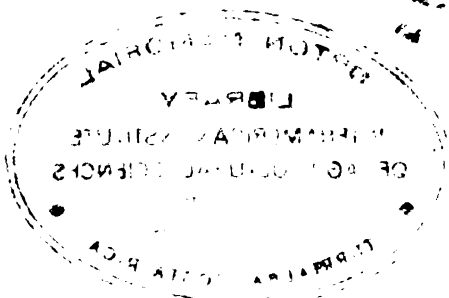


DETERMINACION Y ESTUDIO DE LOS ORGANISMOS CAUSANTES DE DOS
ENFERMEDADES DE PAPA: LA MAYA (PSEUDOMONAS SOLANACEARUM) Y
PODREDUMBRE SUAVE (BACTERIUM CAROTOVORUM)

Por

✓
EDDIE ECHANDI ZURCHER



INSTITUTO INTERAMERICANO DE CIENCIAS AGRICOLAS

Turrialba, Costa Rica

Abril de 1952

DETERMINACION Y ESTUDIO DE LOS ORGANISMOS CAUSANTES DE DOS
ENFERMEDADES DE PAPA; LA MAYA (PSEUDOMONAS SOLANACEARUM) Y
PODREDUMBRE SUAVE (BACTERIUM CAROTOVORUM)

Tesis

Sometida al Comité Facultativo en cumplimiento parcial de los
requisitos para obtener el título de

Magistri Agriculturae

en el

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas

APROBADO: Fredrick W. Murray
Consejero

William J. Loegering
Comité

Lucy Hastings
Comité

Fecha: 21 de Mayo 1952

AGRADECIMIENTO

El autor expresa su más profundo agradecimiento al Dr. Frederick L. Wellman, por la dirección de este trabajo.

Desea también agradecer al Dr. E. H. Casseres y al Dr. W. Loegering, por haber revisado la redacción de algunos capítulos. Al Ing. Mario Gutiérrez J. , Dr. K. Olsen, Miss. Lucy Hastings, y Guillermo Esteves, por su cooperación en algunos aspectos de este trabajo.

BIOGRAFIA DEL AUTOR

Eddie Echandi Zürcher, nació en San José. Cursó sus primeros años de estudio en la escuela Buenaventura Corrales. Estudios secundarios en el colegio Seminario, luego ingresó a la Facultad de Agronomía, terminó sus estudios en el año 1950. Entró a formar parte del personal del Ministerio de Agricultura en el año 1951, y en el mismo año pasó al Instituto Inter-Americano de Ciencias Agrícolas, a continuar estudios de especialización en Fitopatología, bajo la dirección del Dr. Frederick L. Wellman.

En el año 1952 optó el título de Ingeniero Agrónomo con distinción.

CONTENIDO

	Pag.
AGRADECIMIENTO	
BIOGRAFIA DEL AUTOR	
CONTENIDO	
INTRODUCCION	
REVISSION DE LITERATURA	
Importancia Económica.....	2
Importancia y Extensión en la Zona Papera de Costa Rica	3
Sinonimia	4
Historia y Distribución Geográfica de Ps. solanacearum	5
Sintomatología	6
Plantas Hospederas	8
Etiología	10
Control	12
MATERIALES Y METODOS	
Obtención de Cultivos Puros (Stricking Method).....	20
Obtención de Cultivos Puros(Método de Dilución).....	21
Tinción de Gram.....	22
Tinción con Safranina	24
Tinción de Flagelos	24
Características Fisiológicas	26
Producción de Acido en Carbohidratos	26
Leche	27
Producción de Acido Sulfhidrico	27

	Pag.
Producción de Amonio	28
Hidrolisis del Almidón	28
Método de Lugol	29
Tajadas de Papa	29
Factores Importantes en el Establecimiento de la Maya	30
Hierbas Hospederas de Ps. solanacearum	31

RESULTADOS

La Bacteria que Causa la Maya	32
Morfología	32
Características Culturales	32
Forma de las Colonias	32
Características Fisiológicas	34
Producción de Acido en Carbohidratos	34
Gelatina	34
Leche	36
Producción de Acido Sulfhídrico	36
Crecimiento de Ps. solanacearum en Agar Papa Dextrosa con Diferentes pH	36
Producción de Amonio	37
Hidrolisis del Almidón	37
Crecimiento en Tajadas de Papa Esterilizadas	37
Crecimiento en Medio Nutriente	38
Presencia de Coloración Café en las Colonias de Ps. solanacearum	38

Temperatura Optima para el Crecimiento de <i>Ps. solanacearum</i>	39
Comparación de los Caracteres Morfológicos y Fisiológicos de <i>Ps. solanacearum</i> , estudiados en Costa Rica, con los dados por tres diferentes autores	41
Sintomatología	41
Síntomas de los Tallos Enfermos	41
Exámen Microscópico de Tallos de Papa	44
Síntomas Externos del Tubérculo	44
Síntomas Internos del Tubérculo	46
El Síntoma más Típico	46
Síntomas Externos Similares	48
Patogenicidad de <i>Ps. solanacearum</i>	50
Inoculación de Plantas de Papa en Tres Diferentes Lugares de la Planta	54
Saprógenesis	57
Factores más Importantes en el Establecimiento de <i>Ps. solanacearum</i>	57
Hierbas Hospederas	59
Experimento para Determinar el Comportamiento de Algunas Variedades de Papa que se Siembran en Costa Rica con Respecto a la Maya	61
Aplicación de Fumigantes al Suelo	63
BACTERIUM CAROTOVORUM	
Morfología	67

	Pag.
Caracteres Culturales	67
Cultivos Clavados	69
Gelatina	69
Crecimiento en Tajadas de Papa Esterilizadas	69
Características Fisiológicas	69
Crecimiento en Varios Carbohidratos y Glicerol	69
Resumen de las Características Fisiológicas de <i>Bacterium carotovorum</i>	71
Comparación de los Caracteres Morfológicos y Fisiológicos de <i>Bacterium carotovorum</i> estudiadas en Costa Rica, con los datos por dos diferentes autores	73
Comparación de los caracteres Morfológicos y Fisiológicos de <i>Ps. solanacearum</i> y <i>Bacterium carotovorum</i> obtenidos por el autor	74
Sintomatología	76
DISCUSION	79
CONCLUSIONES	83
SUMARIO	86
LITERATURA CITADA	88
LITERATURA NO CITADA	91

INTRODUCCION

La enfermedad de papa llamada en Costa Rica Maya, causa anualmente grandes pérdidas a los agricultores. Mata (23) reporta que las pérdidas de plantas en el campo, alcanzan generalmente de 10 a 25% y en algunos casos de un 50 a 60% de plantas. Como se ve por los datos anteriores, las pérdidas que ésta enfermedad causa son serias, y si tomamos en cuenta el hecho de que no se tiene un método eficiente de control, el problema es aún más serio. Otro factor que hace muy grave el problema es que la mayor parte de los agricultores de la zona papera, son pequeños agricultores, y que en muchos casos ellos no pueden soportar pérdidas grandes en sus cosechas de papas.

El objeto de éste trabajo es determinar cual es el organismo patógeno causante de la Maya, y hacer un estudio del mismo para encontrar un método de control. Además comprende éste trabajo un estudio de laboratorio, con el organismo causante de la podredumbre suave de papa, tomate y zanahoria (Bacterium carotovorum). Todos estos trabajos fueron ejecutados en el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas en Turrialba, y la zona Norte de Cartago.

REVISION DE LITERATURA

Importancia Económica

Ps. solanacearum causa anualmente grandes pérdidas en los países en que se encuentra, las pérdidas son debidas a la muerte de las plantas atacadas y a la pudrición de los tubérculos. Si tomamos en cuenta su fácil propagación y difícil control podemos notar que ésta enfermedad es sumamente seria. Muller (25) dijo que en Java la enfermedad de papa causada por Bacterium solanacearum fué la más seria en el año de 1936. En Célebes la cosecha de papas ha descendido en un 40% según afirma Van der Goot (35). Eddins (14) dice que en Florida las pérdidas anuales causadas por ésta bacteria han alcanzado a \$117.000 y ha sido de una importancia económica mayor que todas las enfermedades juntas, y que plantaciones enteras de chiles se han perdido cuando se les ha rotado con papa enferma. En Brazil Alencar Y Drummond (1) encontraron que la enfermedad producida por Ps. solanacearum es la más importante y esparcida. Eddins, Ruehle y Townsend (16) dicen que este organismo causa un daño de 8% de la cosecha de papas excediendo a todos los demás organismos que causan daños a las papas. Cook (6) afirma que durante el verano de 1913 hubo una gran epifitía la cual causó daños muy grandes en las plantaciones de papa de South Jersey. Ramsey, Wiant y Smith (29) afirman que la enfermedad fué tan severa en Florida que no se pudo continuar sembrando papa, tomate y berengena en los terrenos en que apareció.

En el año de 1935 Eddins (15) encontró que cuando plantó la variedad de papa cuyo nombre es "Spaulding Rose" se perdió un 8%. Casseres (3) reporta que en Costa Rica algunos campos han tenido 17% de infestación. Se ha notado que en algunos años la enfermedad aparece con más severidad que en otros.

Importancia y Extensión en la Zona

Papera de Costa Rica

La zona de Cartago según Mata (23) se ha dividido en:

Zona Baja: altura de 1200 a 1400 metros, comprende la región de Coris, Tejar, Agua Caliente, Paraíso, Dulce Nombre y San Rafael de Oreamuno Sur.

Zona Media: comprende San Rafael de Oreamuno Norte, La Chinchilla, Paso Ancho, Cypresses, Angelina y Avance.

Zona Alta: 1800 a 2200 metros comprende Cot, Santa Rosa, La Cañada, Potrero Cerrado, Tierra Blanca y Llano Grande. La enfermedad fué observada primero en la Zona Baja y se extendió de aquí a la Zona Media, y puede decirse agrega el autor que alrededor de 1940 toda la Zona Media estaba invadida por la enfermedad. Hay años que aparece muy extendida. El porcentaje de pérdidas en el campo según Mata oscila entre 10 y 25 % llegando en algunos casos extremos a 50 y 60 %. En los meses de Enero, Febrero, y Agosto de 1950 apareció en la Cañada, Tierra Blanca y Llano Grande. Agrega que la Zona Baja queda descartada para la producción de papa por la gran infestación. La Zona Media puede utilizarse para la siembra con medidas preventivas y la Zona Alta es la más recomendada

para la siembra de papa.

Sinonimia

Como podrá notarse esta bacteria ha sufrido una serie de cambios en su nomenclatura através de los años. El nombre usado por el autor para esta bacteria es Pseudomona solanacearum pero también se le conoce con los siguientes nombres:

<u>Bacillus solanacearum</u>	E. F. Smith 1896	(38)
<u>Bacillus nicotianae</u>	Uyeda 1904	(38)
<u>Bacillus sesami</u>	Malcoff 1906	(38)
<u>Pseudomonas sesami</u>	Malcoff 1906	(38)
<u>Bacterium solanacearum</u>	Smith 1914	(38)
<u>Bacillus musae</u>	Rorer 1911	(38)
<u>Bacillus musareum</u>	Zeman 1921	(38)
<u>Erwinia nicotianae</u>	Uyeda-Bergey 1923	(38)
<u>Phytomonas solanacearum</u>	E. F. Smith-Bergey 1923	(38)
<u>Phytomonas ricini</u>	Archibold 1927	(38)
<u>Pseudomonas solanacearum</u>	E. F. Smith 1948	(11)

La única variedad que se conoce es la que apareció en Asia Pseudomonas solanacearum var. asiática (E. Smith). Esta tiene como característica diferente tornar de rojo la leche de litmus. Society of American Bacteriologists (33). En el año 1946 Nattras (26) descubrió una raza de Pseudomonas solanacearum que difiere de todas las demás porque no mancha los haces vasculares de la papa ni del tomate esta raza es sumamente virulenta en tomate y papa pero no en tabaco. En Australia Grieve (19) encontró una raza diferente de Pseudomonas

solanacearum que se cree es la responsable del brown rot de la papa en Victoria y otros lugares de la isla. De Japón Okabe (28) reportó que el organismo es muy variable en patogenicidad, morfología, caracteres fisiológicos y culturales. Agrega que existen por lo menos 16 tipos del patógeno. Esta bacteria es según Dowson (11) parecida al género Xantomonas en sus actividades fisiológicas porque no produce ácido en salicin pero si lo produce en lactosa y maltosa. En los caracteres morfológicos y culturales la bacteria se parece al género Pseudomonas en el cual está incluido en el "Manual of bacterial plant diseases".

Historia y Distribución Geográfica de Pseudomonas solanacearum

Según Eddins (13) Ps. solanacearum fué notada primero por Burrill y descrita por Smith en el año 1896. La distribución geográfica según Alencar J. de y Drummond (1) es la siguiente: Canadá, Quebec prevalente en el Oeste. En los E. E. U. U. especialmente en el Sur (Ramsey 1949), México, Trinidad, Guinea Británica, S. Vicente, S. Lucía, Puerto Rico, Australia, Italia, Alemania, Rusia, Inglaterra, Francia, Africa del Sur, Madagascar, Africa Oriental Italiana, Casablanca, Marruecos, Mauricio, India, Ceylán, Malaya, Sumatra, Java, Nueva Zelandia, Australia, Filipinas, Japón, Indostán, China, Indochina, Oasis de Derna, Libia, República Dominicana, Brazil.

Sintomatología

Eddins (14) ha hecho estudios completos en la sintomato-

logía de la enfermedad en berengena, chile y tomate. Las plantas aparecen marchitas durante la parte cálida del día, tales plantas se recobran en la noche y presentan un follaje de color verde oscuro, el período de marchités aumenta a medida que pasa el tiempo. Los síntomas dados anteriormente son para las partes jóvenes de las plantas. Después de varios días las plantas marchitas parece recobrase durante la noche pero esto marca la etapa final de la enfermedad. Las hojas se tornan café y se arrugan y las plantas quedan paradas en hileras. Las hojas marchitas y muertas son los únicos síntomas externos de la enfermedad. No hay practicamente ningún amarillamiento del follaje. Si los tallos se cortan o se abren longitudinalmente rayas oscuras se verán en la porción de la madera estos corresponden a los haces vasculares, esto es muy pronunciado cerca de la línea del suelo y se extiende hasta los peciolos de las hojas y hacia la punta de las ramas. La enfermedad se observa más comunmente atacando al tomate en Florida durante la época de floración. Las frutas de estas plantas no tienen ninguna característica de la enfermedad excepto que se marchitan y arrugan con la planta. En tabaco se le llama "Granville wilt" a esta enfermedad. Las plantas pueden marchitarse en cualquier época de su ciclo. Las hojas se tornan verde claro y más tarde amarillo. A veces hojas de un lado se marchitan primero. Los haces vasculares aparecen café grisáceo. Un exámen detenido del corte de la planta seguido de presión frecuente revela gotas de un líquido

blancuzco como pus que son agrupaciones de bacterias. Este es un diagnóstico característico de la enfermedad. El sistema radicular se torna café y la planta muere.

Plantas Hospederas

Según Smith (32) hay un gran número de plantas hospederas de Bacterium solanacearum (Ps. solanacearum). A continuación en el cuadro N°1 aparecerán las plantas susceptibles a infección natural y artificial de Bacterium solanacearum (Ps. solanacearum) según Smith (32).

Cuadro N°1. Plantas susceptibles a infección natural y artificial de Bacterium solanacearum (Ps. solanacearum).

