

## Desinfección de semilla de judía (*Phaseolus vulgaris* L.) tipo granja asturiana con antifúngicos y antibacterianos.

A. J. GONZÁLEZ

Se evaluaron diferentes tratamientos desinfectantes sobre semillas seleccionadas visualmente y de destrío de judía tipo granja asturiana con el fin de seleccionar los más eficaces. Los productos ensayados como antifúngicos fueron desinfectantes generales (lejía, agua oxigenada), antifúngicos inorgánicos (permanganato potásico o cobre) y orgánicos (captan, tiram, etc.). Como antibacterianos se ensayó una formulación antibiótica (kasugamicina-oxiclóruo de cobre), una formulación de cobre (copac E) y como control un antibiótico (sulfato de estreptomocina) cuyo uso agrícola no está permitido en nuestro país. Los ensayos de eficacia se realizaron en el laboratorio y corroboraron con un trabajo en campo. La eficacia de los tratamientos generales y antifúngicos se determinó en base al grado de recuperación de hongos fitopatógenos y saprofitos tras el tratamiento y su efecto fitotóxico sobre la germinación de las semillas. La de los tratamientos antibacterianos se determinó mediante detección de antígenos de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* por la técnica ELISA-DAS. Los resultados a destacar fueron: 1) dos de los tratamientos ensayados, la mezcla de quintoceno y etridiazol y la lejía (sin realizar lavados posteriores) resultaron altamente fitotóxicos; 2) el antifúngico más eficaz fue el tiram seguido a cierta distancia del benomilo; 3) la presencia de *P.s.* pv. *phaseolicola* en semillas tratadas con las formulaciones de antibióticos fue inferior (estadísticamente significativa) que en las tratadas con copac y en el testigo; 4) los resultados con antifúngicos nos llevan a proponer el tratamiento con tiram (1,5 g/K de semilla), mientras que de los resultados obtenidos con antibacterianos (tanto en laboratorio como en campo) no nos permiten extraer una recomendación de tratamiento desinfectante; y 5) los datos del presente trabajo nos llevan a defender la obtención de semilla saneada mediante técnicas de exclusión de patógenos como alternativa al tratamiento químico antibacteriano.

ANA J. GONZÁLEZ : Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (S.E.R.I.D.A.), carretera de Oviedo s/n, 33300 Villaviciosa, Asturias.  
e-mail: [anagf@serida.org](mailto:anagf@serida.org)

**Palabras clave:** Desinfección, semilla, *Phaseolus vulgaris*, antifúngicos, antibacterianos.

### INTRODUCCIÓN

El cultivo de la judía (*Phaseolus vulgaris* L.) tipo granja asturiana ha experimentado un gran auge debido a los elevados precios

que alcanza ésta en el mercado. Sin embargo, no ha dejado por ello de tener las características de un cultivo tradicional en el cual los propios agricultores seleccionan y conservan su semilla para la siembra del año

siguiente. Este hecho, junto con el carácter autógeno de la especie, hace que el estado fitosanitario de la semilla tenga una gran trascendencia.

En un trabajo previo (TELLO *et al.*, 1990) se determinaron las micosis asociadas a semilla de judía tipo granja asturiana, así se determinó la presencia de *Colletotrichum lindemuthianum* en el 75% de las muestras de destrío analizadas y en el 45% de las seleccionadas visualmente, *Rhizoctonia solani* apareció en el 6% de las muestras de destrío, *Botrytis cinerea* en un 69 y 62% de las muestras de destrío y seleccionadas respectivamente, y, por último, *Fusarium* (incluyendo *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. poae* y *F. roseum*) se encontró en el 97 y 66% de las muestras de destrío y seleccionadas respectivamente. En este trabajo también se estudió la patogenicidad de los aislamientos encontrándose que las especies *B. cinerea*, *C. lindemuthianum*, *F. poae* y *R. solani* se comportaron como patógenos graves de la judía tipo granja asturiana. Posteriormente, se determinaron las bacteriosis presentes en la semilla de la judía tipo granja asturiana (GONZÁLEZ, 2000) que fueron *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, agente causal de la mancha parda de la judía y *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (*P. savastanoi* pv. *phaseolicola* según GARDAN *et al.*, 1999). El paso siguiente fue estudiar la eficacia de distintos tratamientos de desinfección de semilla para intentar atajar este problema. En el presente artículo se presentan los resultados del trabajo experimental realizado sobre desinfección de semilla para siembra, tanto con antifúngicos como con antibacterianos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### 1. Semillas utilizadas

En el estudio *in vitro* de la eficacia de productos antifúngicos, se utilizó semilla de judía de calidad comercial producida en el SERIDA (Villaviciosa, Asturias) y de destrío procedente del concejo de Siero (Asturias).

Para el ensayo en campo y en la evaluación de agentes antibacterianos se utilizó semilla de calidad comercial procedente del SERIDA.

