Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No.16 p. 12-18 1990

CARACTERIZACION Y PATOGENICIDAD DE BACTERIAS ASOCIADAS CON EL ATAQUE DE Neosilba sp. (DIPTERA: Lonchaeidae) EN CHILE DULCE

José M. Jiménez* Elkin Bustamante*
Susana Dimasi** Franklin Jiménez***

ABSTRACT

The pepper fly Neosilba sp. is the main insect pest problem under rainy conditions of the humid tropics of Panama and Costa Rica. The fly lays her eggs on small fruits and later on the larvae penetrates them A black fruit rot develops after 2-5 days of the insect penetration. The damage incidence should be as high as 50% of the fruits. Pseudomonas and Erwinia were the main genera present in a survey of bacteria associated with affected tissues. Pathogenicity tests were positive for the species identified as follows: P. fluorescens, E. carotovora, E. chrysanthemi, Pseudomonas sp. These bacterias were also detected on healthy fruits. A test on fruit size symptoms indicated that a black rot appears in small fruits while a soft rot appears in the big ones.

INTRODUCCION

El chile dulce, Capsicum annuum L., ocupa el segundo lugar en consumo en Centroamérica, después del tomate entre las hortalizas de fruto. Gran cantidad de enfermedades e insectos atacan el cultivo haciéndolo muy riesgoso y con elevados costos de producción, de ahí que sea uno de los productos hortícolas más onerosos para el consumidor.

En el trópico húmedo de Panamá y Costa Rica los problemas patogénicos del suelo Phytophthora capsici, Pseudomonas solanacearum (Jiménez et al. 1987, 1989) y la mosca Neosilba sp. constituyen los factores limitantes del cultivo. Se ha determinado que la mosca puede llegar a destruir hasta el 50% de los frutos formados (Shannon 1988). Esta nueva plaga se encuentra en Costa Rica y Panamá, así como en Colombia y Perú (Hernández et al. 1989). La hembra oviposita en frutos jóvenes (1-8cm de largo), por lo general lo hace debajo del caliz y de 1-6 huevos por sitio. La oviposición ocurre en días húmedos y nublados de 7-10 a.m. y de 3 a 5 p.m. (Hernández 1989).

La larva recién emergida perfora y penetra en el fruto dejando un agujero necrótico en su interior. Se alimenta de las paredes del fruto y de la placenta central de las semillas (Hernández et al. 1989). Dependiendo de la humedad, en 2-8 días se observa el desarrollo de necrosis negras de aspecto acuoso o de pudriciones suaves en los frutos atacados que causan su caída prematura. Por el síntoma observado hay indicios de bacterias que aprovechan el daño mecánico causado por la larva para entrar al fruto recién formado.

Observaciones de campo muestran que el problema causado por Neosilba sp. está unido a frutos pequeños con pudrición negra (Shannon 1988). En frutos grandes cerca de la cosecha o de maduración fisiológica, no se observan síntomas de pudrición negra ni ataques severos de la mosca. Los daños que se observan en este estado de desarrollo del fruto constituyen la pudrición suave típica causada por Erwinia carotovora (Lopez 1986)

El objetivo del presente estudio fue caracterizar y evaluar la patogenicidad en las bacterias asociadas con el ataque de Neosilba sp. in vitro y en condiciones de campo en el trópico húmedo costarricense.

MATERIALES Y METODOS

Localización. El experimento se realizó de marzo 1988 a marzo 1989 en Turrialba, ubicada en la zona atlántica de Costa Rica (610 msnm, 2600 mm anuales, 22°C y 87% HR en promedio) en donde se produce chile dulce para consumo nacional.

Aislamientos bacteriales. Se recolectaron de la planta frutos de chile de 1-8cm de longitud del cv Nájera 2', en donde se observaba el daño del ataque de Neosilba sp. y dos tipos de síntomas: pudrición suave y pudrición negra acuosa.

El aislamiento de bacterias se efectuó en el laboratorio de diagnóstico del CATIE. Pequeñas porciones del borde de la lesión se trituraron en tubos de ensayo con agua destilada estéril. Utilizando un aza estéril a

* Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), 7170, Turrialba, Costa Rica.
** Col. El Conacaste, Acceso "A" No.14, Mejicanos, San Salvador, El Salvador.
***Universidad de Costa Rica, Facultad de Microbiología, San Pedro, Costa Rica.

partir de estos tubos se procedió a la siembra bacterial mediante rayados en los medios ATS, MS y YDC (Schaad 1980, Fahy y Persley 1983 y Antillón 1987). Se seleccionaron las diferentes cepas bacteriales al segundo día de la siembra mediante observaciones con el estereoscopio.

