

Mancha de la hoja del poroto (*Phaseolus vulgaris*) producida por *Phyllosticta phaseolina* Sacc.¹

ESTHER ATLAS DE GOTUZZO²

(Recibido : 16 de octubre, 1969)

RESUMEN

Se describen la sintomatología y el agente causal de una enfermedad del poroto no mencionada en Argentina : « mancha de la hoja ».

Se detallan los aislamientos e inoculaciones en invernáculo, llevados a cabo a tal efecto, así como los daños y comportamiento varietal.

Se concluye que el agente etiológico de esta enfermedad del poroto (*Phaseolus vulgaris*) es *Phyllosticta phaseolina* Sacc.

SUMMARY

The symptomatology, isolations, experimental inoculations, damages of the disease, varietal behavior and causal agent of a bean (*Phaseolus vulgaris*) disease not yet mentioned in Argentina, a « leaf spot », are described.

It is concluded that the etiologic agent of this bean disease is *Phyllosticta phaseolina* Sacc.

INTRODUCCION

En visitas efectuadas periódicamente, a partir de diciembre de 1967, a diversas quintas de las zonas de Pereyra Iraola, La Carolina, City Bell y Florencio Varela, ubicadas en la provincia de Buenos Aires, se observó, bastante difundida, una enfermedad en poroto conocida con el nombre común de «mancha de la hoja», que no ha sido citada en nuestro país y cuyo agente etiológico es *Phyllosticta phaseolina* Sacc. Por esta razón, se considera de interés describir la enfermedad y su agente causal.

Su distribución geográfica es amplia, habiendo sido mencionada en Estados Unidos (SMITH, 1905), Sud Africa (DOIDGE, 1924), Canadá (DRAYTON, 1926), Brasil (MÜLLER, 1935) y también en Bélgica, Bulgaria, Dinamarca, Japón y Servia (citados por ZAUMEYER y THOMAS, 1957).

Esos autores no solamente la citaron en sus respectivos países, sino que también la estudiaron detalladamente. Entre ellos debe destacarse el trabajo de SMITH (1905) por ser uno de los primeros sobre el tema y la monografía de ZAUMEYER y THOMAS (*op. cit.*) quienes hacen una descripción minuciosa de la enfermedad y establecen que si bien es una de las más comunes en los Estados Unidos de América, generalmente no es muy grave.

La primera descripción del agente causal fue realizada por SACCARDO (1882-1931) y data de 1884.

¹ Departamento de Agricultura, orientación Fitopatología, Plan N° 124 del Convenio con C.A.F.P.T.A. Publicación N° 2.

² Profesora adjunta del Departamento de Agricultura, orientación Fitopatología, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad de Buenos Aires.

HOSPEDANTES

ZAUMEYER y THOMAS (*op. cit.*) citan esta enfermedad sobre *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus lunatus* f. *macrocarpus*, *Phaseolus polistachios*, *Strophostyles helvola* y *Vigna cylindrica*.

SMITH (*op. cit.*) consigue reproducir la enfermedad en *Vigna sinensis*.

En las visitas efectuadas a los alrededores de La Plata, se la ha encontrado sobre poroto común (*Phaseolus vulgaris*) de las variedades Acay y Bahín. En condiciones de invernáculo resultaron susceptibles: *Phaseolus lunatus*, *Phaseolus vulgaris* y *Vigna sesquipedalis*.

SINTOMATOLOGÍA

La enfermedad se presenta principalmente en las hojas, sobre todo en las ya maduras, aunque se han comprobado (HARRISON, 1925; ZAUMEYER y THOMAS, *op. cit.*) también síntomas en tallos, pecíolos, vainas y pimpollos.

En las observaciones de cultivos en condiciones naturales, se encontraron lesiones únicamente sobre hojas; en las inoculaciones llevadas a cabo en invernáculo, también se produjeron manchas en pecíolos y tallos, no así en los otros órganos antes mencionados.

