papa-agar-dextrosa) y se virtió en platos Petri y se incubaron a 28-30°C. Después de unos días de incubación se obtuvieron colonias aisladas de las cuales se seleccionaron las más predominantes para efectuar la pruebas posteriores.

Según la clasificación de Holdridge (2) las muestras procedían de tres zonas ecológicas distintas donde se siembra frijol en el país: Turrialba (Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, bosque subtropical muy húmedo), Alajuela (Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno, bosque subtropical húmedo) y Guanacaste (Cañas, bosque tropical seco); el total de muestras fue de 15.

#### Resultados y discusión

Una vez obtenida suficiente cantidad de inóculo de las bacterias aisladas en cultivos puros se procedió

CUADRO 1. RESULTADO DE LOS ESTUDIOS CON BACTERIAS.

CARACTERISTICAS	AISLAMIENTOS						XANTHOMONAS PHASEOLI	X. PHASEOLI VAR. FUSCANS	PSEUDOMONAS PHASEOLICOLA	CORINEBACTERIUM FLACCUMFACIENS
	1	2	3	4	5	6				
TINCION DE GRAM	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
FLAGELOS	uno POLAR	uno POLAR	uno POLAR	uno POLAR	uno POLAR	uno POLAR	uno POLAR	uno POLAR	uno POLAR	uno POLAR
LICUEFACCION DE LA GELATINA	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI LENTO	SI LENTO
ACCION SOBRE LECHE LITMUS	COAG.* y PEPT.**	COAG. y PEPT.	COAG. y PEPT.	COAG. y PEPT.	COAG. y PEPT.	COAG. y PEPT.	COAG. y PEPT.	CLARI- FICA no COAG.	CLARI- FICA no COAG.	COAG. y PEPT.
REDUCCION DE NITRATOS	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
PRODUCCION DE INDOL	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO
PRODUCCION DE H <sub>2</sub> S	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO
HIDROLISIS DEL ALMIDON	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI LIGE- RA
UTILIZACION DEL CITRATO	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	-x-	-x-	-x-

\* Coagulación.

\*\* Peptonización.

CUADRO 2. RESULTADO DE LOS ESTUDIOS CON BACTERIAS

FUENTES DE CARBONO	AISLAMIENTO						XANTHOMAS PHASEOLI	X. PHASEOLI var. FUSCANS	PSEUDOMONAS PHASEOLICOLA	CORINEBACTERIUM FLACCUMFACIENS
	1	2	3	4	5	6				
GLUCOSA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GALACTOSA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
FRUCTUOSA	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
ARABINOSA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
XILOSA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
MALTOSA	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
LACTOSA	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
SACAROSA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
RAFINOSA	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
GLICEROL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MANITOL	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-

a probar su patogenicidad mediante inoculación a plantas sanas de frijol.

Se probaron tres métodos de inoculación: 1) Sumersión de semillas, germinadas por dos días, en una suspensión bacteriana por intervalos variables de tiempo; 2) Punzada de las hojas con alfileres previamente sumergidos en una suspensión bacteriana; y 3) Aspersión de las hojas con una suspensión de bacterias.

En todos los casos se usaron plantas jóvenes en estado de rápido crecimiento e inmediatamente después de inoculadas se colocaron en cámara húmeda por 3 días.

Mediante el primer sistema de inoculación no se desarrollaron síntomas de la enfermedad; mediante el segundo se desarrollaron a los 20-30 días y mediante el tercero se desarrollaron a los 6-8 días después de la inoculación, por lo que se siguió usando este método para las pruebas posteriores de patogenicidad.

Se procedió a inocular cuatro de las variedades más usadas y recomendadas en nuestro país para siembras comerciales: Mex-24, Col-109, Jamapa y S-182-N; todas desarrollaron síntomas de la enfermedad a los 6 días de inoculadas sin mostrar variación en cuanto al desarrollo y tamaño de las lesiones. Se hicieron reaislamientos de las plantas inoculadas y durante el trabajo subsiguiente se inocularon y reaislaron periódicamente. Se mantuvieron 6 aislamientos puros de bacterias de patogenicidad comprobada (2 de cada zona), con los cuales se efectuaron los siguientes estudios culturales, morfológicos, fisiológicos y de actividad bioquímica: Tinciones con Rojo Congo, Azul de Metileno, Carbol-fucsina de Ziel, de Gram y de Flagelos; apariencia de las colonias en agar infusión de carne; características del cultivo en PDA y en

caldo nutritivo; crecimiento en gelatina, acción sobre nitratos, acción sobre triptofano (producción de indol), hidrólisis del almidón, acción sobre compuestos del carbono, acción sobre la leche de litmus, utilización del citrato y acción sobre peptona (producción de H<sub>2</sub>S y de NH<sub>3</sub>). Los resultados se presentan en los Cuadros 1 y 2.

Todos los aislamientos coincidieron con las características del género *Xanthomonas* descritas por Elliot (1), en cuanto a la producción de un pigmento amarillo insoluble en agua y las características de la colonia. Se elimina la probabilidad de *Corynebacterium flaccumfaciens* por ser este Gram positivo, por no producir H<sub>2</sub>S y no utilizar la arabinosa, xilosa y rafinosa.

Todos los aislamientos coagularon y peptonizaron la leche de litmus, produjeron H<sub>2</sub>S, utilizaron la fructuosa y la maltosa y no utilizaron el manitol; propiedades que diferencian a *Xanthomonas phaseoli* de *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans*; por lo tanto los seis aislamientos estudiados se identifican como *Xanthomonas phaseoli*. Esta parece ser una de las bacterias de mayor incidencia en nuestro país y que ha causado las mayores pérdidas en los últimos años.

#### Literatura Citada

1. Elliot, C. Manual of Bacterial Plant Pathogens. 2a. ed. Ed. Waltham, Mass. U.S.A. 1951. 186 p.
2. Holdridge, L. R. y Tossi, J. A. Ecological Map of Costa Rica. Tropical Science Center. 1965.
3. Zaumeyer, W. J. y Thomas, H. R. A monographic study of bean diseases and methods for their control. U.S.D.A. Technical Bulletin No. 868. 1957.