

BIBLIOTECA WILSON ROPERON
ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA
APARTADO 68
TEGUIGALPA, HONDURAS

Caracterización de aislamientos de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* y evaluación de fuentes de resistencia a la bacteriosis común del frijol

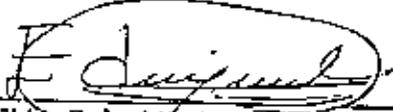
Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero
Agrónomo en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Elder Reinaldo Argeñal Gudiel

Zamorano, Honduras
Abril, 1999

El autor concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor


Elder Reinaldo Argeñal Gudiel

Zamorano, Honduras
Abril, 1999

DEDICATORIA

A Dios que nos ilumina cada día y que hace de su luz el camino que guía nuestro pasos a través de la vida.

A mis padres que siempre han guiado mis pasos hacia el bien.

A mi familia que siempre se mantiene unida.

A mi patria Honduras que me vió nacer.

A la memoria de mi abuela Zoila Rosa Argeñal, a quien siempre recuerdo con amor.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primer lugar a Dios ya que sin su ayuda no hubiera sido posible la realización de mi trabajo.

A la Ing. Aracely Castro por su apoyo y colaboración en todo momento durante la realización de mi proyecto.

Al Dr. Juan Carlos Rosas por su ayuda y apoyo para lograr llevar a cabo mi proyecto.

A la Dra. María Mercedes Doyle por apoyarme y brindarme su ayuda durante la elaboración de mi proyecto.

A mi madre por su apoyo incondicional y por su amor y entrega hacia mí.

A mi padre por su amor, su apoyo incondicional y por ser mi verdadero amigo.

A mis hermanas por su amor y por estar siempre conmigo.

A mi novia por su amor y por apoyarme siempre.

A mi tío Danilo por su apoyo y por su valiosa ayuda.

A mi tío Cheyito por estar siempre apoyándome.

A toda mi familia por su apoyo y por los buenos consejos especialmente de mi abuela Blanca.

A mis compañeros y amigos por su apoyo y por compartir tantos momentos.

A los Ing. Naím Valladares y Edwin Flores por su apoyo en la realización de mi proyecto.

A Tomasa Colindres, a Luz Henriquez, a Roger Ramos y a todo el personal del Programa de Investigaciones en Frijol por su amistad y apoyo.

RESUMEN

Argeñal, Elder 1999. Caracterización de aislamientos de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* y evaluación de fuentes de resistencia a la bacteriosis común del frijol. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras.

El presente estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Programa de Investigaciones en Frijol del Departamento de Agronomía de la Escuela Agrícola Panamericana/Zamorano, Honduras. El propósito principal de este estudio fue caracterizar la variabilidad y virulencia de aislamientos de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (*Xcp*) recolectados en Honduras, y con ellos evaluar diversas fuentes de resistencia de germoplasma de frijol a la bacteriosis común. En la primera parte del estudio se realizaron pruebas de virulencia de aislamientos de muestras recolectadas en Honduras mediante la inoculación de plantas de genotipos susceptibles y resistentes empleando el método de penetración de bacterias a través de heridas provocadas con un instrumento de agujas múltiples; en la segunda parte se determinó el valor para mejoramiento de 23 fuentes de germoplasma de frijol resistentes a la bacteriosis común, utilizando inoculaciones con los aislamientos virulentos identificados en la primera etapa. Se encontró que los aislamientos más virulentos que permitieron identificar las mejores fuentes de resistencia fueron EAP 9503, 9504 y 9506, ya que mostraron un alto nivel de patogenicidad tanto en invernadero como en el campo. En la evaluación de las fuentes de resistencia en el campo, el genotipo SEL 1309 fue el mejor en las dos inoculaciones, mostrando niveles de resistencia (1-3) en la escala de (1-9) para la primera y segunda inoculación, respectivamente. La caracterización de aislamientos virulentos de diferentes localidades, métodos de inoculación definidos y evaluaciones correctas en las etapas indicadas, son pasos muy importantes en la identificación de fuentes de resistencia a la bacteriosis común, considerando siempre la inestabilidad que presentan algunos genotipos en su expresión fenotípica de reacción a *Xcp*.

Palabras claves: germoplasma de frijol, inoculación, virulencia, evaluación.

Nota de Prensa

RESISTENCIA GENETICA, UNA FORMA EFECTIVA PARA CONTROLAR LA BACTERIOSIS COMUN DEL FRIJOL

En un reciente estudio realizado en la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras, se encontró que utilizar diferentes aislamientos del agente causante de la bacteriosis común del frijol (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*) permite hacer evaluaciones de diversas líneas de frijol que pueden ser usadas en programas de mejoramiento genético como fuentes de resistencia a la enfermedad.

La bacteriosis o tizón común, como también se le conoce, es una de las enfermedades que causa más daño a la producción de frijol en casi todos los países donde se cultiva esta leguminosa de grano. En Honduras, esta enfermedad ataca al cultivo en la mayoría de las zonas frijoleras, causando pérdidas en rendimiento superiores al 40 % en las variedades comerciales susceptibles.

Considerando este problema, se desarrolló un estudio entre mayo y diciembre de 1998, donde se emplearon aislamientos de la bacteria obtenidos a partir de muestras de frijol infectadas que se recolectaron de diferentes localidades del país con el propósito de seleccionar los mejores (más virulentos).

Una vez seleccionados los mejores aislamientos, estos se utilizaron para evaluar líneas de frijol, haciendo en ellas inoculaciones con estos aislamientos mediante un método utilizando un instrumento de punción múltiple o agujas múltiples, el cual consiste en punzar la hoja de la planta con un inoculador que tiene varias agujas sobre una esponja que contiene la suspensión bacteriana.

Un mecanismo importante de infección por bacterias es la penetración a través de heridas. Un instrumento de punción múltiple impregnado con una solución bacteriana, permite la entrada a las bacterias en el tejido susceptible.

Después de dos semanas aproximadamente y una vez desarrollados los síntomas de la enfermedad, se evaluó la reacción a la inoculación con la bacteria presentada por las líneas para identificar las más resistentes de acuerdo a una escala. El nivel de resistencia de las líneas fue comparada contra dos testigos, uno resistente y uno susceptible.

En el estudio se encontró que los aislamientos EAP 9503, 9504 y 9506 son aptos para evaluar fuentes de resistencia a la bacteriosis común y se determinó que las líneas SEL 1309, XAN 112 y otras más pueden ser empleadas en programas de mejoramiento como fuentes de resistencia a la enfermedad.

Finalmente se recomienda la realización de estudios para identificar los genes de resistencia a la bacteria en las diferentes líneas de frijol, ya que esto permitirá determinar la estabilidad de esos genes en la expresión de la resistencia y su valor genético para mejorar la resistencia a la bacteriosis común en variedades comerciales de frijol.

CONTENIDO

| | |
|--|------|
| Portadilla | i |
| Autoría | ii |
| Página de firmas..... | iii |
| Dedicatoria..... | iv |
| Agradecimientos..... | v |
| Agradecimiento a patrocinadores..... | vi |
| Resumen | vii |
| Nota de prensa..... | viii |
| Contenido..... | x |
| Índice de cuadros..... | xii |
| Índice de anexos..... | xiii |
| | |
| 1. INTRODUCCION..... | 1 |
| | |
| 2. REVISION DE LITERATURA..... | 3 |
| 2.1 GENERALIDADES DEL CULTIVO DEL FRIJOL..... | 3 |
| 2.2 LA BACTERIOSIS COMUN DEL FRIJOL..... | 3 |
| 2.3 DESCRIPCION DEL PATOGENO DE LA BACTERIOSIS COMUN DEL FRIJOL..... | 4 |
| 2.4 FORMAS Y METODOS DE CONTROL DE LA BACTERIOSIS COMUN DEL FRIJOL..... | 4 |
| 2.5 ESTUDIOS DE CARACTERIZACION DE AISLAMIENTOS DE <i>Xcp</i> | 5 |
| 2.6 METODOS DE INOCULACION DE <i>Xcp</i> | 5 |
| 2.7 EVALUACION DE FUENTES DE RESISTENCIA..... | 6 |
| | |
| 3. MATERIALES Y METODOS..... | 8 |
| 3.1 UBICACION DEL ESTUDIO..... | 8 |
| 3.2 ETAPAS DEL ESTUDIO..... | 8 |
| 3.3 PRUEBA DE PATOGENICIDAD..... | 8 |
| 3.4 EVALUACION DE FUENTES DE RESISTENCIA..... | 9 |
| 3.4.1 INOCULACIONES..... | 11 |
| 3.4.2 EVALUACION DE SINTOMAS..... | 11 |
| 3.4.3 ANALISIS ESTADISTICO..... | 11 |

| | | |
|-------|---|----|
| 4. | RESULTADOS Y DISCUSION..... | 12 |
| 4.1 | PRUEBA DE PATOGENICIDAD..... | 12 |
| 4.2 | EVALUACION DE FUENTES DE RESISTENCIA..... | 14 |
| 4.2.1 | PRIMERA INOCULACION..... | 14 |
| 4.2.2 | SEGUNDA INOCULACION..... | 16 |
| 5. | CONCLUSIONES..... | 20 |
| 6. | RECOMENDACIONES..... | 21 |
| 7. | BIBLIOGRAFIA..... | 22 |
| 8. | ANEXOS..... | 25 |