En la lámina foliar, el síntoma típico está constituido inicialmente por pequeñas manchas de 1-2 y hasta 10 mm de diámetro, distribuidas irregularmente, de forma también irregular, tendiendo a circular.

Al principio las manchas son de color pardo rojizo uniforme, luego los bordes se oscurecen y el centro se aclara, hasta llegar a hacerse típicamente ocráceo, quedando en esta forma aquéllas perfectamente delimitadas por una neta línea rojiza oscura (Fig. 1 a y d).

Este es el síntoma típico de la enfermedad que la hace inconfundible con otras manchas de las hojas del poroto, producidas por diferentes agentes etiológicos. A medida que avanza la lesión, las manchas se extienden pudiendo alcanzar 1-2 cm de diámetro. A veces algunas confluyen, sobre todo en los bordes de las hojas, apareciendo la lámina foliar con pequeños trozos de tejido necrosado.

Los síntomas en pecíolos y tallos (observados como queda dicho, únicamente en invernáculo) están constituidos por manchas de color pardo rojizo, angostas, alargadas como líneas, que pue-

den llegar a rodear todo el pecíolo y hasta la mitad de la circunferencia del tallo (Fig. 1 e).

También en las inoculaciones experimentales se ha comprobado, en algunas variedades, un oscurecimiento en parte de las nervaduras principal y secundarias (Fig. 1 c). Los pimpollos atacados se tornan castaños y caen luego de la infección.

Los síntomas en las vainas consisten en pequeñas manchas de 1 mm de diámetro, de centro oscuro y borde rojizo (ZAUMEYER y THOMAS (*op. cit.*), WALKER, 1959).

En condiciones naturales, a medida que avanza la estación, se observan sobre las manchas ocráceas típicas, pequeños puntos oscuros, aislados, que corresponden a las fructificaciones del hongo (picnidos). Cabe consignar que éstos se encontraron recién a partir de la última semana de diciembre y en forma no muy abundante, razón por la cual fue necesario revisar gran cantidad de material para observarlos.

MATERIALES Y METODOS

AISLAMIENTOS

Se emplearon pequeños trozos de hojas con manchas típicas; se desinfectaron pasándolos sucesivamente por alcohol de 70° durante 30 segundos, bicloruro de mercurio al 1^o/₁₀₀ también durante 30 segundos y lavándolos luego con abundante agua destilada estéril, durante media hora. El material así tratado se sembró en cajas de Petri, en medio de agar-papa glucosado al 1%, pH 6,6.

También se procedió a aislar el hongo partiendo de los picnidos, los que se sacaron del tejido atacado con la ayuda de aguja histológica, bajo lupa, sembrando directamente en el medio de cultivo mencionado e incubando a 24-26° C.

PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

Se efectuaron inoculaciones experimentales en invernáculo. Se emplearon plantas de las siguientes especies: *Phaseolus vulgaris*, variedades Bountiful, Bahín de rama y Pencil Pod; *Phaseolus lunatus*, variedad manteca enano; *Phaseolus coccineus*, variedad Pallares y *Vigna sesquipedalis*, que tenían bien desarrolladas sus hojas cotiledonales y ya brotadas las primeras trifoliadas (plantas de 25-30 días), utilizándose un total de 20 plantas por variedad, distribuidas en 10 macetas.

