

PATCGENICIDAD DEL ISARIOPSIS GRISEOLA SACC.
EN FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) (*)

Por Carmen Llanos M.

INTRODUCCION

En el estudio de las enfermedades parasitarias son básicas las pruebas de patogenicidad, bien sea que se trate de enfermedades de etiología conocida o de aquellas cuyo agente causal se desconoce. En las primeras, para establecer la relativa resistencia de las variedades, las razas fisiológicas del patógeno existentes en la región, la efectividad de los fungicidas en la represión de la enfermedad, etc. en las segundas, para investigar la habilidad patogénica de los organismos aislados, su relativa virulencia, las condiciones epifitológicas óptimas para el desarrollo de la enfermedad, etc.

Dichas pruebas sólo pueden asegurar éxito mediante el conocimiento previo de ciertas condiciones especiales, tales como la viabilidad del inóculo, la susceptibilidad de las variedades, el método preciso de inoculación y las condiciones favorables para asegurar infección.

Teniendo en cuenta que en nuestro medio aún existen algunos puntos oscuros en el estudio de la "mancha angular" del frijol causada por el hongo *Isariopsis griseola* Sacc., principalmente en cuanto se refiere a pruebas de patogenicidad bajo condiciones que permitan asegurar la infección, se planearon algunos experimentos tendientes a dilucidar esta fase importante en el estudio de la enfermedad.

El trabajo se justifica además si se considera la gran importancia que ha adquirido en los dos últimos años esta epifitotia en el departamento del Valle del Cauca, especialmente en la zona de Palmira, dada la rápida diseminación de ella y la severidad de su ataque. Ello puede ser atribuible en parte, al gran incremento de la varie-

(*) Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo bajo la presidencia del Dr. Alberto Sánchez a quien la autora expresa su gratitud.

dad Algarrobo, especialmente susceptible a la enfermedad y al aumento constante del inóculo potencial ya existente.

Algunos de los objetivos del presente trabajo son:

1.— Determinar la viabilidad de las esporas de cultivos puros del hongo, mediante pruebas de germinación.

2.— Verificar el poder infeccioso (virulencia) de las esporas mediante pruebas de patogenicidad.

3.— Comprobar si las plantas una vez inoculadas, deben permanecer bajo condiciones de cámara húmeda por un período de tiempo determinado, para lograr un óptimo desarrollo del patógeno en el susceptible, asegurándose así la infección.

4.— Establecer una escala convencional de calificación de la intensidad de ataque que permita valorar la patogenicidad del hongo y la susceptibilidad de las variedades.

5.— Compilar la información disponible sobre las diferentes fases en el estudio de la enfermedad, mediante la revisión bibliográfica de las referencias pertinentes.

DESCRIPCION DE LA ENFERMEDAD

La "mancha angular" del frijol causada por el hongo *Isariopsis griseola* Sacc. es una enfermedad que recientemente ha alcanzado caracteres de gravedad en el Valle del Cauca, afectando el cultivo en forma notoria por su rápida diseminación, especialmente en la zona de Palmira. Como consecuencia de ellas, las hojas se secan y la planta sufre una defoliación parcial que afecta notablemente la producción al disminuirse la superficie fotosintética.

Susceptivos.— El patógeno ataca las variedades de *Phaseolus vulgaris* L. y *Phaseolus multiflorus* (Brock, 2). Son pocos los datos específicos que se tienen en cuanto a la mayor o menor resistencia de las variedades cultivadas, al ataque del hongo.

Brock (2), determinó los distintos grados de resistencia de 164 líneas de frijol. Las variedades Alabama N° 1, Café, California Small White, Casa Knife o Erecta (variedad del *Phaseolus multiflorus*), Epicure, México Black, McCaslan, Navy Bean, Negro Costa Rica, Scotia y Rojo Chico se clasificaron como altamente resistentes. Las ocho variedades del grupo Lima Beans, no nombradas en el resumen, quedaron incluidas dentro del grupo susceptibles o muy susceptibles. Algunas variedades resistentes lo fueron también al "hajo blight" causado por *Pseudomonas (medicaginis f. sp.) phaseolicola* y a la "antracnosis" originada por *Colletotrichum lindemuthianum*.

Srinivasan (17) en la India, inoculó artificialmente las variedades Francesa, Black Valentine y Beautiful Yellow las cuales mos-

traron iguales características de susceptibilidad a la enfermedad. Deighton (6), la registró en Sierra Leona, en la variedad Black Sinebone introducida recientemente de la Guayana Inglesa, presentándose en aquella con bastante frecuencia.

Skiles et al. (15), anotaron las variedades Panameño, Higuierillo, Estrada Rosado y Algarrobo como susceptibles igualmente a la enfermedad, según experimentos realizados en Medellín sobre pérdidas ocasionadas por "antracnosis", "roya" y "mancha angular". De acuerdo con los registros de calificación por observación visual, llevados por las secciones de Fitopatología y Genética de la Estación Agrícola de Palmira, la variedad Liborino se anotó como resistente mientras que las variedades Algarrobo y Panameño se portaron como susceptibles.

Nombres, Historia y Distribución.— En Colombia la enfermedad se conoce con los nombres de "mancha angular" o "Isariopsis". En los países de habla inglesa se le designa como "angular leaf spot".

Según Harter (10). Saccardo la registró por primera vez en Italia y sur de Austria en 1877. En Africa se encontró en 1949 en la región de Sierra Leona. (Deighton, 7). Burnicourt (3), dió cuenta en 1951 de la existencia de la enfermedad en Nueva Caledonia, siendo considerada como la de mayor importancia en esa región. Se registró además en Queensland (Sinmonds, 16), Tanganyika (Wallace, 19), India (Srinivasan, 17), Bélgica, Polonia, Argentina, Perú, Guatemala y Puerto Rico (Miles, 11; Vargas, 18, Guatemala, 9; Cook, 5). En los Estados Unidos se encontró en varios estados, entre ellos New Jersey, Maryland, West Virginia, Connecticut y otros situados en el oriente y sur (Zaumeyer, 20; Miles, 11).

Importancia económica.— Según Wallace (19), en el territorio de Tanganyika, la enfermedad es considerada como la más importante del frijol, especialmente cuando se presenta en épocas de lluvias prolongadas e intensas ocasionando en estas condiciones defoliación prematura de las plantaciones. En India y Australia (Queensland, New South, Wales y Victoria) la enfermedad es la más prevalente y la que causa mayores pérdidas, ya que ataca casi todas las variedades cultivadas comercialmente en esos países (Brock, 2; Srinivasan, 17).

En Colombia esta enfermedad que hace dos años carecía de importancia, constituye hoy un problema serio para los productores de frijol, especialmente en las regiones de Medellín y Palmira, en donde las condiciones ambientales parecen ser óptimas para su desarrollo.

Cardeñosa (4), en el Valle del Cauca en plantaciones cercanas al Cerrito, encontró que la enfermedad hizo bajar la producción de 500 a 185 cargas, que equivalen a 62.500 y 23.125 kilos respectivamente y lo cual constituye un descenso del 63% del total de la cosecha (véase Figura 1).

Asimismo en los trabajos de investigación de carácter no fitopa-

cológico, esta enfermedad ha afectado con mucha intensidad las parcelas, ocasionando notables bajas en la producción, por lo cual han fracasado muchos experimentos relativos a Genética, Riegos, Insecticidas y Abonos llevados a cabo en la Estación Experimental y en la Facultad de Agronomía de Palmira.