Nombre Científico	Nombre Vulgar	Resultado de Inoculación por Smith (32)	por Otros Porcentaje de severidad
<u>Nicotiana tabacum</u> . L	Tabaco	(75-100%)	i y N
<u>Lycopersicon^{um} esculentum</u> . Mill	Tomate	N	Idem
<u>Nicotiana rustica</u> . L	Tabaco Azteca	N	Idem
<u>Solanum melongena</u> . L	Berengena	N	Idem
<u>Datura stramonium</u> . L		i	Idem
<u>Solanum nigrum</u> . L		i	Idem
<u>Croton glandulosos</u> . L		i	Idem
<u>Bidens bipennata</u> . L		i	Idem
<u>Xanthium pennsylvanicum</u> . W		-	Idem
<u>Tropaelum minus</u> . L		N	Idem
<u>Solanum tuberosum</u> . L	Papa	N	Idem
<u>Eclipta alba</u> . (L) Hassk		N	Idem
<u>Capsicum annum</u> . L	Chile	(51-70%)	N
<u>Physalis pruinosa</u> . L		-	Idem
<u>Helianthus annuus</u> . L	Girasol	i	Idem

Continuación Cuadro N°1

Nombre Científico	Nombre Vulgar	Resultado de Inoculaciones por Smith (32) por Otros L' Porcentaje de severidad	
<u>Phaseolus vulgaris</u> . L	Frijol	(21-50%)	N
<u>Ambrosia elatior</u> . L		N	Idem
<u>Aster pilosus</u> . Mill		-	Idem
<u>Dahlia rosae</u> . Cav	Dalia	N	Idem
<u>Recinus communis</u> . L	Higuerilla	N	Idem
<u>Tagetes erecta</u> . L		N	Idem
<u>Petunia hybrida</u> . Vilm	Petunia	N	Idem
<u>Arachis hypogaea</u> . L	Maní	(1-20%)	N
<u>Leptilon canadense</u> . L		i	Idem
<u>Ambrosia trifida</u> . L		-	Idem
<u>Solanum carolinense</u> . L		i	Idem
<u>Xanthium chinense</u> . Mill		-	Idem
<u>Verbena hybrida</u> . Hort		i	Idem
<u>Cosmos bipinatus</u> . Cav		N	Idem
<u>Vigna sinensi</u>	"Cow-pea"	Immune	I
<u>Stizolobium deeringianum</u>	Frijol de terciopelo	I	Idem
<u>Phaseolus lunatus</u>	Frijol de Luna	I	Idem
<u>Canna sp.</u>		-	Idem

L'. i= suceptible cuando se inocula artificialmente, N suceptible bajo condiciones naturales, I suceptible cuando se inocula artificialmente pero immune bajo condiciones naturales.

Etiología

La presencia de la enfermedad está muy relacionada a la temperatura. Meir y Link (24) dicen que el óptimo de temperatura para el desarrollo del patógeno se encuentra entre 77°F (25°C). La enfermedad fué inhibida a 56°F (13.3°C). Vaughan (37) encontró que se inoculan plantas sumergiendo el sistema radicular en una suspensión de bacterias, luego las plantas se guardaron a una temperatura de 60-70-80-90- y 100°F. Cuando la temperatura fué menos de 70°F. no se presentó la enfermedad. El aumento de la infección y el grado al cual la enfermedad se desarrolla van paralelos arriba de 70°F. La temperatura crítica parece ser arriba de 70°F. No hubo marchitamiento en las plantas que crecían a 60° y a 65°F. En ningún terreno de New Jersey que tuvo una temperatura de 70°F y a una profundidad de 5 pulgadas, apareció la enfermedad. Como no hubo manifestación de enfermedad la temperatura del suelo fué bajada y cuando la infección ocurría sin presentar síntomas aparentes a simple vista. Un lote de tomates fué plantado en arena y guardados a 75°F. a lo cual la enfermedad se desarrolló rapidamente y otro lote se guardó a 75°F. después de tres días los lotes fueron removidos de la arena, las raices y las bases de los tallos fueron lavados con una solución de 1: 3000 de ceresan por tres minutos para matar cualquier bacteria que estuviese fuera, luego se secaron un poco y se plantaron en tierra esteril y fueron guardadas a 70°F. Esto quiere decir que la infección puede

ocurrir a 55°F. Lo mismo que a 70°F y superior a esto. Parece que las plantas se ~~infeccionan~~^{tan} a baja temperatura pero que los síntomas de la enfermedad no se desarrollan si la temperatura del suelo permanece a menos de 70°F. Plantas que habían sido inoculadas y que estaban severamente marchitas cuando crecían en arena a temperatura aproximada de 80°F. se recobraron cuando la temperatura de la arena fué bajada a 55°F. por cinco días. Cuando se sembró nuevamente a 80°F las plantas se marchitaron nuevamente y cuando se bajó a 55°F se recobraron. Hildebrandt (20) dice que las plantas aún infestadas no dieron muestra de la enfermedad hasta que la temperatura no fué mayor de 21.1°C por tres días. Eddins, Ruehle y Townsend (16) dicen que en un periodo de 10 años el mes de Marzo de 1935 tuvo menos lluvia y la temperatura fué más alta que en cualquier otro mes de Marzo de ese lapso de tiempo, y las pérdidas fueron más severas para los agricultores en ese mes que en cualquier otro tiempo. Estos concluyeron que la elevada temperatura de 1935 ayudó al organismo a infectar más plantas, mientras que temperaturas más bajas en el mismo lapso de tiempo fueron menos favorable a la infección.

Eddins, Ruehle y Townsend (16) dicen que las partes húmedas y bajas del terreno parece ser los lugares donde el organismo se desarrolla mejor. Vaughan (37) dice que la bacteria causa muchos daños en suelo húmedo. Donde el suelo fué más seco la infección pudo no ocurrir. Nakata, según Eddins, Ruehle y Townsend (16) dice que hay un punto en el

contenido de agua en el suelo que mata el organismo.

Según Clayton (5) los loams arenosos son los más seriamente afectados, el pH en que el organismo se desarrolla varía entre 5 y 7 y raras veces causa trastornos a pH 4.5 y muere a pH 4.0 o menos. Nakata reportó de Japón, según Eddins, Ruehle y Townsend (16), que el organismo crece en Japón en suelos de pH comprendidos entre 6.0 y 8.1 y que su crecimiento fué inhibido por ciertos hongos y bacterias. Agregan estos autores que la enfermedad se vuelve menos severa entre más se cultiva el terreno porque el pH disminuye. Chupp (9) dice que suelos con mucha materia orgánica y terrenos arenosos facilitan la propagación. Vaughan (37) afirma que Eddins encontró que el organismo aparecía en suelos de Florida con pH de 4.32. Según Eddins (14) a este organismo no se le encuentra frecuentemente en suelos de alto contenido de materia orgánica como los llamados "muck" y "peat".

Control

Eddins, Ruehle y Townsend (16) reportan como medida de exclusión sembrar papa en terrenos libres de la infección, plantas provenientes de terrenos infestados no deben usarse. González (18) dice no debe usarse el agua que ha servido para regar papales con Maya, para regar pasto de corte, porque esta agua sirve como inóculo, tampoco debe usarse arreflis (papa pequeña) con Maya para darle de comer al ganado porque este por medio de sus excrementos propaga la enfermedad.

Vaughan (37) afirma que el organismo no se esparce rápidamente?

no es correcta
 en el suelo, su propagación depende el movimiento del suelo infestado únicamente, de plantas infestadas o de agua de drenaje. Según Casseres (4) debe examinarse la semilla de papa antes de la siembra cortando varias muestras. Si aparece el anillo oscuro con pudrición o con líquido pegajoso amarillo como pus, es preferible eliminar el lote como semilla. Durante los dos o tres primeros meses después de cada siembra se debe arrancar del papal toda mata con marchitamiento parcial o total enterrándola o quemándola con todas sus papas. Al cosechar o sin falta al escoger en la troja, elimínese las papas podridas y las que muestren el anillo oscuro o inicio de pudrición al cortarlas, usense desinfectantes. El Ministerio de Agricultura de Costa Rica (7) recomienda que deben desinfectarse sacos, canastos y trojas en donde se guarda la papa con una solución de sulfato de cobre a razón de 1 libra de sulfato de cobre por 10 galones de agua de manera que cubra toda la troja, para esto puede usarse una bomba de mano, siempre que esta sea de cobre. Para herramientas y otros objetos de metal usese el doble de sulfato de cobre.

Smith (30) hace notar que algunos autores han considerado las malas hierbas susceptibles a la enfermedad como una causa que impide la erradicación del organismo, pero se han llevado a cabo experimentos plantando tabaco, después de maíz infestado con hierbas susceptibles y se comparó con otra parcela infestada con hierbas susceptibles y el resultado fué el mismo. El mismo autor llevó a cabo tratamientos durante tres estaciones en los años 1939-1940-1941 con cloropicrina la cual

fué inyectada a 7 pulgadas de profundidad. El suelo se cubrió con papel ahulado y se plantó tabaco enfermo. Se obtuvo buen control pero no se logró erradicar el patógeno. Ninguno de los tratamientos con sustancias complejas orgánicas en el invernadero dió buen resultado. Eddins (12) continuando sus experimentos en Hastings, Florida, para el control de "Bacterial wilt" Bacterium solanacearum (Ps. solanacearum), confirmó que los resultados benéficos obtenidos anteriormente con la aplicación de azufre en el verano (Junio) en la proporción de 800 libras por acre seguida de otra aplicación de caliza en Noviembre de 3000 libras. El azufre inoculado produjo aproximadamente el mismo cambio en la reacción de los suelos loam areno fino y loam. Las mayores cosechas de papas sanas fueron obtenidas en suelos cuyo pH fué bajado a 3.8 y 3.9 por la aplicación de azufre y tratado más tarde con 3000 libras de caliza por acre.

Según Wardlaw (39) un método eficaz para disminuir la infestación del terreno es quitar las plantas infectadas lo más rápidamente posible y aplicar más tarde aceite pesado. Eddins (16) dice que Hotches logró controlar la bacteria esterilizando el suelo a 85°C por 15 minutos, la bacteria fué destruida a una profundidad de 30 a 40 cms. Smith (31) reporta que el tratamiento del suelo con D.D. fué bueno pero las plantas mostraron señas de poseer una clorosis excesiva. Walker (38) dice que Smith encontró que fertilizantes nitrogenados particularmente la urea puede usarse como controladores

parciales en tabaco, pero se necesitan 1000 libras por acre. Smith (30) dice que la ausencia de hierbas suseptibles durante el periodo de rotación aumenta el grado de control y sugiere el cultivo de soya para el control de la enfermedad. A pesar de que esta es suseptible por inoculación. Hubo disparidad en el control obtenido con sorgo, crab grass, lespezea y crotalaria, pueden haber influido algunos factores externos en esto. La rotación debe ser recomendada mientras no aparezca otro método de control. Una rotación de tres años cuando el ataque es fuerte pero si el ataque no es muy fuerte puede hacerse una rotación de uno a dos años. La más efectiva fué maíz, soya y "red top". El maíz dió un buen resultado por lo que debe plantarse inmediatamente después del tabaco. El mismo autor agrega que ha obtenido excelentes resultados tratando el suelo con urea y luego plantando maíz para quitar el exceso de nitrógeno. El tipo de suelo afecta el resultado obtenido. Los experimentos se llevaron a cabo en suelo arenoso bajos en materia orgánica, hay evidencia que este tratamiento es de poco valor para suelos pesados y altos en materia orgánica. Este tratamiento pareció más prometedor para papa, berengena y tomate.

Según Eddins, Ruehle y Townsend (16) plantar maíz en el mismo terreno varias semanas antes de arrancar la papa aumenta la infección. Wardlaw (39) dice que la Mimosa pudica no es atacada por la bacteria y un campo infestado con Bacterium solanacearum (Ps. solanacearum) cubierto por varios años por

esta hierba y también con Mimosa invisía, disminuye la virulencia de la bacteria pudiéndose luego sembrar tabaco en forma comercial. La bacteria, agrega el autor, puede vivir como parásita y como saprófita en varios suelos y tiende a morir cuando está fuera del suelo, lo que puede hacerse por cultivo profundo en la época seca y cálida, como no produce esporas ni cápsulas.

Eddins (16) reporta que Nakata encontró un punto en el contenido de agua del suelo que mata el organismo. Agrega Eddins que Kuyper y Hotchins encontraron que la infección de Bacterium solanacearum (Ps. solanacearum) se reducía de un 50% a un 5% sembrando Mimosa invisía por seis años. Smith (30) encontró que la eliminación de hierbas susceptibles no ayuda a la erradicación de la bacteria.

Van der Poel (36) en experimentos posteriores para determinar la influencia de fertilizantes en el "Slime Disease" Bacterium solanacearum (Ps. solanacearum), en tomate, sembró plantas en recipientes de metal y les adicionó varios abonos. Superfosfato de bajo grado fué el que dió los mejores resultados. Este redujo la infección en la serie de pruebas para fosfatos, de 38.0% a más o menos 4.5% de 75.0% a más o menos 6.0% de 2.0% a más o menos 0.8% y de 13.0% a más o menos 2.8%. Superfosfato de alto grado y escorias básicas fueron menos efectivos mientras que fosfato de calcio y roca fosfatada molida

no produjeron ningún beneficio apreciable. La incidencia de la infección fué reducida grandemente por la mezcla de superfosfato de bajo grado y sulfato de amonio. Gibson (creyó) ~~mostró~~ que el componente activo del superfosfato de bajo grado era el que ejercía el control). Superfosfato de alto grado y sulfato de amonio, acetato de calcio y sulfato de amonio, superfosfato de alto grado y sulfato de potasio. Sulfato de potasio solo o con magnesio es efectivo contra el "slime disease" (Maya) solamente cuando se aplica en dosis altas. Los nitratos son más efectivos en el control que los compuestos de amonio. Macaranga denticulata, aplicada molida bajó el porcentaje de la enfermedad en un 12.0% la cual fué aumentada a un 45% por la adición de nitrógeno.

En el año 1943-1944 Nielsen y Todd (27) encontraron que la aplicación al suelo antes de arar cal urea (Uramón) y tiosianato de amonio (1000 libras por acre) dieron resultados prometedores en el control de bacterial wilt (Ps. solanacearum)

Leach (21) afirma que Smith encontró que ciertos coleópteros como Leptinotarsa decimolineata transmiten la enfermedad. El mismo Leach agrega que no ha probado pero que es posible que la pulquilla Chrysomelidos y otros insectos son propagadores de la enfermedad y por lo tanto deben destruirse, también dice que Smith ha sugerido una relación entre este organismo y el nemátodo pero ningún estudio en relación se ha hecho. Agrega además que la única evidencia que se tiene es que la enfermedad entra por laceraciones y no se ha desmos-

trado que puede existir sin ellas. Walker (38) dice más recientemente que no se sabe si el organismo entra por las hendiduras o reventaduras que producen al salir las raíces.

Eddins (14) hace saber que en el pasado se eliminaba la enfermedad sembrando plantas no susceptibles en el terreno infestado, y ninguna Solanacea que creciera en este terreno fué usada para el trasplante.

Eddins, Ruehle y Townsend (16) dicen que la enfermedad se propaga cuando se usa almácigo de plantas que crece en terrenos infestados. Sembrar maíz varias semanas antes de arrancar las papas en el mismo terreno aumenta la infección, Vaughan (35) Walker (38) dice que las variedades de papa más resistentes en Florida fueron Green Mountain, Katahdin. Eddins (13) encontró que Green Mountain es la que tiene el más alto nivel de resistencia al Brown rot, otras variedades probadas en este tiempo en orden de resistencia fueron: Katahdin, Bliss triumph, Seedling 41914, Irish Cobbler, Spaulding Rose, Chippeaw. Van der Goot (35) reportó que la enfermedad aparecía menos virulenta en las variedades Paul Kruger (President) Inel y Bandoeng que en la variedad Eigenheimers.

MATERIALES Y METODOS

Un número de ejemplares de plantas y tubérculos de papa con Maya fueron traídas de la zona Norte de la provincia de Cartago al laboratorio de Fitopatología del Instituto Inter-Americano de Ciencias Agrícolas de Turrialba para llevar a cabo trabajos de identificación del organismo causante de la Maya.