Identificación de bacterias. En forma preliminar se determinó el género de las bacterias mediante las siguientes pruebas fenotípicas: tinción de gram, prueba de movilidad, tinción de flagelos, oxidasa, catalasa, prueba de Hugh y Leifson; y crecimiento en medios específicos tales como MS, King.

Estas pruebas se realizaron aplicando las metodologías seguidas por Lelliot y Stead 1988 (Cuadro 1). Para determinar la especie se utilizaron las propuestas por el Bergey's 1984 (Krieh y Holt 1984) y se realizaron en el Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Microbiología, de la Universidad de Costa Rica.

CUADRO 1. Características fenotípicas de generos bacteriales asociados a pudriciones vegetales (Adaptado de Lelliot and Stead, 1988).

PRUEBA	ERWINIA	PSEUDOMONAS	BACILLUS
Gram.	-	-	+
KOH	+	+	-
Oxidasa	-	+	V
Catalasa	+	+	+
Fluorescencia	-	V	-
Flagelos	peritricos	polar	peritricos
Movilidad	+	+	+
Esporas	-	-	+
Hidrolisis almidón	-	-	+
OF	F	O	F

V = Puede ser positiva o negativa
O = Metabolismo oxidativo;
F = metabolismo fermentativo

Prueba de patogenicidad. Al Laboratorio se llevaron frutos de 4-8cm de longitud del cv 'Nájera-2', se esterilizaron superficialmente con alcohol al 70% y se depositaron en una caja plástica de 40 x 20 x 20cm que contenían papel toalla humedecida con agua destilada estéril. Por cada cepa bacterial se inocularon cuatro frutos; se punzó en puntos equidistantes con una aguja estéril, la cual había sido impregnada de la bacteria mediante la colocación de la aguja por dos segundos en una suspensión de 10^7 CFU/ml de la cepa a probar. Posteriormente los frutos fueron incubados a 24°C y alta humedad relativa durante 2-4 días.

Para el trabajo de campo se siguió el mismo procedimiento de laboratorio, pero varió en el sentido de que los frutos se encontraban unidos a la planta, y no en un ambiente artificial de alta humedad relativa. Las inoculaciones se realizaron después de las 16 horas, para evitar la muerte rápida de las bacterias por exposición solar o por deshidratación y se utilizaron 20 frutos por cepa evaluada.

En el estudio de la filosfera, se realizó un reconocimiento de las bacterias presentes en la superficie de los frutos, para ello se obtuvieron 20 discos de 2.5 mm de diámetro y 1-2 mm de profundidad de tres zonas del fruto: alta, media y baja (Fig. 1).

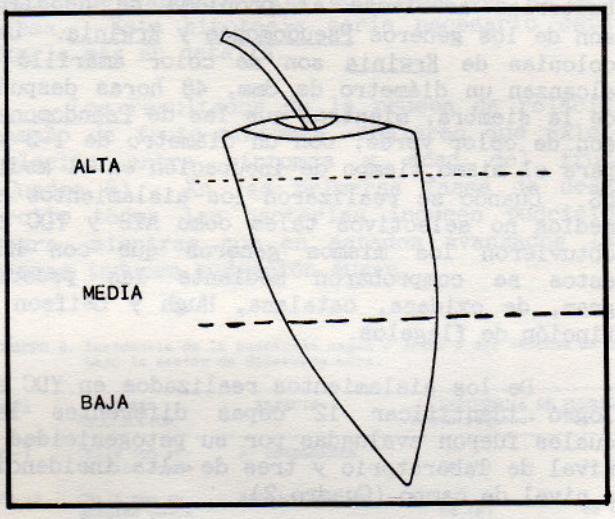


Fig. 1. Zonas de fruto en relación con el pendúnculo.

Los discos fueron colocados en 50 ml de H_2O destilada estéril, se agitaron por un minuto y se procedió a preparar diluciones hasta 10^{-4}. De cada una de las diluciones se tomó 0.1 ml y se incubaron en MS y YDC. Se realizaron dos muestreos en los meses de julio, 1988 y marzo, 1989; por cada muestreo se tomaron cuatro frutos de 6cm de longitud.

