

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO**

**DIVISION DE AGRONOMIA  
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA**



**Comportamiento de la Incidencia y la Severidad del Tizón Común en Planta de  
Frijol en Cultivo Bajo Tratamiento con Extractos Inductores de Resistencia**

**POR:**

**DORIAN JANS OLIVAR ROLDAN**

**TESIS**

**Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:**

**INGENIERO AGRONOMO EN HORTICULTURA**

**Saltillo, Coahuila, México**

**Noviembre de 2011**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Comportamiento de la Incidencia y la Severidad del Tizón Común en Planta de Frijol  
en Cultivo Bajo Tratamiento con Extractos Inductores de Resistencia

POR:

DORIAN JANS OLIVAR ROLDAN

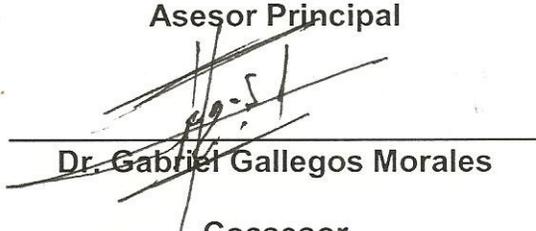
TESIS

Presenta como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRONOMO EN HORTICULTURA

APROBADA:

Asesor Principal

  
Dr. Gabriel Gallegos Morales

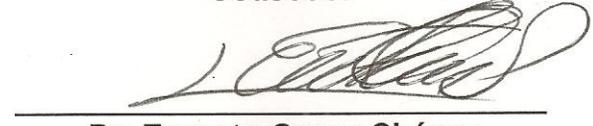
Coasesor

  
M.C. Marcela Hernández Suárez

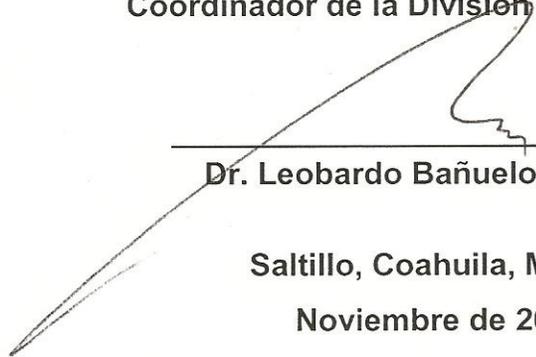
Coasesor

  
Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo

Coasesor

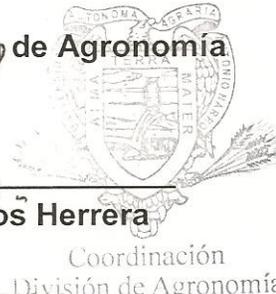
  
Dr. Ernesto Cerna Chávez

Coordinador de la División de Agronomía

  
Dr. Leobardo Bañuelos Herrera

Salttilo, Coahuila, México

Noviembre de 2011



Coordinación  
División de Agronomía

## *AGRADECIMIENTOS*

*Al Dios y a la Virgen de Guadalupe, por darme la oportunidad de vivir, por guiarme por un buen camino, por la fortaleza que hasta hoy me ha dado y por permitirme cumplir uno de mis más preciados sueños.*

*A mi Alma Terra Mater, La Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, porque me abrió las puertas y me formo como profesionalista, porque no me equivoque en haberla escogido para realizar mi carrera y simplemente porque estaré orgulloso de ella.*

*Al Dr. Gabriel Gallegos Morales, por brindarme su valioso tiempo en la revisión de tesis, por las asesorías, consejos, comentarios y correcciones acertadas de este trabajo.*

*Al Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo, por la ayuda en la realización de este trabajo y por las acertadas correcciones realizadas en esta tesis.*

*A la M.C. Marcela Hernández Suárez, por haberme brindado su amistad y también por sus consejos oportunos.*

*Al Dr. Claudio Ríos Velasco, por participar en la corrección de este trabajo y por su apoyo recibido en este trabajo, gracias por su amistad.*

*A Cristina Sánchez Flores, por el apoyo brindado en el trabajo de laboratorio pero sobre todo por su amistad muchas gracias.*

*A la Ing. Marely Domínguez Castellano, por brindarme su amistad y su apoyo incondicional en este trabajo gracias.*

## DEDICATORIAS

### **A mi Madre:**

*Esmeralda Olivar Roldan*

*Primero Gracias por haberme dado la oportunidad de vida. Por tus consejos, esfuerzos, cariño, amor y apoyo incondicional que me permitió culminar este proyecto muy importante en mi vida profesional.*

### **A mi Hermana:**

*Rubí Hatziri Olivar Roldan*

*Por haberme permitido ser el ejemplo a seguir. Gracias por tu paciencia, cariño y confianza que depositaste en mí para poder salir adelante en este proyecto.*

### **Especialmente a mis Abuelos:**

*Sra. María Isabel Roldan Vales y el Sr. Severino Mario Olivar Carrasco*

*Que por sus consejos, cariño confianza y paciencia tuvieron que cuidar de mí en una etapa muy importante de mi vida. Les doy Gracias ya que formaron parte importante en el pilar de mi formación académica, que pudieron apoyarme incondicionalmente y emocionalmente en la formación de un gran proyecto de vida. Gracias de todo corazón por tener unos padres como ustedes.*

### **A mis Tíos:**

*Juán, Jaime, Elio, Moisés, Gustavo, Urbano, Álvaro, Ramón, José Luis, David, Mallerlin, Elsa y Filadelfia.*

*A todos ustedes que siempre me han apoyado.*

**A mis primos:**

*Porque siempre hemos compartido momentos de felicidad. Especialmente a Aldo Olivar Flores quien desde pequeños nos enseñaron el valor de la vida.*

**A mis amigos:**

*A Jonadad, José Manuel, Irwing, Moisés, Hugo Antonio, Erwin, Manolo, Cruz, Omar y Martin les agradezco por haberme brindado su apoyo y sobre todo su amistad gracias.*

*A mis compañeros de la generación CX de Horticultura.*

*Si por alguna razón falte en mencionar a alguien, les pido perdón. Gracias a todas las personas que están y han estado conmigo en todo momento en las buenas y en las malas y me han mostrado el coraje para enfrentar los obstáculos de la vida. Les doy gracias por su cariño, amor y confianza que han depositado en mí. En verdad se los digo de todo corazón, gracias por estar ahí.*

## ÍNDICE GENERAL

Pág.

<b><u>AGRADECIMIENTOS.....</u></b>	iii
<b><u>DEDICATORIA.....</u></b>	ivii
<b><u>ÍNDICE GENERAL.....</u></b>	viii
<b><u>ÍNDICE DE TABLAS.....</u></b>	ix
<b><u>ÍNDICE DE FIGURAS.....</u></b>	x
<b><u>RESUMEN.....</u></b>	xi
<b><u>INTRODUCCIÓN.....</u></b>	1
<b><u>OBGETIVO GENERAL.....</u></b>	2
<b><u>HIPÓTESIS.....</u></b>	2
<b><u>REVISIÓN DE LITERATURA.....</u></b>	3
<u>Origen del Cultivo del Frijol.....</u>	3
<u>Clasificación Taxonómica.....</u>	3
<u>Importancia Económica.....</u>	4
<u>Descripción Botánica.....</u>	5
<u>Requerimientos Edafoclimáticos.....</u>	7
<u>Principales Variedades.....</u>	8
<u>Principales Plagas del Frijol.....</u>	8
Plagas que Atacan la Semilla y las Plántulas.....	9
Plagas que Atacan al Follaje.....	9
Plagas que Atacan a los Brotes y Vainas.....	9
Época para Combatir las Plagas.....	9
<u>Principales Enfermedades del Frijol.....</u>	10
<u>Tizón foliar (<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i>).....</u>	10
Importancia Económica y Síntomas.....	10
Condiciones Adecuadas para la Enfermedad.....	11
Manejo Integrado.....	11
Control Químico.....	11
Oxitetraciclina.....	12
<u>Pudrición de la Raíz (<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn).....</u>	12

<u>Amarillamiento de la Raíz (<i>Fusarium oxysporum f.sp. phaseoli</i>).....</u>	14
<u>Falsa Mancha Angular (<i>Aphelenchoides besseyi</i>).....</u>	15
<u>Amachamiento Complejo de Virus.....</u>	16
<u>Malezas.....</u>	18
<u>Microorganismos Antagonistas.....</u>	18
<u><i>Bacillus</i> sp.....</u>	18
Control Biológico al Ataque de Microorganismos Fitopatógenos.....	19
Inducción de Resistencia y Promotor del Desarrollo de Plantas.....	19
<u>Extracto de Ácido Jasmónico (<i>Botryodiplodia theobromae</i>).....</u>	20
Inducción de Respuestas Defensivas.....	20
Distribución y Función del Ácido Jasmónico.....	20
Señalización del Ácido Jasmónico.....	21
Interacción del Ácido Jasmónico con Otras Hormonas.....	21
Interacción con Etileno (ET).....	22
Interacción con Acido abscisico (ABA).....	22
Interacción con Acido Salicílico (SA).....	22
<u>Extracto de Ácido Salicílico (<i>Pseudomonas fluorescens</i>).....</u>	22
El Ácido Salicílico y su Protagonismo en la Resistencia a Patógenos.....	23
El Ácido Salicílico y su Relación con Otras Hormonas.....	23
Modo de acción del ácido salicílico durante las respuestas de defensa.....	24
<b><u>MATERIALES Y MÉTODOS.....</u></b>	25
<u>Ubicación del Experimento.....</u>	25
<u>Siembra del Cultivo.....</u>	25
<u>Aislamiento del Agente Causal del Tizón Común.....</u>	25
<u>Identificación y Caracterización de la Bacteria.....</u>	26
<u>Descripción del Experimento.....</u>	26

<u>Análisis y Toma de Datos.....</u>	28
<u>Diseño Experimental.....</u>	28
<b><u>RESULTADOS Y DISCUSION.....</u></b>	29
<u>Aislamiento e Identificación del Agente Causal del Tizón Común del</u>	
<u>Frijol <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i>.....</u>	29
<u>Evaluación de los Extractos Inductores de Resistencia.....</u>	34
<u>Incidencia del Tizón Bacteriano del Cultivo del Frijol.....</u>	34
<u>Severidad del Tizón Bacteriano del Cultivo del Frijol.....</u>	35
<b><u>CONCLUSIÓN.....</u></b>	38
<b><u>LITERATURA CITADA.....</u></b>	39
<b><u>APÉNDICE.....</u></b>	46

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tablas</b>		<b>Pág.</b>
1	<u>Principales Países Productores de Frijol a Nivel Mundial.....</u>	4
2	<u>Principales Estados en México Productores de Frijol.....</u>	5
3	<u>Tratamientos usados para el manejo del tizón bacteriano....</u>	27
4	<u>Características, Fisiológicas y Bioquímicas de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i>.....</u>	33
5	<u>Severidad en porcentaje de daño (%) de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> en plantas de frijol en cultivo bajo invernadero .....</u>	35

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figuras</b>		<b>Pág.</b>
1	<u><a href="#">Tizón Común (<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i>).....</a></u>	10
2	<u><a href="#">Pudrición de la Raíz (<i>Rhizoctonia solani</i>).....</a></u>	13
3	<u><a href="#">Amarillamiento de la Raíz (<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>phaseoli</i>).....</a></u>	14
4	<u><a href="#">Falsa Mancha Angular (<i>Aphelenchoides besseyi</i>).....</a></u>	15
5	<u><a href="#">Amachamiento, Complejo de virus.....</a></u>	17
6	<u><a href="#">Síntomas en hojas del tizón común del frijol.....</a></u>	25
7	<u><a href="#">Colonias bacterianas característica de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i>.....</a></u>	29
8	<u><a href="#">Pruebas Fisiológicas para la identificación de <i>Xanthomonas axonopodis</i>.....</a></u>	30
9	<u><a href="#">Pruebas Bioquímicas para la identificación de <i>Xanthomonas axonopodis</i>.....</a></u>	31
10	<u><a href="#">Asimilación y Acidificación de Carbohidratos para <i>Xanthomonas axonopodis</i>.....</a></u>	32
11	<u><a href="#">Presencia de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i>.....</a></u>	34

## RESUMEN

El tizón común del frijol causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, es la enfermedad más común de este cultivo, puede causar pérdidas hasta de un 45%. En búsqueda de alternativas orgánicas de control se evaluó la efectividad biológica de extractos de fermentación de *Botryodiplodia theobromae* y *Pseudomonas fluorescens* productores de ácido jasmónico y ácido salicílico respectivamente. Se sembró frijol negro variedad Jamapa previamente detectado con la presencia de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* en laboratorio. El frijol se cultivo en recipientes con peatmoss estéril y a treinta días de germinación se determinó la incidencia y severidad del tizón común en la planta. Las plantas fueron tratadas de forma individual con extractos de *Botryodiplodia theobromae*, *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus* sp., ocho días posteriores a la aplicación se evaluó la presencia o permanencia del tizón común por planta así como el porcentaje (%) de severidad o daño en la misma. El extracto orgánico conteniendo ácido jasmónico al 10%, mostró el mejor resultado para el control de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, al lograr una reducción del 75.74 % en la severidad del tizón foliar, estadísticamente similar ( $p=0.05$ ) al testigo convencional al 1 % redujo hasta un 75.31 % la severidad. Los tratamientos conteniendo extracto de ácido salicílico al 10 % y de *Bacillus* sp. al 10%, se comportaron similarmente ( $p=0.05$ ) al reducir en un 68 % la severidad de la enfermedad, diferentes a los demás tratamientos. La mezcla de extractos y bacterias esporuladas mostró un menor efecto que la aplicación de los tratamientos individuales, posiblemente por la acción antagonista de alguno de ellos. Existe un efecto positivo de control en la reducción del tizón común *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* al aplicar extractos de ácido jasmónico en el desarrollo de la planta.