Sintomatología.— Las lesiones típicas están limitadas casi exclusivamente a las hojas, pero en ataques severos pueden interesar los tallos y las vainas. Sin embargo, Benloch (1) afirma que los tallos son inmunes al ataque. Las hojas presentan en un principio lesiones de color gris, tornándose después pardas con bordes no coloreados (Harter, 10). En las inoculaciones efectuadas por la autora, las lesiones se presentaron a los seis días después de la inoculación en forma de puntos necróticos rodeados de un halo clorótico, de bordes no definidos; al cabo de los 9 días, las lesiones se definieron perfectamente mostrándose típicamente angulares, debido a que quedan limitadas



Figura 1.— Plantación de frijol de dos meses de edad completamente defoliada por el ataque de la "mancha angular".

Foto: T. Rengifo.

por las nervaduras primarias y secundarias. La forma de las lesiones y la ausencia de bordes definidos la diferencian de la enfermedad causada por *Cercospora cruenta*, en la cual las manchas tien-

den a ser más o menos circulares y de bordes café rojizos (Miles, 11; Harter, 10).

En los experimentos efectuados en el curso de la presente investigación, se observó tanto en las hojas embrionarias como en las trifoliadas la misma forma de iniciación de las lesiones; en las primeras la mancha en un principio mostró angulosidad pero después se tornó marcadamente circular, alcanzando un tamaño aproximadamente dos veces mayor que en las trifoliadas. El color de la lesión fue el mismo en los dos tipos de hojas (véase Figura 2).

A medida que la infección avanza las manchas se vuelven coalescentes, hasta el punto de producir necrosis parcial y amarillamiento total de las hojas. La enfermedad causa posteriormente defoliación total o parcial de la planta de acuerdo con la intensidad del ataque.

En las vainas, las manchas son superficiales, muy definidas, con bordes de color negro y centro rojizo o pardo. El tamaño varía entre pequeñas puntuaciones hasta lesiones que pueden abarcar todo el ancho de la vaina. En algunos casos varias manchas pequeñas se hacen coalescentes, sin que se distinga, en este caso, la mancha central

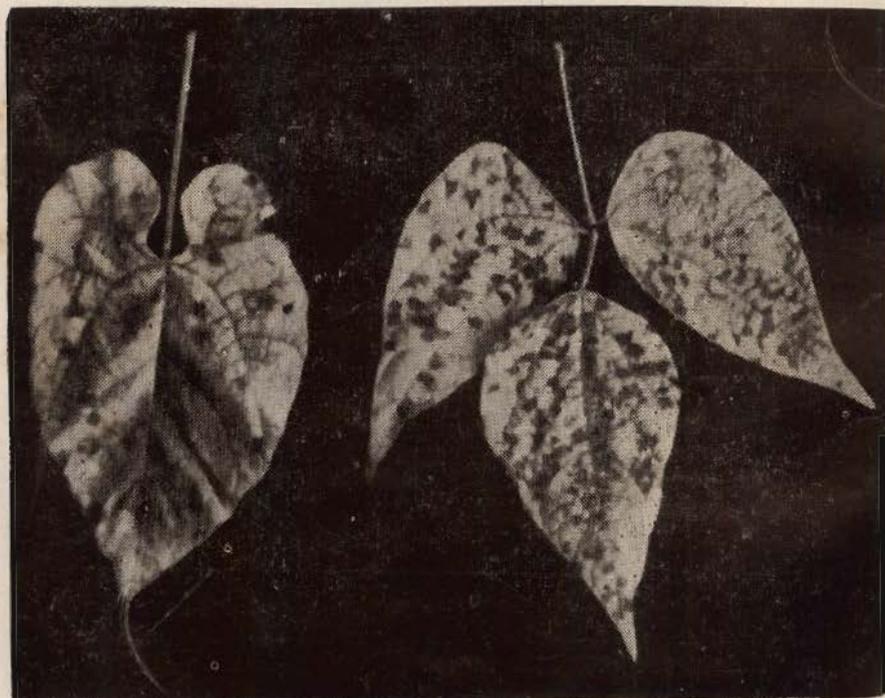


Figura 2.— Síntomas característicos de la "mancha angular" del frijol. Izquierda: hoja cotiledonar. Derecha: hoja trifoliada.

Foto: M. T. Paredes.

rojiza. Las vainas invadidas se debilitan hasta secarse por completo. (Vargas, 18; Benlloch, 1; Harter, 10). Vargas (18), afirma que los tallos también son susceptibles pero no describe la forma y tamaño de las lesiones en este órgano de la planta. En los experimentos efectuados por la autora, sólo se observaron las lesiones en el follaje.

Signos.— En el envés de las hojas atacadas y en la zona correspondiente a cada mancha necrótica, se presentan pequeños puntos negros que corresponden a los coremios del organismo causal. En el ápice de los conidióforos agrupados se originan las conidias del hongo, las cuales le dan un aspecto grisáceo a la lesión cuando se observa por el envés. (Miles, 11); Benlloch, 1; Harter, 10; Zaumeyer, 20; Vargas, 18).

En las pruebas de patogenicidad efectuadas, el primer indicio de los signos característicos fue la aparición de pequeños puntos negros en el envés de las hojas atacadas, diez días después de la inoculación; dichos puntos correspondían a la iniciación de los coremios, los cuales no se desarrollaron completamente debido a las condiciones de baja humedad atmosférica en que se colocaron las plantas después de los tratamientos; sin embargo, las fructificaciones se formaron completamente al colocar las hojas enfermas en cámara húmeda, durante veinticuatro horas, tal como se observa en la Figura 3.

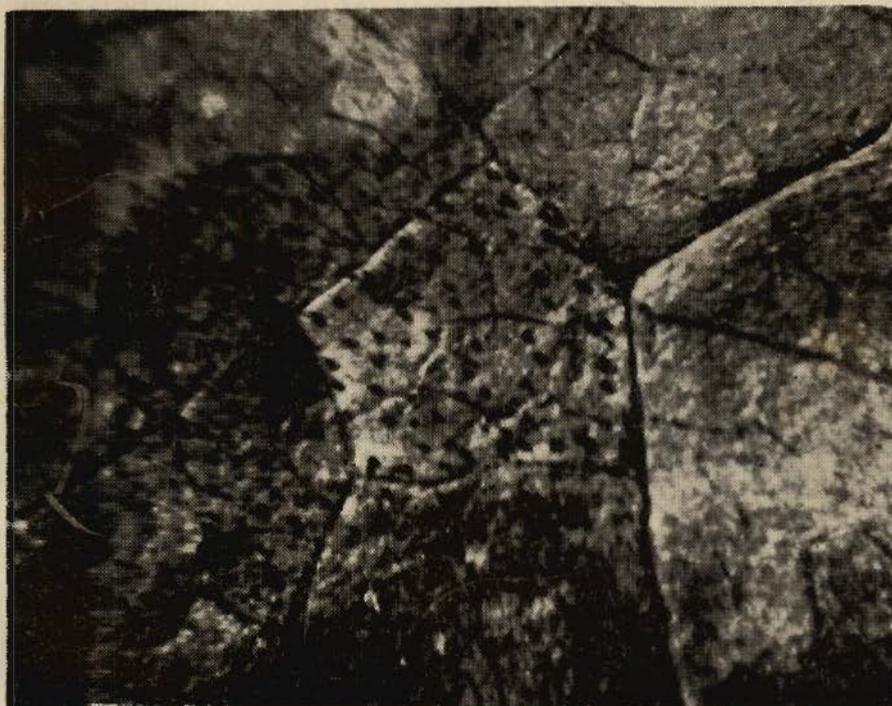


Figura 3.— Signos característicos de la "mancha angular" del frijol.

Foto: A. Sánchez.

