

Inoculación de frejoles con *Phaseolus virus* I a partir de harina de semillas de plantas enfermas¹

Claudio R. Cafati K.²

El "Mosaico común del frejol" *Phaseolus Virus* I es una de las enfermedades que mayores pérdidas causa en el cultivo de esta leguminosa en el mundo, siendo en Chile la enfermedad más importante para este cultivo.

En trabajos de investigación y de mejoramiento para obtener variedades resistentes al *Phaseolus Virus* I, por lo general se emplea como fuente de virus, plantas infectadas de frejoles criadas en invernadero. Estas plantas se obtienen transmitiendo mecánicamente los virus desde plantas enfermas a sanas, operación que debe realizarse periódicamente ya que debe contarse siempre con este material en estado fresco.

Al stock de plantas infectadas debe mantenerse bajo condiciones adecuadas de temperatura, humedad y aireación en invernadero y dispensarle los cuidados necesarios de manera de asegurar una buena aislación del material, para evitar posibles contaminaciones con otros virus o strains. En general, es necesario un período de 25 a 40 días desde la siembra hasta el momento en que las plantas están en condiciones de ser utilizadas como inóculo. Este se prepara extrayendo savia de los tejidos verdes de las plantas infectadas y luego de diluirlo convenientemente (1/10 - 1/15)

¹Recepción manuscrito: 31 de julio de 1968.

²Ingeniero Agrónomo, Proyecto Leguminosas, Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Ayudante Cátedra Fitopatología Especial (Fitotecnia). Escuela de Agronomía. Universidad de Chile.

debe ser aplicado en las plantas en estudio, dentro de un lapso aproximado de 40 a 48 horas (si se mantiene a 20°C), ya que luego pierde su infectividad, por envejecimiento del virus.

La transmisión del PVI a través de la semilla fue ya informada por Reddick y Stewark en 1919 (3). Burkholder y Müller (1) determinaron que cerca del 50% de las semillas provenientes de plantas atacadas por el PVI, dan origen a plantas infectadas; George (2) en 1962, fue el primero en utilizar semilla en estado de latencia como fuente de virus. Wilson y Dean (4), utilizando harina de semillas de frejoles infectadas como fuente de virus, obtuvieron una alta infección tanto en plantas donde se empleó inóculo a base de harina fresca, como con harina que se mantuvo almacenada durante 31 meses a -2°C.

Metodología: Con semillas de la variedad Cristal Blanco procedentes de plantas fuertemente atacadas por PVI se obtuvo harina de frejoles moliéndolos en un molinillo Willey con malla de 40 mesh. Con esta harina se preparó un inóculo en forma de pasta, mezclando, en volumen, una parte de harina por dos de agua destilada. Luego, se inocularon plantas de las variedades Cristal Bayo, Tórtolas, Bountiful y Black Valentine, frotando el inóculo sobre las hojas primarias simples, previamente espolvoreadas con carborundum (abrasivo). Para eliminar el exceso de inóculo y abrasivo se lavaron posteriormente las plantas, pulverizándolas con agua destilada. En esta inoculación se utilizó harina recién

obtenida para la preparación del inóculo. Empleando la misma técnica y sobre las mismas variedades, se efectuó una segunda inoculación, usándose, en este caso, harina guardada durante dos meses en refrigerador a 4°C.

En ambas inoculaciones se dejaron plantas testigos de cada variedad, las que no fueron inoculadas.

Después de 10 a 25 días de efectuadas las inoculaciones, comenzaron a presentarse síntomas nítidos de ataque de "mosaico común" en todas las variedades, los que fueron intensificándose paulatinamente. En la primera inoculación, donde se empleó harina fresca, un 95% de las plantas resultaron infectadas y con harina guardada un 93%. Las plantas testigos en cambio, no mostraron síntomas, con excepción de un 4,5% de plantas de la variedad Cristal Bayo, que presentaron síntomas leves (posible transmisión del virus por la semilla).

Los resultados obtenidos a través de estas inoculaciones comprobaron la efectividad del uso de harina

de frejoles provenientes de plantas infectadas, como fuente de mosaico común del frejol. Esta metodología puede ser empleada, entonces, en investigaciones y trabajos de mejoramiento en frejoles con respecto a los virus transmisibles por la semilla. Su aplicación presenta algunas ventajas, principalmente de tipo práctico, sobre el método tradicional usado en inoculaciones artificiales:

- el inóculo puede ser guardado por un período prolongado como semilla o harina, no requiriendo de cuidados especiales.
- permite mantener el inóculo puro ya que no hay posibilidades de contaminaciones con otros virus.
- el inóculo está en condiciones de ser empleado en cualquier momento.
- los elementos necesarios y el procedimiento son simples y de fácil aplicación, economizando tiempo y espacio en el invernadero.
- asegura un alto porcentaje de infección.

S U M M A R Y

Plants of bean varieties Cristal Bayo, Tórtolas, Bountiful and Black Valentine were inoculated with bean flour which was obtained from seeds of Cristal Blanco plants strongly infected with *Phaseolus virus 1*.

The inoculum was prepared by mixing one part flour with two parts distilled water by volume, applying the paste by rubbing the primary leaves. Two inoculations were made; in the first one, fresh flour was used, and in the second, flour stored at 4°C for two months.

The infection obtained in all the varieties, with both forms of inoculum, was highly satisfactory, showing typical attack symptoms.

This methodology has advantages over the traditional methods used in artificial inoculations and might be used in investigations and bean breeding programs concerned with virus transmissible through seeds.

LITERATURA CITADA

1. BURKHOLDER, W. H., and MÜLLER S. A. Hereditary abnormalities resembling infectious diseases in beans. *Phytopathology* 45: 17-21. 1926.
2. GEORGE, J. A. A technique for detecting virus infected Montmorency cherry seeds. *Canadian Journal Plant Science* 42: 198-203. 1962.
3. REDDICK, D. and STEWART, B. V. Transmission of the virus of bean mosaic in seed and observations on thermal death - point of seed and virus. *Phytopathology* 9: 445-450. 1919.
4. WILSON, E. V. and DEAN L. L. Flour of infected bean seed as a source of virus. *Phytopathology* 54: 489. 1964.