Las cepas aisladas se evaluaron por su capacidad de producir la enfermedad, tanto en el laboratorio como en condiciones de campo. Por otra parte, en el segundo muestreo se realizaron observaciones al microscopio electrónico de transmisión, para verificar la distribución de las bacterias en la superficie del fruto. Estas observaciones se realizaron en el Departamento de Microscopía Electrónica de la Universidad de Costa Rica.

Para determinar la posible relación entre edad del fruto-síntomas-bacterias se realizaron dos aislamientos adicionales, uno de frutos con pudrición suave y el de frutos con pudrición negra con signos de ataque de la mosca. Estas cepas junto con dos del estudio de filosfera se inocularon en frutos pequeños de 3 a 5cm de longitud, y en frutos grandes de 8 a 12cm de longitud del cv Najera 2 . Por cada tipo de cepa se inocularon 20 frutos.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la primera prueba de aislamiento de tejidos de frutos de chile con síntomas de manchas oscuras acuosas, (pudrición negra) se determinó en el medio de cultivo MS, que las bacterias asociadas al problema de Neosilba son de los géneros Pseudomonas y Erwinia. Las colonias de Erwinia son de color amarillo y alcanzan un diámetro de 3mm, 48 horas después de la siembra, mientras que las de Pseudomonas son de color verde, con un diámetro de 1-2 mm para el mismo tiempo de incubación en el medio MS. Cuando se realizaron los aislamientos en medios no selectivos tales como ATS y YDC se obtuvieron los mismos generos que con MS, éstos se comprobaron mediante las pruebas gram, de oxidasa, catalasa, Hugh y Leifson y tinción de flagelos.

De los aislamientos realizados en YDC se logró identificar 12 cepas diferentes las cuales fueron evaluadas por su patogenicidad a nivel de laboratorio y tres de alta incidencia a nivel de campo (Cuadro 2).

CUADRO 2. Prueba de patogenicidad de cepas aisladas de frutos con pudrición negra inoculada en frutos del cv 'Nájera 2' de 1.8cm.

CEPA	GENERO	Incidencia de Pudrición (*) Laboratorio*	Tipo	Campo*	Tipo
PN-1	Erwinia	0			
PN-2	Pseudomonas	0			
PN-3	Erwinia	100	Suave	75	Negra
PN-4	Erwinia	50	Negra		
PN-5	Erwinia	0			
PN-6	Erwinia	100	Negra		
PN-7	Erwinia	100	Negra		
PN-8	Erwinia	100	Suave	100	Negra
PN-9	Pseudomonas	0			
PN-10	Pseudomonas	0			
PN-11	Pseudomonas	100	Negra	50	Negra
PN-12	Erwinia	100	Negra		
Testigo	H_2O estéril	0		50	Negra

* En laboratorio incidencia de 12 punciones y en el campo de 80 punciones.

De las lesiones de los frutos inoculados se aislaron las bacterias utilizadas, con lo cual se probaron los postulados de Koch; de las 12 cepas evaluadas ocho pertenecieron a Erwinia y cuatro a Pseudomonas. En el caso de Erwinia no hubo consistencia en la sintomatología entre la prueba de laboratorio y campo; en el caso de laboratorio donde se dan las mejores condiciones para el desarrollo de la enfermedad y el fruto no está unido a la planta, el fruto degenera rápidamente en una pudrición suave (tipo bolsa de agua); lo cual no sucede en la prueba de campo en donde todas las cepas inoculadas desarrollaron la pudrición negra acuosa típica de la enfermedad. Los frutos fueron abortados por la planta a los 4-6 días después de la inoculación.

En el testigo de la prueba de campo, sin desinfección de la superficie de los frutos con alcohol al 70%, se destaca una incidencia de un 50 % de pudrición negra, lo cual sugiere la presencia de bacterias patogénicas en la superficie del fruto al ser inoculados. Para dilucidar este problema se inocularon diversos frutos con varios tratamientos (Cuadro 3).

CUADRO 3. Incidencia de mancha acuosa en frutos de 'Nájera 2' de 4-8cm inoculados con dos cepas por diversos métodos.

CEPA*	METODO INOCULACION	INCIDENCIA CON Y SIN DESINFECCION Con alcohol	Sin alcohol
PN-1	Aspersión	0	0
PN-1	Aspersión + Punción	10	20
PN-1	Punción	20	35
PN-3	Aspersión	10	5
PN-3	Aspersión + Punción	75	75
PN-3	Punción	20	35
Agua	Aspersión	10	0
Agua	Aspersión + Punción	15	40
Agua	Punción	10	50

*PN-3 Erwinia carotovora, cepa altamente patogénica a nivel de laboratorio.
PN-1 Erwinia spp. cepa no patogénica a nivel de laboratorio.