Etiología.— La enfermedad es causada por el *Isariopsis griseola* Sacc. El primero en estudiarla fue Saccardo a quien se debe la descripción y clasificación del organismo causal, el cual está incluido en la clase Deuteromicetos u Hongos Imperfectos, orden Moniliales, Familia Stilbaceae. Taxonómicamente tiene los siguientes sinónimos (Harter, 10):

Phaeoisariopsis griseola (Sacc.) Fer.

Graphium laxum Ell.

Isariopsis laxa (Ell.) Sacc.

Los cuerpos fructíferos del hongo están constituidos por coremios o sinemas visibles por el envés de las hojas afectadas. Observadas al microscopio, dichas estructuras aparecen como un manojo de hifas erectas más o menos compactadas, de color oscuro en la base, tornándose hialina gradualmente hacia el ápice, tal como se observa en la Figura 4.

Saccardo (14), describe los coremios como "fascículas hipófilas en forma de estipe, densamente gregarios, algo oscuros, constituidos por hifas filiformes septadas como muchísimos estipes de ápice gris. Las conidias nacidas de los ápices de las hifas son densamente conglobadas, cilindro fusoideas y curvas". De acuerdo con Srinivasan (17), los coremios miden de 128 a 680 micras de longitud y 28 a 69 micras de ancho.

Según Harter (10) y Miles (11), las conidias son de color gris claro, cilíndricas, en forma de huso ligeramente curvadas y no constreñidas.

Los mismos autores sostienen que el número de septas es de una a tres, raramente cuatro y que el tamaño varía entre 50 y 60 micras de largo por 7 a 8 de ancho. Benloch (1), encontró conidias de una a cinco septas, siendo las de tres las más abundantes, observándose bastante de cuatro y algunas de cinco; las dimensiones pueden variar entre 26 y 80 micras de largo por 5,6 a 8,4 de ancho. Los datos anteriores concuerdan más o menos con las observaciones de la autora: conidias de 24 a 80 micras de largo por 3,4 a 6,8 micras de ancho; muy a menudo se observaron conidias de tres y cuatro septas, menos frecuentes que las anteriores fueron las de una y cinco septas y muy difíciles de encontrar las no septadas.

Patogenicidad.— Brock (2), inoculó 164 líneas de frijol en experimentos en potes, atomizando el primer par de hojas trifoliadas con esporas de cultivos puros en suspensión acuosa, e incubando en cámara húmeda durante tres días; determinó los distintos grados de resistencia de las plantas anotando el número de lesiones, el porcentaje de necrosis y la cantidad de defoliación. Las variedades que de acuerdo con estas pruebas se mostraron resistentes, se sometieron a una nueva inoculación de la tercera hoja trifoliada, con una suspensión hecha a partir de trece cultivos del hongo.

Srinivasan (17), inoculó plantas de frijol con una suspensión conidial, colocándolas después bajo campanas de vidrio doce días y los coremios se observaron a los catorce días. Los testigos permanecieron libres de la enfermedad.



Figura 4.— Coremio de *Isariopsis griseola* Sacc. (290 aumentos).

Foto: A. Sánchez.

Considerando que existen pocas referencias sobre la habilidad patogénica del *Isariopsis griseola* Sacc., organismo causal de la enfermedad en estudio, que pueda servir de material básico para futuras investigaciones a realizar bajo condiciones del Valle del Cauca, se estudiaron a fondo tres de los principales aspectos de la enfermedad: 1) Obtención de los cultivos puros del hongo; 2) Pruebas de germinación de las conidias; 3) Métodos de inoculación artificial.

1) **Obtención de cultivos puros.**— Los aislamientos del hongo se hicieron a partir de hojas enfermas que presentan los síntomas característicos de la enfermedad, provenientes de lotes experimentales de la Estación Agrícola de Palmira.

Como medios de cultivos se emplearon papa-dextrosa-agar (PDA) y "corn-meal-agar" (CMA). Se utilizaron dos métodos para el aislamiento: a) Siembra de trocitos de hojas correspondientes al borde de cada lesión, sumergidos durante un minuto en solución de bicloruro de mercurio al uno por mil y lavados luego en dos baños de agua destilada esterilizada; b) Siembra de las esporas provenientes de los sinemas, trasladadas por medio de una aguja estéril a una gota de agua destilada-esterilizada colocada en el fondo de una caja de Petri, agregando después el medio de cultivo a 45°C. de temperatura.

Utilizando el primer método se presentó en un principio una contaminación bacterial muy abundante, haciéndose difícil el traslado del hongo a tubos; mediante el empleo de una gota de ácido láctico se logró subsanar este inconveniente, obteniéndose crecimiento micelial muy escaso, pero suficiente como para obtener trasplantes en tubos.

Mediante el empleo del segundo método, a los cuatro días se observaron las cajas de Petri con el microscopio monocular de alto aumento con el fin de constatar la germinación de las esporas distribuidas en el medio; tanto en P D A como en C M A se observaron esporas en germinación; con la ayuda del mismo microscopio y por medio de una aguja de siembra, las conidias germinadas se transplantaron a tubos, obteniéndose así cultivos monospóricos para las pruebas siguientes. La autora considera este método como el más seguro y efectivo para el aislamiento del patógeno. Se notó un mejor crecimiento posterior en los tubos con PDA que en los C M A (véase Figura 5).

La esporulación del hongo ocurrió a los ocho días después de los aislamientos, bajo las condiciones de luz del laboratorio y a temperatura de 24°C. presentándose esporulación muy escasa cuando los cultivos permanecieron en oscuridad completa.

2) **Pruebas de germinación de esporas.**— Con el fin de asegurarse de la viabilidad de las esporas que posteriormente habrían de emplearse en las inoculaciones, se procedió a efectuar algunas pruebas sobre su germinación en agua destilada esterilizada, medio en el cual habría de efectuarse las inoculaciones.

Según Llily y Barnet (12) y Gottlieb (8), los factores que influyen en la germinación de cualquier hongo son: 1) Temperatura, 2) Humedad, 3) Oxígeno, 4) Concentración de iones hidrógeno y 5) la luz en algunos casos. Estos factores se tuvieron en consideración en los experimentos realizados sobre germinación.

En las pruebas efectuadas se emplearon esporas de ocho días de edad, de las cuales unas no sufrieron ningún trasplante después de aislado el hongo y otras fueron resembradas cinco a seis veces con posterioridad al aislamiento.

a) **Primer Experimento.**— Este primer experimento se llevó a cabo con el fin de comparar la capacidad de germinación de los dos

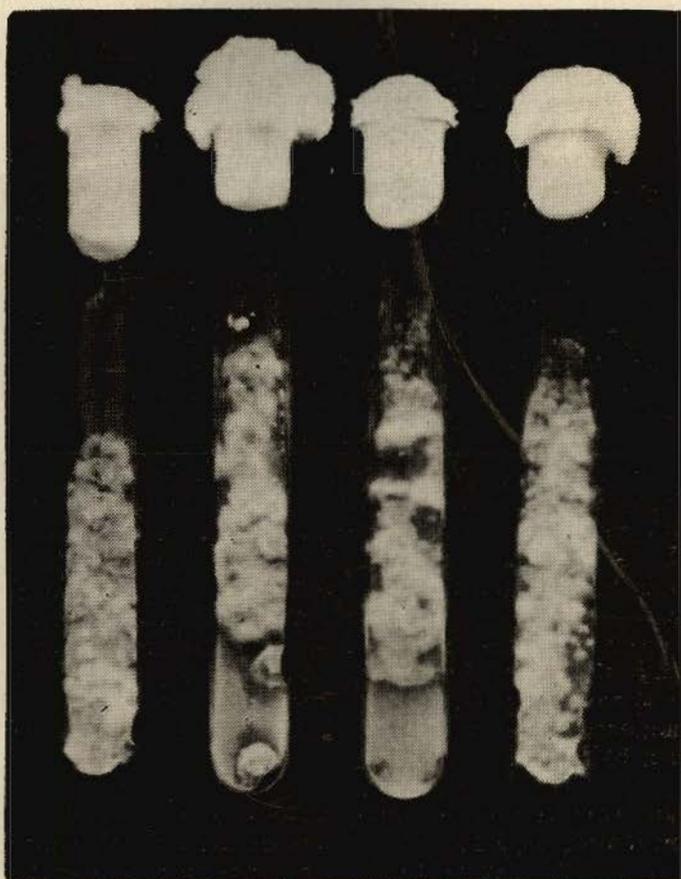


Figura 5.— Cultivos puros de *Isariopsis griseola* Sacc. en papa-dextrosa-agar (edad: 22 días).