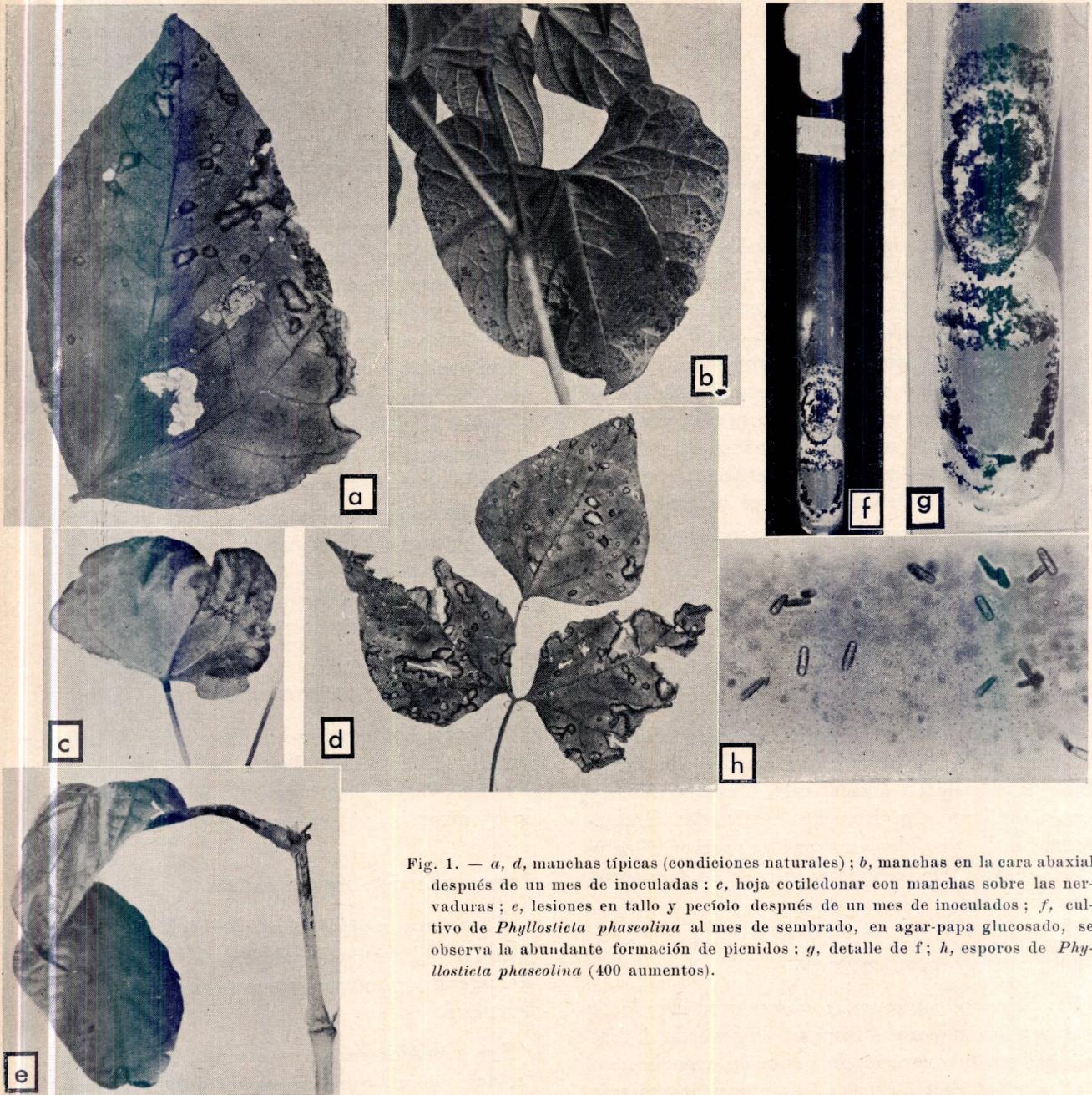


Fig. 1. — *a, d*, manchas típicas (condiciones naturales); *b*, manchas en la cara abaxial después de un mes de inoculadas; *c*, hoja cotiledonar con manchas sobre las nervaduras; *e*, lesiones en tallo y pecíolo después de un mes de inoculados; *f*, cultivo de *Phyllosticta phaseolina* al mes de sembrado, en agar-papa glucosado, se observa la abundante formación de picnidos; *g*, detalle de *f*; *h*, esporos de *Phyllosticta phaseolina* (400 aumentos).