Las plantas y tubérculos una vez en el laboratorio se lavaron bien con agua y jabón para despojarlas de la tierra que ellas traían. Cámaras húmedas fueron preparadas, poniendo en su interior las plantas, tallos y tubérculos que fueron cortados en pedazos. Al cabo de 24 horas fueron observadas para verificar la presencia de exudado típico de esta enfermedad. El mismo procedimiento se usó para plantas de berengena, tabaco y tomate. 24 horas después de haber permanecido las partes de las plantas en las cámaras húmedas se lavaron con una solución de bicloruro de mercurio 1:1000, fueron llevadas a la cámara de inoculación. En la cámara de inoculación se corta con un bisturí bien afilado y debidamente esterilizado por medio de alcohol y la llama. Se sacaron astillas de las partes afectadas y fueron colocadas en agar papa dextrosa cuya fórmula es la siguiente:

Agua destilada.....	1000 c.c.
Papas peladas y tajadeadas.....	200 gr.
Agar.....	17 gr.
Dextrosa.....	20 gr.

Después de preparado conforme a los métodos corrientes se ajustó el pH a 6.0. Se prefirió usar tubos de ensayo para todos estos trabajos puesto que ellos ofrecen una menor contaminación que los platos de petri. Con las colonias de bacterias que aparecieron se hicieron cultivos puros. Los aislamientos de Bacterium carotovorum fueron hechos de las raíces de zanahorias traídas de Cartago.

Obtención de Cultivos Puros

Método de rayado ("Stricking method")

Los platos de petri para este método deben ser preparados con un día de anticipación, el agua que se deposita en la parte interior de la tapa debe ser removida. En algunos casos puede usarse papel secante dentro del plato adherido al interior de la tapa y cuando el plato va a ser usado y dentro de la cámara de inoculación se remueve el papel secante. Lo que sucede es que si hay agua que corre por la superficie del agar los organismos son repartidos por toda la superficie del agar y lo que se forma es una sola colonia. De un tubo de ensayo conteniendo agua destilada esterilizada se toma una gota con un "loop" (aguja de platino doblada en la punta a manera de ojal), y se deja caer sobre la colonia de bacterias para efectuar una dilución. La tapa del plato de petri puede ser removida y colocada en un lugar donde pueda permanecer sin peligro de contaminación. Es preferible remover parcialmente la tapa del plato de petri, para prevenir

una mayor contaminación. Pero esto puede hacerse siempre que permita al operador trabajar sin dificultad. Con el loop se toca el cultivo en el lugar que se le puso la gota de agua destilada, y el contenido se deposita en una esquina del interior del plato de petri frotándolo allí sobre la superficie del agar. Sin pasar por la llama el loop se hacen rayas paralelas sobre el agar tratando de cubrir más o menos la mitad de la superficie. Luego se pasa el loop sobre la llama y una vez frío se trazan rayas en la misma forma que se hicieron las anteriores pero perpendiculares a estas. No debe tocarse en ningún caso con el loop el área que se usó para limpiarlo cuando se hizo la inoculación. De esta manera permanece un cuarto de la superficie del agar sin tocar todavía. Se pasa el loop nuevamente sobre la llama y se trazan tres a cuatro rayas perpendiculares a las últimas. A los días aparecen las colonias de bacterias, aisladas, en estas últimas rayas y estas pueden ser usadas como cultivos puros. Este fué el método con que mejores resultados se obtuvieron.

Método de dilución:

En un tubo de ensayo conteniendo 5 c.c. de agua destilada y esterilizada se pone una pequeña porción de la colonia que se quiere obtener cultivos puros. En este caso Ps. solanacearum y Bacterium carotovorum. Se agita el tubo suficiente hasta que una turbidez leve aparezca, y con una pipeta esterilizada se toma 1 c.c. de la suspensión de bacterias

y se coloca en el plato de petri con agar líquido cerca del punto de solidificación, se le da un movimiento de rotación al plato. Luego con un loop debidamente esterilizado se sacan dos o más gotas y se colocan en el segundo plato de petri, conteniendo como el anterior, agar líquido cerca del punto de solidificación, se le da el movimiento de rotación y así se continúa hasta el octavo o décimo plato, éstos se guardaron a la temperatura del ambiente y se cubren con tela de gasa para protegerlos.

Tinción de Gram:

Ps. solanacearum y Bacterium carotovorum fueron teñidas por este método. Cultivos de cinco y tres días de edad respectivamente creciendo sobre agar papa dextrosa de pH 6.0 y a una temperatura de 23 a 24°C. El método de Buchanens(?) fue el usado, está compuesto de las siguientes soluciones:

Solución N°1

Violeta genciana.....6 c.c.

Agua de anilina.....50 c.c.

Para preparar el agua de anilina, se agitan 5 c.c. de aceite de anilina en 125 de agua destilada y se filtra através de papel de filtro que ha sido previamente mojado con agua destilada.

Solución N°2

Yodo.....1 gr.

Yoduro de Potasio.....2 gr.

Agua destilada.....300 c.c.

Se tiñó por uno a dos minutos con la primera solución y luego por uno a dos minutos con la solución N°2. Se decoloró con alcohol de 95% hasta que la mayor parte del color desapareció. Tíña de nuevo con Safranina o Fucsina.

Solución de Safranina usada:

Safranina.....0.5 gr.

Agua destilada.....100 c.c.

Tinción con Carbol fucsina de ziehl Nielsen (22)

Fueron usados cultivos de cinco días de Ps. solanacearum que crecían sobre agar papa dextrosa de pH más o menos 6 y a una temperatura de 23 24°C. Los portaobjetos que van a ser usados deben estar completamente limpios y desprovistos de grasa, para lo cual deben ser hervidos en una solución de bicromato de potasio y ácido sulfúrico durante 15 minutos, se lavan con agua y se depositan en un frasco de boca ancha conteniendo alcohol al 95%. Luego se sacan de estos frascos y se pasan atravez de la llama de la lámpara de alcohol.

La preparación de los portaobjetos para la tinción es la siguiente:

Tomando un poco de la colonia de Ps. solanacearum que crece en el tubo de ensayo, con una aguja de platino debidamente esterilizada a la llama, se coloca en el extremo del portaobjeto y con un gotero conteniendo agua esterilizada se deja caer una gota sobre la porción de colonia. Luego se mueve el portaobjetos para que el líquido se

extiende por toda la superficie, se guarda por un rato hasta que el agua se seque y se fija a la llama de la lámpara de alcohol. El portaobjetos preparado como se dijo anteriormente se trató con Carbol fucsina por espacio de 4 a 5 minutos. Se decoloró con alcohol ácido y se volvió a teñir con azul de metileno por 10 a 15 segundos. Cuando se tiñe con carbol fucsina debe sostenerse el portaobjetos sobre la lámpara de alcohol hasta que el líquido hierva.

Tinción con Safranina:

Se usó este colorante para teñir Ps. solanacearum y Bacterium carotovorum los portaobjetos se prepararon del mismo modo que para el método anterior. El colorante se prepara con los siguientes ingredientes:

Safranina.....1.5 gr.

Agua destilada.....100 c.c.

Tinción con Azul de Metileno:

Ps. solanacearum y Bacterium carotovorum fueron teñidas con este colorante. Los portaobjetos se prepararon del mismo modo que se hizo para el método de Ziehl Nielsen. Con una pipeta se regó por la superficie de los portaobjetos la siguiente solución:

Azul de Metileno (solución saturada).....5 c.c.

Agua destilada.....95 c.c.

Tinción de flagelos:

Muchos métodos fueron probados con el propósito de teñir los flagelos de Ps. solanacearum y Bacterium carotovorum

pero solamente uno dió resultado. Este método fué obtenido en el laboratorio del Instituto Inter-Americano de Ciencias Agrícolas por el autor. Para poder conseguir buenos resultados debe seguirse al pie de la letra. Colonias de Ps. solanacearum y Bacterium carotovorum de dos días y un día de edad respectivamente fueron usados. En dos tubos de ensayo conteniendo 2 c.c. de formalina al 1% c/u se depositó una pequeña parte de las colonias de cada uno de estas bacterias en un tubo de ensayo, y un día después se precedió a la tinción de los flagelos. Los portaobjetos en este método también fueron preparados del mismo modo que en el método de Ziehl Nielsen. Estos fueron tratados primero con la solución N°1 100 c.c. de 1/4 solución saturada acuosa de ácido pícrico. 5 gr. de ácido tánico y 7.5 gr. de sulfato ferroso. El portaobjetos se trata con este fijador, durante 1 minuto más o menos manteniéndolo sobre el vapor, y a continuación se lava y seca. Luego se trata por una solución de plata: a 25 c.c. de una solución acuosa de nitrato de plata, agregándosele amoniaco diluido hasta que el precipitado que se forme sea disuelto. Se agrega más solución de nitrato de plata hasta que una turbidez leve aparezca. Se coloca el portaobjetos al calor y se cubre con una lámina de esta solución. A los dos minutos se lava con agua y se seca. Con este método obtuvimos magníficos resultados en la tinción de flagelos de ambas bacterias.

Caracteres FisiológicosProducción de ácido en carbohidratos:

Medio basal sintético (11) este medio tiene la siguiente fórmula:

NH ₄ H ₂ PO ₄	1 gr.
KCL	0.2 gr.
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.2 gr.
Agua destilada	1000 c.c.

A este medio se le adicionaron los siguientes carbohidratos en una proporción de 2% maltosa, lactosa, dextrosa, sacarosa y glicerol, para cada uno de éstos se prepararon cinco erlhenmeyers conteniendo 20 c.c. cada uno. El pH se ajustó por medio de NaOH 0.2017 normal. Para cada uno de los carbohidratos tres recipientes fueron inoculados y dos permanecieron como testigos.

En el caso de Ps. solanacearum el indicador usado fué tres gotas de púrpura de bromocresol en cada uno de los recipientes.

Para Bacterium carotovorum la producción de ácido fué comprobada por medio del potenciómetro de Backman.

Gelatina (10)

La gelatina usada fué bactogelatina Difco al 10% se esterilizó por tres días consecutivos durante una hora a 10 libras de presión en el autoclave. Se prepararon 10 platos de petri con este medio, seis fueron inoculados, tres con

Ps. solanacearum y tres con Bacterium carotovorum los restantes permanecieron como testigos. En algunos platos la gelatina no se solidificó pero después de cinco días se introdujeron estos a la nevera para determinar cuales permanecían sólidos y cuales líquidos.

Leche:

Con este medio de cultivo se usaron tubos de ensayo para ambas bacterias. En cada tubo se colocaron 10 c.c. de leche corriente de vaca sin descremar, esta se esterilizó como de costumbre a 15 libras de presión por 20 minutos. Para cada bacteria tres tubos fueron inoculados y dos permanecieron como testigos.

Producción de Acido Sulhídrico (H₂S)

En la dterminación de la producción de H₂S se usó bacto peptona Difco. También se prepararon 100 c.c. y se dividieron en cinco grupos, tres fueron inoculados y dos permanecieron como control. Este medio también se esterilizó a 15 libras de presión por 20 minutos y se usó tanto para Ps. solanacearum como para Bacterium carotovorum. La prueba se leyó a los seis días para Ps. solanacearum y un día para Bacterium carotovorum. La lectura de la prueba fué así: tiras de papel secante delgado de más o menos dos centímetros de ancho fueron sumergidas en una solución de carbonato de plomo. Luego se introdujeron en los frascos y se prensaron con el tapón de algodón, procurando que las tiras no toquen las paredes del frasco. Una coloración negra de la tira de papel indicó la

presencia de H₂S.

Producción de Amonio (NH₃)

El mismo medio que se usó para determinar la producción de H₂S de ambas bacterias fué usado para determinar la producción de NH₃. El indicador de Nessler se usó para registrar la presencia de NH₃.

La presencia del indicador de Nessler aparece dado por Levine (22). La presencia de NH₃ es indicada por una coloración anaranjada. Esta coloración se presentó en los medios que fueron inoculados con Ps. solanacearum y Bacterium carotovorum. Para esta prueba también se usaron cinco recipientes para cada bacteria, tres fueron inoculados y dos permanecieron como testigos.

Hidrolisis del Almidón:

Para esta prueba se prepararon 100 c.c. de agua de almidón Difco al 10% y se dividieron en cinco recipientes tres fueron inoculados y dos permanecieron como testigos para determinar si Ps. solanacearum producía hidrólisis del almidón, el medio se trató con solución de Fehling's. La solución de Fehling's se prepara de la siguiente manera: Esta solución consta de dos partes las cuales se mezclan inmediatamente antes de usarse, para prevenir una reducción espontánea del cobre.

Solución A

CuSO₄ 5H₂O cristales finos34.64 gr. en agua para hacer 500 c.c.

Solución B

Tartrato de sodio y potasio (solución de Rochelle) 173 gr. NaOH (cristales) 50 gr. en agua para hacer 500 c.c. Se le agrega una pequeña cantidad de la mezcla de ambas soluciones al cultivo y se hierve por varios minutos agitándolo sobre la lámpara de alcohol. La presencia de una coloración café del medio nos indica que hay hidrólisis de almidón. En el caso de Ps. solanacearum si apareció coloración café.

Método de Lugol

Se preparó agar Difco al 1.5% y se le incorporó 2% de almidón soluble. El almidón fué disuelto en agua y luego se mezcló con el agar. Diez tubos de ensayo conteniendo más o menos 10 c.c. de esta preparación se esterilizaron en el autoclave como de costumbre. Los tubos inoculados fueron tratados a los dos días con varias gotas de lugol. El lugar donde aparecía la colonia de Bacterium carotovorum permaneció completamente claro lo mismo que un anillo en su derredor el resto del medio se tornó azul.

Tajadas de Papa

De una papa de tamaño mediano se sacaron tajadas de más o menos 0.5 de grosor y se colocaron en platos de petri que tenían en el fondo un papel absorbente humedecido con agua luego se introdujeron los platos de petri al autoclave donde fueron esterilizados, y más tarde fueron inoculados con ambas bacterias.

Estudios sintomatológicos, postulados de Kock etc. se llevaron a cabo en el invernadero. En macetas de barro cocido con una capacidad de 2kgr. de tierra se colocaron los tubérculos de papa sanos de dos variedades locales. En la misma forma se sembraron semillas de tabaco, berengena y tomate. Las macetas y la tierra fueron tratadas con formalina. Cuando las plantas tuvieron 1 mes de edad fueron inoculadas de dos maneras: con una aguja hipodérmica y por medio de una aguja de acero.

Factores Importantes en el Establecimiento de la Maya

Datos exploratorios fueron hechos para determinar la importancia de alturas sobre el nivel del mar, pH del suelo, porcentaje de infección del suelo, procedencia de la semilla, presencia de Maya en siembras anteriores, humedad del suelo, edad de las plantas y variedad.

La alturas sobre el nivel del mar se tomó por medio de un altímetro de bolsillo, el porcentaje de infección fué tomado cruzando el campo en dos direcciones contando las plantas enfermas y sanas y luego sacando el promedio de las plantas enfermas. El pH se tomó por medio del potenciómetro. La humedad del suelo se obtuvo por diferencia pesando una cierta cantidad de suelo y luego secándolo en un horno a 100°C por 24 horas. Se determinó la procedencia de la semilla de papa porque los dueños de las plantaciones no pudieron dar razón si la semilla estaba con Maya o no. La semilla procedente de una altura mayor a la del Sanatorio Durán se consi-

deraba como sana y el resto como portadora de la enfermedad.

Hierbas Hospederas de Ps. solanacearum

Con el propósito de coleccionar plantas hospederas de Ps. solanacearum se visitaron varios campos de la zona Norte de Cartago. Los campos fueron recorridos en toda su extensión tratando de localizar hierbas que mostraran los síntomas externos de la Maya. No fué posible encontrar ninguna planta con tales síntomas. Después de examinar cuidadosamente 20 o más ejemplares de las plantas más comunes, un ejemplar de cada especie fue coleccionado y llevado al laboratorio del Instituto para su determinación botánica.