INDICE DE CUADROS

Cuadro

| | | |
|----|---|----|
| 1. | Identificación y procedencia de los aislamientos de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> (<i>Xcp</i>) utilizados en el estudio de patogenicidad..... | 8 |
| 2. | Fuentes de resistencia a la bacteriosis común utilizados en los estudios de la reacción a cuatro aislamientos hondureños de <i>Xcp</i> | 10 |
| 3. | Diferencias entre promedios de reacción de dos genotipos inoculados con siete aislamientos en la prueba de patogenicidad de aislamientos hondureños de <i>Xcp</i> | 12 |
| 4. | Diferencias de medias de la reacción de los genotipos XAN 155 y Catrachita a la inoculación con siete aislamientos hondureños de <i>Xcp</i> (interacción G x A)..... | 13 |
| 5. | Reacción de 23 fuentes de resistencia de frijol y dos testigos a la inoculación con dos aislamientos hondureños de <i>Xcp</i> | 14 |
| 6. | Clasificación de las fuentes de resistencia y los testigos según su reacción a la inoculación con los aislamientos hondureños EAP 9503 y 9504 de <i>Xcp</i> | 15 |
| 7. | Reacción de 23 fuentes de resistencia de frijol y dos testigos a la inoculación con dos aislamientos hondureños de <i>Xcp</i> | 16 |
| 8. | Reacción promedio de 23 fuentes de resistencia y dos testigos a la inoculación con cuatro aislamientos hondureños de <i>Xcp</i> (interacción A x G)..... | 18 |
| 9. | Clasificación de las fuentes de resistencia y los testigos según su reacción a la inoculación con los aislamientos hondureños EAP 9505 y 9506 de <i>Xcp</i> | 19 |

INDICE DE ANEXOS

Anexo

| | | |
|----|--|----|
| 1. | Composición química del medio de crecimiento YCDA para <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> | 26 |
| 2. | Análisis de varianza para la prueba de patogenicidad de siete aislamientos hondureños de <i>Xcp</i> | 27 |
| 3. | Análisis de varianza para los resultados de la primera inoculación..... | 28 |
| 4. | Análisis de varianza para los resultados de la segunda inoculación..... | 29 |

1. INTRODUCCION

La bacteriosis o tizón común es una de las enfermedades de mayor importancia en la producción del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en casi todos los países donde se cultiva esta leguminosa de grano. El agente causal de la enfermedad, la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (*Xcp*), ataca las hojas de la planta destruyendo hasta un 50% del área foliar (PROFRJOL, 1996) y reduciendo su capacidad fotosintética. También puede atacar vainas y granos, lo que reduce la sanidad y el valor comercial de la semilla.

Esta enfermedad ataca al cultivo en la mayoría de las zonas frijoleras de Honduras, reportándose pérdidas de rendimiento superiores al 40% en las variedades comerciales susceptibles usadas en el país (Serracín *et al.*, 1991).

Debido a la variabilidad del patógeno, en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) se han utilizado aislamientos de alta virulencia para determinar resistencia en el cultivo del frijol (PROFRJOL, 1996). Trabajos similares respaldan la importancia de emplear un amplio rango de aislamientos de *Xcp* cuando se desea evaluar la resistencia de los genotipos a la bacteriosis común, pues aunque no se han identificado razas fisiológicas del patógeno, su variabilidad ha dificultado el desarrollo de variedades resistentes y la posibilidad de utilizarlas en áreas diferentes a las que fueron desarrolladas.

La importancia del presente trabajo radica en que, considerando que esta enfermedad causa daños severos en el cultivo de frijol en diferentes zonas de Honduras, es necesario caracterizar aislamientos de *Xcp* y evaluar la reacción de genotipos seleccionados a aislamientos con alta virulencia, para identificar fuentes de resistencia que permitan desarrollar variedades comerciales con niveles de resistencia adecuados y estables para la producción de frijol en presencia de este problema.

El presente estudio contribuirá a proporcionar información sobre la enfermedad en Honduras, y brindará resultados concretos para la selección de materiales a ser empleados en programas de mejoramiento como fuentes de resistencia a la enfermedad. El propósito principal de esta investigación fue caracterizar la variabilidad y virulencia de aislamientos de *Xcp* recolectados en Honduras, y con ellos evaluar diversas fuentes de resistencia de germoplasma de frijol a la bacteriosis común. En la primera parte del estudio se realizaron pruebas de virulencia de aislamientos de muestras colectadas en lotes comerciales de frijol en diversas localidades de Honduras mediante la inoculación de plantas de genotipos susceptibles y resistentes empleando el método de penetración de bacterias a través de heridas provocadas con un instrumento de agujas múltiples. En la segunda parte, se determinó el valor para mejoramiento de 23 fuentes de germoplasma de

frijol reportadas como resistentes a la bacteriosis común, utilizando inoculaciones con los aislamientos virulentos identificados en la primera etapa.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 GENERALIDADES DEL CULTIVO DEL FRIJOL

Entre los granos básicos, el frijol es uno de los más importantes por su contribución de proteína en la alimentación humana. El cultivo se encuentra distribuido en la región que comprende América Central, México y El Caribe, siendo su consumo per cápita alto en Nicaragua y bajo en Belice, Cuba, Jamaica y Panamá. En esta región, la preferencia es por los granos de color rojo y negro, aunque también se consumen los de color rosado, rojo moteado, crema y amarillo (Araya *et al.*, 1995).

El país con mayor superficie sembrada y producción de frijol es México, con cerca de dos millones de hectáreas cultivadas y una producción de más de un millón de toneladas de grano, mientras que Panamá y Belice son los países de menor área de siembra y producción. La productividad más alta del cultivo se obtiene en Panamá y Jamaica, mientras que la más baja en Cuba.

2.2 LA BACTERIOSIS COMÚN DEL FRIJOL

Una de las principales enfermedades que ataca al cultivo del frijol es la bacteriosis común, la que se desarrolla en climas calientes y húmedos y puede causar la pérdida total de la producción. La enfermedad es causada por la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Xcp), también conocida con los nombres de quema, añublo y tizón común (EAP, 1996).

La bacteriosis común del frijol ataca al cultivo en la mayoría de las zonas frijoleras de América Latina con ambientes favorables para el desarrollo de la enfermedad, donde se han reportado pérdidas en el rendimiento superiores al 40% en las variedades comerciales más susceptibles (Rosas, 1998). También ha sido reportada en la mayoría de los países de Europa y África (CIAT, 1985).

Las altas temperaturas y la alta humedad relativa favorecen el desarrollo de la enfermedad, observándose mayor daño en el cultivo a temperaturas de 28 °C (Serracín *et al.*, 1991). Bajo estas condiciones se han reportado pérdidas en el rendimiento de hasta 45% en Colombia, 20% en Estados Unidos y 38% en Canadá.

El patógeno causante de la enfermedad tiene varios hospedantes principales, entre ellos varias especies del género *Phaseolus*, *Glycine max*, y algunas leguminosas forrajeras (CIAT, 1985).

2.3 DESCRIPCIÓN DEL PATÓGENO DE LA BACTERIOSIS COMUN DEL FRIJOL

La bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* produce células individuales en forma de varillas rectas, que se mueven por medio de un flagelo polar. Es una especie gram-negativa estrictamente aeróbica, cuyas bacterias miden 1.9×0.87 micras. A nivel de laboratorio el organismo crece muy bien en medio papa dextrosa agar nutriente. En medios conteniendo levadura y dextrosa produce colonias amarillas. Colonias creciendo en extracto de carne agar son circulares, de color amarillo a ámbar, de aspecto mucoso, suave y con bordes enteros (Castaño y Del Río, 1994).