Los resultados de diferentes métodos de inoculación ratificaron que la bacteria necesita encontrar heridas para llegar al interior del fruto; en la cepa 3 no hubo diferencia entre los métodos de aspersión + punción y solo punción (Cuadro 3). Por otra parte el testigo muestra que existe una población bacterial epífita que es patogénica para el fruto ya que la aplicación de alcohol reduce la incidencia de un 50% en un 10%, mostrandose su eficiencia como desinfectante.

La población epífita no parece interferir cuando se aplica una cepa patogénica, ya que los resultados de las cepas patogénicas no muestran diferencias significativas entre aplicación y no aplicación de alcohol. Esto se debe posiblemente a que el potencial del inóculo es tan alto que la interferencia de las epífitas no es significativa.

Para comprobar la patogenicidad de las bacterias aisladas en la superficie del fruto, se hicieron dos estudios de la filosfera en dos condiciones climáticas diferentes; la de julio 1988, en buenas condiciones para el desarrollo de la microflora y la de marzo 1989, en donde la precipitación fue muy escasa y se caracterizó por una alta luminosidad y temperatura.

Los resultados indican que existe relación entre la presencia de bacterias y los elementos climáticos (Cuadros 4, 4.1). En condiciones de baja precipitación, alta radiación solar y baja humedad relativa, la población epífita es muy escasa (marzo 1989), en la cual se reduce la población en 1000 veces con respecto a la población detectada bajo condiciones lluviosas (julio 1988).

Las observaciones al microscopio electrónico mostraron que la bacteria se agrupa en

CUADRO 4. Concentración bacterial (UCB/cm²) en la superficie del fruto de chile dulce, cv 'Nájera', en dos épocas diferentes.

POSICION EN EL FRUTO	JULIO 1988		MARZO 1989	
	Pseudomonas	Erwinia	Pseudomonas	Erwinia
Hombros	8.0×10^5	2.7×10^5	3.0×10^3	0
Medio	5.5×10^4	5.2×10^4	0	0
Abajo	7.5×10^5	7×10^4	2.2×10^4	3.1×10^4

* Promedio de 4 frutos y evaluada en MS.

CUADRO 4.1. Elementos climáticos de julio 1988 y marzo 1989.

ELEMENTO	Julio 1988	Marzo 1989
Precipitación (mm)	220	64
Temperatura mínima °C	18.1	19.2
Temperatura máxima °C	27.3	26.2
Temperatura promedio °C	23.4	23.0
Humedad relativa promedio °C	92	83
Radiación solar (cal/²/día)	335	467

CUADRO 5. Incidencia de la mancha negra del chile en el laboratorio con cepas bacteriales aisladas de la superficie del fruto (filoplano).

CEPA	SITIO AISLAMIENTO	GENERO	INCIDENCIA*	TIPO PUDRICION
F-1	hombros	Erwinia	100	Suave
F-2	hombros	Pseudomonas	75	Negra
F-3	hombros	Pseudomonas	50	Negra
F-4	hombros	Erwinia	0	
F-5	hombros	Pseudomonas	0	
F-6	medio	Erwinia	100	Suave
F-7	medio	?	100	Negra
F-8	medio	Erwinia	100	Negra
F-9	medio	Pseudomonas	100	Negra
F-10	abajo	Erwinia	100	Suave
Testigo	-	-	0	

* En 8 punciones efectuadas; lectura a las 48 horas después de inoculación.

cavidades de la superficie del fruto, las cuales son más numerosas en las zonas altas. Las bacterias se protegen así de la desecación y obtienen más facilmente los nutrimentos ya que en estas zonas se acumulan exudados del fruto (Fig. 2).

Del muestreo realizado en julio se obtuvieron 10 cepas que fueron inoculadas bajo condiciones de laboratorio (Cuadro 5), observándose que varias de ellas produjeron el síntoma típico del complejo de Neosilba sp. (pudrición negra acuosa).