RESULTADOS

La Bacteria que Causa la Maya

Morfología

La bacteria que causa la Maya en Costa Rica es de forma de bastón con extremos redondeados Fig. N°1 de 0.6w. de ancho por 1.5w. de largo. Esta bacteria tiene mucha movilidad, y aparece más pequeña en el exudado de una planta con Maya, que cuando crece en agar papa dextrosa. No presenta esporangios ni endosporas. Si se observa después de mucho tiempo de permanecer en cultivo, cuando las colonias toman un color café chocolate, las bacterias aparecen de formas y tamaños muy variados. Esta bacteria Ps. solanacearum presenta uno o dos flagelos polares como se ve en la Fig. N°2. Teñida por el método Ziehl Nielsen, la bacteria aparece con las puntas más oscuras, permaneciendo una franja más clara en el centro, este detalle, sin embargo, es difícil de notar.

Tinción de Gram

Ps. solanacearum es gram negativa, cuando se tiñe por el método de gram descrito en el capítulo de materiales y métodos.

Características Culturales

Forma de la Colonia

Las colonias de Ps. solanacearum se desarrollan lentamente en agar papa dextrosa de pH más o menos 6 y a una temperatura de 23 a 24°C. A los tres días las colonias alcanzan

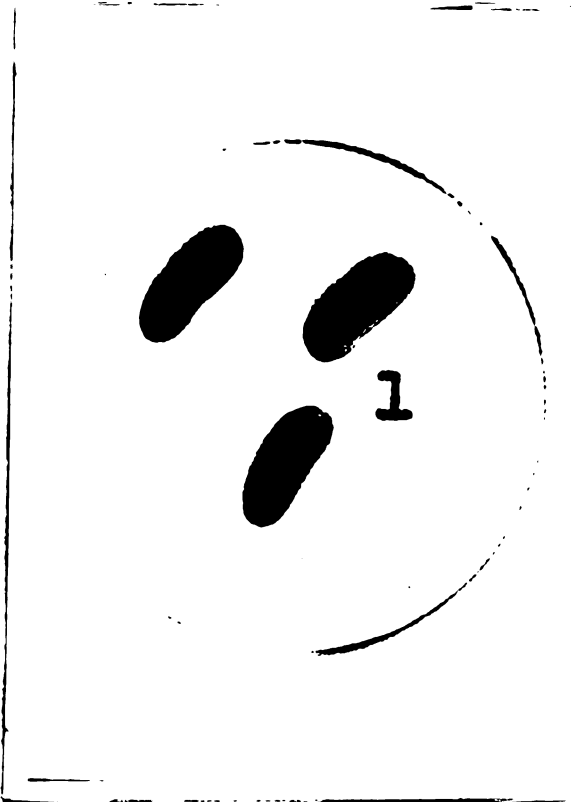


Fig. Nº 1

Dibujo de Pseudomonas solanacearum.
Observense los extremos redondeados
y la forma arriñonada de la bacte-
ria.

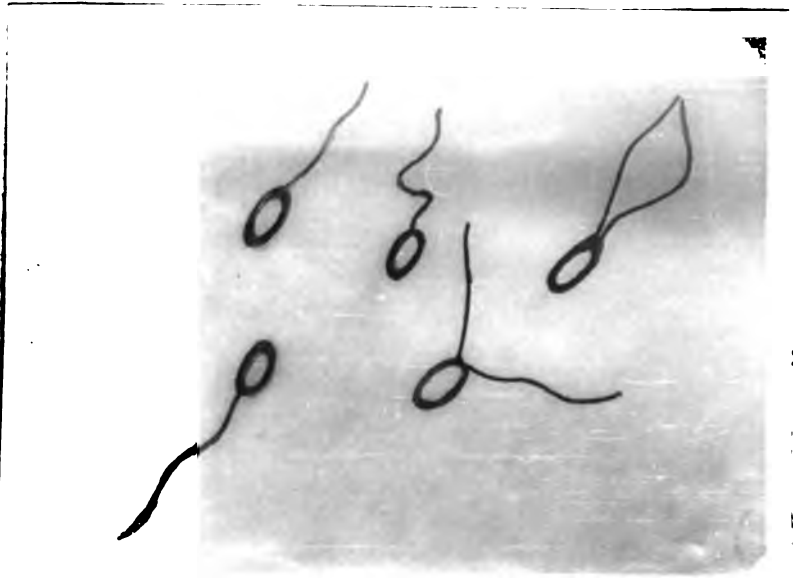


Fig. Nº 2

Pseudomonas solanacearum mostrando los
flagelos, aparecen bacterias mono y
lefotrichos. (Dibujo con cámara lúcida).

5 mm. de diámetro más o menos. Estos son de color blanco mojado, opalescentes pulvinadas, circulares, de superficie suave, margen entero, estructura interna amorfa con una puntuación más oscura en el centro (Fig. N°3). Al través de la luz tienen un color azulado. A la edad de 1 mes aparecen de un color café como chocolate. En agar dextrosa aparece al tiempo una coloración café que se extiende por toda la colonia, de Ps. solanacearum.

Características Fisiológicas

Con el objeto de estudiar las características fisiológicas de Ps. solanacearum fueron inoculados medios de cultivo, conteniendo varios carbohidratos como fué explicado en el capítulo de materiales y métodos. Los carbohidratos usados fueron: lactosa, maltosa, sacarosa, dextrosa y glicerol. Con la ayuda de un indicador púrpura de bromocresol se registró la producción de ácido en cada uno de los carbohidratos citados. En todos ellos hubo producción de ácido. La producción de ácido en sacarosa fué lento.

Gelatina

Usando la gelatina como medio para el crecimiento de Ps. solanacearum se quería determinar si esta bacteria podía tornarla líquida o no. Se notó que esta bacteria crece bien en este medio y que tres días después de inoculados los platos de petri conteniendo la gelatina, esta se había hecho líquida en los lugares que estaban situadas las colonias.

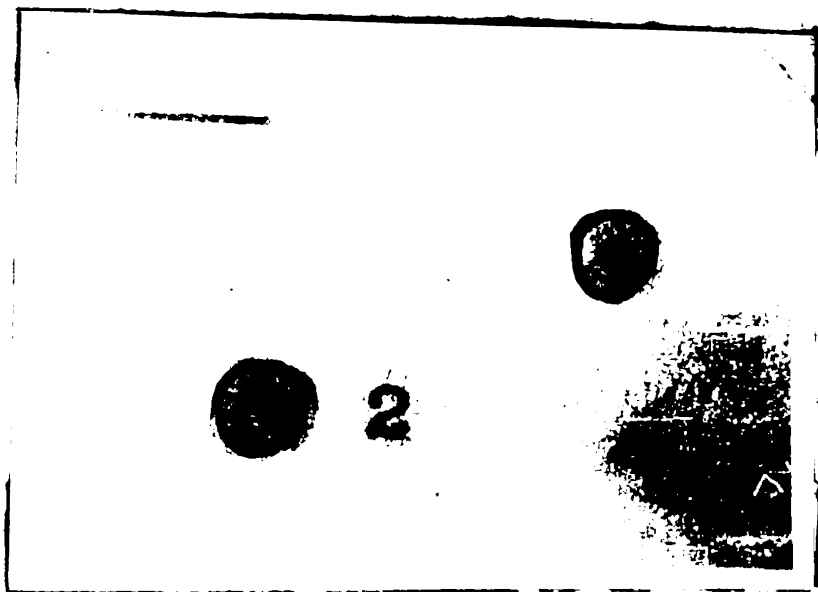


Fig. N° 3.
Colonias de Pseudomonas solanacearum
la coloración más oscura en el centro
es típica de la colonia de Ps. sola-
nacearum. (Dibujo con cámara lúcida).

Leche

Tubos de ensayo conteniendo leche, preparados conforme se especificó en el capítulo de materiales y métodos fueron inocuados y guardados por 8 días a una temperatura de 35°C. Al cabo de ese tiempo los tubos de ensayo tenían en el fondo un precipitado blanco y en la superficie la grasa permanecía supernatante y de un color amarillo, el líquido intermedio claro y transparente, tanto que se podía ver la sombra de cualquier objeto que se pusiera al otro lado del tubo.

Producción de Acido Sulfhídrico (H₂S)

La producción de H₂S fué determinada inoculando con la bacteria un medio de bacto peptona Difco preparado conforme a las especificaciones que aparecen en el capítulo de materiales y métodos. A los ocho días el medio apareció turbio y hubo una fuerte producción de gas. Al colocar la tira de papel impregnada con carbonato de plomo dentro del frasco, esta se ennegreció, en los frascos inoculados y en los testigos apareció tal y como se introdujo. Por lo tanto la bacteria produce H₂S o ácido sulfhídrico.

Crecimiento de Ps. solanacearum en Ager Papa Dextrosa con Diferentes pH

Se quería determinar con esto cual pH era mejor para el crecimiento de Ps. solanacearum y a que pH su crecimiento era inhibido. Se ajustaron los pH del medio agar papa dextrosa a 8, 7, 5.2, 4.6, 4, 3.8, 5. A los ocho días de inocu-

lados los recipientes se obtuvieron los siguientes resultados: A un pH de 8 se formó una colonia que se esparció por todo el medio. El crecimiento en pH 7 fué similar al anterior lo mismo que a pH 6.3. En un pH de 5.2 la colonia que se formó es menos que las anteriores lo mismo se puede decir a pH 5. La colonia que se formó a pH 4.6 fué ^emenor que las dos anteriores. A pH 4 y 3.8 la bacteria no se desarrolla del todo notándose solamente un punto en el lugar de la inoculación.

Ps. solanacearum crece bien a pH 6.3, 7, 8,; a pH 4 y 3.8 no se desarrolla del todo.

Producción de Amonio (NH₃)

El mismo medio usado para la determinación de la producción de H₂S se usó para determinar la producción de amonio. Se usó el indicador de Nesser para registrar la producción de amonio. Se notó que este organismo producía amonio.

Hidrolisis del Almidón

Agua de almidón fué preparada e inoculada de la manera que se indicó en el capítulo de materiales y métodos. A los ocho días de inoculado este medio se trató con la solución de Fehling's y después de proceder como se indicó en el capítulo de materiales y métodos se notó que este organismo producía hidrolisis del almidón.

Crecimiento en Tajadas de Papa Esterilizadas

Las colonias de Ps. solanacearum que aparecieron, sobre las tajadas de papa eran de color blanco amarillento, y a

medida que transcurría el tiempo la colonia se iba poniendo más café, hasta los ocho días que se dejó de observar. Esta bacteria se desarrolla muy bien en este medio, con mayor rapidéz que en ninguno de los otros usados hasta ahora en este trabajo. ^{o/ros}

Crecimiento en Medio Nutriente Líquido (Nutrient Broth)

Este medio fué preparado conforme se indicó en el capítulo de materiales y métodos. Después de 24 horas de haber inoculado los recipientes con este medio una turbidéz leve se notó en los recipientes inoculados. A las 48 horas esta turbidéz se hizo mayor. A los ocho días el medio apareció completamente turbio y en todos los recipientes inoculados había un sedimento en el fondo. Este sedimento se desvaneció cuando el recipiente fué agitado. La cantidad de sedimento que apareció fué moderado, en comparación con el que había cuando se inoculó el mismo medio con Bacterium carotovorum. Al destapar los recipientes inocuados con Ps. solanacearum se notó un fuerte olor a fermento, este olor no apareció en el testigo.

Precencia de Coloración Café en las Colonias de Ps. solanacearum.

Las colonias de esta bacteria que se desarrolla sobre agar papa dextrosa pH más o menos 6 y a una temperatura de 23 a 24°C. En un principio son de una coloración blanca y de un aspecto mojado. Poco después aparece una puntuación más oscura en el centro de la colonia y se va desarrollando

y extendiéndose hasta los bordes y a la edad de un mes la colonia tiene un color café chocolate intenso y brillante. Si se trata de inocular un medio fresco con esta colonia el organismo no se desarrolla. Parece que cuando la colonia toma el color chocolate la bacteria ha muerto, porque en ningún caso que se trataron de inocular partes de estas colonias el organismo no se desarrolló

Temperatura Optima para el Crecimiento de esta Bacteria

La temperatura óptima para el crecimiento no fué determinada, pero puede decirse que este organismo crece bastante bien a una temperatura que fluctua entre 23 y 35° C. Se pudo notar que el color café chocolate de la colonia aparece más rápidamente en las guardadas a 35° C. que en los que se guarda de 23 a 24°C.

A continuación se dará un cuadro de los trabajos realizados por otros investigadores y el autor.

Cuadro N°2. Comparación de los caracteres morfológicos y fisiológicos de Pseudomonas solanacearum, estudiados en Costa Rica, con los datos por tres diferentes autores.

Caracteres	S.A.B. (33)	Hildebrandt (20)	Dowson (11)	El Autor
Forma	Bacilo	Bacilo		Bacilo
Tamaño	.5x1.5 u.	.5x1.5 u.		.5x1.5 u.
Tinción de gram	-	-	-	-
Coloración bipolar			+	+
Flagelos	Polares	+	+	+ y -
Gelatina	Dos formas + y -	+	-	+
Leche	Aclarada		Aclarada	Aclarada
Lactosa			A	A
Maltosa			A	A
Sacarosa		A	A	A
Dextrosa			A	A
Glicerol		A	A	A
Almidón	-		+	+
NH ₃			+	+
H ₂ S	-		+	+
Pigmento en:				
Papa			Café	Café
P.D.A. Café		Café	Café	Café
Temperatura de crecimiento (óptima)	35 a 37°C.			23 a 37°C.

Flagelos = mono y lefotrichos +
 Coloración bipolar = presente +
 Gelatina = liquidifica + no liquidifica -
 Azucar y glicerol = produce ácido A
 Almidón = hidroliza + no hidroliza -
 NH₃ y H₂S = producen + y no producen -

La bacteria que produce la Maya tiene características morfológicas culturales y fisiológicas muy semejantes a Pseudomona solanacearum (Smith) descrita por Dowson (11). Con la diferencia que la bacteria que produce la Maya ^{LICUA} liquidifica la gelatina. Pero según la "Society of American Bacteriologists" (33) Nakata encontró dos formas de esta bacteria, una que liquidifica la gelatina y otra que no. Por lo tanto el autor sugiere que esta bacteria sea llamada Pseudomona solanacearum (Smith)

Sintomatología

La planta enferma con Maya al comienzo de la enfermedad presenta los ápices de una o más ramas marchitas en las horas de más sol. Al siguiente día estas que aparecían marchitas se recobran, y en las primeras horas de la mañana aparecen normales, pero se marchitan nuevamente en las horas en que el sol es más fuerte. Esta marchitez se va extendiendo cada vez más en la planta Fig. N°4-5 hasta que aparecen las plantas en el campo completamente muertas Fig. N°6. La enfermedad no se presenta en todo el papal sino que aparece en parches. Se ha notado que inoculando plantas adultas de papa con Ps. solanacearum se produce una clorosis en las hojas inferiores de la planta. Esta clorosis no aparece en las plantas que adquieren la enfermedad en condiciones naturales.

Síntomas de los Tallos Enfermos

Tomando un tallo de una planta con Maya y raspándole la cáscara con una cuchilla puede fácilmente notarse una coloración



Fig. N° 4
Plantas de papa con Maya,
causada por Pseudomona
solanacearum, con una de las
ramas del lado izquierdo todavía
sin marchitarse.



Fig. N° 5
Planta de papa con Maya,
(Pseudomona solanacearum)
con un grado mayor de
marchitez, ésta no se
recobra en la mañana.



Fig. N° 6
Plantas de papa con Maya
(*Pseudomonas solanacearum*).
Completamente muerta, nótese
las hojas de la planta en
los ápices como se van se-
cando.

café de la parte leñosa del tallo. La intensidad de esta coloración varía con una serie de factores:

- 1- Tiempo de establecida la enfermedad. Si la infección es reciente no se nota ninguna coloración.
- 2- Grado de infección. Si es leve no se nota la coloración.
- 3- Edad de las plantas. En las plantas más desarrolladas se nota con mayor facilidad la coloración.

Esta coloración café es más oscura del cuello de la planta hacia abajo incluyendo la raíz. A medida que se aleja del cuello de la planta hacia el ápice este síntoma disminuye rápidamente. En la papa no se ha notado la aparición de raíces adventicias a consecuencia de esta enfermedad, como sucede con el tomate.