El patógeno puede atacar tanto el follaje como las vainas. Los síntomas foliares aparecen como puntos acuosos en el envés de la hoja, los que aumentan de tamaño y van adquiriendo forma irregular, y que muchas veces coalescen para formar una lesión más grande. Estas áreas se notan llácidas y rodadas por un borde angosto color amarillo limón que al necrosarse se vuelve color café, llegando muchas veces a cubrir un área bastante grande de la hoja. Frecuentemente, también se observa en el envés de la hoja un exudado bacteriano que inicialmente es de color amarillo pero que al secarse se toma negro, dando la impresión de ser costras delgadas sobre el tejido necrosado. En las vainas, los síntomas iniciales son manchas húmedas muy pequeñas que gradualmente adquieren color café, tornándose oscuras con bordes rojizos y levemente deprimidos. Estas lesiones coalescen cubriendo extensas áreas en la vaina y muchas veces mostrando exudado bacteriano (CIAT, 1985). Ocasionalmente también se puede observar una reducción del diámetro y pudrición en la unión del nudo cotiledonario, lo que provoca la quebradura del tallo (CIAT, 1982).

Un aspecto muy importante a conocer sobre la bacteriosis es cómo se disemina, siendo la semilla contaminada su forma más efectiva de transmisión y sobrevivencia. Algunas bacterias encontradas en semillas infectadas conservaron su patogenicidad hasta por un periodo de tres años (Castaño y del Río, 1994).

La enfermedad también se transmite por la lluvia, el viento, partículas de polvo, insectos, implementos agrícolas y por el hombre (EAP, 1996). También se transmite por los residuos de cosecha, donde es capaz de sobrevivir (Serracín et al., 1991).

2.4 FORMAS Y METODOS DE CONTROL DE LA BACTERIOSIS COMUN DEL FRIJOL

Entre los métodos usados para prevenir y/o controlar la enfermedad están el uso de semilla libre del patógeno, rotación con cultivos no susceptibles, eliminación de residuos de cosecha a fin de reducir el inóculo, aplicación de bactericidas y uso de variedades resistentes. En Honduras, las variedades Dorado (DOR 364), Don Silvio (DOR 482) y Tío Canela - 75, presentan resistencia intermedia a esta enfermedad (Rosas, 1998).

Aunque el control químico ha sido utilizado, su efecto no ha sido tan marcado en el control de la enfermedad. Los productos más utilizados son antibióticos y productos a base de cobre (Araya *et al.*, 1995); sin embargo, el uso de antibióticos no es recomendable debido al riesgo de generar cepas resistentes al producto (Castaño y Del Río, 1994).

El método más práctico y económico para controlar la enfermedad es el desarrollo de resistencia varietal, para lo cual es necesario llevar a cabo un programa de mejoramiento genético con el fin de tener acceso a los genes de resistencia a *Xcp* disponibles en los acervos genéticos del frijol. También se necesita tener métodos de inoculación y evaluación confiables que permitan seleccionar fuentes de germoplasma resistentes a la enfermedad, incluyendo padres, poblaciones segregantes y líneas avanzadas (CIAT, 1996).

2.5 ESTUDIOS DE CARACTERIZACION DE AISLAMIENTOS DE *Xcp*

Un paso muy importante al evaluar germoplasma de frijol por su reacción a la bacteria *Xcp* es caracterizar aislamientos de la misma, con base en su nivel de patogenicidad. En un trabajo realizado con 12 aislamientos provenientes de tejidos con síntomas de *Xcp* produjeron crecimientos bacterianos en el medio de cultivo YCDA, destacándose dos de ellos por la tinción marrón presente en el medio (PROFRIJOL, 1996). Una vez transferido en el medio semiselectivo MXP (Clafin *et al.*, 1987), se observaron colonias amarillas que hidrolizaban al almidón. Este resultado permitió clasificar los aislamientos como bacterias del género *Xanthomonas*, de las cuales 10 se catalogaron como *X. campestris* pv. *phaseoli* (E.F. Smith Dye) y 2 como *X. campestris* pv. *phaseoli* var. *fuscans* (Burkh) Starr and Burkh. Luego se realizaron pruebas de patogenicidad con los aislamientos obtenidos, encontrándose en la primera evaluación que con la variedad susceptible BAT 41 los aislamientos más agresivos fueron el 530, 535, 527 y 526, mientras que el resto mantuvo valores intermedios de virulencia. En la segunda evaluación estos aislamientos mostraron un comportamiento similar pero alcanzando valores más altos, lo que demuestra una alta virulencia relacionada con la fecha de evaluación y el genotipo. En Puerto Rico se evaluaron bajo condiciones de invernadero, 30 materiales de diferente origen por su reacción a seis cepas de *Xcp* (PROFRIJOL, 1996). Se hicieron dos evaluaciones a los 14 y 21 días después de la inoculación, observándose diferente reacción a cada una de las cepas inoculadas y entre las fechas de evaluación.

En trabajos reportados por Yoshii *et al.* (1978), se inocularon aislamientos de *Xcp* de Colombia y Estados Unidos en germoplasma del CIAT encontrándose diferencia en la patogenicidad de los aislamientos, resultando más virulentos los de Colombia.

2.6 METODOS DE INOCULACION DE *Xcp*

Para evaluar la resistencia del frijol a *Xcp* se han utilizado muchos métodos artificiales de inoculación, pero con ninguno de ellos se ha reportado una reacción de inmunidad al patógeno aunque sí numerosas líneas con resistencia intermedia antes referidas como tolerantes (CIAT, 1985).

En trabajos recientes (CIAT, 1996), se evaluó la reacción de varios genotipos de frijol efectuando la inoculación de *Xcp* con los métodos de cuchillas y aspersión. El método de cuchillas consistió en hacer dos incisiones paralelas con hojas para bisturí a los tres folíolos de la primera o segunda hoja trifoliada, al tiempo que se humedecía la herida con una espuma conteniendo una solución con la bacteria a una concentración de 5×10^7 células/ml. Se realizaron dos inoculaciones, la primera a los 20 días después de la siembra y la segunda ocho días después. El método de aspersión consistió en aplicar al follaje de las plantas una solución con bacteria, de igual concentración al método anterior, utilizando una bomba de espalda con alta presión de salida, y 4 inoculaciones a partir de los 20 días después de siembra.

Otros métodos utilizados para la inoculación envuelven multiagujas, donde la fuente de inóculo es una esponja que se mantiene dentro de una pequeña taza metálica, impregnada con una solución conteniendo la bacteria (CIAT, 1988). La inoculación también se hace por los métodos de laceración en los tejidos y aspersión a presión con arena impregnada de inóculo. Este último permite una mejor evaluación de diferencias en respuesta a la inoculación del patógeno, debido a que el tejido no sufre mayor daño mecánico (Zapata *et al.*, 1985).

2.7 EVALUACION DE FUENTES DE RESISTENCIA A *Xcp*

Una vez realizadas las inoculaciones debe evaluarse la reacción de los genotipos a la enfermedad. Para ello, se usa entre otras la escala estándar de 1 a 9 sugerida por el CIAT (1987), donde 1 significa plantas sin síntomas visibles de enfermedad y 9 significa plantas con más del 25% del área foliar cubierta por lesiones grandes y necróticas que coalescen y ocasionan defoliación de la planta. Las plantas se clasifican como resistentes si su reacción a la enfermedad es de 1 a 3, intermedias de 4 a 6, y susceptibles de 7 a 9. Normalmente las evaluaciones se realizan durante las etapas R6 (floración) y R8 (llenado del grano) del cultivo (Rosas, 1998).

Las dificultades para evaluar la reacción al patógeno se deben a que la resistencia de las hojas y las vainas se heredan independientemente (Coyne y Schuster, 1983; Park y Dhanvantari, 1987); el largo del día afecta la susceptibilidad de algunos genotipos en ambientes diferentes (Webster *et al.*, 1983; Saettler, 1989); no existe uniformidad en los métodos de inoculación utilizados y algunos investigadores no han observado la reacción de inmunidad (sin síntomas) en los genotipos de *P. vulgaris* utilizados (Coyne y Schuster, 1983; Park y Dhanvantari 1987); existen diferencias en virulencia (Schuster y Coyne, 1981; Saettler, 1989); y existen poblaciones epífitas del patógeno (Saettler, 1989; Ishimaru *et al.*, 1991).