En esta prueba se observaron diferentes grados de virulencia. Se encontraron cepas avirulentas tales como la F-4 y F-5, hasta cepas altamente virulentas tales como la F-8 y F-9. Estos resultados indican que las bacterias asociadas con Neosilba sp. son epífitas de la fruta, las cuales son introducidas por las larvas de la mosca. Observaciones al microscopio electrónico* han mostrado que las bacterias van adheridas a las patas, al ovipositor de la mosca y en la superficie de los huevos. Posiblemente algunas de estas sean patógenicas debido a que la mosca tiene la costumbre de visitar frutos enfermos (Hernández et al. 1989); esto implicaría que la mosca podría actuar como agente de diseminación de las bacterias asociadas con el problema. Esta hipotesis sería necesario estudiarla más en detalle.

Los resultados de la prueba de relación tamaño de fruto-síntomas, sugieren que existe relación entre síntomas y edad del fruto (Cuadro 6). En las primeras fases de desarrollo todas las bacterias inducen pudrición negra, mientras que en estados avanzados las mismas inducen pudrición suave.

CUADRO 6. Incidencia de la pudrición negra o suave a dos tamaños de chile bajo la acción de diferente cepa.

CEPA	LUGAR RECOLECCION	ESPECIE	INCIDENCIA DE PUDRICION	
			Fruto pequeño*	Fruto grande
PS-1	Chile con pudrición suave	E. carotovora	50 (N)	50 (SU)
PN-13	Chile con pudrición negra	Pseudomonas sp.	90 (N)	60 (SU)
F-8	Superficie chile	Pseudomonas fluorescens	50 (N)	0
F-1	Superficie chile	Erwinia chrysanthemi	60 (N)	10
Testigo	H_2O		20 (N)	5 (SU)

N = pudrición negra
SU = pudrición suave

*Fruto pequeño con longitud de 3-5cm; grandes de 8-12cm.

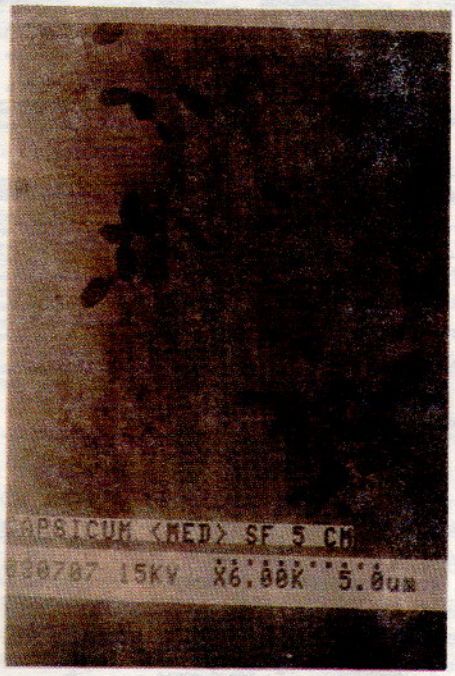
En los primeros estadíos de desarrollo del fruto posiblemente la bacteria no encuentra tejido susceptible o este es escaso (mesocarpo) para producir la maceración de tejidos que causa la típica bolsa de agua, que se observó en los frutos mayores de 8cm de longitud. En estados jóvenes del fruto, el síntoma que se produjo fue una pudrición negra de apariencia acuosa que induce la caída del mismo a las 72-96 horas después de la inoculación. El tratamiento testigo en esta prueba, que consistió en punzar el fruto con agua destilada esteril presentó el mismo comportamiento según el estado del fruto, pero con un reducido porcentaje de incidencia. Esto se debe posiblemente a una población epífita muy baja en la epoca que se realizó la inoculación (marzo 1989) lo cual fue detectado con el estudio de la población de la filosfera (Cuadro 4).

La identificación de las bacterias se realizó mediante 11 pruebas para Pseudomonas y 23 pruebas para enterobacteriaceas. Para leer las pruebas se utilizaron controles obtenidos en la ATCC: P. fluorescens, E. carotovora y E. chrysanthemi.

De las cepas aisladas se identificaron aquellas que se usaron en las diferentes prue-

* Blanco, H. 1990. Estudios de Neosilba sp. al microscopio electrónico. Turrialba, CATIE. (Comunicación personal).

A



B

C

Fig. 2. Distribución de las bacterias en la superficie del fruto del chile dulce:

A. En la parte alta del fruto.
B. En la parte media del fruto.
C. Bacterias en cavidades con presencia de residuos orgánicos.

bas realizadas. Los resultados muestran que las bacterias asociadas con la presencia de Neosilba spp. son P. fluorescens, E. carotovora y E. chrysanthemi y Pseudomonas spp. (Cuadros 7 y 8).