Foto: M. T. Paredes.

tipos de esporas, ya que se sospechó que las resiembras sucesivas podrían haber alterado su poder germinativo. Para ello se usó el método empleado por López (13), consistente en gotas de la suspensión en agua destilada-esterilizada, suspendidas en cubre-objetos que se sellaron con vaselina sobre viales de 5 cms. de altura por 2 cms. de diámetro llenos de agua hasta sus tres cuartas partes (véase Figura 6). En todos los experimentos sobre germinación efectuados, la concentración de las suspensiones fue de 10 a 20 esporas por campo microscópico de 10 x 10 aumentos. Se colocaron seis viales con cada uno de los dos tipos de esporas, en las condiciones del laboratorio, haciéndose, al cabo de ocho horas, dos cuentas por cada gota.

No se notó ninguna diferencia en la germinación entre las dos clases de esporas; a las ocho horas se obtuvo casi un 100% de germinación.

b) **Segundo experimento.**— Empleando el método anterior se llevó a cabo otro experimento en el cual se incluyó una mezcla de los dos tipos de esporas, con el objeto de determinar el posible efecto de la luz en el porcentaje de germinación y por otra parte, el tiem-

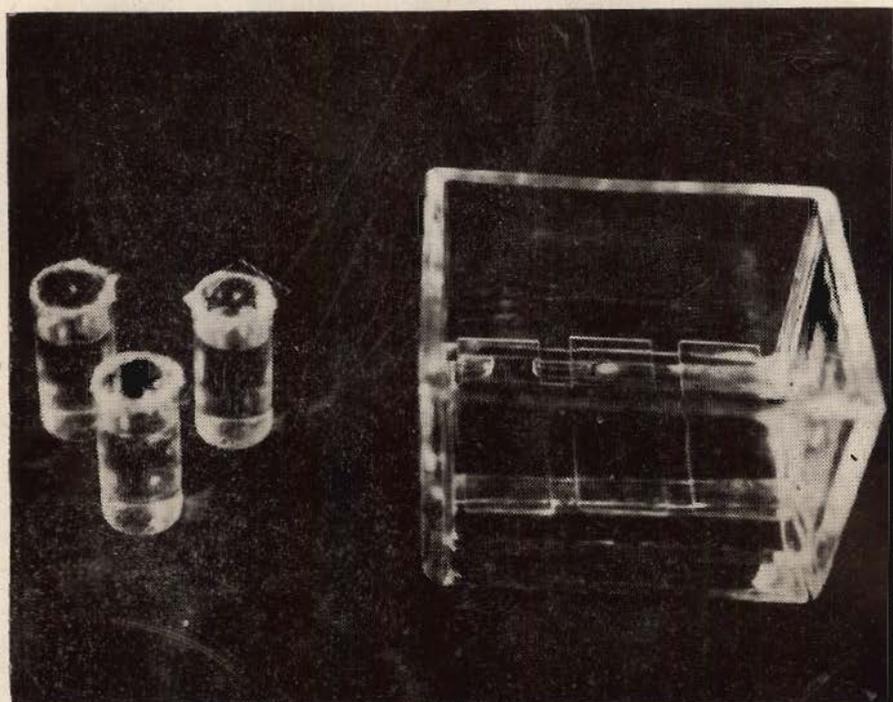


Figura 6.— Viales y cajas de coloración usadas en las pruebas de germinación de esporas.

Foto: M. T. Paredes.

po de la misma. Las esporas se colocaron bajo tres condiciones distintas: dentro de una cámara húmeda a $24,50^{\circ}\text{C}$. de temperatura, a semi-oscuridad; dentro de una incubadora en completa oscuridad, a $24,50^{\circ}\text{C}$; y una mesa de laboratorio (condiciones ambientales) bajo la luz difusa, a temperatura de 24°C . Se utilizaron dos viales para cada condición y tiempo y se observaron en cada vial dos campos microscópicos con aumento de 10 por 10; las cuentas se hicieron a las 4, 6 y 8 horas.

Tal como se muestra en la Tabla I, la germinación de las esporas se inició, en las tres condiciones del experimento, al cabo de las cuatro horas, en forma de un hinchamiento, apical, presentando algunas esporas tubos germinativos más o menos definidos (véase Figura 7). Al cabo de seis horas el porcentaje de germinación aumentó únicamente en aquellas que habían sido sometidas a condiciones am-

— T A B L A I —

Porcentaje de germinación de conidias de *Isariopsis griseola* Sacc. bajo tres condiciones diferentes. (Método de los viales).

Tiempo de Observación	Cámara húmeda %	Condiciones ambientales %	Incubadora %
4 horas	50,2	50,9	52,2
6 horas	94,2	91,5	91,3
8 horas	97,2	96,8	97,4

bientales (luz difusa) y las que se habían colocado dentro de la incubadora (oscuridad). Al de las ocho horas, en todos los casos, el tubo germinativo estaba perfectamente desarrollado y en muchos casos, ramificado (véase Figura 6). El mayor porcentaje de germina-

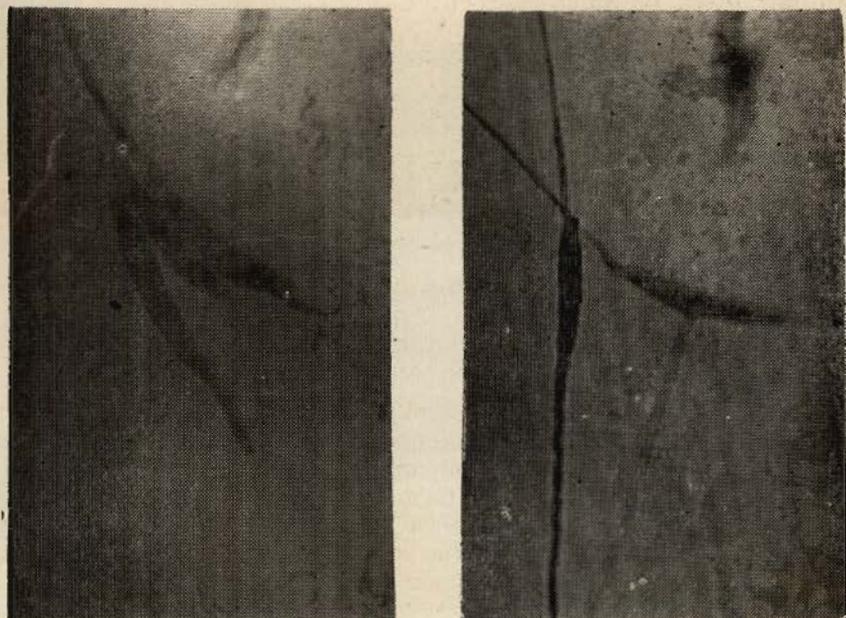


Figura 7.— Germinación de esporas de *Isariopsis griseola* Sacc. (1247 aumentos).