**Palabras clave:** Antagonismo, Control biológico, *Bacillus* sp., ácido jasmónico, ácido salicílico.

## INTRODUCCIÓN

La producción de frijol a nivel mundial es baja, comparada con granos como trigo, maíz y arroz, sin embargo, en nuestro país su producción es muy importante, pues forma parte primordial de la dieta diaria de la población. México se encuentra en la quinta posición de productores de frijol a nivel mundial (FAO 2009) destacando Zacatecas, Sinaloa, Durango, Chihuahua y Nayarit (OEIDRUS 2009), como los estados más productores.

El frijol es afectado por diversos factores abióticos y bióticos que limitan su producción. Entre los factores bióticos se encuentran las enfermedades causadas por diferentes agentes entre los que se encuentran bacterias, virus, nematodos y hongos. Una de las enfermedades más importantes del frijol es el tizón común, causada por *Xanthomonas axonopodis* (Smith) Dye, el cual produce pérdidas de un 45% de la cosecha y que puede llegar al 100% en variedades altamente susceptibles. Adicionalmente tiene un impacto en la reducción de la calidad del grano para el consumo y para la siembra.

Es común que para el control de bacterias fitopatógenas se utilice (Oxitetraciclina) o sus derivados, con la consecuente desventaja de ser compuestos macromoleculares de difícil penetración en los sistemas vasculares o translaminación entre células vegetales además de la contaminación y de la resistencia que se pudiera generar por el abuso desmedido de estos antibióticos en el campo. Por esta razón el uso de alternativas conjuntas al control y a la inducción de resistencia de las mismas plantas a la presencia de fitobacterias pudiera considerarse como una alternativa al manejo de estos problemas fitosanitarios, como es el caso de los extractos de ácido jasmónico obtenido de *Botryodiplodia theobromae* y de ácido salicílico obtenido de *Pseudomonas fluorescens*.

Se han descrito varios mecanismos de acción de los antagonistas para controlar el desarrollo de patógenos. Algunos de estos son antibiosis, interacciones directas con el patógeno e inducción de resistencia. No es fácil determinar con precisión los mecanismos que intervienen en las interacciones entre los antagonistas y los patógenos en la planta.

En general, los antagonistas no tienen un único modo de acción y la multiplicidad de estos es una característica importante para su selección como agentes de control biológico. Si el antagonista posee varios modos de acción reduce los riesgos de desarrollo de resistencia en el patógeno. Este riesgo de resistencia también se reduce mediante el uso de combinaciones de antagonistas con diferente modo de acción (INISAV 2000).

## **OBJETIVO**

Evaluar la efectividad biológica de extractos de fermentación de *Botryodiplodia theobromae* y *Pseudomonas fluorescens*, así como el efecto sinergista de estos y *Bacillus* sp., contra la presencia de la bacteria fitopatógena en la planta.

## **HIPOTESIS**

Al menos uno de los tratamientos reducirá el daño del tizón común *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* en planta del frijol.

## REVISION DE LITERATURA

### Origen del Cultivo del Frijol

En base a la información agronómica, morfológica y a la utilización de herramientas moleculares se distinguen dos centros de domesticación del frijol: el mesoamericano y el andino (Gepts, 1998). También se ha demostrado la posibilidad de que el frijol silvestre de Ecuador y norte de Perú forma un tercer centro de origen y domesticación del género o una zona de transición entre el centro de Mesoamericano o el andino. Los indicios más antiguos de cultivo datan del año 5000 a.c. La introducción en España y posteriormente su difusión al resto de Europa tiene lugar en las expediciones de comienzos del siglo XVI.

Se acepta el hecho de que el género *phaseolus* tuvo su centro de origen y diversidad en México y que de aquí se difundieron algunas especies hacia centro América y América del sur; esto debido a que en nuestro país se han identificado 45 de las 55 especies del género (Debouck, 1991).

### Clasificación Taxonómica

Descripción taxonómica del frijol (SIIT, 2011).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Género	<i>phaseolus</i>
Especie	<i>vulgaris</i> L.

## Importancia Económica

En el mundo el volumen de frijol producido respecto a otros granos como el trigo, maíz y arroz es muy bajo, representa el 1% de los granos mencionados. A pesar de esto, su producción en algunos países es muy importante porque forma parte importante de la dieta de su población.

Tabla 1. Principales países productores de frijol a nivel mundial (Ton).

PAISES	2005	2006	2007	2008	2009
Brasil	3,021,641	3,457,744	3,169,360	3,460,867	3,522,979
India	2,630,800	3,270,000	3,930,000	3,930,000	2,310,000
China	1,806,862	1,559,850	1,233,005	1,121,151	1,543,151
USA	1,234,770	1,099,830	1,150,808	1,159,290	1,150,310
México	826,892	1,385,784	993,943	1,122,720	1,051,400
Uganda	478,000	424,000	435,000	440,000	452,000
Indonesia	216,131	208,286	223,303	183,073	330,000
Etiopia	160,000	138,422	222,700	241,418	329,775
Argentina	169,257	322,775	328,249	336,779	312,998
Rwanda	199,648	283,387	329,000	308,000	300,000

Fuente: FAO, 2009

En 2001 Nigeria fue el principal productor de frijol en el mundo. Desde 2002 hasta 2009 Brasil ha ocupado ese lugar. México ocupa el quinto lugar en este grupo de productores.

Por la superficie que ocupa a nivel nacional, la actividad económica que genera y el volumen del grano que se consume en promedio por persona, el frijol es el segundo cultivo más importante en México.

Tabla 2. Principales estados en México productores de frijol (Ton).

ESTADOS	2005	2006	2007	2008	2009
Zacatecas	175,523.95	424,179.53	237,127.69	251,831.64	264,661.97
Sinaloa	135,774.92	180,200.50	139,787.15	151,358.40	162,595.21
Durango	65,235.82	199,403.80	109,432.58	121,528.48	138,801.39
Chihuahua	47,301.40	81,092.76	62,184.10	85,360.03	117,328.84
Nayarit	51,571.51	76,064.76	68,458.71	77,662.53	75,754.10
TOTAL	826,892.07	1,385,783.81	993,952.76	1,111,087.37	1,041,349.90

Fuente: OEIDRUS, 2009

### Descripción Botánica

La morfología y fisiología del frijol se relaciona con el comportamiento productivo de la planta, el cual se manifiesta en forma diferente según el medio ambiental y las técnicas del cultivo utilizadas (Galván, 1986).

#### Raíces

- Raíz principal. Pueden alcanzar una profundidad de 1 a 2 m y es de tipo ramificado.
- Raíces laterales. Estas desarrollan una radícula cónica (Galván, 1986).

#### Hojas

- Hojas cotiledóneas. Son las primeras dos especies de hojas de forma acorazonada, sencillas y opuestas. Estas hojas son el resultado de la germinación epigea, o sea cuando los cotiledones salen a la superficie.

- Hojas verdaderas. Estas hojas son pinadas, trifoliadas o pubescentes. Su tamaño varía de acuerdo con la variedad del frijol.

### **Inflorescencia**

Esta aparece en forma de racimo. Nace en la axila de las hojas. Puede ser lateral o terminal.

### **Flor**

Está formado por cinco sépalos, cinco pétalos, diez estambres y un pistilo. Esta flor es típica de las leguminosas. Sus pétalos difieren morfológicamente, pero en su conjunto forman la corola.

- Estandarte. Es el pétalo más grande. Esta situado en la parte superior de la corola.
- Alas. Son los dos pétalos laterales.
- Quilla. Son los dos pétalos inferiores, unidos por los bordes laterales.
- Legumbre. Es el fruto de las leguminosas. La semilla está encerrada en una vaina. El color de la vaina puede ser verde, amarillo, blanco o plateado. Las semillas se propagan por dehiscencia, o sea, que la vaina al madurar se abre dejando escapar sus semillas.
- Semilla de frijol. Existen infinidad de semillas que difieren en tamaño, forma y color.

### **Tallo**

Es milimétrico y consta de tres o cuatro nudos, su porción más baja es el nudo de donde surgen los cotiledones; este nudo es, a su vez la parte más alta del hipocótilo. El hipocótilo es la zona de transición entre las estructuras típicas del tallo y la raíz.

## Requerimientos Edafoclimáticos

El manejo racional de los factores climáticos es fundamental para el funcionamiento adecuado del cultivo, ya que todos se encuentran estrechamente relacionados y la actuación de uno de estos incide sobre el resto. El frijol común es de clima húmedo y templado, dando las mejores producciones en climas cálidos algunas consideraciones para su desarrollo se presentan a continuación (Infoagro, 2011):

- *Temperatura:* Cuando la temperatura oscila entre 12 – 15 °C. el follaje es poco vigoroso y por debajo de 15 °C la mayoría de los frutos quedan en forma de ganchillo. Por encima de los 30 °C también aparecen deformaciones en las vainas y se produce el aborto de flores.
- *Humedad:* La humedad relativa óptima para el cultivo es de 60 al 75 %. Humedades relativas muy elevadas favorecen el desarrollo de enfermedades aéreas y dificulta la fecundación. Es importante que se mantengan excesivas oscilaciones de humedad.
- *Luminosidad:* El frijol común es una especie de día corto, aunque las condiciones de invernadero no le afecta la duración del día. No obstante la luminosidad condiciona la fotosíntesis, soportando temperaturas más elevadas cuanto mayor es la luminosidad y siempre que la humedad relativa sea la adecuada.
- *Suelo:* Aunque admite una amplia gama de suelo, la más indicada son los suelos ligeros, de textura silicio-limosa, con un buen drenaje y ricos en materia orgánica. En suelos fuertemente arcillosos y demasiados salinos, crece deficientemente siendo muy sensible a los encharcamientos de forma que un riego excesivo puede ser suficiente para dañar el cultivo quedando la planta de color pajizo y achaparrada. En suelos calizos las plantas se vuelven cloróticas y achaparradas. Los valores de pH. óptimos oscilan entre 6.0 y 7.5. Es una de las especies más sensibles a la salinidad, tanto del suelo como del agua de riego sufriendo importantes mermas en las cosechas, aunque en suelos arenosos con valores de pH. hasta 8.5, se desarrollan bien.

## Principales Variedades

Dentro de la gran cantidad de variedades de frijol que se siembra en México, se tiene una clasificación de acuerdo al color del grano en tres grandes grupos: Negros, Claros y Pintos; cuya diversidad depende de la variedad que en muchos casos recibe el nombre del estado donde se cultiva, a continuación se mencionan los más importantes:

**Negros:** Jamapa, San Luís, Michigan, Nayarit, Altiplano.

**Claros:** Flores de Mayo y Junio, Azufrados, Garbancillo, canario, Amarillo.

**Pintos:** Pinto Americano, Pinto Nacional, Ojo de Cabra, Pinto Saltillo.

Cabe resaltar la gran importancia que tiene Zacatecas en la producción de frijol de las tres clasificaciones, así mismo se menciona que muchos estados se especializan en la producción de cierta clasificación. A nivel nacional se produce el 29.22 % de variedades de frijol negro, 45.85 % de variedades claras y 24.93 % de variedades de frijoles pintos (INIFAP, 2011).

## Principales Plagas del Frijol

Crispín (1987) considera que el frijol es uno de los cultivos mas atacados por insectos, y asienta que se ha constatado el ataque de no menos de 45 especies de insectos en 28 géneros, en su mayoría de importancia económica.

En una recopilación efectuada (anónimo, 1982), en el Centro Internacional de Agricultura Tropical se enlistan alrededor de 200 especies de insectos y ácaros que dañan al cultivo del frijol.