CUADRO 7. Caracteristicas generales de cepas Pseudomonas spp. y patrones en la ATCC, Turrialba, 1989.

PRUEBA	AISLAMIENTO NUMERO						CEPA ATCC No.
	F-2	F-7	F-8	F-9	PN-11	PN-13	10844
Número flagelos	2	0	2	2	2	2	2
Gram	-	-	-	-	-	-	-
Oxidasa	+	+	+	+	+	+	+
Levan	+	-	+	+	-	-	+
Gelatinas	+	+	-	+	+	+	+
Almidón	-	-	-	-	-	-	-
Urea	+	+	+	+	+	+	+
41°C	-	-	-	-	+	+	-
Arginina	+	+	+	+	+	+	+
Fluorescencia	+	+	+	+	-	-	+
Catalasa	-	-	-	-	-	-	-
Identificación*	P.f.	P.sp	P.f.	P.f.	P.sp	P.sp	P.f.

*P.sp = Pseudomonas sp; P.f. = P. fluorescens

CUADRO 8. Identificación de Erwinia usadas en diferentes pruebas.

PRUEBAS	AISLAMIENTO NUMERO						CEPA ATCC NUMERO	
	F-1	F-7	F-10	PN-3	PN-8	PS-1	495	4662
Gram	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalasa	+	+	+	+	+	+	+	+
OF	+	+	+	+	+	+	+	+
Movilidad	+	-	+	+	+	+	+	+
Peritrica	+	+	+	+	+	+	+	+
T. crecimiento	-	-	-	-	-	-	-	-
Pigmentación	-	-	-	-	-	-	-	-
Levan	-	-	+	+	-	+	+	+
36 C	+	-	+	+	+	+	+	+
H2S	+	+	+	+	+	+	+	+
Aceotina	+	-	+	+	+	+	+	+
Ureasa	+	-	+	+	+	-	-	-
Pectato	+	-	-	-	+	+	+	+
Gas glucosa	+	-	+	+	+	+	+	+
Gelatina	+	+	+	+	+	+	-	+
Fenilanina	-	-	-	-	-	-	+	-
Indol	+	-	-	-	+	-	+	-
Nitratos	+	+	+	+	+	+	+	+
Inositol	+	-	-	-	+	-	-	-
Almidón	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitos	+	+	+	+	+	+	+	+
Manitol	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactosa	+	-	+	+	+	+	+	+
Ramnosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Solicina	+	+	+	+	+	+	+	+
ESPECIE	E. chrysanthemi	?	E. carotovora	E. chrysanthemi	E. carotovora	E. carotovora	E. carotovora	E. chrysanthemi

La cepa F-7 no se pudo identificar ni a nivel de genero, es una enterobacteriacea extraña ya que no posee flagelos. La unica bacteria fermentadora que ataca a las plantas y que reúne esta caracteristica es E. stewartii. Al analizar el comportamiento de esta cepa en las 25 pruebas realizadas y a lo informado en el Bergey´s para E. stewartii, se observa que existen muchas pruebas disimiles tales como la prueba de H_2S, gelatina, reducción de nitratos y algunas pruebas de azúcares. Todo esto permite concluir que esta cepa F-7 no corresponde a una de las especies de erwinias descritas hasta el momento.

Las cepas PN-8 y F-1 posiblemente sean E. chrysanthemi, a pesar de que difieren en la prueba de ureasa con la cepa patrón de la ATCC. En este caso es necesario realizar pruebas más sofisticadas tales como la de ácidos grasos para identificar plenamente estas cepas.

Los resultados obtenidos concuerdan con los de Lopez (1986) y Rivera (1987) quienes también determinaron las mismas especies encontradas en este trabajo como los agentes causales de la pudrición suave del chile antes y después de la cosecha. Al mismo tiempo se encontraron como colonizadores de la superficie del fruto.