Izquierda: cuatro horas.

Derecha: ocho horas.

Foto: A. Sánchez.

ción (29,2%) se obtuvo en aquellas esporas que habían permanecido dentro de la cámara húmeda (semi-oscuridad, a temperatura de 24,5°C).

c) **Tercer experimento.**— Debido a que por el método anterior las esporas tendían a agruparse en el centro de la gota, por lo cual no se logró una distribución uniforme de ellas en el medio, pudiendo este factor alterar los resultados, se procedió a utilizar otro método para la germinación. En este método seguido por López (13), se usaron cajas de germinación de 12,5 x 10,5 x 8,5 cms. en cuyo fondo se colocaron tres porta-objetos sostenidos por tubos de vidrio de 1,2 centímetros de diámetro, colocándose en cada placa tres gotas de la suspensión conidial; la caja permaneció llena de agua hasta la altura de $\frac{1}{2}$ pulgada sellándose después con vaselina (véase Figura 6). Se hizo una sola cuenta por gota y cada porta-objeto representó una replicación.

Tal como lo muestra la Tabla II, la germinación de las esporas se inició también al cabo de las cuatro horas, pero los porcentajes de germinación bajo las tres condiciones, después de las seis horas fue comparativamente mayor. Al cabo de las 8 horas se obtuvo un porcentaje de germinación mucho mayor que al utilizar el método de los viales. No se observó tampoco ningún efecto de la luz sobre la germinación de las esporas.

Los resultados de los anteriores experimentos permiten deducir que:

1) Las esporas provenientes de cultivos puros del hongo son perfectamente viables y germinan satisfactoriamente a las ocho horas en agua destilada-esterilizada.

— T A B L A II —

Porcentajes de germinación de conidias de *Isariopsis griseola* Sacc. bajo tres condiciones diferentes
(Método de las cajas de coloración)

Tiempo de Observación	Cámara húmeda %	Condiciones ambientales %	Incubadora %
4 horas	50,2	50,9	52,2
6 horas	94,2	91,5	91,3
8 horas	97,2	96,8	97,4

2) Las resiembras repetidas no alteran su poder germinativo.

3) La luz no tiene ninguna influencia sobre la germinación de las esporas.

3) **Pruebas de patogenicidad.**— Con el propósito de comprobar y comparar el poder infeccioso de las dos clases de esporas mencionadas (esporas sin trasplantes previos y esporas con cinco a seis trasplantes), se inocularon plantas de frijol pertenecientes a la variedad Algarrobo. Las inoculaciones se hicieron en el momento de la aparición de la tercera hoja trifoliada, asperjando con la suspensión de esporas (45 a 50 esporas por campo microscópico de 10 x 10) todas las hojas, inclusive las embrionarias por medio de un atomizador. Cada hoja se asperjó tanto por el haz como por el envés; los testigos se atomizaron en la misma forma, con agua destilada-esterilizada.

Con el fin de proporcionar al patógeno las condiciones ambientales óptimas para su establecimiento y desarrollo en el susceptible, se colocaron las plantas dentro de una cámara húmeda a diferentes períodos de exposición: dieciseis veinticuatro y cuarenta horas, bajo condiciones de humedad relativa de 95 a 100% y temperatura de 24,50°C., tal como lo muestra la Figura 8.

Otro grupo de plantas se dejó bajo condiciones ambientales después de la inoculación, sin colocarlas dentro de la cámara húmeda. En cada tratamiento se emplearon 6 materas con 3 plantas cada una, inoculando así 9 plantas en total, con cada uno de los tipos de esporas. Se dejaron 4 testigos por período de exposición dentro de la cámara húmeda.

Con el fin de valorar la intensidad de ataque y calificar el tipo de lesiones que se presentaron de acuerdo con el período de exposición, se elaboró una escala convencional de calificación sobre las siguientes bases: 1) tamaño de las lesiones y su coalescencia, 2) número de lesiones por folíolo y 3) secamiento parcial de las hojas por coalescencia muy marcada de las lesiones amarillamiento de la planta. La escala elaborada fue la siguiente:

- 0 -- Planta completamente sana.
- 1 — Infección leve.
- 2 — Infección moderada.
- 3 — Infección grave.
- 4 — Infección muy grave.

Las calificaciones se juzgaron en la forma siguiente:

Planta sana (0).— Ausencia total de lesiones.

Infección leve (1).— Una a cinco lesiones por folíolo de 1 a 2 mm. de longitud.

Infección moderada (2).— Cinco a veinte lesiones por folíolo, de 1 a 2 mm. de largo.



Figura 8.— Cámara húmeda utilizada en las pruebas de patogenicidad.

Foto: M. T. Paredes.

Infección grave (3).— Veinte a cincuenta lesiones por folíolo; lesiones coalescentes en algunos casos, de 2 a 3 mm.; amarillamiento parcial.

Infección muy grave (4).— Amarillamiento y necrosis parcial de los folíolos por coalescencia de varias lesiones; defoliación parcial o total.

En la Figura 9 se ilustran la escala de intensidad de ataque, de acuerdo con los resultados obtenidos en pruebas de patogenicidad.

Se hicieron dos calificaciones: una a los once y otra a los catorce días después de efectuada la inoculación.

a) **Resultados y discusión.**— Después de los seis días de efectuada la inoculación, comenzaron a presentarse los síntomas de la en-

fermedad en las plantas que habían permanecido durante veinticuatro y cuarenta horas en la cámara húmeda. Estos se observaron en las hojas trifoliadas en forma de puntos necróticos pequeños, rodeados por un halo clorótico. A los nueve días, las lesiones se definieron más, tomando la forma angular y a los once días, el ataque fue aún más característico. Al cabo de este tiempo, las plantas que habían permanecido diez y seis horas en la cámara húmeda también presentaron los síntomas de la enfermedad, aunque menos definidos. En las Figuras 10 y 11 puede observarse la diferencia en el tipo de infección de acuerdo con la exposición de las plantas en cámara húmeda, después de catorce días de la inoculación.

En las hojas embrionarias las lesiones se presentaron con mayor intensidad que en aquellas plantas que habían permanecido durante cuarenta horas en la cámara húmeda; en éstas se contaron hasta siete manchas por hoja y en cambio en las plantas que permanecieron dieciseis y veinticuatro horas, solo una o dos lesiones por hoja embrionaria.

Tal como puede observarse en la Figura 12 no se presentó ningun-

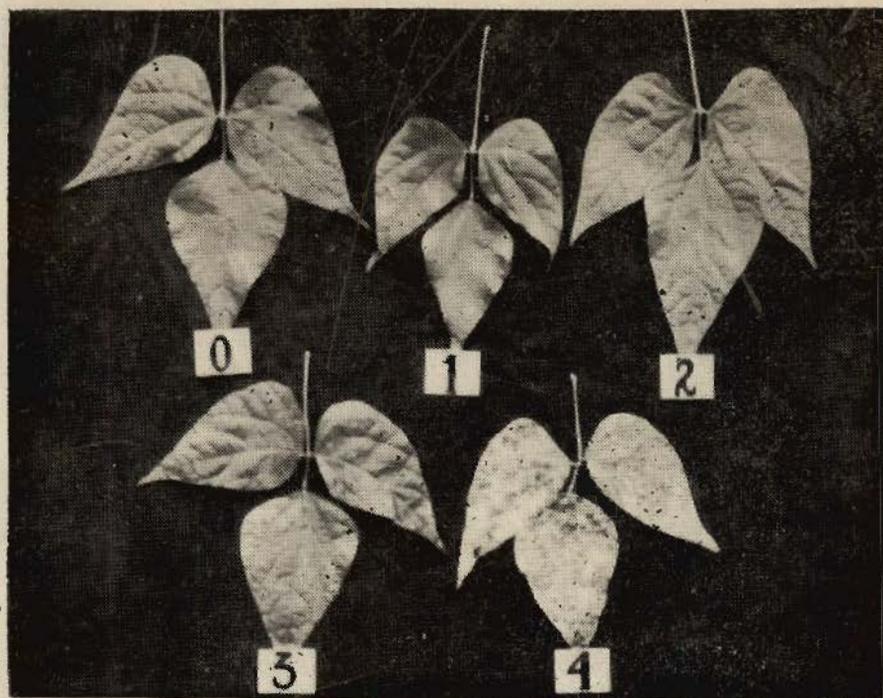


Figura 9.— Tipos de infección de acuerdo con la escala de intensidad de ataque establecida para valorar las pruebas de patogenicidad.