Ospina (1980) menciona que las plagas del frijol se pueden clasificar, para fines prácticos, en cuatro categorías basándose en el tipo de daño y el estado de desarrollo de la planta en el momento del ataque, estas son:

## **Plagas que Atacan la Semilla y las Plántulas**

Cortan o trozan las plantas a la altura del hipocótilo. Se presentan en focos en el campo. Son favorecidos por las lluvias, malezas, las temperaturas y humedad ambiental altas.

- Gusanos trozadores (*Spodoptera frugiperda*, *Feltia experta*, *Agrotis ipsilon*)
- Gusano picador (*Elasmopalpus lignosellus*)
- Grillos (*Gryllus assimilis*)

## **Plagas que Atacan al Follaje**

- Mosca blanca (*Bemisia tabaci*)
- Chicharritas (*Empoasca kraemeri*)
- Caballada (*Prodenia eridania*)
- Defoliadores de Hoja (*Diabrotica*, *cerotoma*)
- Arañita roja (*Tetranychus urticae*)

## **Plagas que Atacan a los Brotes y Vainas**

- Barrenadores de brotes (*Epinotia aporema*)
- Picadores de vainas (*Lasperyresia leguminis*)
- Gusanos del fruto (*Heliothis virescens*)
- Prodiplosis (*Prodiplosis longifila*)

## **Época para Combatir las Plagas**

En el cultivo de frijol es de vital importancia vigilar estrictamente la abundancia de diversas poblaciones de insectos plaga durante los primeros 40 días de desarrollo, es decir, desde la emergencia de la planta hasta el inicio de la floración. Se ha determinado que precisamente en esta fase la planta se afecta en gran proporción y los rendimientos decrecen en forma drástica (CIAT, 1982).

## Principales Enfermedades del Frijol

En México, la producción del cultivo es afectada por diversos organismos patógenos causantes de siniestros parciales o totales dentro de ellos se encuentran (IICA, 2008).

### Tizón Común (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*)

#### Importancia Económica y Síntomas

Es la principal enfermedad bacteriana del frijol, que ocasiona pérdidas entre 20 y 40 %. Los síntomas se presentan en hojas, vainas, tallo y semillas. En hojas, se inicia como pequeñas manchas acuosas, que se oscurecen, aumentan de tamaño y se unen para dar aspecto de quema, con borde amarillo claro (Fig. 1.a). La quema aparece principalmente en el borde de las hojas (Fig. 1.b). En las vainas se ven pequeñas manchas húmedas (Fig. 1.c), que se vuelven de color café oscuro con el borde rojizo.



Figura 1. Tizón Común (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*), a) Lesión amarilla alrededor de la hoja, b) Quema en el borde de la hoja, c) Presencia del tizón bacteriano en la vaina del frijol.

## **Condiciones Adecuadas para la Enfermedad**

Aparece en regiones bajo los 1200 msnm, con temperaturas altas (20-32 °C) y lluvias frecuentes. La planta es susceptible desde germinación hasta llenado de vainas. Los ataques se notan un poco más después de floración. La bacteria sobrevive, por más de 10 años, en restos de cosecha y malezas. Se transmite por semilla y se disemina fácilmente por salpique de lluvia o por el paso de personas o animales por los campos mojados.

## **Manejo Integrado**

Para un mejor manejo de esta enfermedad se recomienda.

- usar semilla sana y certificada libre de la bacteria.
- rotar cultivos.
- eliminar plantas enfermas y usar
- variedades con resistencia intermedia que mejoran la eficiencia del combate químico.

## **Control Químico**

El control químico es la represión de poblaciones plaga o la reducción de su desarrollo mediante el uso de sustancias sintéticas. Los compuestos químicos que se utilizan en la protección de los cultivos reciben el nombre genérico de pesticidas o plaguicidas (García, 2008)

Este control puede ser muy efectivo y de bajo costo. Los pesticidas tienen un lugar muy importante en el control integrado de plagas y enfermedades, pero el mal uso de pesticidas ha traído muchos problemas. Uno de los productos recomendados para el control de esta enfermedad es la Oxitetraciclina con actividad bactericida-micoplasmicida, presentado como polvo soluble. Además de ser un antibiótico de

amplio espectro de acción para el control y prevención de enfermedades causadas por bacterias y fitoplasmas que atacan a los cultivos (Bravoag, 2007).

### **Oxitetraciclina**

Clorhidrato de Oxitetraciclina (Polvo soluble, Equivalente a 50 g de i.a./kg).

#### **Modo de Acción**

La Oxitetraciclina interfiere en la síntesis de proteínas en las bacterias especialmente a nivel de RNA y ADN; de vital importancia en las células bacterianas.

La Oxitetraciclina tiene acción bactericida en los rangos de 125 - 250 ppm de concentración. Aparte de su efecto bactericida, también tiene acción sobre enfermedades causadas por fitoplasmas, al aplicar este producto se detiene el desarrollo de la enfermedad y se logra una amplia remisión de síntomas y formación de nuevo tejido vegetativo.

Si la incidencia de la enfermedad ha sido muy alta, se recomienda hacer una rotación de cultivos de al menos dos años con maíz u otra gramínea, evitando la siembra de cualquier leguminosa.

### **Pudrición de la Raíz (*Rhizoctonia solani* Kühn)**

#### **Importancia Económica y Síntomas**

Esta enfermedad puede causar pérdidas de un 50 % en los rendimientos, ataca raíces; las plantas afectadas son más pequeñas y están marchitas. En la raíz se notan pequeños puntos rojizos alargados (Fig. 2.a), que con el tiempo crecen y pueden llegar a formar canchales rojizos, hundidos y oscuros (Fig. 2.b). La raíz principal se deforma y se ven los tejidos internos (Fig. 2.c). En casos muy severos,

cerca de las plantas muertas se forman pequeñas estructuras redondas, negras, parecidas a granos de arena.

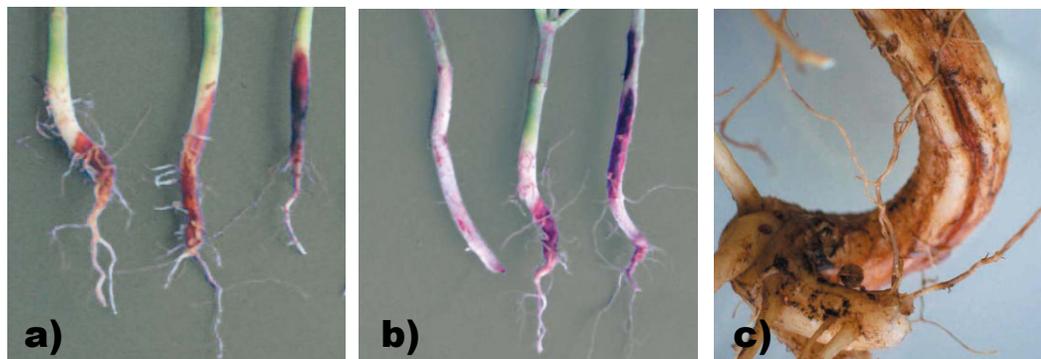


Figura 2. Pudrición de la Raíz (*Rhizoctonia solani* Kühn), a) Puntos rojos alargados, b) Puntos rojizos más intensos, c) Raíz deformada.

### **Condiciones Adecuadas para el Desarrollo de la Enfermedad**

Suelos húmedos y temperaturas medias (20-25 °C) favorecen la enfermedad. La planta puede ser atacada durante las primeras cuatro semanas. El hongo sobrevive en restos de cosechas anteriores, por lo que el daño aumenta cuando se cultiva frijol en el mismo sitio por varios años.

### **Manejo Integrado**

Para el manejo de esta enfermedad se recomienda:

- usar semilla sana y nueva (preferiblemente certificada).
- sembrar en lomillo alto, evitar suelos encharcados.
- no sembrar a profundidad mayor de 3 cm en suelos contaminados.
- rotar con yuca, maíz, pastos. Trabajar con labranza mínima y usar coberturas (malezas quemadas, restos de caña de maíz, etc.).
- en suelos muy contaminados arar a 20 cm de profundidad.
- no hay variedades tolerantes a la enfermedad.
- tratar la semilla con fungicida (benomil, carboxin, Rizolex), entre otras.

## Amarillamiento de la Raíz (*Fusarium oxysporum f.sp. phaseoli*)

### Importancia Económica y Síntomas

La reducción en la emergencia de plantas puede alcanzar el 15 %, y las pérdidas en rendimiento varían entre 10 y 50 %. En el campo se observan plantas pequeñas y marchitas, con las hojas inferiores amarillentas (Fig. 3.a), distribuidas en focos (Fig. 3.b). La enfermedad causa una maduración temprana de la planta. Las raíces presentan color café rojizo a café oscuro (Fig. 3.c). En un corte se observa el tejido interno de color café o rojizo oscuro (Fig. 3.c). La base del tallo se puede cubrir con una felpa de color anaranjado claro o rosado.

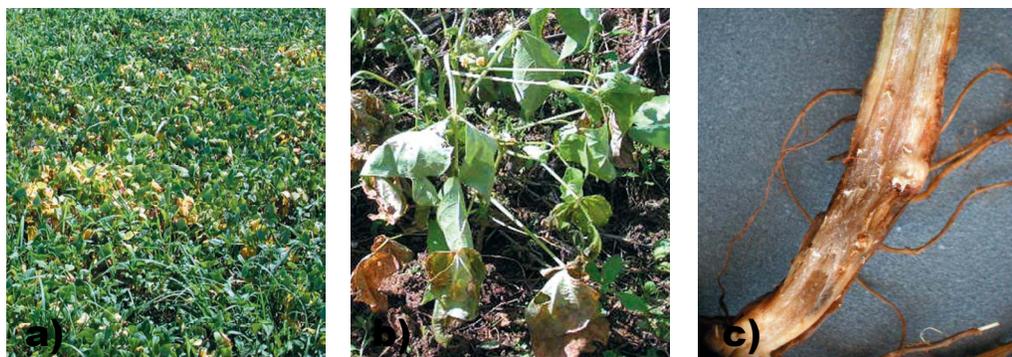


Figura 3. Amarillamiento de la Raíz (*Fusarium oxysporum f.sp. phaseoli*), a) Presencia de la enfermedad en todo el cultivo, b) Síntomas de amarillamiento en la planta, c) Color café-amarillo síntoma presente de *Fusarium oxysporum* en la raíz.

### Condiciones Adecuadas para la Enfermedad

Es frecuente en zonas húmedas y cálidas (20-28 °C), con suelos arcillosos o mal drenados. Además las siembras continuas de frijol favorecen la presencia de la enfermedad. La planta es atacada en la segunda o tercera semana después de la siembra, pero los síntomas se observan cerca de la floración o el llenado de vainas. El hongo puede sobrevivir en los restos de siembras anteriores.

## Manejo Integrado

Para el manejo de esta enfermedad se recomienda:

- usar de semilla sana y nueva (preferiblemente certificada).
- evitar siembras muy tupidas y en suelos con mucha humedad o mal drenados.
- rotar con maíz, pastos, sorgo, millo por más de tres años.
- Tratar la semilla con fungicidas (benomil, carboxin, tiram). Actualmente no se cuenta con variedades de frijol tolerantes a la enfermedad.

### Falsa Mancha Angular (*Aphelenchoides besseyi*)

#### Importancia Económica y Síntomas

Se observan pérdidas en rendimiento hasta del 50 %. Cerca de la base de las hojas más viejas se observan pequeños puntos amarillentos, que al crecer se oscurecen y toman forma de cuadrados o triángulos, con un pequeño borde amarillo claro (Figs. 4.a y 4.b). Estas manchas pueden unirse para formar manchas oscuras más grandes, alargadas (Fig. 4.c). Esta enfermedad puede confundirse con la Mancha Angular, pero en este caso no se observan los bastoncitos grises por debajo de las manchas en las hojas. En las vainas no se observan síntomas.

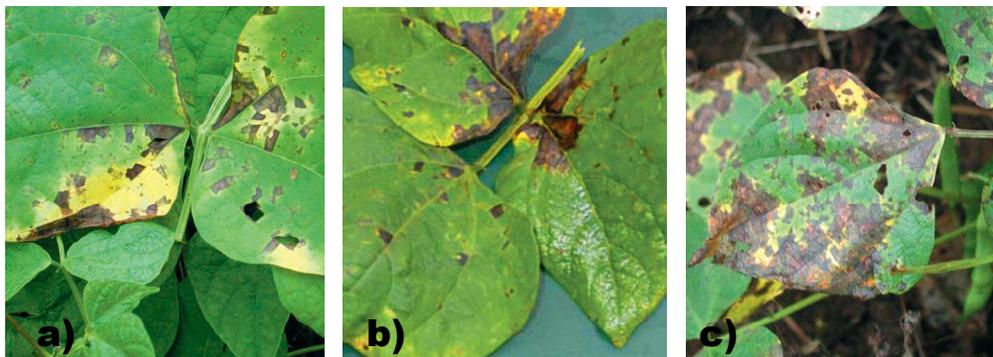


Figura 4. Falsa Mancha Angular (*Aphelenchoides besseyi*), a) Infección en la base de la hoja de, b) Síntoma avanzado en la hoja, c) Ennegrecimiento de los bordes y muerte parcial de la hoja.