### 2. Antifúngicos y antibacterianos ensayados como desinfectantes y formas de aplicación

Los antifúngicos utilizados se muestran en la Tabla 1. Entre ellos encontramos desinfectantes de uso corriente (lejía, agua oxigenada), fungicidas inorgánicos (permanganato potásico), y fungicidas frecuentes en el tratamiento de semillas como captan, tiram, etc. A petición de Sanidad Vegetal (Consejería de Medio Rural y Pesca. Principado de Asturias) se introdujo en el ensayo la mezcla de quintoceno y etridiazol, y también el acetato de guazatina, aunque ninguno de los dos está registrado para el tratamiento de semillas de judía.

Las dosis y forma de realizar el tratamiento ha sido siempre la recomendada por la casa comercial. En todos los ensayos se incluyó un lote testigo que se trató únicamente con agua destilada. Los tratamientos con los productos en forma de polvo mojable (tiram y benomilo) se realizaron añadiendo a 200 semillas la cantidad necesaria, según su peso, para la dosis de uso, se agitaron bien para distribuir el producto uniformemente y luego se añadieron 3 ml de agua destilada volviendo a agitar y, por último, las semillas se dejaron secar en estufa a 25°C durante 24 horas. Otros tratamientos se realizaron en seco como los de tiabendazol, quintoceno y cobre. La presentación comercial de captan y la mezcla de quintoceno y etridiazol fue en forma de líquido, por lo que se aplicó directamente la cantidad necesaria y se dejó secar en estufa en las mismas condiciones que los anteriores. Lo mismo ocurrió en el caso de la lejía, el agua oxigenada y el permanganato potásico, con la particularidad de que después del tratamiento con lejía se realizaron tres lavados con agua destilada para eliminar los restos de cloro; excepto en el tratamiento realizado a las semillas de destrío en el cual

se ensayó también la opción del tratamiento con lejía sin lavado posterior.

Tabla 1. Fungicidas utilizados en el ensayo de desinfección de semilla de judía granja asturiana

Materia activa	Dosis de uso
Tiram, TMTD	1,5 g/ K
Benomilo	4 g/ K
Tiabendazol	3 g/ K
Captan	15 g p.c./ L
Quintoceno (PCNB)	1 g/ K
PCNB (24%)+ etridiazol (6%)	6 cc/ K
Oxido de cobre	2 g/ K
Permanganato potásico	2,5 g/ L
Lejía comercial (55 g/l Cl <sub>2</sub> activo)	5,5 g/L
Agua oxigenada (35 volúmenes)	Sin diluir
Acetato de guazatina	200 cc/100 K

P.c. = producto comercial.

En la Tabla 2 se recogen los tres productos antibacterianos valorados en el ensayo de desinfección de semillas y la dosis ensayada. En la selección se tuvo en cuenta información previa sobre su eficacia e inocuidad. La kasugamicina es un antibiótico registrado para uso agrícola, autorizado en judía en una formulación (Kasumin-cobre, Lainco) que combina este antibiótico (5%) con el oxocloruro de cobre (45%). Otro producto ensayado fue el copac E, que es una solución acuosa de sulfato amóniocúprico con cobre metálico propuesto como altamente efectivo contra ciertos hongos y bacterias (ANÓNIMO, 1993) y registrado para su uso en judías en otros países, aunque no en España. Además, los tratamientos a base de cobre han sido los más tradicionales para las bacteriosis causadas por fitobacterias. Como control positivo

se utilizó estreptomycin (sulfato de estreptomycin, Sigma Chem Co), antibiótico cuya eficacia frente a *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* y *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* conocemos *in vitro* (GONZÁLEZ, 2000) y del que existen numerosas referencias en la bibliografía, aunque su uso agrícola tampoco está autorizado en nuestro país. Se añadió al ensayo una cuarta opción que fue un testigo, como control negativo, que se trató únicamente con agua destilada. La aplicación de los tratamientos se hizo de forma similar a la descrita para los fungicidas, dejando secar las semillas tras el tratamiento en estufa a 25°C.

Tabla 2. Antibacterianos utilizados en el ensayo de desinfección de semilla de judía granja asturiana

Materia activa	Dosis de uso
Kasugamicina+ oxicloruro de cobre	0,5 g/K de semilla
Sulfato amóniocúprico+cobre	1 %
Sulfato de estreptomycin	1g/K de semilla

### 3. Evaluación de la eficacia de los tratamientos. Efecto sobre la germinación.

**Ensayos en laboratorio.**- En los ensayos con antifúngicos, la contaminación microbiana de la semilla fue evaluada siguiendo el método del Ulster (MUSKETT y MALONE, 1941) y el medio de cultivo empleado fue el APD (Agar de patata y dextrosa). La identificación de los hongos se realizó por observación al microscopio utilizando las claves de BARNETT y HUNTER (1972) y VON ARX (1974). El efecto fitotóxico de los tratamientos sobre la germinación de las semillas se estudió ensayando, en cada caso, 100 semillas tratadas puestas a germinar en cámara húmeda a 25°C y oscuridad durante 7 días. Se realizaron dos recuentos, a los tres y a los siete días, dando por finalizado el ensayo y

considerando no germinadas aquellas que no lo estuvieran al 7º día.