Figura 10.—Plantas de frijol sometidas a diferentes períodos de exposición dentro de la cámara húmeda (16, 24 y 40 horas) después de catorce días de la inoculación, en comparación con el testigo.

Foto: M. T. Paredes.

na diferencia en cuanto a la virulencia de las esporas que no habían sufrido transplantes previos y de aquellas que provenían de cultivos transplantados cinco a seis veces: ambos tipos mostraron idéntica patogenicidad.

En la Tabla II se presentan los resultados de la primera calificación de los tipos de infección observados en las plantas inoculadas y en los testigos. En esta primera calificación, que se efectuó a los once días después de la inoculación, puede observarse que la mayor intensidad del ataque corresponde a aquellas plantas que habían permanecido durante cuarenta horas en la cámara húmeda. La mayoría de ellas presentaban coalescencia de las lesiones (dos o tres) pero sin observarse necrosis parcial considerable ni defoliación. Todas las plantas testigos presentaron ausencia total de lesiones (calificación 0).

En la Tabla IV aparece la segunda calificación de las lesiones, después de los catorce días de la inoculación. Nuevamente se nota aquí

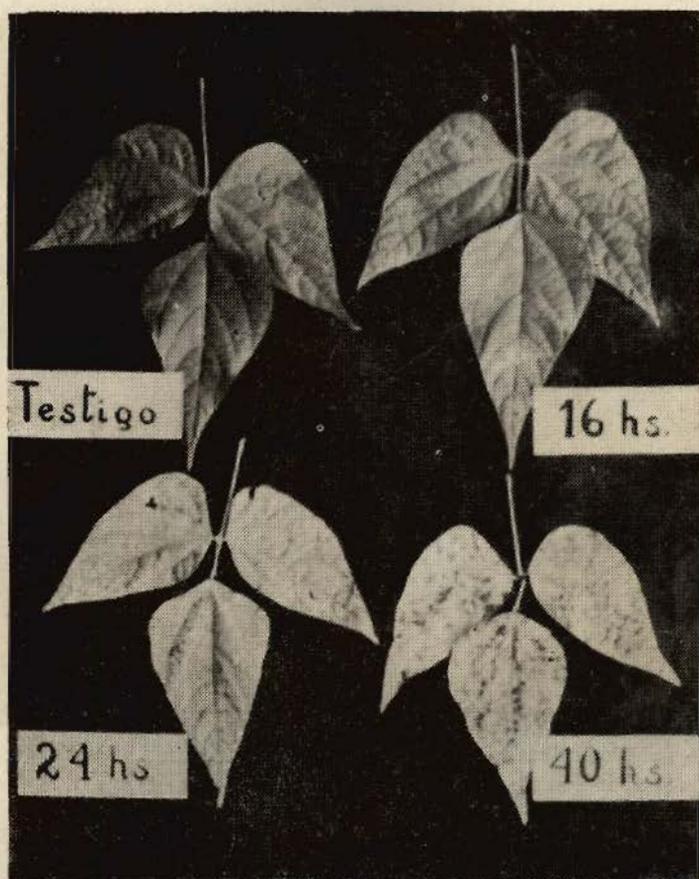


Figura 11.—Efecto del período de exposición en la cámara húmeda (16, 24 y 40 horas) después de catorce días de la inoculación en la intensidad de ataque del *Isariopsis griseola* Sacc.

Foto: M. T. Paredes.

que la mayor calificación numérica de los tipos de infección observados, corresponde a las plantas que habían permanecido cuarenta horas dentro de la cámara húmeda. Estas presentaban lesiones coalescentes que ocasionaban necrosis parcial de las hojas, lo mismo que amarillamiento y defoliación parcial.

Las plantas que habían permanecido durante veinticuatro horas en cámara húmeda después de la inoculación, alcanzaron también una calificación notable debido a la gravedad del ataque. Si se comparan las calificaciones que estas plantas obtuvieron después de los once días de la inoculación (véase Tabla III), con aquellas de la Tabla IV, podrá observarse un aumento notable en la gravedad del ataque, en

— T A B L A I I I —

Calificación de la intensidad del ataque de *Isariopsis griseola* Sacc. en frijol, después de once días de la ipoculación.

Matera . Número	Planta Número	Periodos de exposición en cámara húmeda				Sin exposi- ción en cá- mara húme- da.	Testigo		
		16 hs.	24 hs.	40 hs.					
		A(*)	B(**)	A	B	A	B		
1	1	1	0	1	2	3	3	0	0
	2	1	1	1	1	3	2	0	0
	3	1	2	—	2	3	3	0	0
2	1	1	2	2	3	3	1	0	0
	2	2	1	2	2	2	2	0	0
	3	2	2	2	1	3	3	0	0
3	1	2	2	1	2	3	3	0	0
	2	1	2	2	1	3	3	0	0
	3	0	2	2	3	2	2	0	0

(*) Esporas provenientes de cultivos que no sufrieron ningún. transplante después del aislamiento.

(**) Esporas provenientes de cultivos resembrados cinco a seis veces.

los tres días de diferencia. Así, las plantas de la matera N° 2 (Tabla III) con infecciones leves o moderadas, alcanzaron en la segunda observación una calificación de 4 o infección muy grave (Tabla IV). Esta observación dá una idea de la rapidez con que el patógeno, una vez establecido en el susceptible, invade los tejidos de éste hasta ocasionar áreas necróticas, amarillamiento de las hojas y defoliación parcial de las plantas.

Las plantas que habían permanecido durante dieciseis horas en la cámara húmeda después de la inoculación, presentaban infecciones muy leves o moderadas después de los once días (véase Tabla III); sin embargo, algunas de ellas alcanzaron calificaciones de 3 (ataque moderado) pero ninguna de 4 (ataque grave), al cabo de catorce días (véase Tabla IV).

Todas aquellas plantas que se dejaron bajo las condiciones ambientales (expuestas a la luz difusa, bajo techo) después de la inoculación, al igual que los testigos, no presentaron sintoma alguno de la enfermedad (véase Tablas III y IV).