Es evidente que se han logrado avances sustanciales con el transcurso del tiempo en la reacción de tolerancia de genotipos, mediante la piramidación de genes provenientes de diferentes fuentes de resistencia a la enfermedad. Algunas líneas XAN (antes de 1992) y VAX (después de 1992) desarrolladas en el CIAT, han sido reportadas como las de mayor

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE MEXICO
 AGUILA ABOGADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
 REAGENCIA DE AGROPECUARIAS

resistencia a *Xcp*. El desempeño de las líneas VAX 3, VAX 4 y VAX 6 es digno de mención por su reacción a esta enfermedad, ya que en todos los estudios sus plantas han sido reportadas con reacción menor que 2.5, con base en la escala estándar mencionada (CIAT, 1996).

En el CIAT ha sido posible identificar líneas generadas por el programa de mejoramiento resistentes a la bacteriosis común. En este grupo destacan las líneas XAN, de las cuales algunas han sido evaluadas extensamente en muchas localidades donde la bacteriosis común es endémica. Más recientemente han sido reportadas por el CIAT nuevas líneas XAN procedentes de cruza interespecíficas entre *Phaseolus vulgaris* y *P. acutifolius*, realizadas en la Universidad de California, que tienen niveles muy altos de resistencia a la bacteriosis común (CIAT, 1985).

También se ha comparado la reacción a *Xcp* observada en líneas obtenidas de cruzamientos interespecíficos entre *Phaseolus vulgaris* y *P. acutifolius* y entre *P. vulgaris* y *P. coccineus* (CIAT, 1996). Las líneas obtenidas de la cruce con *P. acutifolius* presentaron en promedio reacciones intermedias, mientras que las obtenidas con *P. coccineus* presentaron reacciones que van desde intermedias hasta susceptibles. Las líneas mejoradas de *P. vulgaris* utilizadas como testigos presentaron en su mayoría susceptibilidad, siendo la reacción de las mejores intermedia. También se alcanzó mayor estabilidad de la resistencia al eliminar familias segregantes susceptibles en cada generación. Así se seleccionaron en la generación F6 por su reacción a *Xcp*, las cuatro líneas reportadas con la más alta resistencia a bacteriosis común, VAX 3, VAX 4, VAX 5, y VAX 6 (PCCMCA, 1998).

En trabajos recientes se desarrollaron dos oligonucleótidos cebadores, que permiten la identificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del locus que determina en gran medida la expresión del fenotipo resistente a la bacteriosis común. Este locus forma parte de un fragmento cromosómico de longitud considerable (86.4 cM) proveniente de *P. acutifolius*, el cual en toda su longitud afecta considerablemente la expresión de la resistencia al ataque de *Xcp* en la línea SEL 1309. Es posible que su longitud sea la razón por la que se ha observado cierta inestabilidad en la expresión de la resistencia, tanto en XAN 159 como en sus progenies (Beebe y Pastor-Corrales, 1991).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 UBICACION DEL ESTUDIO

El presente estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Programa de Investigaciones en Frijol del Departamento de Agronomía de la Escuela Agrícola Panamericana/Zamorano, Honduras. El Zamorano es un valle del departamento de Francisco Morazán ubicado sobre la carretera Panamericana a 30 km de Tegucigalpa, capital de Honduras. Se encuentra a 800 metros sobre el nivel del mar, a 14° latitud norte y 81° longitud oeste, con una precipitación pluvial anual de 946 mm y una temperatura promedio de 22 °C.

3.2 ETAPAS DEL ESTUDIO

El estudio se realizó en dos etapas: 1) pruebas de patogenicidad en invernadero, con el fin de caracterizar la virulencia de los aislamientos; y 2) evaluación de fuentes de resistencia en camas de infección, con el propósito de confirmar el valor para mejoramiento de fuentes de resistencia a la bacteriosis común del frijol, usando aislamientos virulentos identificados en la primera etapa.

3.3 PRUEBA DE PATOGENICIDAD

Se realizaron las pruebas de patogenicidad necesarias para determinar la virulencia de siete aislamientos de la bacteria *Xcp*, procedentes de diferentes lugares de Honduras. Estos aislamientos fueron obtenidos en el Laboratorio de Investigaciones a partir de hojas de frijol infectadas recolectadas en lotes comerciales de producción de diversas localidades de Honduras (Cuadro 1).

Cuadro 1. Identificación y procedencia de los aislamientos de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* utilizados en el estudio de patogenicidad.

| Código | Procedencia |
|----------|--------------------------------|
| EAP 9502 | Orica, Francisco Morazán |
| EAP 9503 | Zamorano, Francisco Morazán |
| EAP 9504 | Guaimaca, Francisco Morazán |
| EAP 9505 | El Porvenir, Francisco Morazán |
| EAP 9506 | Namasigüe, Choluteca |
| GUINOPE | Güinope, El Paraíso |
| LA VEGA | Zamorano, Francisco Morazán |

En las pruebas se utilizaron las variedades NAN 155 y Catrachita, como testigos resistente y susceptible a la enfermedad, respectivamente, sembrándose maceteros con dos plantas cada uno. Previo a la siembra, los maceteros se llenaron con medio desinfectado compuesto de suelo, arena y compost en proporción 2:1:1.

Después de la emergencia de las plantas, se realizó una aplicación de insecticida y fertilización con la fórmula 20-20-20, para procurar un óptimo desarrollo de las plantas previo a la inoculación a los 14 días después de la siembra (DDS). La preparación del inóculo de cada aislamiento se realizó siguiendo la metodología sugerida por el CIAT (1981), resultando en una suspensión de crecimiento bacterial disuelto en agua destilada.

A las 72 horas antes de la inoculación (HAI), se reactivó la bacteria almacenada rastrillándola en platos petri con medio YCDA (extracto de levadura, CaCO_3 , dextrosa y agar) en proporción de 1:2 de platos rayados:platos utilizados en la inoculación. A las 48 HAI, las bacterias reactivadas se transfirieron mediante rastrillado a los platos petri a ser utilizados en la inoculación, los que fueron colocados en un incubador a 35 °C por 48 horas para obtener el crecimiento de colonias deseado. La reactivación y transferencia de bacterias se realizó bajo condiciones asépticas, empleando una cámara de flujo laminar e instrumentos estériles.

A una hora antes de la inoculación (14 DDS), se virtió agua destilada estéril en los platos petri que resultaron de la transferencia para utilizarlos en la inoculación y se rasparon cuidadosamente con rastrillo con el fin de separar el crecimiento bacterial del medio. Las colonias se colocaron en un beaker y este se llevó hasta 100 ml de agua destilada estéril para obtener una concentración final de la suspensión bacterial de 5×10^7 células bacteriales/ml.

Una vez listo el inóculo se procedió a realizar la inoculación empleando el método de punción múltiple, que consistió en presionar con un inoculador de agujas múltiples el folíolo central de la primera hoja trifoliada sobre una esponja contenida en un plato petri e impregnada de la suspensión bacterial.

Para la inoculación se utilizaron 56 plantas (28 maceteros con dos plantas cada uno por cada una de las dos variedades), inoculándose 8 plantas por aislamiento (cuatro maceteros de dos plantas cada uno). La evaluación se realizó a los 14 días después de la inoculación (DDI), en la etapa de desarrollo R4 (tercera hoja trifoliada), efectuando las lecturas del nivel de daño por *Xcp* mediante el uso de la escala 1-9 propuesta por el CIAT (1987).

3.4 EVALUACION DE FUENTES DE RESISTENCIA EN CAMAS DE INFECCION

En la segunda etapa se evaluó la reacción de 23 fuentes de germoplasma de frijol reportadas como resistentes a *Xcp* (Cuadro 2), a la inoculación con aislamientos virulentos de Honduras identificados en la etapa anterior.

La siembra de los genotipos se realizó en camas de infección de 24,6 x 1,2, las cuales contenían un medio compuesto por suelo y compost en proporción 4:1. Se sembraron surcos

con 10 plantas/genotipo, a una distancia de 10 cm entre plantas y 40 cm entre surcos, arreglados en un diseño de parcelas divididas en bloques completos al azar con dos repeticiones, donde la parcela principal estaba constituida por los aislamientos y la subparcela por los genotipos. Se utilizó los testigos Catrachita y XAN 155, susceptible y resistente a la enfermedad, respectivamente.