## **Condiciones Adecuadas para la Enfermedad**

Se presenta en regiones con temperaturas moderadas (18-25 °C) y lluvias frecuentes. La planta es atacada durante las primeras siete semanas del cultivo, y los síntomas pueden ser más visibles en las hojas más viejas. Se presenta en sitios donde antes se haya sembrado arroz y se disemina por el salpique de lluvia. El nematodo puede sobrevivir en plantas de arroz o en malezas; no parece tener gran capacidad de supervivencia en residuos de cosecha.

## **Manejo Integrado**

Para el manejo de esta enfermedad se recomienda:

- evitar sembrar frijol después de arroz.
- eliminar malezas y plantas voluntarias de arroz.
- usar coberturas o labranza mínima.
- no sembrar muy tupido para que las plantas sequen rápidamente después de las lluvias.
- actualmente no se cuenta con información sobre su combate químico y tampoco hay variedades resistentes.

## **Amachamiento - Complejo de Virus**

### **Importancia Económica y Síntomas**

Enfermedad emergente en América Central. En condiciones de invernadero causa pérdidas del 70 % en rendimiento. En el campo se observan plantas de color verde oscuro, con guía más larga que lo normal. Las hojas se deforman, son más alargadas, la vena central es más elevada y en forma de zigzag, algunas partes de la hoja están contraídas (Fig. 5.a). El daño es más severo en plantas más pequeñas.

Las plantas se notan más vigorosas pero no producen vainas o muy pocas, y éstas son un poco duras y ligeramente deformadas (Fig. 5.b).

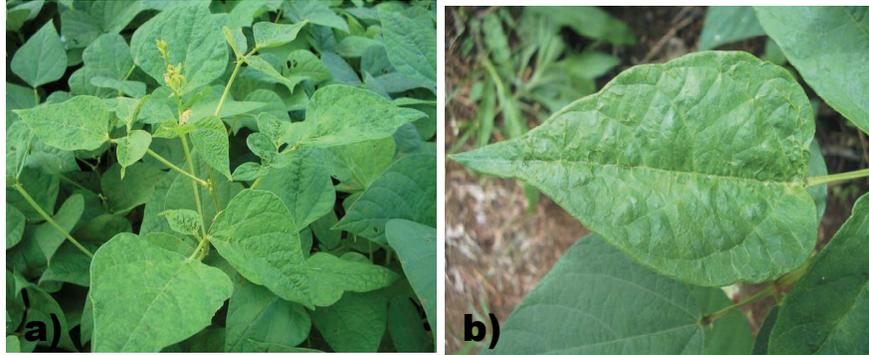


Figura 5. Amachamiento - Complejo de Virus, a) Presencia de la enfermedad en toda la planta, b) Deformación del área foliar.

### **Condiciones Adecuadas para la Enfermedad**

Se presenta con mayor frecuencia en regiones de temperaturas moderadas (20-25 °C) y húmedas. La planta puede ser atacada desde la segunda semana después de la siembra. Los insectos crisomélidos (cucarroncitos, diabroticas, doradillas, vaquitas, tortuguillas) parecen ser los principales vectores de la enfermedad. No se transmite por semilla.

### **Manejo Integrado**

Para el manejo de esta enfermedad se recomienda:

- no utilizar la rotación maíz-frijol porque aumenta el reservorio de insectos crisomélidos.
- arar el terreno después de una siembra muy afectada, cuando no hay problemas de erosión.
- controlar insectos.
- utilizar variedades mejoradas que tienen resistencia a otros virus.

## **Malezas**

Uno de los factores que mayormente inciden en estos bajos rendimientos es la competencia ocasionada por el crecimiento de las malezas. En la práctica, el agricultor realiza dos limpiezas a mano, las cuales presentan un 23-35% del costo de producción del cultivo.

Además de ser costosas, las limpiezas son hechas en una forma empírica, sin ninguna sistematización, por lo tanto, no existen evidencias experimentales en este aspecto.

En un estudio sobre la determinación del periodo crítico de competencia entre frijol y malezas, concluyen que el mayor daño es ocasionado por las malezas durante los primeros 30 días de desarrollo del cultivo, causando reducciones en el rendimiento de aproximadamente 50%, estando el período crítico de competencia entre los 10 días después de la emergencia hasta los 30 días de desarrollo de las plantas de frijol (Agundis *et al.*, 1982).

Se encontró que para que haya un buen desarrollo en variedades de tipo guía, es necesario controlar en la 5ª y 7ª, semana posterior a la germinación de la maleza, después son controladas por la misma competencia que ejercen las plantas de frijol (Dawson, 1984).

## **Microorganismos Antagonistas**

### *Bacillus* sp.

Se ha demostrado que las bacterias del género *Bacillus* presentan un gran potencial como antagonistas, principalmente por la gran cantidad de enzimas líticas, antibióticos y otras sustancias con actividad biocida capaces de producir efectos de control sobre varias especies de agentes fitopatógenas pertenecientes a los géneros

*Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Pythium*, causantes de severas enfermedades en semilleros y almácigos (Sosa y Gonzales, 2008).

### **Control Biológico al Ataque de Microorganismos Fitopatógenos**

El control biológico basado en microorganismos antagónicos, (*Bacillus* sp.) o que producen antibiosis sobre el patógeno; es una de las formas aceptables de control de enfermedades de las plantas. Dentro de estos microorganismos se encuentra rizobacterias, *Bacillus* y Actinomicetos, que constituyen la línea frontal de defensa entre los fitopatógenos nativos del suelo y las raíces de las plantas, siendo candidatos ideales para usarse en la reducción de enfermedades.

Frecuentemente se asocia la promoción del crecimiento de las plantas con rizobacterias (Promotion of the Grow of the Plants for Rizobacteria) con el control biológico; ya que son también capaces de proteger a las plantas contra el ataque de fitopatógenos (Jiménez *et al.*, 2001).

### **Inducción de Resistencia, y Promotor del Desarrollo de Plantas**

Al instalarse en las raíces y hojas induce a la planta a producir fitoalexinas que le confieren resistencia a las plantas al ataque de hongo, bacterias y nematodos patógenos (Obregón, 2002).

Investigaciones muestran que *Bacillus* sp. no solo inhibe patógenos, sino que además, promueve el crecimiento de la raíz y la planta e incrementan el contenido de lípidos, triglicéridos y esterol en las hojas de tomate (Cuervo, 2010).

## **Extracto de Ácido Jasmónico (*Botryodiplodia theobromae*)**

El ácido jasmónico (AJ), del árabe persa. *jasimin*, es un regulador de crecimiento vegetal endógeno, sintetizado de manera natural por una gran variedad de plantas (Meyer *et al.*, 1984). Fue aislado en 1971 a partir de sobrenadantes de cultivos del hongo *Botryodiplodia theobromae* e identificado como potente inhibidor del crecimiento y senescencia de las plantas (Aldridge *et al.*, 1971).

### **Inducción de Respuestas Defensivas**

Entre los productos génicos relacionados de algún modo con una respuesta defensiva contra insectos o patógenos inducida por AJ, se encuentran los inhibidores de proteasas, las enzimas que participan en su propia síntesis y que contribuyen a amplificar la respuesta gracias a una rápida acumulación de ésta molécula (Creelman y Mullet, 1997; Wasternak y Parthier, 1997; Ryan, 2000; Memelink *et al.*, 2001).

### **Distribución y Función del Ácido Jasmónico**

Los jasmonatos se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas superiores que en su mayoría se agrupan entre las angiospermas (Sembdner *et al.*, 1993).

Las respuestas defensivas inducidas por los jasmonatos son numerosas y variadas, e involucran desde la síntesis de metabolitos secundarios como los alcaloides, flavonoides, glucosinolatos y compuestos volátiles, hasta proteínas de función defensiva como 9- y 13-lipooxigenasas, polifenol oxidasas e inhibidores de proteasas (Creelman y Mullet, 1997; Memelink *et al.*, 2001; Berger, 2002).

Además la acumulación de jasmonatos endógenos también puede ser provocada por daño mecánico a las plantas, por daño derivado de insectos masticadores, por patógenos y/o por estímulos abióticos como radiación ultravioleta y estrés hídrico (Conconi *et al.*, 1996; Stinzi *et al.*, 2001; Schenk *et al.*, 2000)

### **Señalización del Ácido Jasmónico**

Los jasmonatos son fitohormonas lipídicas, derivados oxigenados de los ácidos grasos linoleico y linolénico, principalmente, que actúan como moléculas señalizadoras de la respuesta de las plantas a numerosas situaciones de estrés y participan en diversos procesos de desarrollo. Entre las situaciones de estrés que regulan están las heridas (mecánicas o bióticas), la exposición a ozono, sequía y el ataque por patógenos y plagas. Entre los procesos de desarrollo en los que participan los jasmonatos están el crecimiento de la raíz, la tuberización, la maduración de frutos, senescencia, desarrollo del polen y enrollamiento de zarcillos (Penninckx *et al.*, 1996; Creelman *et al.*, 1997; McConn *et al.*, 1997; Pieterse *et al.*, 1998; Reymond y Farmer, 1998; Staswick *et al.*, 1998; Overmyer *et al.*, 2000; Berger, 2002; Rao *et al.*, 2002; Turner *et al.*, 2002; Farmer *et al.*, 2003; Rojo *et al.*, 2003).

### **Interacción del Ácido Jasmónico con Otras Hormonas**

Los jasmonatos, al igual que cualquier otra hormona, no participan de forma aislada en la activación de los procesos que regulan, sino que lo hacen interaccionando con otras moléculas señalizadoras. Se ha descrito un amplio número de interacciones entre los jasmonatos y otras rutas de señalización hormonal como las de etileno, ácido salicílico, auxinas o ácido abscísico (Turner *et al.*, 2002; Rojo *et al.*, 2003), de las que a continuación describiremos algunos ejemplos:

### **Interacción con Etileno (ET)**

El AJ y el ET cooperan o antagonizan en la regulación de diferentes respuestas a estrés, incluyendo la defensa frente a patógenos, heridas (mecánicas o bióticas), exposición a ozono y desarrollo exagerado de la curvatura apical del hipocótilo (Turner *et al.*, 2002; Rojo *et al.*, 2003).

### **Interacción con Ácido Abscisico (ABA)**

En particular, el AJ inhibe la germinación en varias especies y tiene un efecto sinérgico con el ABA en este proceso en *Arabidopsis* (Wilensky *et al.*, 1991; Staswick *et al.*, 1998; Turner *et al.*, 2002).

### **Interacción con Ácido Salicílico (AS)**

Entre las interacciones descritas para las rutas de señalización de AS y AJ en la inducción de las respuestas de defensa tras la infección por un patógeno, se encuentran ejemplos tanto de antagonismo como de cooperación. Entre las interacciones antagonistas que se han descrito se ha mostrado que el AS inhibe la síntesis y activación de genes de respuesta a AJ en la respuesta a heridas en tomate y patata (Doares *et al.*, 1995; Niki *et al.*, 1998; O'donnell *et al.*, 1996). De una forma opuesta, el tratamiento con AJ inhibe la expresión mediada por AS de algunos genes (Niki *et al.*, 1998).

### **Extracto de Ácido Salicílico (*Pseudomonas fluorescens*)**

Esta bacteria *Ps. fluorescens*, es un cocobacilo Gram negativo, que se encuentra como saprófito en el suelo y es ampliamente conocido por ser una PGPR (Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal). Abundan en la superficie de las

raíces, ya que son versátiles en su metabolismo y pueden utilizar varios sustratos producidos por las mismas, pero no establecen una relación simbiótica con la planta. Entre sus mecanismos de acción se encuentran el aumento de la toma de agua y nutrientes por la planta, la solubilización de fosfatos, la producción de reguladores del crecimiento vegetal y el control biológico de patógenos, dado fundamentalmente por la producción de sideróforos (compuesto quelante de hierro secretado por microorganismos), la antibiosis y la inducción de resistencia a la planta, mediante la producción de ácido salicílico, el cual actúa como una molécula de señalización que activa la “resistencia sistémica inducida” (RSI) que es muy similar a la “resistencia sistémica adquirida” (RSA) (Zhang *et al.*, 2002).