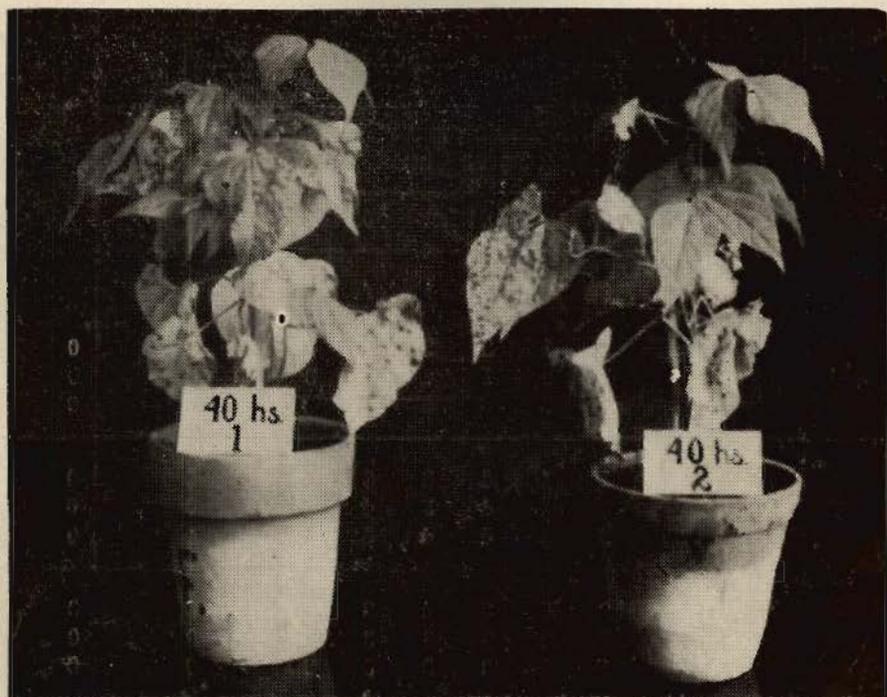


Figura 12.—Virulencia de esporas de *Isariopsis griseola* Sacc. en plantas colocadas en cámara húmeda durante 40 horas después de catorce días de la inoculación.

- 1: inoculadas con esporas provenientes de cultivos que no habían sufrido trasplantes previos.
- 2: inoculadas con esporas provenientes de cultivos trasplantados cinco a seis veces.

Foto: M. T. Paredes.

Con el objeto de observar si existía alguna diferencia en relación con la patogenicidad de esporas provenientes de infecciones naturales (hojas enfermas colectadas en el campo) con aquellas de esporas provenientes de cultivos del hongo, se efectuó un experimento de inoculación, usando en él las mismas técnicas seguidas en los anteriores, con excepción del período de exposición en cámara húmeda, el cual se aumentó a 48 horas.

Se inocularon, con cada uno de los dos tipos de esporas, cuatro plantas, dejando dos de ellas como testigos. Al cabo de los catorce días después de la inoculación, no se observó ninguna diferencia en relación con la patogenicidad de las esporas provenientes de infecciones naturales, con aquella de cultivos puros del hongo: la calificación de la intensidad del ataque en ambos casos fué idéntica, variando entre 3 (infección grave) y 4 (infección muy grave).

— T A B L A I V —

Calificación de la intensidad del ataque de *Isariopsis griseola* Sacc. en frijol, después de catorce días de la inoculación.

Matera Número	Planta Número	Periodos de exposición en cámara húmeda						Sin exposi- ción en cá- mara húme- da.	Testigo
		16 hs.		24 hs.		40 hs.			
		A(*)	B(**)	A	B	A	B		
1	1	1	1	2	2	4	3	0	0
	2	1	3	1	4	4	3	0	0
	3	1	3	—	3	4	3	0	0
2	1	1	1	4	3	3	2	0	0
	2	3	1	4	3	4	3	0	0
	3	2	3	4	4	4	4	0	0
3	1	2	3	3	4	3	3	0	0
	2	2	2	3	3	3	4	0	0
	3	1	3	3	3	3	3	0	0

(*) Esporas provenientes de cultivos que no sufrieron transplante después del aislamiento.

(**) Esporas provenientes de cultivos resembrados cinco a seis veces.

Por último, se hicieron aislamientos a partir de hojas que habían sido inoculadas artificialmente con cultivos puros del hongo, con el objeto de recuperar el organismo patógeno, empleando las técnicas y métodos descritos en la obtención de cultivos puros. Todos los aislamientos efectuados dieron resultados positivos: al cabo de los ocho días se obtuvo un crecimiento abundante del hongo.

De los anteriores experimentos se puede concluir que:

- 1.—Para lograr infección con *Isariopsis griseola* Sacc. en plantas de frijol, es indispensable que éstas se expongan bajo condiciones de alta humedad atmosférica (95 a 100%), después de la inoculación.
- 2.—El período de exposición dentro de la cámara húmeda (horas), está en relación directa con la gravedad del ataque: a mayor período de exposición, mayor grado de infección.
- 3.—La infección más intensa se obtuvo colocando las plantas en la cámara húmeda, después de su inoculación, durante cuarenta horas.

- 4.—Las esporas de *Isariopsis griseola* Sacc. no disminuyen su virulencia a pesar de los aislamientos y la conservan durante un tiempo considerable, aunque hayan sufrido varios transplantes.

Epifitología.— De acuerdo con los resultados obtenidos por la autora, uno de los factores ambientales que más favorece al desarrollo es la humedad atmosférica alta. Wallace (19) y Srinivasan (17), hacen énfasis en el hecho de que la enfermedad revistió caracteres de gran importancia sólo cuando se presentó en períodos de lluvias prolongadas. Este hecho puede explicarse si se tiene en cuenta que en épocas de mucha precipitación pluvial, el alto porcentaje de humedad atmosférica y el agua que permanece adherida en las hojas, proporcionan un excelente medio para la germinación de las esporas del hongo.

En general, la enfermedad se presenta con mayor intensidad en países tropicales que en aquellos situados en zonas templadas. No se encontraron en la bibliografía consultada, datos cuantitativos precisos sobre las condiciones ambientales, óptimas para el desarrollo de la enfermedad. De acuerdo con los resultados de los experimentos realizados por la autora, la enfermedad se presentó con caracteres de bastante intensidad a una temperatura de 24,50°C., cuando las plantas se colocaron en un ambiente de casi completa saturación de humedad (95 al 100%).

Represión.— No está aún completamente establecido que esta enfermedad puede transmitirse por medio de la semilla, pues en muy raras ocasiones y sólo en caso de ataques muy severos las vainas pueden ser afectadas; sin embargo, es factible que la semilla pueda albergar el patógeno, contribuyendo a su distribución de una región a otra. Seguramente basado en las anteriores consideraciones, Vargas (18), aconseja como medida exclusionaria, el tratamiento de la semilla antes de la siembra con una solución de bicloruro de mercurio al uno por mil. Especial cuidado debe tenerse cuando se trata de movilizar semilla y aún trabajadores de una región a otra, ya que mediante ellos se puede distribuir la enfermedad.

La siembra de fríjol en terrenos libres de la enfermedad o en aquellos en donde no se haya sembrado esa leguminosa durante un período de dos o más años, podría ser una medida muy recomendable de represión.

Para la erradicación de la enfermedad en áreas pequeñas, Belloch (1) recomienda la eliminación por quema de las primeras plantas u hojas atacadas con el fin de evitar las infecciones secundarias que puedan sobrevenir. En el Valle del Cauca serían recomendables las rotaciones por semestre con otros cultivos tales como maíz y soya, o la siembra alternada de un año a otro de variedades resistentes, con las susceptibles deseables por gran rendimiento y demanda. La quema de los residuos de la cosecha anterior es aconsejables, ya que ella contribuya a la eliminación de las posibles fuentes de inóculo primario.

En cuanto al uso de fungicidas protectores, varios autores (Zau-

meyer, 20; Harter, 10; Belloch, 1), están de acuerdo en afirmar que las aplicaciones con caldo Bordelés de fórmula 4-4-50, son inefectivas para la prevención de la enfermedad. Cook (5), sin embargo afirma que en Puerto Rico las infecciones pertinaces pueden dominarse con Caldo Bordelés, sin especificar su fórmula de empleo.