A la siembra se fertilizó con la fórmula 18-46-0, aplicando 0.3 kg por cama de 29.5 m² (101.6 kg/ha). Posteriormente se realizaron aplicaciones periódicas de los insecticidas Perfekthion, MTD-600, Basudín, Endosulfán y Evisect en dosis de 15, 30, 60 y 80 cc, y 25 g, respectivamente, para controlar crisomélidos, mosca blanca y raspadores.

Cuadro 2. Fuentes de resistencia a la bacteriosis común utilizados en los estudios de la reacción a cuatro aislamientos hondureños de *Xep*.

| Nº | Identificación | Hábito | Color | Tamaño | Raza |
|----|-----------------------------|--------|------------------|---------|---------------|
| 1 | AFR 362 | 3 | Rosado moteado | Mediano | Nueva granada |
| 2 | AFR 603 | 3 | Rosado moteado | Mediano | Nueva granada |
| 3 | CORNELL 10392 BULK | 1 | Rosado brillante | Grande | Nueva granada |
| 4 | WILK 2 | 1 | Blanco opaco | Mediano | Nueva granada |
| 5 | XAN 159 | 1 | Crema jaspeado | Mediano | Nueva granada |
| 6 | NY 79-3755-2 | 3 | Negro opaco | Pequeño | Mesoamérica |
| 7 | L 81-61 (JUTLAPA) | 3 | Negro opaco | Pequeño | Mesoamérica |
| 8 | PI 325761 | 3 | Rojo moteado | Pequeño | Mesoamérica |
| 9 | OREOL | 3 | Blanco opaco | Pequeño | Mesoamérica |
| 10 | RXAH-18274-C | 3 | Rojo brillante | Pequeño | Mesoamérica |
| 11 | XAN 91 | 2 | Gris opaco | Pequeño | Mesoamérica |
| 12 | XAN 112 | 2 | Negro opaco | Pequeño | Mesoamérica |
| 13 | XAN 266 | 3 | Negro opaco | Pequeño | Mesoamérica |
| 14 | XAN 273 | 3 | Negro opaco | Pequeño | Mesoamérica |
| 15 | XAN 280 | 3 | Negro opaco | Pequeño | Mesoamérica |
| 16 | XAN 285 | 3 | Negro opaco | Pequeño | Mesoamérica |
| 17 | XAN 286 | 3 | Rojo brillante | Pequeño | Mesoamérica |
| 18 | XR 16492 | 3 | Rojo opaco | Pequeño | Mesoamérica |
| 19 | XR 16633 | 3 | Negro opaco | Pequeño | Mesoamérica |
| 20 | G 17341 | 3 | Crema pintado | Pequeño | Mesoamérica |
| 21 | SEL 1309 | 2 | Morado | Pequeño | Mesoamérica |
| 22 | VAX 1 | 2 | Crema rayado | Pequeño | Mesoamérica |
| 23 | VAX 2 | 2 | Crema jaspeado | Pequeño | Mesoamérica |
| 24 | CATRACHITA (T. susceptible) | 2 | Rojo brillante | Pequeño | Mesoamérica |
| 25 | XAN 155 (T. resistente) | 2 | Rojo brillante | Pequeño | Mesoamérica |

En esta etapa se realizaron dos inoculaciones, utilizando los procedimientos de preparación del inóculo e inoculación descritos anteriormente.

3.4.1 Inoculaciones

La primera inoculación se realizó a los 14 DDS, inoculándose cinco plantas de cada genotipo con los aislamientos EAP 9503 y 9504, que fueron los más virulentos en el testigo susceptible Catrachita en la etapa de la prueba de patogenicidad.

La segunda inoculación se realizó a los 30 DDS utilizando los aislamientos EAP 9505 y 9506, que fueron los más virulentos en el testigo resistente XAN 155 en la etapa de la prueba de patogenicidad. Se inoculó de forma similar a los dos aislamientos anteriores, pero utilizando el foliolo central de la segunda hoja trifoliada más joven de la planta (parte terminal). Después de la inoculación se realizaron riegos nebulizados para proveer las condiciones favorables para el desarrollo de la bacteria.

3.4.2 Evaluación de los síntomas

La evaluación de la reacción de los genotipos a la inoculación con los aislamientos de *Xcp* se realizó a los 16 DDI, cuando los síntomas de la enfermedad estaban bien desarrollados, utilizando la escala del CLAT (1987).

3.4.3 Análisis estadístico

El análisis de los datos obtenidos se realizó con el programa estadístico MSTAT-CV. 2.1, efectuando análisis de varianza y separación de medias para identificar las fuentes más resistentes a los aislamientos virulentos de Honduras.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 PRUEBA DE PATOGENICIDAD

La diferencia en la reacción de los genotipos XAN 155 (resistente) y Catrachita (susceptible) a la inoculación con siete aislamientos de *Xcp* procedentes de seis localidades de Honduras, fué altamente significativa (Cuadro 3). Sin embargo, el valor promedio de la variedad susceptible no fue suficientemente alto en la escala (5.51), debido a que algunos aislamientos como EAP 9502 (2.33) y LA VEGA (1.00) no fueron suficientemente virulentos. La variedad resistente mostró un valor promedio ligeramente superior (3.70) al que corresponde a los grados de resistente en la escala (1-3).

Cuadro 3. Diferencias entre promedios de reacción de dos genotipos inoculados con siete aislamientos en la prueba de patogenicidad de aislamientos hondureños de *Xcp*.

| Factor | Reacción a <i>Xcp</i> | |
|--------------------------|-----------------------|---|
| Genotipo (G) | | |
| XAN155 (Resistente) | 3.70 | |
| Catrachita (Susceptible) | 5.51 | |
| ANDEVA | ** | |
| Aislamiento (A) | | |
| EAP 9502 | 2.33 | C |
| EAP 9503 | 6.69 | A |
| EAP 9504 | 5.98 | A |
| EAP 9505 | 6.25 | A |
| EAP 9506 | 6.44 | A |
| GÜINOPE | 3.56 | B |
| LA VEGA | 1.00 | D |
| ANDEVA | ** | |
| DMS (0.05) | 0.84 | |
| C.V (%) | 18.11 | |

** Altamente significativo al nivel de $P \leq 0.01$

La diferencia promedio en la reacción producida por los diferentes aislamientos en ambos genotipos también fue significativa, indicando que existen diferencias en su grado de virulencia. Según el análisis general, los aislamientos más virulentos fueron EAP 9503, 9504, 9505 y 9506, respectivamente, que no fueron distintos entre ellos. Los aislamientos menos virulentos fueron EAP 9502, GÜINOPE y LA VEGA.

La interacción Genotipo x Aislamiento (GxA) fue altamente significativa (Cuadro 4), lo que indica que la severidad de los síntomas observados depende no sólo del grado de virulencia del aislamiento sino también de la resistencia del genotipo.

Cuadro 4. Diferencias de medias de la reacción de los genotipos XAN155 y Catrachita a la inoculación con siete aislamientos hondureños de *Xcp* (interacción G x A).

| Aislamiento | Genotipo | | Promedio |
|----------------------------|----------|------------|----------|
| | XAN 155 | Catrachita | |
| EAP 9502 | 2.00 | FG | 2.65 |
| EAP 9503 | 5.00 | DE | 8.38 |
| EAP 9504 | 4.00 | E | 7.95 |
| EAP 9505 | 6.25 | BC | 6.25 |
| EAP 9506 | 5.63 | CD | 7.25 |
| GÜINOPE | 2.00 | FG | 5.13 |
| LA VEGA | 1.00 | G | 1.00 |
| Promedio | 3.70 | | 5.51 |
| ANDEVA (Interacción G x A) | | | |
| DMS | | | 1.19 |
| C.V. (%) | | | 18.11 |

** Altamente significativo al nivel de $P \leq 0.01$

El análisis estadístico indicó que en XAN 155 los aislamientos más virulentos fueron EAP 9505 y 9506, que no fueron distintos entre ellos; mientras que en el genotipo susceptible Catrachita fueron EAP 9503 y 9504, que tampoco fueron distintos entre ellos. Tanto XAN 155 como Catrachita mostraron el mismo nivel de reacción con respecto al aislamiento EAP 9505. El menor grado de reacción de los dos genotipos fue con el aislamiento LA VEGA, mostrando ambos el mismo nivel de reacción, lo que indica que su virulencia es muy baja por lo que no es apto para emplearlo en la validación de fuentes de resistencia. Aunque los aislamientos EAP 9502 y GÜINOPE fueron más virulentos que LA VEGA, tampoco mostraron un nivel de virulencia aceptable.