Exámen Microscópico de Tallos de Papa

Examinando al microscopio porciones de tallo de papa que presentan el anillo café típico de ésta enfermedad, se puede notar lo siguiente:

- 1- Que el anillo corresponde a los haces fibrovasculares.
- 2- Que están llenos de bacterias
- 3- Que los haces permanecen parcialmente obstruidos con una sustancia de color café (Fig. N°7-8).

Síntomas Externos del Tubérculo

El tubérculo puede presentar síntomas de la enfermedad. Aunque amenudo no se nota ningún síntoma cuando la enfermedad está en un grado avanzado, síntomas exteriores visibles son: parches grises en la superficie, salida de exudado por los

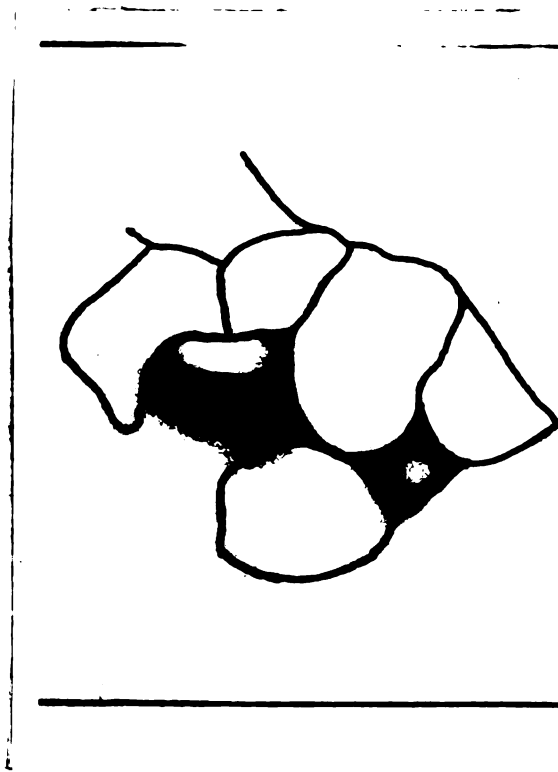


Fig. No 7

Corte transversal de un tallo de papa con Maya. Los haces fibrovasculares, aparecen parcialmente obstruidos por efecto de Ps. solanacearum. Observese como solamente pequeñas porciones de los haces quedan sin obstaculizar. (Dibujo del autor, con cámara lúcida).

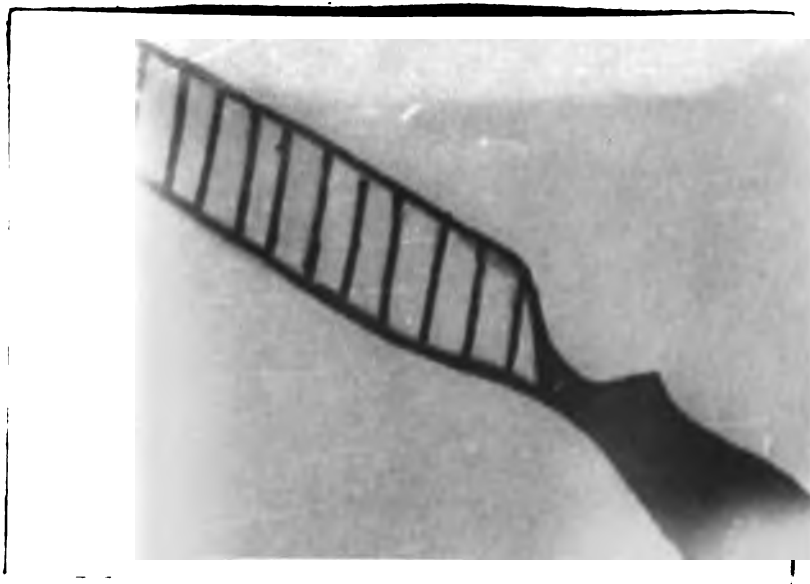


Fig. No 8

Vista lateral, de un vaso del tallo de una planta de papa con Maya, la parte oscura es causada por Ps. solanacearum. (Dibujo del autor con cámara lúcida).

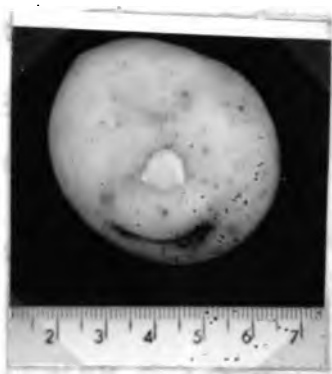
ojos del tubérculo (Fig. N°9).

Síntomas Internos del Tubérculo

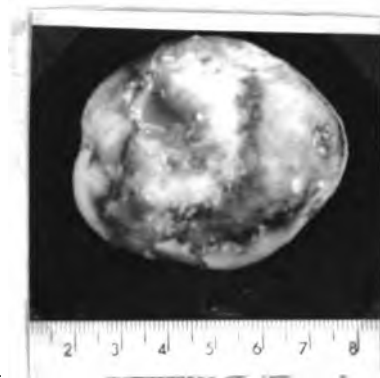
El tubérculo al ser partido transversalmente presenta un anillo café, este anillo corresponde a los haces fibrovasculares teñidos por efecto de la bacteria. Frecuentemente el anillo no aparece entero sino que solamente aparecen fracciones. Puede no presentar el anillo café, pero al ser partidos y guardados en una cámara húmeda o al ambiente, al día siguiente presentan el exudado típico de la Maya. A medida que transcurre el tiempo los tejidos que se encuentran dentro del tubérculo se van descomponiendo, como se ve en la Fig. N°10. Este detalle se nota fácilmente en los tubérculos más viejos de las plantas afectadas. En el interior del tubérculo se forma una masa semejante a una flema de color amarillo con un fuerte olor desagradable pero bastante típico. Para que esta pudrición pueda llevarse a efecto se necesita una cierta humedad ya que tubérculos atacados han sido guardados en condiciones secas y no se ha producido esta pudrición.

El Síntoma más Típico

Se nota cuando el tallo, tubérculo o raíz de una planta atacada por Ps. solanacearum se corta y un exudado amarillo blancuzco parecido al pus aparece exactamente en el lugar que corresponde a los vasos (Fig. N°11). Este exudado puede aparecer rápidamente unos minutos o puede durar hasta un día en salir.



A



B



C

Tubérculo de papa con "Maya" causada por Ps. solanacearum

A= Tubérculo de papa entero con "Maya" observese el exudado que sale por los ojos del tubérculo.

B= Tubérculo de papa con "Maya", completamente podrido.

C= Tubérculo de papa con "Maya" cortado por la mitad, mostrando gotas del exudado blanco amarillento típico de esta enfermedad.

Síntomas Externos Similares

Síntomas externos similares son causados por hongos del género Fusarium. Muchas veces fueron traídas plantas al laboratorio en que no se sabía si estas estaban atacadas por Fusarium o por Ps. solanacearum por lo tanto se preparó una lista comparando los síntomas de ambas enfermedades.

Ps. solanacearum (Maya)

La planta se marchita en horas de sol y se recobra durante la noche.
 No hay epinastia.
 No produce raíces adventicias en papa.
 Aparece en climas cálidos y fríos
 Los tejidos vasculares se colorean de café
 Hay producción de exudado cuando se corta el tallo raíz o tubérculo, esta es la característica más importante en su diferenciación.

Hongos del Género Fusarium (Marchités)

La planta se marchita pero no se recobra.
 Hay epinastia.
 No aparece en Costa Rica en climas fríos.
 Los tejidos vasculares se colorean de café oscuro o casi rojo
 Fig. N° 12
 No produce exudado cuando se corta el tallo, raíz o tubérculo.

Tomate:

Los síntomas que presenta esta planta cuando es atacada por Ps. solanacearum son muy semejantes a los que presenta la

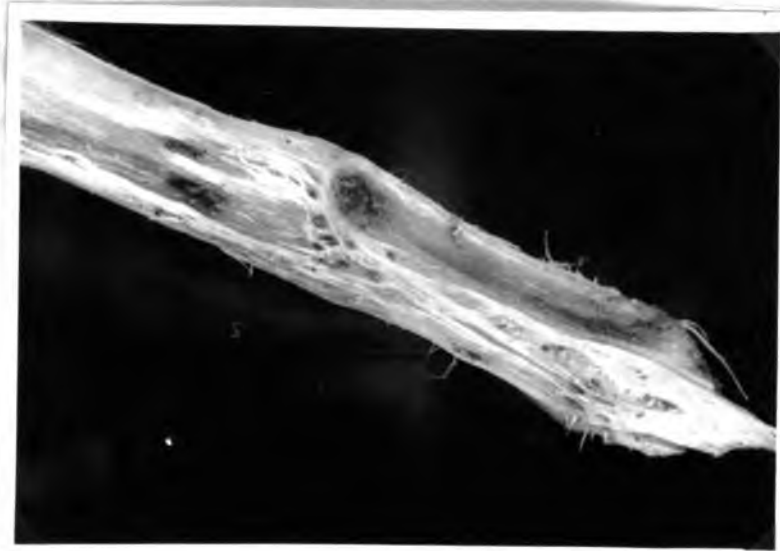


Fig. N° 12
Tallo de una planta de tomate atacada por Fusarium. Las áreas más oscuras que aparecen en el tallo corresponden a un color café rojizo, típico de una planta atacada por Fusarium.

papa con la diferencia que en tomate en algunos casos aparecen raíces adventicias.

Tabaco:

Las hojas inferiores son las que se marchitan primero, y además aparecen cloróticas. En un principio las hojas marchitas se recobran durante la noche para volver a marchitarse en las horas cálidas del día. Al cortar el tallo de una planta enferma hay salida de exudado y los haces vasculares aparecen de color café.

Berengena:

Las hojas inferiores son las primeras en marchitarse como sucede con el tabaco. En esta planta como en el tabaco los haces vasculares aparecen coloreados y hay producción de exudado blanco amarillento, cuando se corta el tallo o raíz. Los síntomas en berengena aparecen ilustrados en la Fig. N°13.

Patogenicidad de Ps. solanacearum

Esta bacteria pierde rápidamente la patogenicidad cuando se cultiva en agar papa dextrosa. Las inoculaciones de este organismo en plantas de papa, en un principio fueron sin éxito. De tal modo que a el autor le pareció interesante determinar cuanto tiempo podía mantenerse a Ps. solanacearum en cultivo sin que perdiera su patogenicidad. Para este experimento se usaron cinco plantas de papa por tratamiento, tres fueron inoculadas y dos permanecieron como testigos. Para estos



Fig. N° 13
Planta de berengena atacada
por Pseudomonas solanacearum.
Las hojas inferiores se mar-
chitan primero.

tratamientos se usó inóculo de las siguientes clases:

- 1- Exudado proveniente directamente de un tubérculo de papa con Maya.
- 2- Un cultivo puro de Ps. solanacearum en agar papa dextrosa de pH más o menos 6 incubado a una temperatura de 23 a 24°C. por dos días.
- 3- Un cultivo puro de Ps. solanacearum de ocho días de edad también cultivado en agar papa dextrosa con el mismo pH del anterior y la misma temperatura.

Tomando una pequeña porción del cultivo con una aguja de acero se inocularon las plantas de papa en el tallo a una pulgada del suelo. Los días que tardaron las plantas en mostrar síntomas de Maya están anotados en el cuadro N°3 en donde aparecen sumariados los datos del experimento. Aquí se puede notar que Ps. solanacearum pierde su patogenicidad entre 2 y 8 días.

Cuadro N° 3. Pérdida de patogenicidad de Pseudomonas solanacearum en cultivo. Mostrada por el número de días requeridos por plantas de papa para presentar síntomas de Maya, cuando se inoculan con Ps. solanacearum procedente de exudado de plantas de papa enfermas, y cultivos de PDA de 2 y 8 días de edad.

Fuente de inóculo	N° de plantas inoculadas	N° de plantas enfermas después de		
		5 días	8 días	30 días
Exudado	3	3	3	3
Cultivo en PDA de:				
2 días	3	0	3	3
8 días	3	0	0	0
Testigo	6	0	0	0

Inoculación de Plantas de Papa en Tres Diferentes
Lugares de la Planta

Para determinar la efectividad de inoculaciones de Ps. solanacearum en diferentes partes de la planta se hizo un experimento. Había que tener un método eficaz de inoculación de las plantas de papa, para experimentos posteriores, y además se quería saber si inoculando diferentes partes de la Planta se obtenían los mismos resultados. Se hicieron tres tratamientos con tres plantas cada uno y tres permanecieron como testigos. Como inóculo se usaron colonias jóvenes de Ps. solanacearum que crecían en agar papa dextrosa a una temperatura de 23 a 24°C. Con una aguja hipodérmica y con las colonias diluidas en agua se hicieron las inoculaciones, de las tres siguientes maneras:

- 1- A una pulgada del suelo, procurando que en cada caso la aguja entrara hasta la médula de la planta.
- 2- El tercer nudo contando desde el ápice de la planta hacia abajo fué inoculado, suguiendo el mismo método que se usó en el anterior.
- 3- Se rompieron las raíces de la planta con un cuchillo y usando colonias de Ps. solanacearum disueltas en agua se regó el inóculo en los huecos hechos por el cuchillo en el suelo al romper la raíz. Se hicieron dos recuentos de plantas marchitas, uno e los ocho días que aparece en el cuadro N°4 y el segundo al mes cuyos resultados aparecen en el cuadro N°5.

De los resultados obtenidos se deduce que las inoculaciones en la base del tallo, y en el tercer nudo contando del ápice de la rama hacia abajo, fueron las más efectivas. Las plantas que se inocularon rompiendo las raíces y regando el inóculo en el suelo, no presentaron síntomas de *Maya*

Cuadro N°4. Efecto de la inoculación de plantas de papa con Pseudomonas solancearum, después de 8 y 22 días de inoculadas. En el tercer nudo, en la base del tallo, rompiendo las raíces de la planta y regando el inóculo en el suelo.

Punto de inoculación	Número de plantas enfermas		Total
	Después de 8 días	Después de 22 días	
En el tercer nudo	2	3	3
En la base del tallo	2	3	3
En raíces rotas	0	0	3
Testigo	0	0	3

Saprogénesis

Tomando una muestra de tierra cerca a una planta enferma con Maya se logró aislar a Ps. solanacearum. Esto se hizo con el objeto de determinar si este organismo es capaz de sobrevivir como saprófito en suelos ricos en materia orgánica. De los resultados obtenidos se puede decir que esta bacteria vive muy bien en este tipo de suelo.

Lós Factores más Importantes en el Establecimiento de Ps. solanacearum

Para determinar la influencia de ciertos factores en el establecimiento de la bacteria causante de la Maya se hizo un recorrido por la zona Norte de Cartago. Diez papales fueron tomados al azar y en cada uno de ellos se recogieron los siguientes datos: altura sobre el nivel del mar por medio de una altímetro de bolsillo, pH del suelo determinado por medio del potenciómetro de Beckman, porcentaje de infección en la forma indicada en el capítulo de materiales y métodos, clase de suelo por muestreo al tacto, presencia de Maya en años anteriores, edad del papal y procedencia de la semilla. La humedad fué determinada por secamiento del suelo de la manera descrita en el capítulo de materiales y métodos. Los datos recogidos aparecen en el cuadro N°5, el autor creyó encontrar alguna relación en los datos que se buscarían y el porcentaje de Maya en el campo. Pero no fué así con algunos de ellos. Se nota que hay una relación entre la semilla precedente de lugares más bajos que el Sanatorio y el porcentaje de infección.

Cuadro No.5. Observaciones de plantas con Maya, altura sobre el nivel del mar, suelo infectado, procedencia de la semilla, pH del suelo, humedad del suelo, clase de suelo, variedad de papa y edad del papal. Con relación al porcentaje de Maya en 10 papales, en la zona de Cartago.