El inóculo se preparó sembrando el microorganismo en frascos Erlenmeyer de 500 cm³ con agar-papa glucosado al 1%, pH 6,6, en estría e incubando a 24° C durante 10 días; cuando se observó abundante formación de picnidos, se procedió a la inoculación. Para ello se lavó con agua destilada estéril la superficie donde desarrolló el hongo, raspándolo con un ansa; esta suspensión de esporos y micelio se filtró por gasa estéril y se pulverizó

abundantemente sobre ambas caras de las hojas, pecíolos y tallos.

Las plantas inoculadas se mantuvieron en cámara húmeda constituida por una bolsa de polietileno y un trozo de algodón empapado en agua. En estas condiciones se dejaron en el invernáculo, a temperatura entre 20-22° C.

Los testigos correspondieron a hojas, tallos y pecíolos pulverizados con agua destilada estéril.

Al cabo de 4 días se retiraron las bolsas de polietileno.

TRANSMISIÓN DE LA ENFERMEDAD

Según CHUPP y SHERF (1960), si bien es poco conocida la biología de este patógeno, se supone que se transmite por semilla y que persiste de un año a otro en los restos de la cosecha.

Con el fin de comprobar la posible transmisión por semilla se efectuó el siguiente ensayo.

Se emplearon semillas de la variedad Balín de Albenga y un cultivo de 10 días de *Phyllosticta phaseolina*, abundantemente esporulado. Se suspendieron micelio y esporos, en agua destilada estéril, dejándose las semillas en contacto con esta suspensión durante una hora y media. Al cabo de dicho tiempo, se sembraron en terrinas conteniendo tierra estéril y se dejaron en el invernáculo.

Los testigos correspondieron a semillas mojadas con agua destilada estéril.

RESULTADOS

AISLAMIENTOS

Al cabo de 72-96 horas de incubación, comenzó a desarrollarse, en las cajas sembradas con trozos de hojas, un micelio decumbente, blanco-grisáceo y poco abundante. En las cajas sembradas directamente con los picnidos, comenzó a aparecer, al cabo de 6-7 días de incubación, un micelio de características similares.

PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

Los primeros síntomas se observaron cuando se retiraron las cámaras húmedas, después de 4 días de incubación, apareciendo pequeñas manchas sobre las hojas, de 0,5-1 mm de diámetro, irregulares a circulares, de color pardo, predominando en la cara inferior; también se observaron manchas muy juntas en los bordes y puntas de las hojas, atribuibles probablemente, a acumulación del inóculo en dichos lugares. Después de 8-10 días las manchas se hicieron más oscuras y aumentaron algo de diámetro hasta llegar a 2-3 mm. Más tarde aparecieron manchas oscuras, alargadas, en peciolos y tallos, sobre todo en las variedades Bountiful, Pencil Pod, Balín de rama y poroto de manteca enano (Fig. 1 e).

En *Vigna sesquipedalis* se observó, además de estos síntomas y en todas las plantas inoculadas, un oscurecimiento en parte de las nervaduras principal y secundarias, notable sobre todo en la cara inferior de la lámina foliar. Esta manifestación ocurrió también, pero en forma aislada, en las otras variedades inoculadas, excepción hecha de Pencil Pod, donde no se observaron manchas en las nervaduras.

A medida que avanzó la enfermedad, las manchas tomaron un color ocre en el centro, permaneciendo el borde de color castaño oscuro y apareciendo, por lo tanto, con características idénticas a las observadas en condiciones naturales. Muchas de estas manchas se extendieron hasta alcanzar 0,5-1 cm de diámetro y al cabo de 25-30 días sobre ellas se observaron, sobre todo en los bordes, los puntos negros característicos correspondientes a los picnidos. Algunas manchas permanecieron estériles.

De las hojas con síntomas típicos, se efectuaron reaislamientos, obteniéndose colonias de características similares a las inoculadas, en las que se identificó *Phyllosticta phaseolina*, cumpliéndose así con los llamados postulados de Koch.

TRANSMISIÓN DE LA ENFERMEDAD

Al cabo de 2 meses no se observaron síntomas en la parte aérea de las plantas provenientes de semillas inoculadas, interrumpiéndose en ese momento la observación, por causas imprevistas.