Aparentemente hay diferencias en la reacción de los genotipos testigos a los diferentes aislamientos, lo que sugiere que es necesario validar fuentes de resistencia a esta enfermedad usando más de un aislamiento virulento para evitar errores experimentales. Las mejores fuentes de resistencia serían las que mostraran resistencia a varios aislamientos virulentos, de preferencia colectados en diferentes regiones.

4.2 EVALUACION DE FUENTES DE RESISTENCIA

4.2.1 Primera inoculación

Cuadro 5. Reacción de 23 fuentes de resistencia de frijol y dos testigos a la inoculación con dos aislamientos hondureños de *Xcp*.

| Factor | | Reacción a <i>Xcp</i> |
|-----------------------------|------|-----------------------|
| Aislamiento (A) | | |
| EAP 9503 | 4.06 | |
| EAP 9504 | 3.22 | |
| ANDEVA | ** | |
| Genotipo (G) | | |
| SEL 1309 | 2.10 | M |
| XAN 112 | 2.13 | M |
| PI 325761 | 2.15 | M |
| OREOL | 2.35 | LM |
| VAX 1 | 2.50 | KLM |
| G 17341 | 2.60 | JKLM |
| XR 16492 | 2.75 | IJKLM |
| XAN 285 | 2.90 | HJKLM |
| RXAH-18274-C | 3.00 | HJKLM |
| VAX 2 | 3.08 | GHIJKLM |
| XAN 280 | 3.08 | GHIJKLM |
| XAN 286 | 3.20 | FGHIJKL |
| XAN 159 | 3.43 | EFGHIJK |
| WILK 2 | 3.53 | EFGHIJ |
| XAN 91 | 3.75 | EFGHI |
| XR 16633 | 3.88 | DEFGH |
| NY 79-3755-2 | 4.03 | DEFG |
| AFR 362 | 4.18 | DEF |
| AFR 603 | 4.20 | DEF |
| CORNELL 10392 BULK | 4.25 | CDE |
| XAN 273 | 4.35 | CDE |
| L 81-61 (JUTIAPA) | 4.88 | BCD |
| XAN 266 | 5.80 | B |
| CATRACHITA (T. susceptible) | 7.73 | A |
| XAN 155 (T. resistente) | 5.23 | BC |
| ANDEVA | ** | |
| DMS (0.05) | 1.02 | |
| Interacción A x G | | |
| ANDEVA | ns | |
| C.V. (%) | | 19.7 |

** y ns, altamente significativo al nivel $P \leq 0.01$ y no significativo, respectivamente.

El análisis estadístico indicó que hubo diferencias significativas entre la virulencia de los dos aislamientos utilizados en la primera inoculación (Cuadro 5), siendo el más virulento

EAP 9503. Los bajos promedios de los aislamientos se debieron a la resistencia observada en la mayoría de los genotipos.

También se presentaron diferencias significativas entre las fuentes de resistencia, identificándose a los genotipos SEL 1309, XAN 112 y otros más con reacciones menores a 3.0 (resistente). El genotipo susceptible Catrachita presentó reacción susceptible (7.73) y el resistente XAN 155 una reacción intermedia (5.23).

La interacción Aislamiento x Genotipo no fue significativa, lo que indica reacciones similares de los genotipos a los diferentes aislamientos. De acuerdo a la escala utilizada (1-9), los genotipos fueron clasificados como resistentes (1-3), intermedios (4-6) y susceptibles (7-9) según su reacción a *Xcp*. La mayoría de los genotipos (16) se clasificaron como resistentes confirmándose la resistencia reportada anteriormente. El resto de los genotipos (7) tuvieron una reacción intermedia. El testigo susceptible Catrachita se comportó de esta manera y el resistente XAN 155 tuvo una reacción intermedia (Cuadro 6).

Cuadro 6. Clasificación de las fuentes de resistencia y los testigos según su reacción a la inoculación con los aislamientos hondureños EAP 9503 y 9504 de *Xcp*.

| Genotipo | Reacción a <i>Xcp</i> | | |
|-----------------------------|-----------------------|------------|-------------|
| | Resistente | Intermedio | Susceptible |
| SEL 1309 | X | | |
| XAN 112 | X | | |
| PI 325761 | X | | |
| OREOL | X | | |
| VAX 1 | X | | |
| G 17341 | X | | |
| XR 16492 | X | | |
| XAN 285 | X | | |
| RXAH-18274-C | X | | |
| VAX 2 | X | | |
| XAN 280 | X | | |
| XAN 286 | X | | |
| XAN 159 | X | | |
| WILK 2 | X | | |
| XAN 91 | X | | |
| XR 16633 | X | | |
| NY 79-3755-2 | | X | |
| AFR 362 | | X | |
| AFR 603 | | X | |
| CORNELL 10392 BULK | | X | |
| XAN 273 | | X | |
| L 81-61 (JUTIAPA) | | X | |
| XAN 266 | | X | |
| CATRACHITA (T. susceptible) | | | X |
| XAN 155 (T. resistente) | | X | |

4.2.2 Segunda inoculación

Se observaron diferencias altamente significativas entre los dos aislamientos utilizados en la inoculación de las fuentes de resistencia; siendo EAP 9506 el que produjo una reacción más fuerte en las fuentes de resistencia (Cuadro 7).

Cuadro 7. Reacción de 23 fuentes de resistencia de frijol y dos testigos a la inoculación con dos aislamientos hondureños de *Xcp*.

| Factor | | Reacción a <i>Xcp</i> |
|-----------------------------|-------|-----------------------|
| Aislamiento (A) | | |
| EAP 9505 | 2.42 | |
| EAP 9506 | 4.18 | |
| ANDEVA | ** | |
| Genotipo (G) | | |
| SEL 1309 | 1.83 | L |
| PI 325761 | 2.23 | KL |
| OREOL | 2.25 | KL |
| L 81-61 (JUTIAPA) | 2.33 | JKL |
| XR 16492 | 2.48 | IJKL |
| XAN 112 | 2.53 | HIJKL |
| NY 79-3755-2 | 2.53 | HIJKL |
| VAX 1 | 2.83 | GHIJKL |
| G 17341 | 2.85 | GHIJKL |
| XAN 285 | 2.90 | GHIJKL |
| XAN 286 | 3.00 | FGHIJKL |
| XAN 159 | 3.13 | EFGHIJKL |
| XR 16633 | 3.33 | DEFGHIJKL |
| VAX 2 | 3.40 | CDEFGHIU |
| WILK 2 | 3.58 | CDEFGHI |
| XAN 273 | 3.65 | BCDEFG |
| RXAH-18274-C | 3.70 | BCDEFG |
| AFR 603 | 3.78 | BCDEFG |
| AFR 362 | 3.95 | BCDEF |
| XAN 280 | 3.98 | BCDE |
| XAN 91 | 4.13 | ABCD |
| CORNELL 10392 BULK | 4.23 | ABC |
| XAN 266 | 4.70 | AB |
| CATRACHITA (T. susceptible) | 5.13 | A |
| XAN 155 (T. resistente) | 4.15 | ABCD |
| ANDEVA | ** | |
| DMS (0.05) | 1.06 | |
| Interacción A x G | | |
| ANDEVA | ** | |
| C.V (%) | 22.54 | |

** Altamente significativo al nivel de $P \leq 0.01$

La diferencia en la reacción de las fuentes de resistencia a los aislamientos inoculados también fue significativa, observándose que el genotipo SEL 1309 fue el más resistente igual que en la primera inoculación; varios genotipos mostraron reacciones de resistencia (≤ 3.0).

El testigo susceptible Catrachita mostró en promedio una reacción intermedia debido a que el aislamiento EAP 9505 produjo una reacción poco virulenta, lo que sugiere menor patogenicidad del aislamiento, o fallas en la preparación del inóculo o en la inoculación.

La interacción $G \times A$ fue altamente significativa, indicando diferencias debido a variaciones en la reacción de las fuentes de resistencia a la inoculación con diferentes aislamientos. Cabe aclarar que la inoculación se realizó a los 30 DDS, aproximadamente una semana antes de la floración (etapa R6) de las plantas, es decir en una época distinta a la primera inoculación. Las plantas en etapas más avanzadas pueden mostrar mayor resistencia a la infección y/o desarrollo de la enfermedad.