Porcentaje de plantas con Maya	Altura sobre el nivel del mar en pies	Suelos infectados de la semilla	Procedencia de la semilla	pH del suelo	Porcentaje de humedad del suelo	Clase de suelo	Variedad de papa	Edad del papal en meses
10.0	6150	si	Cot, rastrejo	5.2	23.0	Arcillo- s	Estrella	2
7.0	6350	si	Cot	6.2	26.2	Humifero	Morada Blanca	2
3.5	7950			6.0	28.9	Arcillo- sc	Morada Negra	2
1.5	8050			6.2	26.0	Arcillo- so		2
1.0	6150	si	Cot	5.9	24.0	Arcillo- so	Estrella	2
1.0	6100	no	La Cañada y Llano Grande	6.0	23.3	Arcillo- so	Estrella	2
1.0	6150	si	Cot	6.4	23.0	Arcillo- so	Estrella	2
5 plantas en 5 manzanas	8600	no	Sanatorio y lugares cercanos	6.5	26.8	Humifero	Morada Blanca	3
0	6350	no	San Juan	6.2	33.0	Arcillo- so	Estrella	3
0	8600	no	Sanatorio y lugares cercanos	6.2	26.0	Arcillo- so	Morada Blanca	3

se ve que existe relación entre suelo previamente infestado con Ps. solanacearum y porcentaje de infección de plantas en el campo. También puede decirse que hay relación entre la altura sobre el nivel del mar y porcentaje de plantas con Maya en el campo. El resto de los factores no presentan ninguna relación con el porcentaje de infección de plantas en el campo. Esto puede ser debido a que estos factores no presentan mucha variación entre ellos. Se puede decir entonces que los factores más importantes en el establecimiento de Ps. solanacearum son: semilla con Maya, suelo infestado previamente con Ps. solanacearum y altura sobre el nivel del mar (baja temperatura).

Hierbas Hospederas

Según Smith (32) hay un gran número de plantas hospederas de Ps. solanacearum. Para determinar si en Costa Rica se encuentran hierbas susceptibles a la Maya, se hizo un recorrido por varios papales de la zona Norte de Cartago. Ninguna de las hierbas observadas mostraba síntomas de la enfermedad. Un ejemplar de las plantas más comunes encontradas en el campo fué colectado, después de examinar 20 o más para determinar si mostraban síntomas de Maya. En ningún caso se encontró una planta con síntomas, a continuación se dará una lista de las plantas más comunes examinadas.

- 1- Alomia microcarpia B. y Rob.
- 2- Bidens pilosa L. fam. Compositae
- 3- Borreria levis L. Rubiaceas
- 4- Cyperux feroxe L. Cyperaceas

- 5- Desmodium artropurpureum D. C. fam. Leg.
- 6- Desmodium sp.
- 7- Eupatorium pycnocephalum Less
- 8- Guaphalium spicatum L. fam. Compositae
- 9- Ipomea purpurea fam. Convolvulaceas
- 10- Ipomea mirstula J. fam. Convolvulaceas
- 11- Irisine celosea L. fam. Amarthaceas
- 12- Monochatum rivularium Nand. fam. Melostmacea
- 13- Polygola paniculata L. fam. Polygolacea
- 14- Polygonum paniculatum
- 15- Prumella vulgaris L. fam. Labiatae
- 16- Ranunculus repens L. fam. Ranunculaceas
- 17- Siserynchum alatum L.
- 18- Stellarea sp. fam. Carepphilacea
- 19- Setarea geniculata L. fam. Gramineas
- 20- Sidera rombifolia fam. Malvaceas
- 21- Timantea leacalyx C. B. Comelinaceas

Experimento para Determinar el Comportamiento de Algunas Variedades de Papa que se Siembran en Costa Rica con Respecto a la Maya

Para determinar si algunas de las variedades de papas corrientes en Costa Rica tienen cierta resistencia a la Maya, se escogió un terreno en Pacayas fuertemente infestado con Ps. solanacearum y se plantaron ocho variedades de papa: Harford, Kenebek, Morada Negra, Up to Date, Alma, Ticanel, Brandersley y Morada Blanca. Se empleo un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones, cada parcela consistió de 16 papas de semilla. Al mes y medio se leyó el experimento, y se analizó estadísticamente, y no se encontró significación. A continuación en el cuadro N°6 se darán los resultados en términos de porcentaje de plantas con Maya en el campo.

Cuadro N° 6. Porcentaje de infección natural de *Maya* (*Ps. solanacearum*) en ocho variedades de papa de mes y medio de edad, sembradas en Pacayas, en Noviembre de 1951.

Variedades de papas	Repeticiones				Porcentaje promedio
	1	2	3	4	
Harford	80	60	100	100	85
Kenebek	27	100	100	13	60
Morada negra	100	100	100	53	88.
Up to date	100	100	73	100	93.
Alma	100	100	100	100	100
Ticanel	100	40	100	100	85
Brandersley	40	100	80	100	80
Morada blanca	100	100	93	100	98

Aplicación de Fumigantes al Suelo

En los últimos años los fumigantes han adquirido gran popularidad. Se han venido usando gran cantidad de productos nuevos con el objeto de controlar bacterias y hongos que viven en el suelo y que causan también grandes pérdidas cuando atacan las plantas. Con la ayuda del Dr. Kenneth Olsen miembro de la compañía Shell destacado en Turrialba se probaron dos fumigantes, D-D que es un nematocida, y CBP 55 que es un fungicida, con el objeto de averiguar que efecto podrian causar estos fumigantes aplicados al suelo en la incidencia de la Maya. Se escogieron dos parcelas de terreno, con alta infestación en la zona Norte de Cartago, estas dos parcelas estaban situadas, una en Pacayas y otra en la Chinchilla. En Pacayas en el lugar del experimento el suelo arcilloso tuvo una temperatura promedio de 19°C. y en la Chinchilla, el suelo y la temperatura fueron similares al anterior.

Los fumigantes fueron inyectados a un pie de profundidad cerca de las hileras de papa con un inyector especial, y quince días después se procedió a la siembra de las papas. Dos diseños diferentes se usaron. En Pacayas se uso un diseño de bloques al azar con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones, y en la Chinchilla un cuadrado latino 4x4. Cada parcela tenía 18 papas de semilla de la variedad Morada Negra. Los tratamientos usados fueron:

D D=D-D 30 galones por acre

H=CBP 55 30 galones por acre

L=CBP 55 15 galones por acre

C=Testigo

Los datos numéricos del experimento fueron tomados con base en las plantas que aparecieron con Maya.

Los resultados de los experimentos con los fumigantes D D y CBP 55 llevados a cabo en la Chinchilla y Pacayas fueron analizados estadísticamente y no hubo ninguna significación. Por lo tanto los datos en términos de porcentajes serán sumariados en los cuadros N°7 para el experimento llevado a cabo en Pacayas y N°8 para el experimento de la Chinchilla.

Cuadro N°7. Porcentaje de plantas de papa con Maya (Ps. solanacearum), de la variedad Morada Negra, después de dos meses de tratadas con los fumigantes D-D y CBP 55. En Pacayas.

Fumigantes gal/acre	Repeticiones				Porcentaje promedio	
	1	2	3	4		
D-D	30	15.3	35.7	5.8	25.5	20.5
CBP 55	30	42.8	0	7.6	11.1	15.3
CBP 55	15	28.2	33.3	44.4	25	32.8
Testigo		6.2	40	14.2	29.4	22.4

Cuadro N°8. Porcentaje de plantas de papa con Maya (Ps. solanacearum), de la variedad Morada Negra, después de dos meses de tratadas con los fumigantes D-D y CBP 55. En La Chinchilla.

Fumigantes gal/acre	Repeticiones				Porcentaje promedio	
	1	2	3	4		
D-D	30	12.5	16.6	13.3	10	13.1
CBP 55	30	0	61.1	72.7	26.6	40.1
CBP 55	15	6.2	40	46.1	44.4	34.1
Testigo		27.2	56.6	73.3	78.5	58.9

Bacterium carotovorum

Además de los estudios realizados con Ps. solanacearum se llevaron a cabo estudios de laboratorio semejantes con la bacteria Bacterium carotovorum que produce la podredumbre suave de papas, zanahorias etc. Esta enfermedad es corriente en Costa Rica en papas almacenadas y zanahorias. También es corriente notar plantas de papa en el campo cuya base del tallo presenta una podredumbre de color negro y de consistencia suave y acuosa. Esto se nota corrientemente en los lugares en que el drenaje es deficiente o por una causa o otra el contenido de agua del suelo es alto.

De lesiones típicas de esta enfermedad se hicieron cultivos puros de Bacterium carotovorum, como se especificó en el capítulo de Materiales y métodos. Los caracteres morfológicos son los siguientes: Tiene forma de bacilo, y su tamaño fluctúa entre 1x1.5 u. - 1x2 u. En la Fig N°14 puede apreciarse la forma de esta bacteria. La presencia de los flagelos peritrichos se notó claramente como se aprecia en la Fig. N°15. Este organismo se tiñe fácilmente con safranina obteniéndose magníficos resultados, es gram negativa.

Caracteres Culturales

Las colonias de un día de edad de Bacterium carotovorum son de forma circular de bordes enteros y levemente extendidos sobre el agar, color blanco grisáceo, lustre brillante, consistencia cremosa y de un diámetro de 2 mm. Estas características culturales, fueron mostradas por ésta bacteria cuando crecía en agar papa destrose a una temperatura de 23 a 24°C.

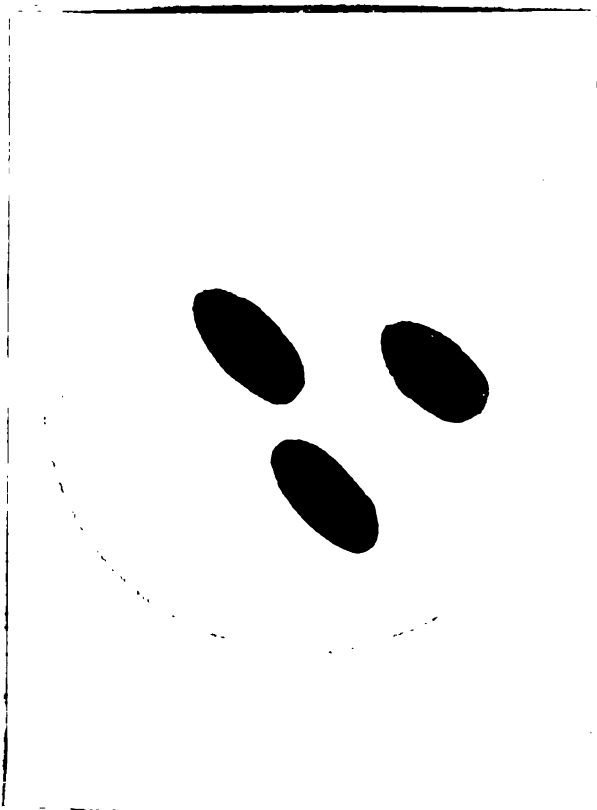


Fig. Nº 14
 Dibujo de Bacterium carotovorum.
 Esta bacteria tiene una forma
 más cilíndrica que Ps. solanacea-
rum. (Dibujo del autor).

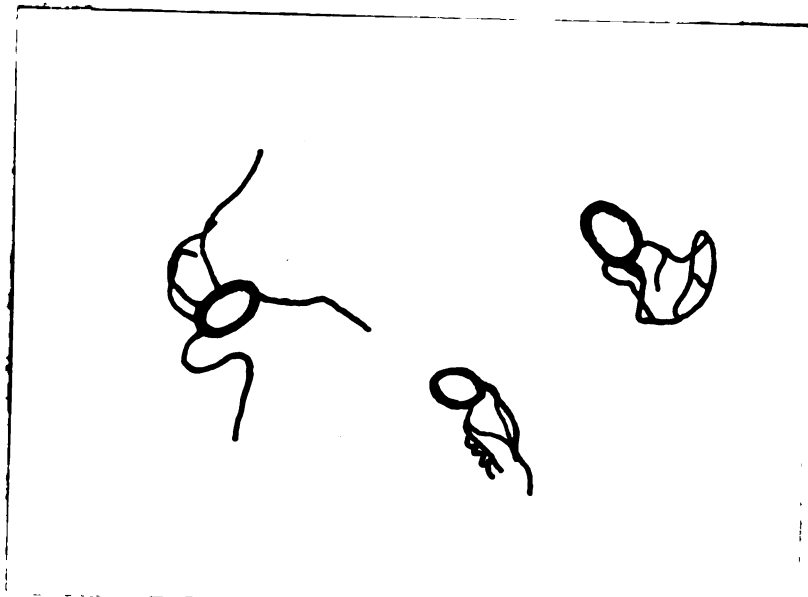


Fig. Nº 15
Bacterium carotovorum. Observense los
 flagelos peritrichos en ésta bacteria.
 (Dibujo del autor, con cámara lúcida).

Cultivos Clavados (Stab cultures)

Estos cultivos fueron hechos en agar papa dextrosa y guardados a una temperatura de 23 a 24°C. El organismo crece bien en éste medio y produce tal cantidad de gas, que rompe el agar y entre las rajaduras hubo muchas burbujas, y al abrir los tubos se notó un fuerte olor a fermento.

Gelatina

Como parte de caracteres culturales se hizo la prueba del crecimiento de ésta bacteria en gelatina. Se notó que crecía muy bien, y que el medio se liquidificaba.

Crecimiento en tajadas de papa esterilizadas

A los cuatro días de inoculadas las tajadas de papa, mantenidas a una temperatura de 23 a 24°C, aparecía una coloración amarilla en el lugar en que se había hecho la inoculación. Al tocar las tajadas de papa en éste punto se deshacían y además se notó cuando se destapó el plato un fuerte olor a fermento.

Características Fisiológicas

Crecimiento en varios carbohidratos y glicerol

Para este experimento se usaron los siguientes carbohidratos: Lactosa, Maltosa, Sacarosa, Dextrosa, Almidón y un alcohol glicerol.

Cuando se inoculó el medio basal que contenía lactosa con Bacterium carotovorum apareció a los cuatro días un color amarillo y una turbidez. También hubo fuerte producción de gas,

que se constató colocando (gas traps) o sean pequeños tubos de vidrio dentro del medio, se observó también un sedimento blanco en el fondo del recipiente. El pH inicial del medio fué de 7.45 y cuatro días después descendió a 4.8

Cuando se usó el medio basal con Maltosa, a los cuatro días este apareció turbio y con una gran cantidad de gas, que se determinó del mismo modo que se hizo en el caso anterior. El pH inicial del medio fué de 7.3, a los cuatro días después de inoculado el pH fué de 5.1. Cuando se usó el medio basal conteniendo Sacarosa siempre se notó presencia de gas, pero no tanto como en los azúcares anteriores. El medio en éste caso apareció azul visto através de la luz. Se notó además la presencia de sedimento en el fondo de los recipientes inoculados. El pH inicial del medio fué de 7.15 y después de cuatro días el pH fué de 5.1. Cuando se usó Dextrosa en el medio basal, este apareció a los cuatro días de inoculado, amarillo y turbio, con una alta producción de gas, y un sedimento apareció en el fondo de los recipientes inoculados. El pH inicial de éste medio fué de 7.15 y el final tomado a los cuatro días de inoculado fué de 4.8.

Al leer el medio que contenía Glicerol cuatro días después de inoculado se notó: que había poca producción de gas en comparación con la producción en los azúcares mencionados. El medio tenían una coloración azulada visto através de la luz y apareció un sedimento en el fondo del recipiente como en los casos anteriores. Agar almidón fué inoculado con el

objeto de determinar si ésta bacteria era o no capaz de hidrolizarlo. Se usó como detector el Lugol en vez de la solución de Fehlings. Esta prueba dió postiva, es decir hubo hidrolisis del almidón.

Un resumen del comportamiento de Bacterium carotovurum en los medio que contienen dextrosa, sacarosa, maltosa, lactosa, almidón, glicerol y leche aparece en el cuadro numero 19. Como en el caso de Ps. solanacearum las características morfológicas culturales y fisiológicas observadas por el autor en el estudio de Bacterium carotovurum serán comparadas en el cuadro N°10 con las características morfológicas culturales y fisiológicas dadas por Dowson (11) y Society of American Bacteriologists (33).