### **El Ácido Salicílico y su Protagonismo en la Resistencia a Patógenos**

White (1979) reportó por primera vez la participación del AS en la resistencia a enfermedades en experimentos en donde inyectó aspirina (ácido acetil salicílico, un derivado del AS) ó directamente AS, a hojas de tabaco de una línea resistente (*N. tabacum* cv. *Xanthi-nc*) y observó la producción de proteínas relacionadas a la patogénesis, conocidas también como proteínas (PR), las cuales son un grupo heterogéneo de proteínas que se inducen en plantas por la infección de un patógeno. En la actualidad se ha reportado que en muchas plantas el tratamiento con AS o compuestos afines induce la expresión de genes *PR* y/o resistencia contra virus, bacterias y hongos patógenos (Vlot *et al.*, 2009).

### **El Ácido Salicílico y su Relación con Otras Hormonas**

Se ha descrito que en los sistemas vegetales existen tres principales fitohormonas las cuales son las responsables de varias respuestas de defensa en contra de diversos patógenos o en contra de estrés abiótico: AS, AJ y ET. Para el caso del AS, existen evidencias de que participa en el sistema de defensa de las

plantas contra el ataque por patógenos biotróficos (patógenos que invaden la planta y que se alimentan de células metabólicamente activas, mediante unas estructuras especializadas llamadas haustorios) y hemibiotróficos (patógenos que mantienen vivas las células de sus hospederos mientras se establecen en el tejido, y solo después de esta fase, cambian a un estilo de vida necrotrofico). Por ejemplo, plantas mutantes que habían sido afectadas en la acumulación de AS mostraron un aumento en la susceptibilidad ante el ataque de patógenos biotrofos ó hemibiotrofos. Por el contrario, el AJ y el ET se asocian con la defensa ante el ataque por patógenos necrotroficos (patógenos que no poseen estructuras de nutrición especializadas, y que obtienen los nutrientes de células muertas, por lo que producen la muerte de las mismas desde el principio de la infección) ó contra insectos herbívoros. Se ha descrito que las rutas de AS y AJ/ET son mutuamente antagonistas; sin embargo, también se han reportado evidencias de interacciones sinérgicas entre estas vías, lo cual sugiere que la planta es dependiente de la naturaleza del patógeno, así como de su modo de patogenicidad (Adie, 2007).

### **Modo de Acción del Ácido Salicílico Durante las Respuestas de Defensa**

Se ha propuesto un modo de acción para el AS basándose en el hallazgo de que éste se une e inhibe a la enzima catalasa (Chen *et al.*, 1993; Loake *et al.*, 2007). La inhibición de la catalasa podría conducir a un incremento en la concentración del peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) o de otras especies reactivas de oxígeno derivadas de esta molécula. El  $H_2O_2$  podría tener una actividad antibiótica en contra de patógenos, y sus intermediarios podrían señalar la expresión de genes de defensa, (Loake y Gran, 2007).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del Experimento

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola y en los invernaderos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, localizada a 25° 22' de Latitud Norte y 101° 00' de latitud Oeste con una altitud de 1742 msnm.

### Siembra del Cultivo

El material vegetal (semilla de frijol) se sembró en recipientes de plástico de 1 Kg de capacidad conteniendo una mezcla de peatmoss y perlita en proporción 3:1 con una semilla de frijol negro variedad Jamapa, previamente detectado con la presencia de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* en laboratorio.

### Aislamiento del Agente Causal del Tizón Común

Se recolectaron muestras de hojas de frijol en etapa de crecimiento en las que se observó la presencia de manchas de color café-amarillo en sus bordes (Fig. 6); el material recolectado se depositó en bolsas de plástico transparente para posteriormente aislar, identificar y caracterizar al agente causal.



Figura 6. Síntomas en hojas del tizón común del frijol.

Los bordes de las hojas se desinfectaron con hipoclorito de sodio (NaClO) al 1 %, por tres minutos, seguido de dos pasos de lavado con agua destilada estéril. Posteriormente se maceró el tejido en agua destilada estéril y del líquido de extracción se sembró una asada por estría cruzada en cajas Petri conteniendo los medios de cultivo B de King (KB), CNS a base de caldo nutritivo y extracto de levadura y TB a base de peptona, sales y antibióticos, descrita por Schaad *et al.*, (2001).

Las cajas inoculadas se incubaron bajo condiciones de laboratorio entre 25 y 27 °C durante 4 días, después del periodo de incubación se observaron bajo microscopio colonias de color amarillo huevo y de consistencia mucosa, semejantes a las del agente causal, las que se seleccionaron y resembraron en el medio KB.

### **Identificación y Caracterización de la Bacteria**

Para la identificación y caracterización del género y especie de la bacteria del agente causal del tizón común (*Xanthomonas axonopodis*), se realizaron pruebas morfológicas y bioquímicas descritas por Schaad *et al.*, (2001) y Rodríguez, (2001).

### **Descripción del Experimento**

Los tratamientos fueron establecidos (Tabla 3) con la finalidad de medir su efecto como inductores de resistencia hacia la enfermedad del tizón común del frijol bajo condiciones de invernadero, comparado con un testigo químico (Oxitetraciclina) y un testigo absoluto. Se usó también como inductores de resistencia a los extractos de ácido jasmónico obtenido de la fermentación de *Botryodiplodia theobromae* y a los extractos de ácido salicílico obtenido de la fermentación de *Pseudomonas fluorescens* (Estos materiales fueron proporcionados por el Dr. José Luis Martínez Hernández de la facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila).

Tabla 3. Tratamientos usados para el manejo del tizón bacteriano.

Tratamientos	Dosis
<b>T1.-</b> <i>Bacillus</i> sp. ( $1 \times 10^{-9}$ esporas/mL)	10 mL/100mL
<b>T2.-</b> <i>Bacillus</i> sp. ( $1 \times 10^{-9}$ esporas/mL) + Ácido Jasmónico + Ácido Salicílico	10 mL + 10 mL + 10 mL/100mL
<b>T3.-</b> Oxitetraciclina	1 g/L
<b>T4.-</b> Ácido Jasmónico	10 mL/100mL
<b>T5.-</b> Ácido Salicílico	10 mL/100mL
<b>T6.-</b> Testigo Absoluto	--

La aplicación de los tratamientos señalados se efectuó al observarse los primeros síntomas del tizón bacteriano y posteriormente se realizaron tres aplicaciones, cada aplicación se asperjó a los 8 días en pleno desarrollo del cultivo. Los tratamientos aplicados fueron preparados de la siguiente manera:

- T1.- Se colocaron 10 mL de la suspensión de esporas del genero *Bacillus* sp. ( $1 \times 10^{-9}$  esporas/mL) en un atomizador posteriormente se aforó a 100 mL y se asperjó en la parte foliar del cultivo.
- T2.- Se colocaron 10 mL de la suspensión de esporas de *Bacillus* sp.  $1 \times 10^{-9}$  esporas/mL + ácido jasmónico + ácido salicílico en un mismo atomizador, se mezcló y se aforó a 100 mL, asperjándose en el parte foliar del cultivo.
- T3.- Se empleo una dosis de 1 g de Oxitetraciclina por un 1 L de agua asperjándose a puntos de goteo las plantas.
- T4.- Se colocaron 10 mL de extracto de ácido jasmónico en el fondo del atomizador después se aforo a 100 mL y se asperjó en la parte foliar del cultivo, hasta cubrir por completo todo el follaje.
- T5.- Se colocaron 10 mL de ácido salicílico en el fondo del atomizador posteriormente se aforo a 100 mL y se asperjó en la parte foliar del cultivo.
- T6. Testigo absoluto donde solo se aplico agua.

## **Análisis y Toma de Datos**

Se realizó un pre-muestreo el día 9 de marzo de 2011 con el fin de obtener datos como testigo, para comparar con las muestras posteriores que se realizaron en las fechas 16, 23 y 30 de marzo de 2011. La incidencia se determinó por la presencia de manchas foliares en la planta y la severidad fue estimada como un porcentaje de área foliar dañada.

## **Diseño Experimental**

La evaluación de la incidencia y severidad del tizón común del frijol se realizó bajo un diseño de bloques al azar con seis tratamientos y seis repeticiones para un total de 36 unidades experimentales, en donde la unidad experimental fue una planta de frijol.

Los datos obtenidos, fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) mediante un Paquete Estadístico Computacional SAS System versión. 9.0 (SAS, 2002), realizándose una prueba de comparación de medias según Tukey ( $P \leq 0.05$ ), para estratificar los datos obtenidos y separar los tratamientos por significancia.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Aislamiento e Identificación del Agente Causal del Tizón Común del Frijol

#### *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*

Utilizando la técnica de maceración de tejido de hojas de frijol con síntomas de tizón y sembrado una asada del liquido de extracción en medio KB por estría cruzada (Fig. 7), nos permitió recuperar y caracterizar, fisiológica y bioquímicamente a un aislado bacteriano obtenido como *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, reportado como el agente causal del tizón foliar del frijol (Rodríguez, 2001).

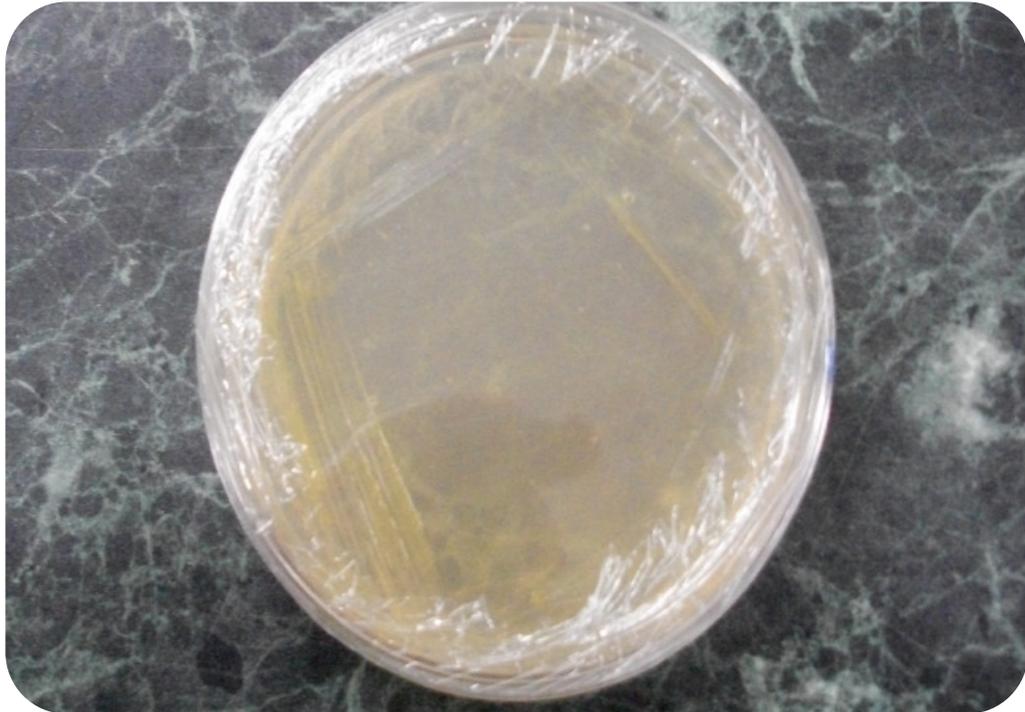


Figura 7. Colonias bacterianas característica de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*

La prueba de tinción diferencial indico que es una bacteria Gram negativa (Fig. 8.a), que produce la formación de un halo mucoso a la presencia de KOH, considerándose la prueba positiva a la reacción de Ryu (Fig. 8.b), es catalasa positiva al inducir el desdoblamiento del  $H_2O_2$ , (Fig. 8.c), y positiva a la producción de oxidasa (Fig. 8.d). La bacteria obtenida fue anaeróbica facultativa y prueba de oxidasa positiva (Fig. 8.e). La prueba de crecimiento a 35°C dio resultado positivo (Fig. 8.f), así como también al crecimiento en YDC (Fig. 8.g).