El testigo susceptible Catrachita mostró una reacción intermedia debido a los valores tan bajos de reacción a la inoculación con el aislamiento EAP 9505. Por otro lado, los genotipos no mostraron diferencias significativas entre ellos en cuanto a la reacción con este aislamiento (Cuadro 8).

El análisis estadístico de los cuatro aislamientos indicó que hubo diferencia altamente significativa entre la virulencia de cada uno de ellos así como entre la reacción de los genotipos a los mismos. El testigo susceptible Carrachita se comportó como tal con los aislamientos EAP 9503, 9504 y 9506, lo que nos indica que la reacción de las fuentes de resistencia a estos aislamientos tuvo diferencias marcadas y que permiten identificar aquellas que son las mejores. Con el aislamiento EAP 9505, las fuentes de resistencia no presentaron diferencia entre ellas en cuanto a su reacción a la inoculación con este aislamiento, y todas se comportaron como resistentes (1-3), incluyendo al testigo susceptible, lo que nos indica que este aislamiento no es apto para evaluar fuentes de resistencia a *Xcp*.

Cuadro 8. Reacción promedio de 23 fuentes de resistencia y dos testigos a la inoculación con cuatro aislamientos hondureños de *Xcp* (interacción A x G).

| Genotipo | Aislamiento | | | | Promedio |
|-----------------------------|-------------|----------|----------|----------|----------|
| | EAP 9503 | EAP 9504 | EAP 9505 | EAP 9506 | |
| AFR 362 | 4.70 | 3.65 | 2.65 | 5.25 | 4.06 |
| AFR 603 | 4.50 | 3.90 | 2.65 | 4.90 | 3.99 |
| CORNELL 10392 BULK | 4.20 | 4.30 | 2.40 | 6.05 | 4.24 |
| WILK 2 | 3.75 | 3.30 | 2.75 | 4.40 | 3.55 |
| XAN 159 | 3.75 | 3.10 | 2.00 | 4.25 | 3.28 |
| NY 79-3755-2 | 3.90 | 4.15 | 2.90 | 2.15 | 3.28 |
| L 81-61 (JUTIAPA) | 4.50 | 5.25 | 2.50 | 2.15 | 3.60 |
| PI 325761 | 2.30 | 2.00 | 1.90 | 2.55 | 2.19 |
| OREOL | 2.20 | 2.50 | 2.50 | 2.00 | 2.30 |
| RXAH-18274-C | 3.60 | 2.40 | 2.50 | 4.90 | 3.35 |
| XAN 91 | 4.40 | 3.10 | 2.00 | 6.25 | 3.94 |
| XAN 112 | 2.10 | 2.15 | 2.25 | 2.80 | 2.33 |
| XAN 266 | 7.40 | 4.20 | 2.50 | 6.90 | 5.25 |
| XAN 273 | 5.40 | 3.30 | 2.75 | 4.55 | 4.00 |
| XAN 280 | 3.90 | 2.25 | 2.50 | 5.45 | 3.53 |
| XAN 285 | 3.30 | 2.50 | 2.00 | 3.80 | 2.90 |
| XAN 286 | 4.10 | 2.30 | 2.50 | 3.50 | 3.10 |
| XR 16492 | 3.20 | 2.30 | 1.75 | 3.20 | 2.61 |
| XR 16633 | 4.95 | 2.80 | 2.25 | 4.40 | 3.60 |
| G 17341 | 3.10 | 2.10 | 3.00 | 2.70 | 2.73 |
| SEL 1309 | 2.20 | 2.00 | 1.65 | 2.00 | 1.96 |
| VAX 1 | 2.60 | 2.40 | 2.50 | 3.15 | 2.66 |
| VAX 2 | 3.50 | 2.65 | 2.75 | 4.05 | 3.24 |
| CATRACHITA (T. susceptible) | 7.95 | 7.50 | 3.00 | 7.25 | 6.43 |
| XAN 155 (T. resistente) | 6.05 | 4.40 | 2.35 | 5.95 | 4.69 |
| Promedio | 4.06 | 3.22 | 2.42 | 4.18 | |
| ANDEVA | | ** | | ** | |
| DMS | | 1.4 | | 1.5 | |
| C.V. (%) | | | 21.45 | | |

De acuerdo a la clasificación con la escala 1-9, en la segunda inoculación 20 de los genotipos mostraron reacciones de resistencia y el resto (3) tuvieron una reacción intermedia (Cuadro 9); sin embargo, esto se debió a la virulencia tan baja mostrada por el aislamiento EAP 9505. Esto nos sugiere usar el promedio de las reacciones a los aislamientos EAP 9503, 9504, 9506, y no incluir los resultados con EAP 9505 para seleccionar los genotipos más resistentes de este estudio.

Cuadro 9. Clasificación de las fuentes de resistencia y los testigos según su reacción a la inoculación con los aislamientos hondureños EAP 9505 y 9506 de *Xcp*.

| Genotipos | Reacción a <i>Xcp</i> | | |
|-----------------------------|-----------------------|------------|-------------|
| | Resistente | Intermedio | Susceptible |
| SEL 1309 | X | | |
| PI 325761 | X | | |
| OREOL | X | | |
| L 81-61 (JUTIAPA) | X | | |
| XR 16492 | X | | |
| XAN 112 | X | | |
| NY 79-3755-2 | X | | |
| G 17341 | X | | |
| XAN 285 | X | | |
| XAN 286 | X | | |
| XAN 159 | X | | |
| XR 16633 | X | | |
| VAX 2 | X | | |
| WILK 2 | X | | |
| XAN 273 | X | | |
| RXAH-18274-C | X | | |
| AFR 603 | X | | |
| AFR 362 | X | | |
| XAN 280 | X | | |
| XAN 91 | | X | |
| CORNELL 10392 BULK | | X | |
| XAN 266 | | X | |
| CATRACHITA (T. susceptible) | | X | |
| XAN 155 (T. resistente) | | X | |

5. CONCLUSIONES

1. En los estudios de caracterización de aislamientos de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (*Xcp*) (prueba de patogenicidad), se observó una diferencia muy marcada en la reacción de los genotipos de frijol Catrachita (susceptible) y XAN 155 (resistente) a la inoculación con siete aislamientos hondureños de *Xcp*. Esta reacción depende de la virulencia de los aislamientos y de la reacción del genotipo. Al realizar este tipo de estudios es necesario utilizar aislamientos que procedan de diferentes localidades de las zonas de impacto. El uso de testigos resistentes y susceptibles en las evaluaciones permite identificar los aislamientos más virulentos que posteriormente facilitarán la selección o validación de fuentes de resistencia a la enfermedad.
2. El método de inoculación y la etapa de desarrollo de la planta al ser inoculada pueden afectar la evaluación de fuentes de resistencia a la bacteriosis común del frijol. Un método de inoculación verificado previamente permite conocer la reacción que se puede esperar para diferenciar diversos grados de resistencia y susceptibilidad al patógeno. Aparentemente, la inoculación en las etapas tempranas de desarrollo permite expresar reacciones más acorde con la resistencia o susceptibilidad del genotipo y la virulencia del aislamiento.
3. Utilizar varios aislamientos virulentos, identificados mediante estudios previos en la evaluación de fuentes de resistencia, permite asegurar la verificación de las fuentes de resistencia más valiosas para su uso en mejoramiento.
4. Algunos genotipos muestran cierta inestabilidad en cuanto a su reacción a la inoculación con *Xcp*, por lo que el utilizar valores promedios de reacción a la inoculación con varios aislamientos permite identificar y seleccionar las mejores fuentes de resistencia que puedan ser empleadas en programas de mejoramiento.

6. RECOMENDACIONES

1. Los estudios de caracterización de aislamientos de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* deben servir como base para evaluar fuentes de resistencia a la bacteriosis común del frijol por lo que tienen que considerarse como una parte muy importante del proceso, ya que de ello depende en gran medida la correcta selección de fuentes de resistencia a la enfermedad.
2. Al realizar inoculaciones con *Xcp*, estas deben ser hechas en diferentes etapas del ciclo vegetativo del cultivo para estudiar el comportamiento o reacción de las plantas a la inoculación con diferentes aislamientos de la bacteria y poder determinar en qué etapas causa más daños y qué efectos puede tener en el rendimiento del cultivo.
3. Al identificar fuentes de resistencia de germoplasma de frijol a la bacteriosis común debe asegurarse la correcta evaluación de los síntomas presentados en el campo, mediante el uso adecuado de la escala que se emplee para evitar datos erróneos que pudieran afectar la selección de genotipos resistentes.
4. La ejecución de estudios para identificar genes de resistencia a *Xcp* y la expresión fenotípica de los síntomas de reacción a la bacteria, permitirá determinar la estabilidad de esos genes en la expresión de la resistencia, y su valor genético para mejorar la resistencia a la bacteriosis común en variedades comerciales.