Cuadro N° 9. Relaciones fisiológicas de Bacterium carotovorum en seis carbohidratos y leche.

Medio basal con	Color	Turbidez	Gas	Acido	Sedimento color blanco	pH inicial	pH final
Dextrosa	Amarillo	+	+++	+	-	7.15	4.8
Sacarosa	Azulado	-	++	+	+	7.15	5.1
Maltosa	-	+	+++	+	-	7.3	5.1
Lactosa	Amarillo	+	++	+	+	7.45	4.8
Almidón			++				
Glicerol	Azulado	-	+	+	+	7.3	6.9
Leche					Cuagulada		

+ = Producción de turbidez, gas, ácido y sedimento de color blanco. El signo - indica que no hay producción.

Cuadro N°10. Comparación de los caracteres morfológicos y fisiológicos de Bacterium carotovorum, estudiados en Costa Rica, con los dados por dos diferentes autores.

Caracteres	S.A.B. (33)	Dowson (11)	El Autor
Forma	+	+	+
Tamaño	.7x8 u-1.5x5 u.		1x1.5 u-1x2 u.
Tinción de gram	-	-	-
Flagelos	+	+	+
Gelatina	+	+	+
Leche	A y +	+	+
Lactosa	A y G	A y G	A y G
Maltosa	A y G	A y G	A y G
Sacarosa	A y G	A y G	A y G
Dextrosa	A y G	A y G	A y G
Glicerol	A y G	A y G	A y G
Almidón	+	+	+
NH ₃	-	+	+
H ₂ S	•	+	+
Temperatura óptima	25 a 30°C.		Crece bien 23 a 24°C.

Forma= bacilo +

Flagelos= peritrichos +

Gelatina= liquidificada +

Leche= ácido A y cuagulada +

Azúcares y Glicerol= ácido A y gas G

Almidón= hidrolizado +

NH₃ y H₂S= produce + no produce -

Cuadro N°11. Comparación de los caracteres morfológicos y fisiológicos de Pseudomonas solanacearum y Bacterium carotovorum, obtenidos por el autor.

Caracteres	<u>Ps. solanacearum</u>	<u>Bacterium carotovorum</u>
Forma en cultivo	+	+
Tamaño	0.5x1.5 u.	1x1.5 y 1x2 u.
Gram	-	-
Coloración bipolar	+	-
Flagelos	M y L	P
Gelatina	+	+
Leche	+	-
Maltosa	A	A y G
Lactosa	A	A y G
Sacarosa	A	A y G
Dextrosa	A	A y G
Glicerol	A	A y G
Almidón	+	+
NH ₃	+	+
H ₂ S	+	+
Vida en agar	-	+
Pigmento	C	B

Bacilo= +

Coloración bipolar= presente+ ausente -

Flagelos= mono y lefotrichos M y L peritrichos P

Gelatina= liquidificada+

Leche= aclarada+ cuagulada -

Azúcares y Glicerol= ácido A y gas G

Almidón= hidroliza+

NH₃ y H₂S= produce+

Vida en agar= larga+ corta -

Pigmento=café C no produce B

Ambas bacterias tienen forma y tamaño diferente, la colocación bipolar que aparecen en Ps. solanacearum no está presente en Bacterium carotovorum difieren también en la colocación de los flagelos.

En las características culturales de Ps. solanacearum y Bacterium carotovorum son sumamente diferentes, la característica más importante para la diferenciación es la colocación más oscura que aparecen en el centro de la colonia de Ps. solanacearum cuando crece sobre agar papa dextrosa. Las dos bacterias producen ácido en todos los azúcares, con la diferencia que Bacterium carotovorum produce gas y en algunos casos sedimento.

Otro detalle importante es la pérdida rápida de patogenicidad de Ps. solanacearum cuando se encuentra en el cultivo de agar papa dextrosa, Bacterium carotovorum puede permanecer mucho tiempo en ese medio sin perder la patogenicidad.

Sintomatología

Los síntomas que presentan plantas de papa, tomate y raíces de zanahoria atacadas por esta enfermedad son los siguientes: plantas de papa inoculadas con Bacterium carotovorum en el tallo, a los dos días presentaron áreas necróticas de un centímetro de diámetro, alrededor del punto de la inoculación. La lesión que apareció fué de un color negro y de consistencia suave. Una de las plantas usadas en el experimento no estaba suficientemente lignificada y a la semana de inoculada con Bacterium carotovorum se dobló exactamente en el punto en que se hizo la inoculación, y las hojas cercanas a este punto aparecieron cloróticas.

Con plantas de tomate de 22 días de edad se siguió el mismo procedimiento de inoculación usando plantas de papa. Pero la lesión que apareció en este caso fué más pequeña y ninguna planta se quebró como sucedió en la papa.

A la semana de inoculadas las plantas de papa con Bacterium carotovorum, fueron arrancadas de las macetas en que se cultivaban y sometidas a un exámen más minucioso en el laboratorio se pudo notar en ese exámen que en el lugar de la inoculación aparecía una caverna ocasionada por el ataque de esta bacteria. Los vasos de la planta de papa estaban de un color rojo oscuro a ambos lados de la inoculación. Pero este oscurecimiento fué más marcado hacia abajo del lugar de la inoculación que hacia arriba. En una de las plantas inoculadas no hubo suficiente agua y la lesión no progre-

só mucho. Raíces de zanahorias aparecen afectadas en toda su area. Las lesiones en ellas fueron de formas muy variadas, y amenudo aparecen de un color más claro que el resto de la raíz, y el tejido atacado se desintegra con solo tocarlo, un olor a fermento se nota generalmente. Fig. N°16. El exámen microscópico de una area de zanahoria afectada por esta bacteria, revela una desintegración total del tejido, como puede notarse en la Fig. N°17.



Fig. N° 16
Zanahoria atacada por Bacterium carotovorum.
Nótese las áreas podridas en el centro y en la punta.

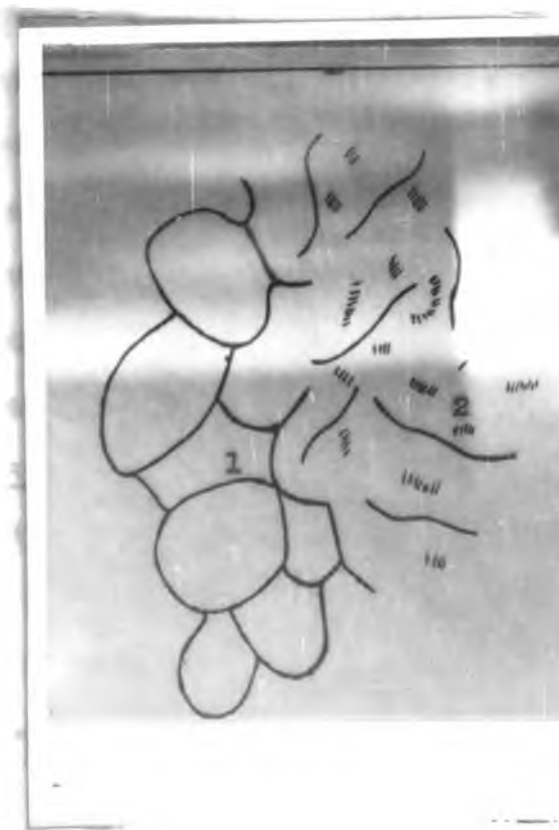


Fig. N° 17
Tejido de una papa atacada por
Bacterium carotovorum. (1) tejido
sano (2) tejido desintegrado.

DISCUSION

En cuanto a la morfología de la bacteria que causa la Maya, la descripción hecha por el autor no difiere de las descripciones hechas por otros como puede notarse en el cuadro N°10.

En cuanto a las características fisiológicas y sobre todo a la producción de ácidos en carbohidratos los resultados obtenidos por el autor concuerdan con los de Dowson (11) y en algunos casos con Hildebrandt y Society of American Bacteriologists (33). El autor encontró que Ps. solanacearum liquifica la gelatina y según Dowson (11) esta bacteria no liquifica la gelatina, pero Society of American Bacteriologists (33) dice que esta bacteria puede liquidificar algunas veces la gelatina. Como puede notarse hay alguna disparidad en los trabajos llevados a cabo. El autor quiso usar además de los carbohidratos ya mencionados otro Salicin pero no fué posible encontrarlo. Este carbohidrato es muy importante según la clave de identificación de Dowson (11).

Ps. solanacearum es un organismo que pierde rápidamente su patogenicidad cuando se le tiene en cultivo. Con el objeto de determinar cuanto tiempo esta bacteria podía mantenerse en cultivo sin perder su patogenicidad, se hizo la prueba que aparece en el cuadro N°3. El autor llama la atención, por que cualquier persona que trabaje con esta bacteria va a tropezar con esta dificultad, y las pérdidas de tiempo que esto ocasiona son más grandes de lo que uno se imagina. Parece

también es importante el caso de las inoculaciones hechas en plantas de papa cuyas raíces fueron rotas. Cuadro N°4. Estas inoculaciones debieron haber resultado positivas, puesto que esta es una de las maneras en que Ps. solanacearum entra a las plantas de papa. Pero sin embargo dichas inoculaciones fueron negativas. Un caso similar es citado por Alencar y Drummond (1) pero en vez de romper las raíces, el sistema radical de las plantas fué sumergido dentro de un líquido conteniendo Ps. solanacearum, ellos también obtuvieron resultados negativos. Es muy posible que haya uno o más factores en esto que no permita el establecimiento del organismo dentro de la planta en condiciones que pueda producir la enfermedad.

Con respecto al Cuadro N°5 se puede decir que en un principio antes de tomar los datos, se creyó encontrar alguna relación entre estos y el porcentaje de infección de las plantas en el campo. Posiblemente esta relación no se pudo encontrar en algunos casos debido a la poca variación de los datos, pero se puede decir que el porcentaje de plantas enfermas en el campo esté íntimamente relacionado a la sanidad de la semilla, al porcentaje de infestación del suelo y la altura sobre el nivel del mar (temperatura). Los otros factores tales como pH del suelo, humedad del suelo, variedad de papa, edad de las plantas. Tienen poca importancia si no se salen de ciertos límites como serían pH muy bajos, disminuyendo así la enfermedad. El tipo de suelo puede ser

tener influencia en el esparcimiento de la bacteria ya que un suelo liviano puede transportarse con más facilidad. La humedad es otro factor que a límites superiores o inferiores puede afectar la vida del organismo patógeno. Se ha observado también que a pesar de que las plantas de papa pueden ser afectadas durante todo su ciclo de vida, más plantas aparecen enfermas en las últimas épocas de su ciclo.

A pesar de que gran cantidad de plantas hospederas de Ps. solanacearum son citadas por Smith (32), en los recorridos realizados por los campos en donde se cultiva papa en Costa Rica, nunca se encontró ninguna planta con los síntomas de marchitamiento causados por esta bacteria. Gran cantidad de individuos, tales como técnicos que trabajan en el cultivo de la papa e individuos que trabajan en los campos de papa, fueron interrogados al respecto y siempre su contestación fué que no habían visto ninguna planta con los síntomas de esta enfermedad (Maya) en el campo, solamente había sido notadas plantas de papa, tomate, berengena y tabaco que mostraban los síntomas de esta enfermedad. Deben hacerse más pruebas de campo, para conocer algunos factores que todavía no han sido bien esclarecidos, tales como si los insectos tienen mucha importancia en la transmisión de la Maya y hasta que punto esto es importante. Si los nemátodos tienen efecto en el establecimiento de la Maya y si valdría la pena controlar éstos. Que rotación debe recomendarse en Costa Rica para poder sembrar papa económicamente en terrenos

de alta infestación. Debe hacerse más pruebas de variedades de papa y especies silvestres, para determinar si entre estas hay alguna que de muestras de resistencia a la Maya. En cuanto a la aplicación de fumigantes al suelo, para el control de la Maya, es difícil que se pueda obtener un control económico y aplicable a nuestro medio, debido al alto costo de estos y a su difícil aplicación. Un aspecto que parece prometedor, en cuanto al control parcial de la Maya es el de los fertilizantes, algunos autores han reportado una disminución en el número de plantas con Maya al aplicar ciertos fertilizantes al suelo. A quedado determinado que el organismo causante de la podredumbre suave de la papa y zanahoria es Bacterium carotovorum, pero deben hacerse más trabajo de campo para determinar la extensión de la enfermedad y su importancia en Costa Rica.

CONCLUSIONES

- 1- La Maya es una enfermedad muy importante en los papales de Costa Rica.
- 2- Esta enfermedad es producida por una bacteria Pseudomonas solanacearum
- 3- La bacteria tiene las siguientes características:
bacilo corto de puntas redondeadas de 0.5x1.5 u. gram negativa, presenta coloración bipolar cuando se le tiñe con Ziehl Nielsen, flagelos o cilios mono-o-lefotrichos, las colonias son de color blanco aspecto mojado, opalescentes, pulvinadas, circulares de superficie suave y margen entero, estructura interna amorfa, con una parte más oscura en el centro. Las colonias cuando jóvenes atravez de la luz tienen una coloración blanco-azulado, a la edad de un mes aparecen de un color café como chocolate, liquidifica la gelatina, aclara la leche, produce H₂S, crece mejor en agar papa dextrosa con pH 6.3, 7, 8, y a pH 4, 3.8 no se desarrolla, produce NH₃ e hidrolisis del almidón, crece muy bien en tajadas de papa esterilizadas, produce turbidez y olor a fermento en medio nutriente, crece bien en una temperatura que fluctúa entre 23 y 35°C.
- 4- Las plantas de papa atacadas por Ps. solanacearum aparecen marchitas en las horas de más sol y luego se recobran en la noche esto en un principio del ataque, el tallo, tubérculo y raíz de las plantas de papa aparecen con los haces fibrovasculares coloreados de café, al cortar los tallos hay

salida de exudado blanco amarillento.

6- Los haces vasculares aparecen parcialmente obstruidos por el efecto de la bacteria.

7- En estado avanzado hay salida de exudado por los ojos del tubérculo de papa.

8- Los síntomas externos producidos en las plantas atacadas por Ps. solanacearum, pueden confundirse con los que producen ciertos hongos de género Fusarium.

9- En el tomate los síntomas producidos por Ps. solanacearum son muy semejantes a los de la papa, en el tabaco las hojas inferiores se marchitan primero y hay cierta clorosis en ésta, lo mismo sucede con la berengena.

10- Ps. solanacearum pierde rápidamente la patogenicidad cuando crece en agar papa dextrosa, entre dos y ocho días.

11- La inoculación más efectiva con Ps. solanacearum, fué la que se hizo en la base del tallo. Cuando se rompieron las raíces de la planta, y se regó el inóculo sobre ellas, no apareció ninguna planta enferma.

12- Ps. solanacearum puede vivir como saprófito en suelos con alto contenido de materia orgánica.

13- Los factores más importantes en el establecimiento de la Maya son: semilla infestada, suelo infestado y altura sobre el nivel del mar (temperatura).

14- Ninguna de las plantas observadas en el campo excepto papa, tomate, berengena, presentaron síntomas de Maya.

15- Ninguna de las siguientes variedades de papa, mostraron

resistencia a la Maya: Harford, Kenebek, Morada Negra, Up to Date, Alma, Ticanel, Brandersley y Morada Blanca.

16- Los fumigantes usados con el objeto de controlar la Maya D-D y CBP 55, no dieron muestras de ser efectivos para el control de la Maya.

17- De los estudios realizados con Bacterium carotovorum se puede deducir que: la bacteria tiene forma de bacilo de 1x1.5 u. y de 1x2 u., flagelos peritrichos, gram negativo, colonias de forma circular, bordes enteros y levemente extendidos sobre el agar, color blanco grisáceo, lustre brillante, consistencia cremosa y de un diámetro de 2mm. a las 24 horas. Cultivos clavados producen gas y olor a fermento. La gelatina es liquidificada por ésta bacteria. Cuando crece en tajadas de papa esterilizadas, éstas adquieren una coloración blanco amarillento y el tejido se desintegra, además hay un olor a fermento.