En lo que se refiere a fungicidas protectores modernos, de acuerdo con los ensayos hechos por la sección de Fitopatología de la Estación Agrícola de Palmira, los más efectivos para la represión de esta enfermedad fueron Parzate y Manzate (Cardenosa, 4). El factor limitante para su uso en gran escala por parte de los agricultores es el alto costo de los productos.

Según experimentos realizados en Medellín por Skiles et al. (15), tratamientos combinados de Fermate, Azufre y adherente, dieron los mejores resultados para la represión de las tres principales enfermedades en esa región "antracnosis" "roya" y "mancha angular", aplicados en las variedades Estrada Rosado y Panameño; el tratamiento de Fermate y adherente fue muy efectivo para la represión de las mismas enfermedades en la variedad Higuerrillo. La variedad Algarrobo fue la que menos respondió al tratamiento con Fermate, adherente a DDT del 50% (este último en forma de polvo mojable), aplicado con el objeto de reprimir las mismas enfermedades, y siendo esta variedad la de más alto rendimiento entre las nombradas.

No se conocen datos precisos sobre la relativa resistencia de las variedades comerciales a la enfermedad. Skiles et al. (15) registran como susceptibles a la enfermedad, en Medellín las variedades Algarrobo, Estrada, Rosado y Panameño.

RESUMEN

La autora presenta un estudio sobre la mancha angular del frijol causada por el hongo *Isariopsis griseola* Sacc., enfermedad que en los últimos dos años ha adquirido gran importancia económica en el Valle del Cauca, debido a la severidad del ataque y a las grandes pérdidas que ocasiona en los cultivos.

Complementa la escasa bibliografía existente sobre la enfermedad mediante sus observaciones y experiencias personales.

Por medio de una serie de experimentos sobre la viabilidad de las esporas del hongo, demuestra que la luz no ejerce influencia alguna sobre su germinación. Comprueba la efectividad de la técnica para germinación de esporas seguida por López (13), concluyendo que las esporas no pierden su viabilidad a pesar de haber sufrido varios transplantes (cinco a seis).

Mediante experimentos tendientes a encontrar un método efectivo para asegurar artificialmente la infección con esporas de *Isariopsis griseola* Sacc. en frijol, demuestra que es indispensable someter las

plantas inoculadas a condiciones de alta humedad atmosférica (95 a 100%). Cuanto mayor fué el período de exposición dentro de la cámara húmeda (40 horas comparado con 24 y 16), mayor fue el grado de infección observado. No encontró disminución en la virulencia de las esporas cuando éstas habían sufrido varios trasplantes previos (cinco a seis), comparada con aquella de esporas provenientes de cultivos recién aislados, ni tampoco diferencias en el poder infeccioso de esporas provenientes de infecciones naturales y de esporas de cultivos puros del hongo.

PATHOGENECITY OF THE *Isariopsis griseola* Sacc. ON BEAN PLANTS
(*Phaseolus vulgaris* L.)

SUMMARY

The author presents a study on the angular leaf spot of bean plants caused by the fungus *Isariopsis griseola* Sacc., a disease which in the last two years has acquired a great economic importance in the Cauca Valley, because of the severity of attacks and the great losses that this disease have been caused in the crops.

A research of the available literature was complemented by the author's personal observations and experiences. By means of a series of experiments on the viability of the spores, she demonstrated that light does not exercise any influence on their germination. She verified the efficacy of the germination technique followed by López (13) concluding that the spores does not lose their viability in spite of have had several transplantations (five or six).

By means of experiments designed to find an effective method to secure artificial infection with *Isariopsis griseola* Sacc. spores in bean plants, the author demonstrated that it is essential to put the inoculated plants under high humidity atmospheric conditions (95% to 100%). The greater the exposition period under the moist chamber (40 hours as compared with 24 and 16), the greater the degree of infection observed. She did not find any decrease in the spores virulence which have had several previous transplantations (five to six), as compared with the virulence of spores from cultures of recent isolation, either differences in the infective ability of spores from natural field infections, as compared with those from pure cultures of the fungus.

BIBLIOGRAFIA

1. Benlloch, M.— Nueva enfermedad de las judías: *Phaseoisariopsis griseola* (Sacc) Ferr. Boletín de Patología Vegetal y Entomología Agrícola, Madrid. 13: 27-31. 1944.
2. Brock, R. D.— Resistance to angular leaf spot among varieties of beans. J. Aust. Inst. Agr. Sci. 17 (1): 25-30. 1951 (Res. of Rev. of Appl. Mycology 31: 3. 1951).

3. **Bugnicourt, F. et al.**— Catalogue des parasites animaux, et végétaux des plants cultivées de Nouvelle Calédonie. Noumea, Institute Français d'Océanie, 1951. p. 120. (Res. Appl. Mycology 33: 209. 1954).
4. **Cardeñoso, B. R.**— informe de la Sección de Fitopatología de la Granja Experimental de Palmira. 1955. (No publicado).
5. **Cock, M. T.**— Enfermedades de las plantas económicas de las Antillas. Monografía de la Universidad de Puerto Rico. 1939.
6. **Deighton, F. C.**— Plant pathology Section. Rep. Dept. Agr. S. Leone, 1951. p. 21-23. 1953. (Res. Rev. of Appl. Mycology 33: 659. 1954).
7. ————. — Plant pathology section. Rep. Dept. Agr. S. Leone, 1949. p. 14-16. 1951. (Res. Rev. of Appl. Mycology 31: 476. 1952).
8. **Gottlieb, D.**— The physiology of spore germination in fungi. Botanical Re. 16: 229-257. 1950.
9. **Guatemala.**— Informe del Instituto Agropecuario Nacional por el período de Julio 1 de 1951 a Junio 30 de 1952. (Mimeografiado). (Res. Rev. of Appl. Mycology 32: 616. 1934).
10. **Harter, L. L. and Zaumeyer, W. J.**— A monographic study on bean diseases and methods for their control. Dept. of Agr. Washington, D. C. 868: 34-36. 1944.
11. **Miles, L. E.**— Some diseases of economic plants in Porto Rico. *Isariopsis* on the bean. Phytopathology 7: 345. 1917.
12. **Lilly, V. G. and Barnet, H. L.**— Physiology of the fungi. New York, McGraw-Hill. p. 355-369. 1951.
13. **López R.**— Fisiología de la germinación de esporas de *Monilia* sp. Cacao en Colombia. 3: 183-207. 1954.
14. **Saccardo, P. A.**— Syloge Fungorum. Michigan, Edards Brothers. p. 630 1944.
15. **Skiles, R. L. Barros, N. O. y Cardona, A. C.**— Control de enfermedades de frijol mediante el uso de varias combinaciones de fungicidas. Tercera reunión latinoamericana de Genetistas. Fitopatólogos, Entomólogos y Edafólogos. Colombia. 1955. (mimeografiado).
16. **Simmonds, J. H.**— Science branch. Rep. Dept. Agri. 1950-1951. p. 46-49. 1951; 66-70. 1952. (Res. Rev. of Appl. Mycology 33: 209. 1954).

17. **Srinivasan, K. V.**— *Isariopsis griseola* Sacc on *Phaseolus vulgaris* L. *Curr. Science* 22 (1): 20. 1953.
18. **Vargas, S. R.**— Cultivo del frijol en la costa central del Perú. *Estación Agrícola Experimental. Lima. Bol.* 54. 1954.
19. **Wallace, G. B.**— Diseases on French, or Dwarf beans. *Tanganyika, Dept. Pamphl.* 51: 4. 1951. (*Res Rev. of Appl. Mycology* 31: 162. 1952).
20. **Zaumeier, W. J.**— Bean diseases and their control. *Washington, Dept. of Agri. Farmers' bul.* 1962: 26. 1949.