7. BIBLIOGRAFIA

- ARAYA, C.; BONILLA, P.; BECERRA, E. y LARA, J. 1995. Importancia, síntomas y manejo de las principales enfermedades del frijol. Programa Cooperativo Regional de Frijol para Centroamérica, México y El Caribe (PROFRJOL). Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia, 36 p.
- BEEBE, S.E. and PASTOR-CORRALES, M.A. 1991. Breeding for disease resistance. p. 561-610. In A. Van Schoonhoven and O. Voysest (ed). Common beans; research for crop improvement. CAB International, Wallingford, UK. In Taller de mejoramiento de frijol para el siglo XXI. Shree P. Singh y Oswaldo Voysest, eds., Cali, Colombia, 559 p.
- CASTAÑO, J. y DEL RIO, L. 1994. Guía para el diagnóstico y control de enfermedades en cultivos de importancia económica. Zamorano Academic Press ISBN 1885995-16-4. Publicación DPV-EAP No.147. Tercera edición. Zamorano, Honduras, 290 p.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) 1981. Enfermedades bacterianas del frijol: identificación y control (Guía de estudio). Cali, Colombia, serie 045B-06.05, 28 p.
- CIAT. 1982. Problemas de campo en los cultivos de frijol en América Latina. Carlos F. Chávarro (comp). Cali, Colombia, 184 p.
- CIAT. 1985. FRJOL: Investigación y Producción. Referencia de los cursos de capacitación sobre frijol dictados por el Centro Internacional de Agricultura Tropical. Marceliano López, Fernando Fernández y Aart Van Schoonhoven (comp y ed). Cali, Colombia, 417 p.
- CIAT. 1987. Sistema Estándar para la Evaluación de Germoplasma de Frijol. Aart Van Schoonhoven y Marcial A. Pastor-Corrales (comps.), Cali, Colombia, 56 p.
- CIAT. 1988. Informe Anual, Programa de Frijol. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia, 399 p.
- CIAT. 1996. Taller de mejoramiento de frijol para el siglo XXI. Shree P. Singh y Oswaldo Voysest (ed). Cali, Colombia, 559 p.
- CLAFLIN, L.F., VIDAVER, A.K. and SASSER, M. 1987. MXP, Semiselective medium for *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. Phytopathology. 77: 730-734.

- COYNE, D.P. and SCHUSTER, M.L. 1983. Genetics of and breeding for resistance to bacterial pathogens in vegetables crops. Hortscience 18: 30-36.
- EAP (Escuela Agrícola Panamericana) 1996. Manual de manejo integrado de plagas en el cultivo de frijol. Departamento de Protección Vegetal, COSUDE, INTA, UNA, MIP-CATIE. Zamorano Academic Press, Honduras, 75 p.
- ISHIMARU, C.; ESKRIDGE, K.M. and VIDAVER, A.K. 1991. Distribution analysis of naturally occurring epiphytic populations of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* on dry beans. Phytopathology. 81: 262-268.
- PARK, S.J. and DHANVANTARI, B.N. 1987. Transfer of common blight (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*) resistance from *Phaseolus coccineus* Lam. to *Phaseolus vulgaris* L. through interspecific hybridization. Canadian Journal of Plant Sciences. 67: 687-695.
- PCCMCA. 1998. Memoria de la Reunión Anual Mesoamericana de Agronomía del Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales. Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA), Managua, Nicaragua, 290 p.
- PROFRJOL. 1996. Primer Taller Internacional sobre Bacteriosis Común del Frijol. Universidad de Puerto Rico. Documento 96/2. Puerto Rico, 325 p.
- PROFRJOL. 1997. Informe Técnico por Resultados-POA. Programa Cooperativo Regional de Frijol para Centroamérica, México y El Caribe, Guatemala, 58 p.
- ROSAS, J.C. 1998. El cultivo del frijol común en América Tropical. Zamorano Academic Press, Honduras, 52 p.
- SAETTLER, A.M. 1989. Common bacterial blight in bean production problem in the tropics. Segunda edición. H.F Schwartz y M.A Pastor-Corrales (ed). Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia
- SCHUSTER, M.L. and COYNE, D.P. 1981. Biology, epidemiology genetics and breeding for resistance to bacterial pathogens of *Phaseolus vulgaris* L. Horticultural Reviews. 3: 28-58.
- SERRACIN, J.; YOUNG, R.A.; ROSAS, J.C. y CACERES, J. 1991. Daños causados por *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* y su efecto en el rendimiento del frijol común (habichuela; *Phaseolus vulgaris*). J. Agrí. Universidad de Puerto Rico. 74 (3): 353-361.
- WEBSTER, D.M.; TEMPLE, S.R. and GALVEZ, G. 1983. Expression of resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in *Phaseolus vulgaris* under tropical conditions. Plant Disease. 67: 394-396.

YOSHII, K.; GALVEZ G.E. y ALVAREZ, G. 1978. Plant Disease, Repr. 62: 343-347.

ZAPATA, M.; FREYTAG, G.F. and WILKINSON, R.E. 1985. Evaluation for bacterial blight resistance in beans. Phytopathology, 75: 1032-1039.

8. ANEXOS

Anexo 1. Composición química del medio de crecimiento YCDA para *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*.

| Elemento | Cantidad (gramos) |
|-------------------|-------------------|
| Levadura | 10.0 |
| Dextrosa | 10.0 |
| CaCO ₃ | 2.50 |
| Agar | 16.0 |

* Para un litro de medio

Anexo 2. Análisis de varianza para la prueba de patogenicidad de siete aislamientos hondureños de *Xcp*.

| Factor | g.l | S.C | C.M | Valor F | Prob. |
|-----------------|-----|---------|--------|---------|-------|
| Repetición | 3 | 0.786 | 0.262 | 0.3768 | |
| Aislamiento (A) | 1 | 46.264 | 46.264 | 66.5154 | 0.00 |
| Genotipo (G) | 6 | 252.472 | 42.079 | 60.4975 | 0.00 |
| A x G | 6 | 33.379 | 5.563 | 7.9984 | 0.00 |
| Error | 39 | 27.126 | 0.696 | | |
| Total | 55 | 360.028 | | | |

Significativo al nivel de $P \leq 0.01$

Anexo 3. Análisis de varianza para los resultados de la primera inoculación.

| Factor | g.l | S.C | C.M | Valor F | Prob. |
|-----------------|-----|---------|--------|---------|--------|
| Repetición | 1 | 0.722 | 0.722 | 1.3997 | 0.2425 |
| Aislamiento (A) | 1 | 17.724 | 17.724 | 34.3375 | 0.0000 |
| Genotipo (G) | 24 | 162.619 | 6.776 | 13.1270 | 0.0000 |
| A x G | 24 | 19.723 | 0.822 | 1.5921 | 0.0827 |
| Error | 49 | 25.293 | 0.516 | | |
| Total | 99 | 226.082 | | | |

Significativo al nivel de $P \leq 0.01$

BIBLIOTECA WILSON POPENO
 ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA
 APARTADO 83
 TEGUCIGALPA HONDURAS

Anexo 4. Análisis de varianza para los resultados de la segunda inoculación.

| Factor | g.l | S.M | C.M | Valor F | Prob. |
|-----------------|-----|---------|--------|----------|--------|
| Repetición | 1 | 1.877 | 1.877 | 3.3689 | 0.0717 |
| Aislamiento (A) | 1 | 77.616 | 77.716 | 140.1420 | 0.0000 |
| Genotipo (G) | 24 | 67.987 | 2.833 | 5.1149 | 0.0000 |
| A x G | 24 | 56.411 | 2.350 | 4.2440 | 0.0000 |
| Error | 49 | 27.138 | 0.554 | | |
| Total | 99 | 231.030 | | | |

Significativo al nivel de $P \leq 0.01$

BIBLIOTECA WILSON FOPENOR
 ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA
 APARTADO 22
 TEGUCIGALPA HONDURAS