18- Bacterium carotovorum produce ácido, gas y turbidez en medios conteniendo, Lactosa, Maltosa, Sacarosa, Dextrosa, y Glicerol, además produce hidrólisis del almidón.

19- El síntoma típico de ésta enfermedad es una podredumbre suave y acuosa.

SUMARIO

La enfermedad de papa llamada en Costa Rica Maya, es producida por la bacteria, Pseudomonas solanacearum. Esta enfermedad es la misma que se conoce en los Estados Unidos con el nombre de "Brown rot" o "Bacterial wilt of potatoes".

La Maya causa grandes pérdidas de plantas de papa en el campo y tubérculos almacenados.

La bacteria causante de la Maya tiene las siguientes características: bacilo corto de puntas redondeadas de 0.5x1.5 u. gram negativo, coloración bipolar cuando se tiñe con Ziehl-Nielsen, flagelos mono-o-lefotrichos, liquidifica la gelatina, aclara la leche, produce ácido en lactosa, maltosa, sacarosa, dextrosa, y glicerol, hidroliza el almidón, produce NH₃ y H₂S. Las colonias se vuelven café con el tiempo, y pierde rápidamente la patogenicidad. Estas características son iguales a las que da Dowson (11) para Pseudomonas solanacearum (Smith).

Los tallos de las plantas de papa, tomate, tabaco, y berengena, atacados por Pseudomonas solanacearum, presentan los haces fibrovasculares de color café, y al cortar el tallo hay salida de un exudado blanco amarillento.

Las inoculaciones en la base del tallo de plantas de papa fueron las más efectivas.

Los haces fibrovasculares en las plantas de papa con Maya aparecen parcialmente obstruidos.

Pseudomonas solanacearum, puede vivir saprófitamente, en suelos de alto contenido de materia orgánica.

Semilla con Maya, suelo infestado con Pseudomonas solanacearum, y altura sobre el nivel del mar (baja temperatura), son los factores más importantes en el establecimiento de la Maya.

Ninguna de las hierbas observadas en el campo mostró síntomas de Maya.

Las variedades de papa, Harford, Kenebek, Morada Negra, Up to Date, Alma, Ticanel, Brandersley y Morada Blanca, no dieron ninguna muestra de resistencia a la Maya.

Aplicaciones al suelo de los fumigantes D-D y CBP 55 no fueron efectivas contra la Maya.

Bacterium carotovorum

Esta bacteria produce la enfermedad de papas, tomates y zanahorias, etc. llamada podredumbre suave.

La bacteria tiene las siguientes características: bacilo de tamaño variado 1x1.5 u. y 1x2 u. gram negativo, flagelos peritrichos, liquidifica la gelatina, produce ácido y coagula la leche. Produce ácido y gas en lactosa, maltosa, sacarosa, dextrosa y glicerol. Hidroliza el almidón. Produce NH_3 y H_2S . Crece bien a temperaturas de 23 a 24°C. tiene una vida larga en agar y destruye los tejidos.

El síntoma típico de esta enfermedad en papas, tomates y zanahorias es una podredumbre suave y acuosa.

LITERATURA CITADA

1. Alencar, J. de & Drummond, O. A. Notas sobre a murcha bacteriana de batatinha e do tomateiro, Bacterium solanacearum E. F. Smith. Revista Ceres (Vicosá, Brasil) 5(27):178-225. 1944.
2. Buchanan, E. D. & Buchanan, R. E. Bacteriology for students in general and household science. 4th ed. New York, Macmillan Co., 1938. 548 p.
3. Casseres, E. H. Bacterias causan la "Maya" de los papales, indicaciones para combatir el mal. Suelo Tico 1(2):87-90. 1948.
4. _____ Brown rot of potatoes. Unpublished term paper. Ithaca, N. Y., Cornell University, 1950. 28 p. (Typewritten)
5. Clayton, E. E. & Smith, T. E. Resistance of tobacco to bacterial wilt (Bacterium solanacearum). J. Agr. Res. 65(12):547-554. 1942.
6. Cook, Melville T. The southern bacterial wilt in New Jersey. Phytopathology 4(4):277-278. 1914.
7. Costa Rica. Ministerio de Agricultura e Industrias. Cuidado con la "Maya" de los papales. Hoja divulgativa no. 6. s. f.
8. Chester, K. Starr. Nature and prevention of plant diseases. 2d ed. Philadelphia, Pa., Blakiston Co., 1947. pp. 289-290.
9. Chupp, Charles. ~~Manual of vegetable-garden diseases.~~ New York, Macmillan Co., 1925 pp. 103, 107-108.
10. Difco Laboratories. Manual of dehydrated culture media and reagents. 8th ed. Detroit, Mich., 1948. 224 p.
11. Dowson, W. J. Manual of bacterial plant diseases. New York, Macmillan Co., 1949. 183 p.
12. Eddins, A. H. Adjusting pH reactions of soils with sulfur and limestone to control brown rot of potatoes. American Potato J. 16(1):6-16. 1939. (Original no disponible para consultar; compendiado en Review of Applied Mycology 18(7):473-474. 1939.)

13. Eddins, A. H. Brown rot of Irish potatoes and its control. Florida Agr. Expt. Sta. Bul. 299. 1936. 44 p.
14. _____ Brown rot of solanaceous plants. Florida Agr. Expt. Sta. Press Bul. 548, rev. 1940. 4 p.
15. _____ Investigation and control of brown rot of potatoes and related plants. Florida Agr. Expt. Sta. Ann. Rpt., 1945:109.
16. _____, Ruehle, G. D. & Townsend, G. R. Potato diseases in Florida. Florida Agr. Expt. Sta. Bul. 427. 1946. 96 p.
17. Elliott, Charlotte. Manual of bacterial plant pathogens. 2d rev. ed. Waltham, Mass., Chronica Botanica Co., 1951. pp. 139-142. (Annales Cryptogamici et Phytopathologici, v. 10)
18. González, Carlos. Carta a un productor de papas sobre el combate contra la "Maya". Suelo Tico 3(15-16): 223-224. 1949.
19. Grieve, B. J. On Bacterium solanacearum Smith as the causal agent of the brown rot disease of potatoes in Victoria. Roy. Soc. Victoria. Proc. (n. s.) 48(2):79-85. 1936. (Original no disponible para consultar; compendiado en Review of Applied Mycology 16(3):201. 1937.)
20. Hildebrandt, Albert. C. Some important galls and wilts of plantas and the inciting bacteria. Bacteriological Reviews 14(3):259-272. 1950.
21. Leach, Julian G. Insect transmission of plant diseases. New York, McGraw-Hill Book Co., 1940. pp. 201-202.
22. Levine, Max. An introduction to laboratory technique in bacteriology. Rev. ed. New York, Macmillan Co., 1933. 289 p.
23. Mata Q., Edgar. Exposición en el Seminario sobre la "Maya" de la Papa organizado por el Ministerio de Agricultura e Industrias en Cartago, el 10 de febrero de 1952. Informe sin publicar. 4 p. (mecanografiado)
24. Meier, F. C. & Link, G. K. K. Potato brown-rot. U. S. Dept. Agr. Dept. Cir. 281. 1923. 6 p.

25. Muller, H. R. A. De Aardappelsituatie op Java als gevolg van het optreden van eenige nieuwe ziekten. (The potato situation in Java in consequence of the occurrence of some new diseases.) Landbouw 13(6): 285-313. 1937. (In Dutch, English summary) (Original no disponible para consultar; compendiado en Review of Applied Mycology 17(1):59-60. 1938.)
26. Nattras, R. M. Note on the bacterial wilt disease of the potato in Kenya. East African Agr. J. 12(1):30. 1946.
27. Nielson, L. W. & Todd, F. A. Preliminary evaluation of some soil disinfectants for controlling southern bacterial wilt of potatoes. American Potato J. 22(7):197-202. 1945. (Original no disponible para consultar; compendiado en Review of Applied Mycology 25(7):317. 1946.)
28. Okabe, N. Studies on the variation of Bacterium solanacearum (preliminary report). Phytopath. Soc. Japan. An. 7(2):95-104. 1937. (In Japanese, English summary) (Original no disponible para consultar; compendiado en Review of Applied Mycology 17(5):303. 1938.)
29. Ramsey, Glen B., Wiant, J. S. & Smith, M. A. Market diseases of fruits and vegetables: potatoes. U. S. Dept. Agr. Misc. Pub. 98, rev. 1949. 60 p.
30. Smith, Thomas E. Control of bacterial wilt (Bacterium solanacearum) of tobacco as influenced by crop rotation and chemical treatment of the soil. U. S. Dept. Agr. Cir. 692. 1944. 16 p.
31. _____ D-D mixture as a soil treatment for bacterial wilt on tobacco. Phytopathology 37(5):371. 1947.
32. _____ Host range studies with Bacterium solanacearum. J. Agr. Res. 59(6):429-440. 1939.
33. Society of American Bacteriologists. Bergey's manual of determinative bacteriology. 6th ed. Baltimore, Md., Williams & Wilkins Co., 1948. pp. 137-138.
34. Tucker, C. M. Report of the plant pathologist: tomato diseases. Puerto Rico (Mayaguez) Agr. Expt. Sta. Ann. Rpt., 1925:34. 1927.

35. Van der Goot, P. Ziekten en plagen der cultuurgewassen in Nederlandsch-Indië in 1936. (Diseases and pests of cultivated crops in the Dutch East Indies in 1936.) Inst. PlZiekt, Batavia. Meded. 89. 1937. 104 p. (In Dutch) (Original no disponible para consultar; compendiado en Review of Applied Mycology 17(3):161-163. 1938.)
36. Van der Poel, J. Overzicht van de thans verkregen resultaten bij het onderzoek naar den invloed van verschillende meststoffen op de slijmziekte. (Survey of the results hitherto obtained in the investigation on the influence of various fertilizers on slime disease.) Deli-Proefst. Meded. Ser. 2, no. 99. 1938. 31 p. (In Dutch, English summary) (Original no disponible para consultar; compendiado en Review of Applied Mycology 17(9):631-632. 1938.)
37. Vaughan, Edward K. Bacterial wilt of tomato caused by Phytomonas solanacearum. Phytopathology 34(5): 443-458. 1944.
38. Walker, John C. Plant pathology. New York, McGraw-Hill Book Co., 1950. pp. 126-130.
39. Wardlaw, C. W. Diseases of the banana and of the manila hemp plant. London, Macmillan Co., 1935. pp. 177-207.

LITERATURA NO CITADA

- Blodgett, Earle C. & Rich, Avery E. Potato tuber diseases, defects, and insect injuries in the Pacific northwest. Washington Agr. Expt. Sta. Pop. Bul. 195. 1949. 116 p.
- Briant, A. K. Tomato diseases in Trinidad. Trop. Agr. (Trinidad) 9(3):63-71. 1932.
- Burkholder, Walter H. Varietal susceptibility among beans to the bacterial blight. Phytopathology 14(1):1-7. 1924.
- Clayton, E. E. & Foster, H. H. Diseases resistance in the genus Nicotiana. Phytopathology 30(1):4. 1940.
- _____ et al. Tobacco disease control by crop rotation Phytopathology 34(10):870-883. 1944.

- Davis, Glen N. Growing potatoes in California. California Col. Agr. Ext. Cir. 154. 1949. 22 p.
- Diseases of potatoes and tomatoes. Plant Dis. Rptr. 19(10):153. 1935.
- Dykstra, T. P. Potato diseases and their control. U. S. Dept. Agr. Farmers' Bul. 1881, rev. 1948. 53 p.
- Edgerton, C. W. & Moreland, C. C. Eggplant blight. Louisiana Agr. Expt. Sta. Bul. 178. 1921. 44 p.
- Fulton, H. R. & Stanford, E. E. Two wild hosts of Bacterium solanacearum. Phytopathology 6(1):108-109. 1916.
- Giddings, N. J. Potato and tomato diseases. West Virginia Agr. Expt. Sta. Bul. 165. 1917. 24 p.
- Hartley, Carl & Rands, R. D. Plant pathology in the Dutch East Indies. Phytopathology 14(1):8-23. 1924.
- Heald, F. D. Manual of plant diseases. 2d ed. New York, McGraw-Hill Book Co., 1933. pp. 323-388.
- Hedayetullah, S. & Saha, J. C. Bacterial wilt disease of tomato. Science and Culture 7(4):226-227. 1941.
- Kramer, M. & Amaral, J. Franco de; A identificacao da "murcha bacteriana" presente em culturas de batatinha do Estado de Sao Paulo. Biologico 10(7):199-207.
- Palo, M. A. & Calinisan, M. R. The bacterial wilt of the abaca (Manila hemp) plant in Davao. I. Nature of the disease and pathogenicity tests. Philippine J. Agr. 10(4):373-395. 1939.
- Riker, A. J. & Riker, R. S. Introduction to research on plant diseases; a guide to the principles and practice for studying various plant-disease problems. St. Louis, John S. Swift Co., 1936. 117 p.
- Roque, A. & Adsuar, J. The development of new varieties of eggplant resistant to bacterial wilt. Puerto Rico (Rio Piedras) Agr. Expt. Sta. Ann. Rpt. 1937-38: 44-45. 1939.
- Sherbakoff, C. D. Some important diseases of truck crops in Florida. Florida Agr. Expt. Sta. Bul. 139:191-277. 1917.

Smith, Erwin F. & Godfrey, G. H. Bacterial wilt of castor bean (Ricinus communis L.). J. Agr. Res. 21(4):255-262. 1921

_____ & McCulloch, L. Bacterium solanacearum in beans. Science (n. s.) 50(1288):238. 1919.

Smith, Thomas E. Distribution of bacterial wilt (Bacterium solanacearum) in successive crops of tobacco grown on the same fields. Phytopathology 33(11):1076-1080. 1943.

_____, Clayton, E. E. & Moss, E. G. Flue-cured tobacco resistant to bacterial (Granville) wilt. U. S. Dept. Agr. Cir. 727. 1945. 7p.

Stanford, E. E. & Wolf, F. A. Studies on Bacterium solanacearum. Phytopathology 7(3):155-165. 1917.

Stevens, F. L. & Sackett, W. G. The Granville tobacco wilt, a preliminary bulletin. Norte Carolina Agr. Expt. Sta. Bul. 188:75-96. 1903.

Thorold, C. A. The effects of certain crop rotations on the incidence of bacterial wilt disease (Xanthomonas solanacearum) of tomato. Trop. Agr. (Trinidad) 26(1-6):28-32. 1949.

Tisdale, W. B. Tobacco diseases in Gadsden County in 1922, with suggestions for their prevention and control. Florida Agr. Expt. Sta. Bul. 166:73-118. 1922.

Walker, John C. Diseases of vegetable crops. New York, McGraw-Hill Book Co., 1952. 529 p.

Weber, G. F. Potato diseases and insects. Florida Agr. Expt. Sta. Bul. 169:101-164. 1923.

_____ & Ramsey, G. B. Tomato diseases in Florida. Florida Agr. Expt. Sta. Bul. 185:57-138. 1926

Weij, H. G. van der. Desinfectie tegen Tabaksmozaiek. (Chemical control of tobacco mosaic.) Proefstation te Medan; Sumatra. Mededeelingen 3e serie, no. 6. 1940. 22 p. (In Dutch, English summary)

_____ Nieuwe Elementen in de Braeklandflora van het delische Tabaksgebied en hun Beteekenis voor het Slijziekte-vraagstuk. (New elements in the flora of fallow tobacco land in the Sumatra wrapper District and their importance for the slime disease problem (Ps. solanacearum)). Proefstation te Medan, Sumatra. Mededeelingen 3e serie, no. 6:14-25. 1940. (In Dutch, English summary)

Wolf, Frederick A. Additional hosts for Bacterium solanacearum.
Phytopathology 12(2):98-99. 1922.