DESCRIPCIÓN DEL AGENTE CAUSAL

Caracteres morfológicos. En las observaciones directas del material enfermo, las fructificaciones del agente causal presentaron las siguientes características:

Los *picnidos* se encontraron únicamente sobre lesiones viejas, como pequeños puntos oscuros, disseminados sobre las manchas y separados unos de otros. Fueron erumpentes, de color negro, globosos, de 75-90 μ de diámetro, de paredes membranosas, finas y ostiolados.

Las *picnidosporas* fueron abundantes, hialinas, ovoideas a oblongas, algo estrechas, a veces levemente contraídas, de 5,2 μ por 2,6 μ (valores promedios), con 3,5-7 μ por 2-3 μ de valores extremos (Fig. 1 h).

En agar-papa glucosado, en agar-avena y agar-extracto de malta, las fructificaciones presentaron ca-

racterísticas similares a las descritas, excepción hecha del tamaño. Así, mientras los picnidos llegaron a 90-100 μ de diámetro, las picnidiosporas, según que hubieran provenido directamente del material enfermo o de los aislamientos, presentaron una variación en su tamaño, según se detalla en el Cuadro 1.

CUADRO 1. — Valores promedios de longitud y ancho de las picnidiosporas de « *Phyllosticta phaseolina* » Sacc.

Origen	Longitud (promedio u.)	Longitud (valores extremos u.)	Ancho (promedio u.)	Ancho (valores extremos u.)
Material enfermo	5,2	3,5 7	2,6	2 3
Aislamientos, cultivos monospóricos:				
1.....	9,5	12,4 7,1	3,7	3 4
2.....	9	11,7 7,1	3,4	3 4
3.....	7,9	11,7 5,3	3,6	3 4

Comportamiento del cultivo. En agar-papa glucosado el agente causal produjo colonias de crecimiento lento, micelio decumbente de color blanco grisáceo, poco abundante. Al cabo de 8-10 días, se observaron abundantes picnidos esféricos, negros, brillantes, agrupados, que rápidamente llegaron a cubrir todo el desarrollo micelar (Fig. 1 f y g).

En agar-avena, el desarrollo fue de características similares. En cambio, en agar-extracto de malta, el crecimiento fue más rápido produciendo un abundante micelio blanco y sólo recién al cabo de 15-20 días comenzaron a producirse los picnidos. Las picnidiosporas germinaron fácilmente en agar-papa glucosado.

Taxonomía. Por las características antes mencionadas, se establece que el hongo en estudio corresponde a *Phyllosticta phaseolina* Sacc. (SACCARDO, 1882-1931; STEVENS, 1957).

DAÑOS

Si bien en las quintas visitadas la enfermedad estaba bastante difundida, no alcanzaba caracteres graves ya que se circunscribía únicamente a las hojas, sin llegar a producirse defoliación. Según DRAYTON (*op. cit.*) los daños más graves se producen cuando son atacados los pimpollos.

RESISTENCIA VARIETAL

En las observaciones a campo se comprobó que tanto las variedades Acay como Balín, resultaron igualmente susceptibles al ataque de *Phyllosticta phaseolina* Sacc. En condiciones de invernáculo se comportaron como susceptibles las siguientes variedades inoculadas: Balín de rama, Bountiful y Pencil Pod, correspondientes a *Phaseolus vulgaris*, poroto de manteca enano (*Phaseolus lunatus*) y *Vigna sesquipedalis*. Esta última especie apareció como la más susceptible, no sólo por el número de manchas que cubrían la lámina foliar, sino también porque grandes trozos de la misma llegaron a necrosarse y cayeron.

CONTROL

No se ha ensayado ningún tipo de control para esta enfermedad, ya que éste no era el objetivo del trabajo. Al respecto, ZAUMEYER y THOMAS (*op. cit.*) establecen que la misma no adquiere tanta importancia como para requerir la aplicación de medidas de control.