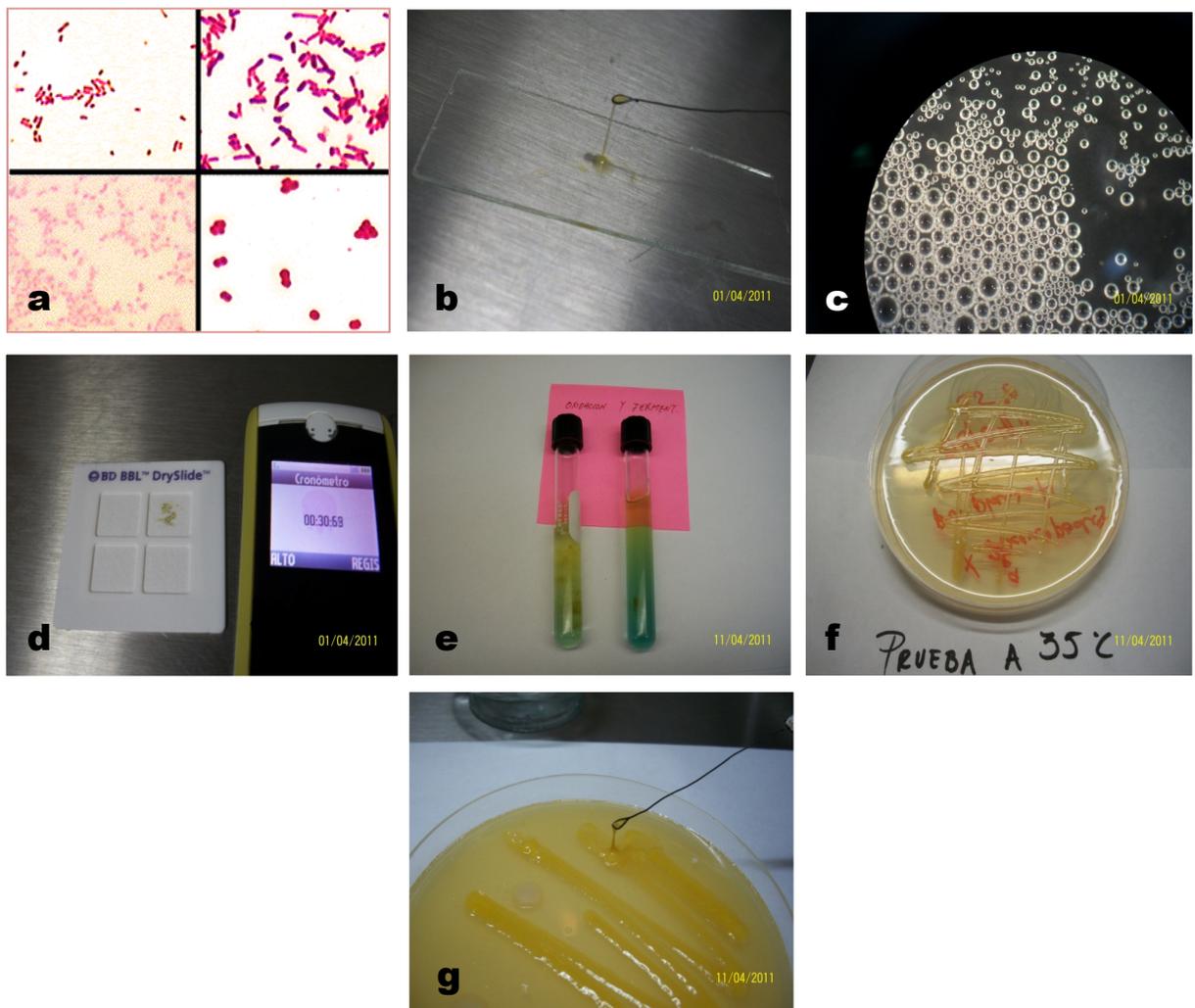


Figura 8. Pruebas Fisiológicas para la identificación de *Xanthomonas axonopodis*, a) Tinción de Gram, b) Reacción de Ryu, c) Prueba de Catalasa, d) Producción de Oxidasa, e) Oxidación y/o Fermentación, f) Crecimiento a 35°C y g) Crecimiento en YDC.

El aislamiento bacteriano obtenido dio resultado positivo a la producción de levana en agar nutritivo suplementado con sacarosa, donde creció de manera abundante (Fig. 9.a), también alcalinizó la leche litmus (Fig. 9.b) e hidrolizó el almidón en medio sólido (Fig. 9.c) y en medio SX (Fig. 9.d), también da una abundante producción de  $H_2S$  (Fig. 9.e) en medio rico en peptona, detectado en tiras de papel filtro impregnado con acetato de plomo considerando el resultado como una prueba positiva al ennegrecimiento de la tira, que es característico de este género de bacteria fitopatógena. Otra prueba diferencial fue la de esculina (Fig. 9.f), que se detectó indirectamente por la presencia de fluorescencia en el cultivo la cual dio positivo al aislado de *Xanthomonas axonopodis* (Tabla 4).

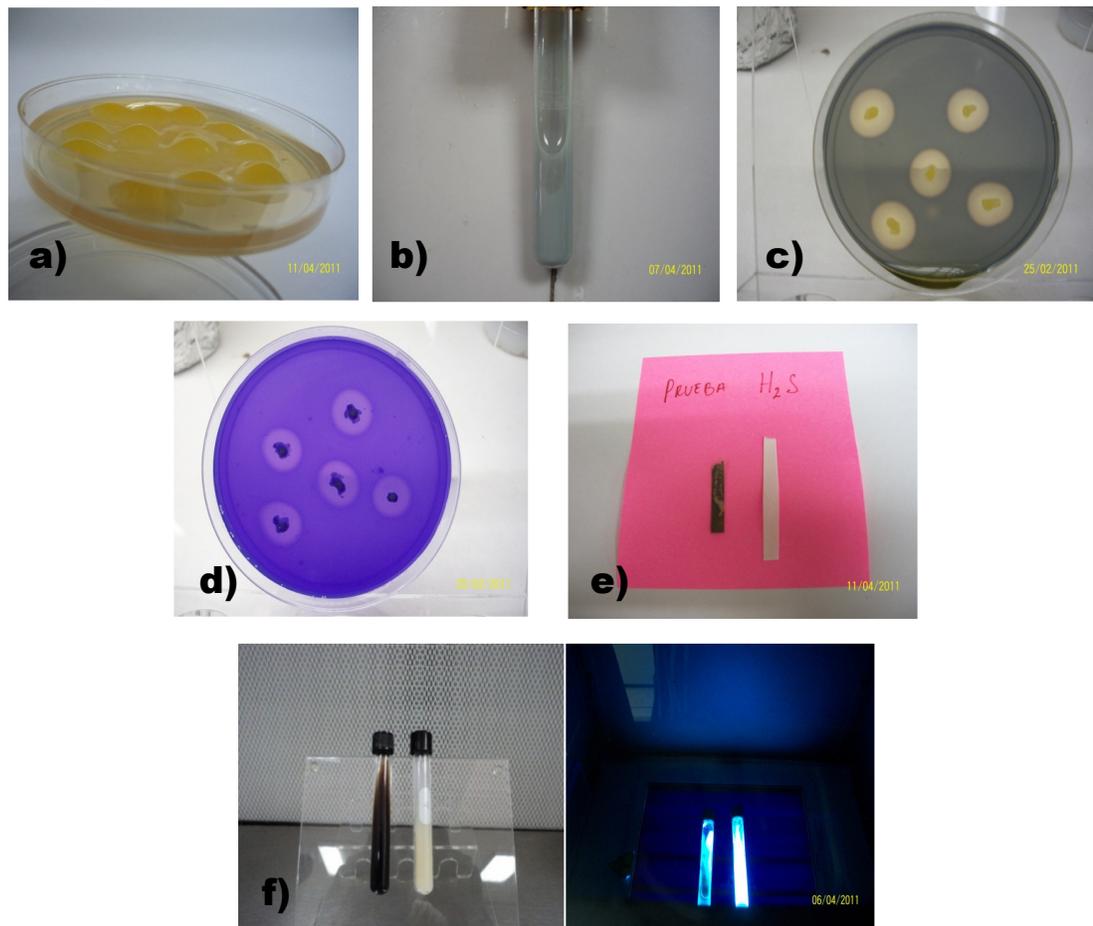


Fig. 9. Pruebas Bioquímicas para la identificación de *Xanthomonas axonopodis*, a) Producción de Levana, b) Leche Litmus, c) Hidrólisis de Almidón medio Agar, d) Hidrólisis de Almidón medio SX, e)  $H_2S$  de Peptona, f) Hidrolisis de Esculina.

La producción de ácidos a partir de carbohidratos se evaluó mediante el cambio del indicador de pH, en el caso de arabinosa (Fig. 10.a) fue púrpura de bromótímol, y en los demás azúcares se empleó azul de bromótímol, como se muestran en las figuras (10.b – 10.f), también fue importante observar que en el testigo en todo los tubos de ensayo permaneció sin cambio en el color del indicador.

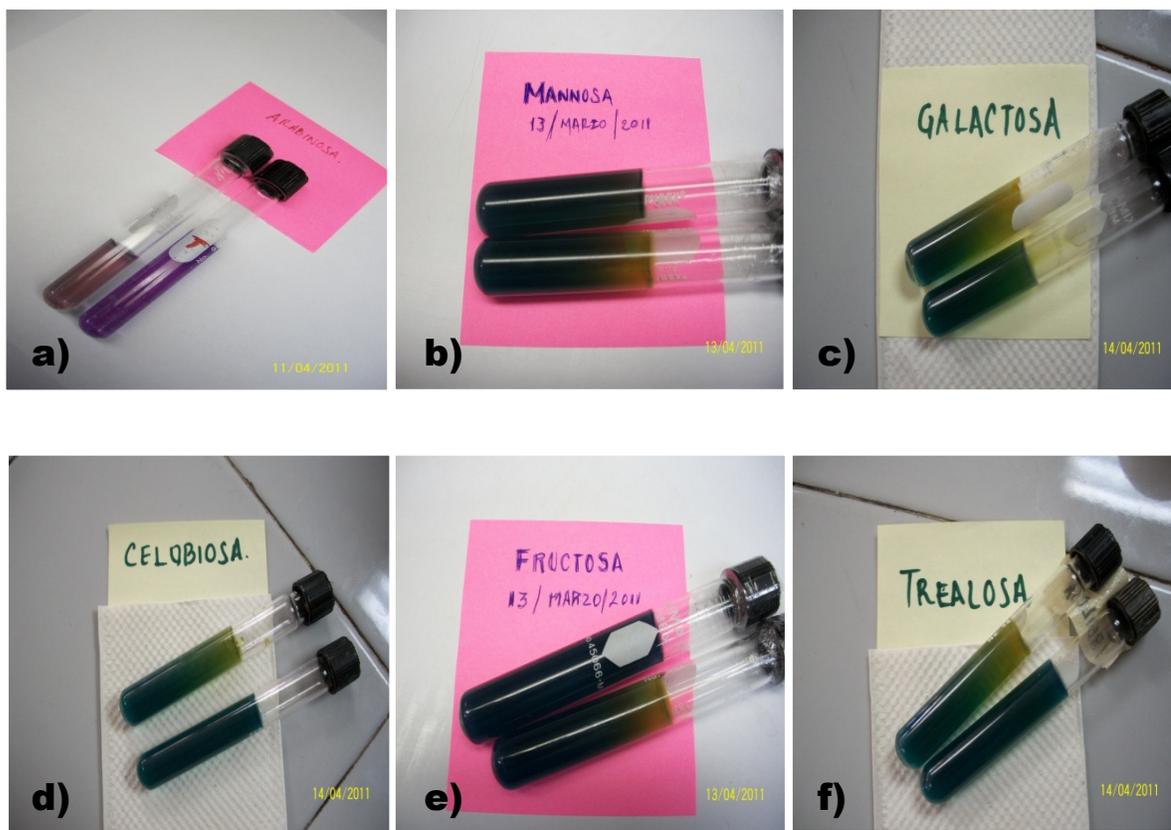


Figura 10. Asimilación y Acidificación de Carbohidratos para *Xanthomonas axonopodis*. Producción de ácidos a) Arabinosa, b) Manosa, c) Galactosa, d) Celobiosa, e) Fructosa, y f) Trehalosa

Tabla 4. Características, fisiológicas y bioquímicas descritas para *Xanthomonas axonopodis* y el aislado del tizón común del frijol.

PRUEBAS	<i>Xanthomonas axonopodis</i> *	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>Phaseoli</i> **
Tinción de Gram	-	-
Reacción de Ryu	+	+
Prueba de la Catalasa	+	+
Producción de Oxidasa	+	+
Metabolismo Oxidativo y/o Fermentativo	+/-	+/-
Producción de Levana	+	+
Crec. a 35 °C	+	+
Crec. en YDC	+	+
Hidrólisis de esculina	+	+
Hidrólisis de Almidón medio Agar	+	+
Hidrólisis de Almidón medio SX	+	+
Leche Litmus	-	-
H <sub>2</sub> S de peptona	+	+
Producción de ácidos <sup>b</sup>		
Arabinosa	+	+
Manosa	+	+
Galactosa	+	+
Celobiosa	+	+
Fructosa	+	+
Trehalosa	+	+

a = En medio agar nutritivo +5.0% de sacarosa.

b = Dentro de los 21 días según el método de Dye (1962).

\* Especie *Xanthomonas axonopodis* descrita por Shaad *et al.*, (2001).