Para próximas investigaciones será necesario determinar con exactitud el papel que juega la mosca Neosilba sp. y otros insectos en la diseminación y superviviencia de las bacterias causantes de la pudrición negra y suave del chile. Asimismo conviene identificar aquellas cepas problemas, detectadas en este trabajo. □

RESUMEN

En las condiciones lluviosas del trópico húmedo de Panamá y Costa Rica el principal problema insectil del chile dulce, Capsicum annuum, lo ocasiona la mosca Neosilba spp., la que puede destruir hasta el 50% de los frutos. La mosca ataca principalmente frutos jóvenes, coloca sus huevos en la superficie y al eclosionar, las larvas penetran el fruto. Una pudrición negra de aspecto acuoso se desarrolla en diferentes partes del fruto e induce a su caída. Esta pudrición se observa de 2 a 5 días después de la penetración del insecto. En Turrialba, Costa Rica reconocimientos de bacterias asociadas a la necrosis del fruto, determinaron que en su gran mayoría, son bacterias de los géneros Pseudomonas y Erwinia. Las pruebas de patogenicidad resultaron positivas para las especies identificadas: P. fluorescens, E. carotovora, E. chrysanthemi, Pseudomonas spp. El síntoma en frutos pequeños es una pudrición negra mientras que en frutos grandes se desarrolla una pudrición suave. Estudios del fruto determinaron la presencia de poblaciones de dichas especies en la superficie de frutos sanos.

LITERATURA CITADA

ANTILLON, F.; GAMBOA, M.; MORA, J.; RODRIGUEZ, E. 1985. Bacteriología diagnóstica. San José, C.R. Universidad de Costa Rica. 162 p.

FAHY, P.G. y PERSLEY, G.J. 1983. Plant bacterial diseases. A diagnostic guide. N.Y. Academic Press. 393 p.

HERNANDEZ, A.; SHANNON, P.; BLANCO, H. 1989. Avances sobre umbrales de acción para el control químico de la mosca del chile Neosilba sp. (Díptera: Lonchaeidae) en Turrialba. In II Congreso Internacional de Manejo Integrado de Plagas. Guatemala. 1989. Memorias, Ciudad Guatemala. p. 12.

KELMAN, A.; DICKEYS, S. 1980. Soft rot or "carotovora" group. En Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. N. W. Schaad, Ed. Departament of Plant Pathology University of Georgia Experiment, Ga. for Bacteriology Committee of American Phytopathological Society.

KRIEG, N.; HOLT, J. (Eds). 1984. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th Ed. Baltimore. Williams and Wilkins. Vol I,II.

JIMENEZ, J.; BUSTAMANTE, E.; BERMUDEZ W.; GAMBOA, A. 1987. Respuesta de cuatro cultivares de chile dulce a marchitez fungosa en Costa Rica. In XXVIII Reunión De APS, Sección del Caribe. Guatemala. Memorias. Ciudad Guatemala p. 3.

_____; BUSTAMANTE, E.; BERMUDEZ, W.; GAMBOA, A. 1989. Resistencia de líneas de chile dulce a P. capsici. In II Congreso Regional de Manejo Integrado de Plagas, Guatemala. Resumenes, Ciudad Guatemala. s.p.

LELLIOT, R.A.; STEAD, D.E. 1988. Methods for the diagnosis of bacterial disease of plants. London, British Society for Plant Pathology. 213 p.

LOPEZ, C. 1985. Estudio preliminar sobre la pudrición blanda del chile dulce Capsicum spp. Tesis Lic. Ing. Agr. Centro Universitario de Occidente, Grecia. Universidad de Costa Rica. p. 60.

PEROMBELON, M.; A. KELMAN. 1980. Ecology of the soft rot Erwinia. Annual Review of Phytopathology, No. 18:361-387.

RIVERA, O. 1987. Efecto de la temperatura en la manisfestación de patogenicidad de microorganismos portados sobre la superficie de frutos de chile dulce Capsicum annuum. Tesis de Ingeniero Agrónomo, UNA, Heredia, Costa Rica. 78 p.

SCHAAD, N.W. 1980. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Department of Plant Pathology University of Georgia Experiment, Ga. for Bacteriology Committee of American Phytopathological Society. St. Paul, Minnessota, 74 p.

SHANNON, P.; CARBALLO, M. 1988. Estudio preliminar sobre umbrales de acción de la mosca del chile Neosilba sp. (Díptera: Lonchaeidae) en Turrialba, Costa Rica. In XXXIII Congreso PCCMCA, San José, Costa Rica, 1988. Memorias. San José, MAG. p. 45.

¿COORDINANDO UN CURSO O UNA REUNION ESPECIALIZADA?

Envie oportunamente su anuncio para el próximo "Boletín Informativo" MIP

Este es un servicio trimestral y gratuito del Proyecto RENARM/MIP/CATIE