SMITH (*op. cit.*) sugiere que pulverizaciones adecuadas de caldo bordelés, junto con la destrucción por el fuego de los restos de cosecha, pueden dar resultados beneficiosos. Por su parte, CHUPP y SHERF (*op. cit.*) recomiendan largas rotaciones con cultivos que no sean leguminosas, suelos bien drenados y siembra de semilla sana. Si fuera necesario, completar con pulverizaciones preventivas de Maneb, Ferbam, Captan, Ziram o Zineb, repitiendo semanalmente la aplicación.

CONSIDERACIONES

Respecto a la sintomatología, cabe consignar que en las plantas inoculadas de *Vigna sesquipedalis* y en algunas variedades de *Phaseolus vulgaris*, se observaron manchas oscuras sobre las nervaduras principal y secundarias. Este tipo de lesión no se comprobó en condiciones naturales como causada por

Phyllosticta phaseolina, ni se encuentran referencias a la misma en la bibliografía respectiva. Síntomas similares son producidos por otros patógenos como *Pseudomonas syringae* en poroto de lima, *Colletotrichum lindemuthianum* y *Helminthosporium victoriae*.

Se coincide con SMITH (*op. cit.*) en la observación de que muchas de las manchas de las hojas inoculadas permanecen estériles. Dicho autor lo establece así para caupí (*Vigna sinensis*) y poroto de lima (*Phaseolus lunatus*).

Respecto a la transmisión de la enfermedad por las semillas, la observación del ensayo duró solamente 2 meses, en el transcurso de los cuales no se comprobó ningún síntoma en el follaje ni en los tallos. Debería prolongarse el período de observación, a fin de verificar la posible aparición posterior de síntomas en esos órganos y en legumbres.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos de aislamientos e inoculaciones permiten concluir que el agente causal de la mancha de la hoja del poroto (*Phaseolus vulgaris*) es *Phyllosticta phaseolina* Sacc. Esta enfermedad fue observada por primera vez en la Argentina.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Agr. R. J. GARIBALDI, Jefe de la Agencia de Extensión de Pereyra Iraola (INTA) por

su cooperación durante las visitas a las quintas de la zona y al Sr. F. PESOA, ex-Ayudante técnico de la Cátedra, por los aislamientos monospóricos realizados.

BIBLIOGRAFIA

- CHUPP, CH. and SHERF, A. F., 1960. *Vegetable Diseases and their Control*. Constable and Co., London, 693 p.
- DOIDGE, E. M., 1924. *A preliminary check list of plant diseases occurring in South Africa*. So. Africa Bot. Survey Mem. 6, 56 p.
- DRAYTON, F. L., 1926. *A summary of the prevalence of plant diseases in the Dominion of Canada 1920/24*. Canada Dept. Agr. Bull. (n.s.) 71, 88 p.
- HARRISON, K. A., 1925. *Preliminary report on a disease of common bean*. Quebec Soc. Protect. Plants Ann. Rpt., 17: 62-69.
- MÜLLER, A. S., 1935. *Lista preliminar da doenças cryptogamicas de plantas cultivadas em Minas Geraes, Brasil*. Bol. da Ag. Zootech. e Vet. 8: 67-77.
- SACCARDO, P. A., 1882-1931. *Sylloge fungorum, omnium hucusque cognitorum*. Pavia, Sumptibus Auctoris, 3: 41.
- SMITH, C. O., 1905. *The study of the diseases of some truck crops in Delaware*. Del. Agr. Exp. Sta. Bull. 70, 16 p.
- STEVENS, F. L., 1957. *Plant diseases fungi*. New York, The Mac Millan, 469 p.
- WALKER, J. C., 1959. *Enfermedades de las hortalizas*. Barcelona, Salvat, 624 p.
- ZAUMEYER, W. J., and THOMAS, H. R., 1957. *A monographic study of bean diseases and methods for their control*. U. S. Dept. Agr. Tech. Bull., 868, 255 p.