\*\* Tizón foliar aislado del cultivo del frijol.

## Evaluación de los extractos Inductores de Resistencia

### Incidencia del tizón bacteriano del Cultivo del Frijol

La presencia de la enfermedad se observó en todas las plantas bajo estudio, por lo que se consideró que la incidencia fue del 100 % en todos los tratamientos. Los síntomas observados fueron manchas en las puntas de las hojas de color café-amarillo de manera homogénea en todas las plantas del experimento (Fig. 11).



Figura 11. Presencia de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* en plantas de frijol.

## Severidad del Tizón Bacteriano del Cultivo del Frijol

La severidad se determinó mediante un porcentaje del área foliar dañada. Los datos obtenidos en las cuatro evaluaciones se muestran en la (Tabla 5).

Tabla 5. Severidad en porcentaje de daño (%) de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* en plantas de frijol en cultivo bajo invernadero.

Tratamientos.	Comparativo 09/03/11		1 <sup>era</sup> Lectura y 2 <sup>da</sup> Aplicación 16/03/11		2 <sup>da</sup> Lectura y 3 <sup>era</sup> Aplicación 23/03/11		3 <sup>era</sup> Lectura y 4 <sup>ta</sup> Aplicación 30/06/11	
	Bacillus	17.1	A	19.2	A	17.7	B	15
Bac+Jas+Sal	18.3	A	24.8	A	24	AB	21	B
Cuprimicina	20.8	A	17.5	A	15.1	B	11.6	C
Ac. Jasmónico	21.6	A	18	A	15.4	B	11.4	C
Ac. Salicílico	20.8	A	21.3	A	19.6	B	14.8	BC
Testigo	19.6	A	28	A	29.6	A	47	A

En la primera columna de la (Tabla 5) se muestra que la severidad de la enfermedad a los 30 días de la siembra es estadísticamente similar con todos los tratamientos, lo que era de esperarse ya que la semilla fue previamente detectada con la presencia de *X. axonopodis* y corrobora la presencia de la enfermedad antes de la aplicación de los tratamientos.

En la segunda columna de la 1<sup>era</sup> lectura y 2<sup>da</sup> aplicación (Tabla 5), a los 8 días de haber aplicado los tratamientos por primera vez, se observa la severidad del tizón bacteriano estadísticamente no es significativo ( $P=0.05$ ).

La severidad obtenida en la 2<sup>da</sup> lectura y 3<sup>da</sup> aplicación (Tabla 5), muestra una diferencia significativa entre los tratamientos. La severidad varío del 15.1 % con la Oxitetraciclina al 29.6 % en el Testigo. Sin embargo la severidad observada en los tratamientos con los extractos de Ácido Jasmónico obtenido de *Botryodiplodia theobromae* y de Ácido Salicílico obtenido de *Pseudomonas fluorescens* y la aplicación de esporas de *Bacillus* sp. (15.4, 19.6 y 17.7 %) respectivamente es estadísticamente similar a la obtenida en el tratamiento con Oxitetraciclina (15.1 %). Esto demuestra que los extractos de *Botryodiplodia theobromae* y *Pseudomonas fluorescens* reducen el nivel de daño causado por la enfermedad. Este hecho no se observo en la combinación de la suspensión de esporas de *Bacillus* y extractos de fermentación ya que no hubo sinergismo en su efecto protector en la planta, que presenta un porcentaje de severidad inferior al Testigo donde no se aplica producto, por lo que la mezcla resulto antagónica.

Los resultados de severidad obtenidos en la última evaluación se muestran en la cuarta columna, 3<sup>era</sup> lectura y 4<sup>ta</sup> aplicación (Tabla 5). Los datos obtenidos indican que hay diferencia significativa entre los tratamientos. Es importante señalar que todos los tratamientos presentan una severidad estadísticamente inferior a la observada en el Testigo absoluto; también se encontró que el índice de severidad más bajo fue el obtenido con Ác. Jasmónico, Oxitetraciclina y Ác. Salicílico (11.4, 11.6 y 14.8) respectivamente, además de que no existe diferencia estadística entre ellos, mientras que en el Testigo se alcanzó una severidad del 47 % en daño. Así, el mejor resultado se obtuvo con el extracto de Ác. Jasmónico obtenido de la fermentación de *Botryodiplodia theobromae*, reduciendo un 75 % el nivel de daño del tizón foliar en relación al Testigo absoluto. Se observo que los tratamientos a base de *Bacillus* y Ác. Salicílico muestran un efecto de control de la enfermedad al reducir significativamente la severidad del tizón común del frijol; mientras que la combinación de *Bacillus* y extractos de fermentación no muestran un buen efecto en la disminución del índice de severidad; al parecer no hay una acción sinérgica si no antagónica ya que no logro disminuir la severidad a lo largo del establecimiento del

ensayo, si no que se mantiene estable durante el experimento, aunque es inferior estadísticamente al Testigo absoluto en la última evaluación.

Al final de esta investigación se pudo comprobar que la aplicación de mezcla de esporas del genero *Bacillus* sp. ( $1 \times 10^{-9}$  esporas/mL), extracto de fermentación de *B. theobromae* conteniendo Ácido Jasmónico y extracto de fermentación de *Ps. fluorescens* conteniendo Ácido Salicílico así como la combinación de estos mantienen y reducen significativamente la severidad del tizón común del frijol en comparación al testigo comercial y a el testigo absoluto sin aplicación.

Al igual que en otras investigaciones se encontró que el efecto de inducción de resistencia medida de forma indirecta hacia el tizón bacteriano de los extractos conteniendo ácido jasmónico y ácido salicílico, se encuentran ya reportados como inductores generales de resistencia, y fueron descritos a partir de la década de los ochenta, donde se demostró efectos tales como: incremento de rendimientos agrícolas en fresa, soya y caña de azúcar (Koda *et al.*, 1991), y un papel especial en los mecanismos de defensa de las plantas (Kitahara *et al.*, 1991). Se conoce que la activación de genes en las plantas debido al ataque de patógenos o por heridas mecánicas provoca la síntesis de sustancias de defensa como el inhibidor de proteasas en las zonas dañadas (Cohen *et al.*, 1993) y (Xu D. *et al.*, 1993), lo cual pudiera explicar el hecho de encontrar menor daño en la planta de frijol en los tratamientos aplicados, razón por la cual la severidad fue menor respecto del testigo donde no se aplicaron los extractos.

## CONCLUSIÓN

El agente causal del tizón común en el cultivo del frijol fue la bacteria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*; confirmado por características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas.

La aplicación de Ácido Jasmónico como extracto de fermentación de *Botryodiplodia theobromae* a plantas de frijol con presencia de tizón bacteriano permite reducir la severidad de la enfermedad hasta en un 75 % en el cultivo.

La aplicación de Ácido Salicílico como extracto de *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus* sp. ( $1 \times 10^{-9}$  esporas/mL), demostró un efecto de control de la enfermedad.

La combinación de *Bacillus* sp. ( $1 \times 10^{-9}$  esporas/mL) + Ácido Jasmónico + Ácido Salicílico como mezcla sinérgica mantiene la severidad y presencia del tizón sin presentar un incremento de acción conjunta en la reducción del daño en la planta de frijol.

## LITERATURA CITADA

- Adie, B.A. Pérez-Pérez, J. Pérez-Pérez, M. Godoy, M. Sánchez-Serrano, J.J. Schmelz, E.A. y R. Solano. (2007). ABA is an essential signal for plant resistance to pathogens affecting JA biosynthesis and the activation of defences in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*. 19: 1665–1681.
- Agundis, O. M.; A, Valtierra y B, Castillo. 1982. Periodos críticos de competencia entre frijol y malezas. *Agricultura Técnica en México*. 2 (2) 87-90.
- Aldridge, D.C.; Galt, S.; Giles, D. y Turner, W.B, 1971. Metabolites of *Lasiodiplodia theobromae*. *J Chem. Soc. Chem. Commun.*, See. C:1623-1625.
- Berger, S. 2002. Jasmonate-related mutants of *Arabidopsis* as tools for studying stress signaling. *Planta* 214:497-504.
- Bravoag, Ingeniería Industrial. S.A. de C.V. México. 2007. [Disponible en línea].  
<http://www.bravoag.com.mx>
- Carling, D. E. y Leiner, R. H., 1990. Effect of temperature on virulence of *Rhizoctonia solani* and other *Rhizoctonia* on potato. *Phytopathology* 80;930-934.
- Chen, Z. Silva, H. y D.F. Klessig. (1993). *Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid*. *Science*. 262: 1883-1885.
- Centro Internacional de Agricultura Tropical. (CIAT).1982. Etapas de desarrollo de las plantas del frijol común. Guía de estudio. CIAT, Cali, Colombia. P. 26.
- Creelman, R. A., y J. E. Mullet. 1997. Biosynthesis and action of jasmonatos in plants. *Plant Mol. Biol.* 48:355-381.
- Creelman, R.A., Mullet, J.E. Oligosaccharins, brassinolides, jasmonates: nontraditional regulators of plant growth, development, and gene expression. *Plant Cell* . 1997, 9, 1211- 1223.

- Crispín, M. A. 1987. El cultivo del frijol en México. Folleto de divulgación No. 53 SAG-INIA. P. 12-17.
- Conconi, A., J. M Smerdon., A. G. Howe., y C. A Ryan. 1996. The octadecanoid signaling pathway in plants mediates a response to ultraviolet radiation. *Nature* 383:826-829.
- Cohen, Y., Gisi. U. y Niderman, T. 1993. Local and systemic protection against *Phytophthora infestans* induced in potato and tomato plants by jasmonic acid and jasmonic methyl ester. *Phytopathology*. 83: 1054-1062.
- Cuervo, L. J. P. 2010. Aislamiento y caracterización de *Bacillus* spp. como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales. Tesis de licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana Facultad De Ciencias Básicas Carrera De Microbiología Agrícola y Veterinaria, Bogotá D.C. 28 p.
- Dawson, B. H. 1984 competition between irrigated field beans and annual weed *Bibliog. II Weeds* 12:206-208.
- Debouck, D G. 1991 Una vision diferente sobre la exploracion de germoplasma: el caso de los frijoles (*Phaseolus*). *Diversity* 7:54-55
- Doares, S.H., Narvaez-Vasquez, J., Conconi, A., Ryan, C.A. Salicylic acid inhibits synthesis of proteinase inhibitors in tomato leaves induced by systemin and jasmonic acid. *Plant Physiol.* 1995, 108, 1741-1746.
- Ellis, C., Turner, J.G. A conditionally fertile *coi1* allele indicates cross-talk between plant hormone signalling pathways in *Arabidopsis thaliana* seeds and young seedlings. *Planta*. 2002, 215, 549-556.
- Farmer, E.E., Almeras, E., Krishnamurthy, V. Jasmonates and related oxylipins in plant responses to pathogenesis and herbivory. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2003, 6, 372-378.

- Food and Agriculture Organization, 2009. Disponible en línea [<http://faostat.fao.org>]
- García, C. V. 2008. Comportamiento del Cultivo del Ajo (*Allium sativum* L.), a la Aplicación de Agentes Microbianos Promotores del Crecimiento y Antagonista de Fitopatógenos. Tesis de licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 62 p.
- Galván, C. G. 1986. Descripción botánica del frijol. (*Phaseolus vulgaris* L.). Seminario técnico. SAG-INIA-CAERIB. P. 22
- Gepts, P. (1998). Origin and evolution of common bean: Past events and recent trends. HortScience 33(7): 1124-1130.
- Información Técnica Agrícola, (Infoagro). [Disponible en línea] <http://www.infoagro.com/hortalizas/judia.htm>
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), Proyecto Red SICTA 2008. [Disponible en línea] <http://www.iica.int/Esp/regiones/norte/mexico/Paginas/Default.aspx>
- Instituto de Investigación de Sanidad Vegetal (INISAV), 2000. [Disponible en línea] <http://dialnet.unirioja.es/servlet/revista?codigo=8129>
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), 2011. [Disponible en línea] <http://www.inifap.gob.mx/>
- Jiménez Delgado, R., Virgen Calleros. G., Tabares Franco. J., Olalde Portugal, V. 2001. Bacterias promotoras del crecimiento de planta: Agro-Biotecnología. Avance y perspectiva 20: 395 – 400.
- Kitahara, T., Warita, Y., Abe, M., Seya, M. y Takagi, Y. 1991 Stereoselective synthesis of methyl epijasmonate. Agric Biol Chem. 55: 1013-1017. Pp 146-148

- Koda, Y. Kikuta, Y. 1991. Possible involvement of Jasmonic Acid in tuberization of yam plants. *Plant Cell Physiol.* 32: 629-633. Pp. 188-192
- Loake, G. y M. Grant. (2007). *Salicylic acid in plant defence-the players and protagonists. Current Opinion in Plant Biology.* 10: 466-472.
- McConn, M., Creelman, R.A., Bell, E., Mullet, J.E., Browse, J. Jasmonate is essential for insect defense in Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997, 94, 5473-5477.
- Memelink, J., R Verpoorte., y J. W Kijne. 2001. ORCAnization of jasmonate-responsive gene expression in alkaloid metabolism. *Trends Plant Sci.* 6:212-219.
- Meyer, A; Miersch, O.; Butner. C. Sembdener, G. 1984. Ocurrence of the plant growth regulator jasmónico acid in plants. *J Plant Growth Regul.*, 3:1-18.
- Niki, T., Mitsuhashi, I., Seo, S., Ohtsubo, N., Ohashi Y. Antagonistic effect of salicylic acid and jasmonic acid on the expression of pathogenesis-related (PR) protein genes in wounded mature tobacco leaves. *Plant Cell Physiol.* 1998, 39, 500-507.
- Obregón, S. R. y Villagrán, N. 2002. Evaluación de instrumento medidor de clorofila en la determinación de niveles de nitrógeno foliar en maíz. *Revista Agricultura técnica.* 62:166-171.
- O'Donnell, P.J., Calvert, C., Atzorn, R., Wasternack, C., Leyser, H.M.O., Bowles, D.J. Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. *Science* . 1996, 274, 1914-1917.
- Oficina Estatal de Información para el Desarrollo Rural Sustentable, 2009.  
[Disponible en línea]  
<http://oeidrusveracruz.gob.mx>

- Ospina, O.H. 1980. Descripción y daño de las plagas que atacan al frijol. Guía de estudio. CIAT. Cali, Colombia. P.41.
- Overmyer, K., Tuominen, H., Kettunen, R., Betz, C., Langebartels, C., Sandermann, H., Jr., Kangasjarvi, J. Ozone-sensitive *Arabidopsis rcd1* mutant reveals opposite roles for ethylene and jasmonate signaling pathways in regulating superoxide-dependent cell death. *Plant Cell*. 2000, 12, 1849-1862.
- Penninckx, I.A.M.A., Eggermont, K., Terras, F.R.G., Thomma, B.P.H.J., De Samblanx, G.W., Buchala, A., Mettraux, J.-P., Manners, J.M., Broekaert, W.F. Pathogen-induced systemic activation of a plant defensin gene in *Arabidopsis* follows a salicylic acid-independent pathway. *Plant Cell*. 1996, 8, 2309-2323.
- Pieterse, C.M., van Wees, S.C., van Pelt, J.A., Knoester, M., Laan, R., Gerrits, H., Weisbeek, P.J., van Loon, L.C. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 1998, 10, 1571-1580.
- Rao, M.V., Lee, H.I., Davis, K.R. Ozone-induced ethylene production is dependent on salicylic acid, and both salicylic acid and ethylene act in concert to regulate ozone-induced cell death. *Plant J*. 2002, 32, 447-456.
- Reymond, P., Farmer, E.E. Jasmonate and salicylate as global signals for defense gene expression. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 1998, 1, 404-411.
- Rodríguez, M. M. 2001. Manual para la identificación de bacterias fitopatógenas. ISBN-968-884-752-6. 2<sup>da</sup> Edición. Ed. Departamento de parasitología agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo. Edo. México, Mexico.119 p.
- Rojo, E., Solano, R., Sanchez-Serrano, J.J. Interactions between signaling compounds involved in plant defense. *Journal of Plant Growth Regulation* . 2003, 22, 82-98.
- Ryan, C. A. 2000. The systemin signaling pathway: differential action of plant defensive genes. *Biochem. Biophys. Acta* 1477: 112-121.

- SAS Institute. 2002. SAS/STAT guide for personal computers, versión 9.0 SAS Institute, Cary, NC.
- Schaad, N.W., J.B. Jones y W. Chun. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. APS Press. Minnesota. 373 p.
- Schenk, P. M., K Kazan., I Wilson., J. P Anderson., T Richmond., S. C Sommerville., y Manners, J. M. 2000. Coordinated plant defense responses in *Arabidopsis* revealed by microarray analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:11655-11660.
- Sembdner G, B Parthier. 1993. The biochemistry and the physiological and molecular actions of jasmonatos. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Bio.* 44:569-89.
- Sistema Integrado de Información Taxonómica- SIIT \* América del Norte, 2011. [Disponible en línea]  
[http://siit.conabio.gob.mx/pls/itisca/next?v\\_tsn=26857&taxa=Phaseolus+vulgaris&p\\_ifx=&p\\_lang=es](http://siit.conabio.gob.mx/pls/itisca/next?v_tsn=26857&taxa=Phaseolus+vulgaris&p_ifx=&p_lang=es)
- Sosa, A. B. Y. y Gonzales, M. 2008. Aislamiento, identificación y caracterización de cepas de *Bacillus* spp. con potencialidades para el control biológico de los géneros *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Pythium*. Taller Latinoamericano de Biocontrol de Fitopatógenos, Ciudad de la Habana, Cuba, 22-29 Sep. 2008. 14(1) p. 63.
- Staswick, P.E., Yuen, G.Y., Lehman, C.C. Jasmonate signaling mutants of *Arabidopsis* are susceptible to the soil fungus *Pythium irregulare* . *Plant J* . 1998, 15, 747-754.
- Stinzi, A., H Weber., P Reymond., J Browse., y E. E Farmer. 2001. Plant defense in the absence of jasmonic acid: the role of cyclopentenones.

- Turner, J.G., Ellis, C., Devoto, A. The jasmonate signal pathway. *Plant Cell*. 2002, 14, S153-164.
- Van der plank, J. E., 1975. Principles of plant Infection Academic Press New York. 150 p.
- Vlot, A.C. Dempsey, D.A. y D.F. Klessig. (2009). Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annual Review of Phytopathology*. 47: 177-206.
- Wasternack, C. y B Parthier. 1997. Jasmonate-Signalled gene expression. *Trends Plant Sci*. 2:302-307.
- White R. F. (1979). Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus. *Virology* 99 410-412.
- Wilens, R.W., vanRooijen, G.J., Pearce, D.W., Pharis, R.P., Holbrook, I.A., Moloney, M.M. Effects of jasmonic acid on embryo specific processes in *Brassica* and *Linum* oilseeds. *Plant Physiol* . 1991, 95, 399-405.
- Xu, D., McElroy, D., Thornburg, R. y Wu R. 1993. Systemic induction of a potato pin2 promotor by wounding methyl jasmonate and abscisic acid in trasgenic rice plants. *Plant Mol Biol*. 22: 573-588.
- Zhang, S., Moyne, A.L.; Reddy, M.S. y Kloepper, J.W. 2002. The role of salicylic acid in induced systemic resistance elicited by plant growth-promoting rhizobacteria against blue mold of tobacco. *Biological Control*, 25: 288–296.

## APENDICE

Tabla 1. Análisis de varianza de severidad en la planta del cultivo del frijol en el cuarto muestreo (30 de marzo de 2011).

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
Modelo	5	11.39326667	2.27865333	25.37	<.0001
Error	12	1.07793333	0.08982778		
Total correcto	17	12.47120000			

CV: 7.0

Tabla 2. Análisis de varianza de severidad en la planta del cultivo del frijol en el tercer muestreo (23 de marzo de 2011)

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
Modelo	5	37.23909333	9.30977333	2.26	0.1352
Error	12	41.25300000	4.12530000		
Total correcto	17	78.49209333			

CV: 11.48630

Tabla 3. Análisis de varianza de severidad en la planta del cultivo del frijol en el muestreo inicial (09 de marzo de 2011).

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
Modelo	5	5.36020000	1.07204000	3.20	0.0457
Error	12	4.01580000	0.33465000		
Total correcto	17	9.37600000			

CV: 14.37836

Tabla 4. Análisis de varianza de severidad en la planta del cultivo del frijol en el segundo muestreo (16 de marzo de 2011).

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
Modelo	4	36.03077333	9.00769333	1.46	0.2847
Error	10	61.62960000	6.16296000		
Total correcto	14	97.66037333			

CV: 13.23

## Incidencia

La presencia del tizón común *X. axonopodis* pv. *phaseoli* se calculo por cada tratamiento y a su vez por repeticiones, utilizando la formula de Van der Plank, (1975):

$$I = PE/PT \times 100$$

Donde:

I= índice de incidencia (%)

PE= plantas enfermas

PT= plantas totales

$$I = 36 \text{ PE.} / 36 \text{ PT.} \times 100 = 100 \% \text{ de Incidencia}$$

## Medios de Cultivo

### Medio B de King (KB)

Proteosa peptona No.3 <sup>1</sup>	20.0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 3H <sub>2</sub> O	1.5 g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	1.5 g
Agar	15.0 g
Glicerol	15.0 ml
Agua Destilada	1000.0 ml

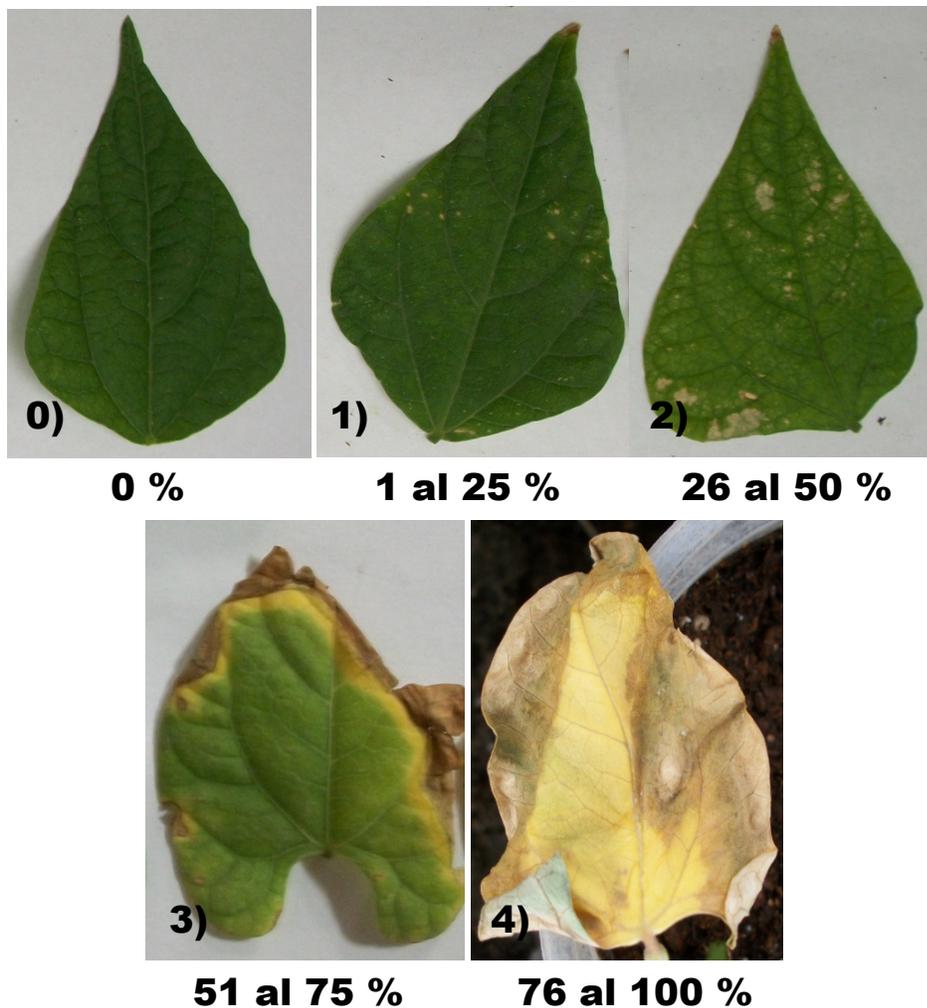
### **Medio CNS**

Caldo Nutritivo	8.0 g
Extracto de Levadura	2.0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2.0 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.5 g
LiCl	10.0 g
Agar	15.0 g
Agua Destilada	1000.0 ml

### **Medio TB**

Peptona	10.0. g
KBr	10.0 g
CaCl <sub>2</sub>	0.25 g
Agar	15.0 g
Tween 80	10.0 ml
Cyclohexamida	75.0 mg
Cephalexina	25.0 mg
5-fluoracil	6.0 mg
Tobramicina	0.4 mg
Agua Destilada	1000.0 ml

La Severidad fue Determinada por una Escala de Evaluación de Enfermedades según Carling y Leiner, (1990).



Grados de Severidad	Porcentaje de Severidad	
0	0	Libre de Infección
1	1 al 25	Infección Ligera
2	26 al 50	Infección Moderada
3	51 al 75	Infección Abundante
4	76 al 100	Infección Intensa