La desinfección con antibacterianos se evaluó analizando 100 semillas por tratamiento. Las semillas se sembraron en vermiculita desinfectada, humedecida y colocadas a 22°C. Una vez germinadas, una de las hojas cotiledonales se analizó mediante la técnica ELISA-DAS utilizando un suero obtenido en la Universidad Politécnica de Valencia frente a *P. s. pv. phaseolicola* (cepa 1390 CFBP).

Los resultados de presencia de patógenos obtenidos en ambos casos se analizaron mediante un test  $\chi^2$  (STEEL y TORRIE, 1980).

**Ensayos en campo.** El contraste en campo del mejor resultado obtenido en la desinfección con antifúngicos se llevó a cabo en tres parcelas situadas en distintas zonas de la geografía asturiana: occidental, (Cane-ro, concejo de Valdés); oriental (Infiesto, concejo de Piloña) y central (Argüelles, concejo de Siero). Se evaluó únicamente el tiram, por ser el producto que presentó una mayor eficacia en los ensayos de laboratorio, respecto al testigo sin desinfectar. La semilla utilizada procedía del SERIDA (Villaviciosa). El diseño del experimento fue aleatorizado por bloques y con tres repeticiones. La parcela elemental se definió como el espacio necesario para la siembra de 100 semillas en cuatro surcos de 25 semillas cada uno, en golpes de dos. Se respetó el marco de plantación y sistema de tutorado empleado por cada agricultor para integrar el ensayo dentro del manejo de la finca. Los parámetros utilizados para medir la eficacia de los distintos tratamientos fueron la nascencia y producción medias, definidas como la media de ambos parámetros en las tres repeticiones de cada parcela. Los datos se analizaron mediante un test  $\chi^2$  de contingencia y se calculó el coeficiente de correlación  $\phi$  (UNED, 1982).

El ensayo en campo de desinfección con agentes antibacterianos se llevó a cabo en las instalaciones del SERIDA en Villaviciosa utilizando semilla de judía procedente de sus cultivos. El diseño del experimento fue alea-

torizado con cuatro repeticiones. Cada parcela elemental contenía 100 semillas distribuidas en cuatro surcos de 25 semillas cada uno, en golpes de dos. El ensayo estuvo fuertemente afectado por la sequía no siendo posible el riego; por lo que se retiró antes de concluir el cultivo, una vez obtenidos los datos de nascencia. Los datos se trataron mediante un test *t* de Student sobre las medias muestrales.

## RESULTADOS

### Desinfección con antifúngicos. Efecto sobre la germinación.

Los resultados de la desinfección con antifúngicos realizada a semilla seleccionada visualmente y a semilla de destrío se recogen en las Tablas 3 y 4, respectivamente.

Con semilla seleccionada visualmente, cinco tratamientos antifúngicos, tiram, benomilo, captan, quintoceno y la mezcla de quintoceno y etridiazol, redujeron el porcentaje de infección hasta eliminar los hongos fitopatógenos de los que se había constatado su presencia en el testigo, *Botrytis cinerea* y *Fusarium* (Tabla 3). Sin embargo, aplicando un test  $\chi^2$  con un nivel de significación  $\alpha=99$ , la reducción no fue estadísticamente significativa dado el bajo porcentaje de infección del testigo.

Utilizando semillas de destrío (Tabla 4) se puede evaluar mejor el efecto de los tratamientos desinfectantes. Se encontraron diferencias significativas ( $\chi^2$ ,  $\alpha=99$ ) entre las semillas tratadas y el testigo respecto a la presencia de *Colletotrichum lindemuthianum* en los tratamientos realizados con tiram, benomilo, captan, PCNB y lejía (opción B). No se ensayó la mezcla de PCNB y etridiazol al resultar fitotóxica en el ensayo de germinación realizado. Por otro lado, no fue significativa, en ningún caso, la reducción del porcentaje de otras especies fúngicas debido a que su presencia fue baja incluso en el testigo. Así tenemos que *Fusarium* se encontraba en un 4% de las semillas

**Tabla 3. Eficacia de los tratamientos de desinfección en semilla seleccionada visualmente, de judía tipo granja asturiana, medida por la presencia de hongos tras el tratamiento (porcentaje de cada género sobre el total de semillas analizadas)**

PRODUCTO	<i>Alternaria</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Stemphillium</i>	<i>Trichoderma</i>	N. I.
Tiram	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Benomilo	3	-	-	1	-	-	3	-	-	-
Tiabendazol	2	-	-	67	2	1	4	-	-	3
Captan	4	-	-	2	-	2	2	1	-	1
PCNB	1	-	-	31	-	1	-	-	-	4
PCNB+etridiazol	1	-	-	27	-	4	-	-	-	-
Cobre	10	-	1	62	-	17	1	-	-	2
KMnO <sub>4</sub>	14	-	-	27	2	7	-	-	-	1
Lejía	3	-	-	1	1	7	3	-	-	-
Agua oxigenada	1	4	-	4	1	16	2	-	1	-
Guazatina	1	-	-	1	1	3	2	-	-	-
Testigo	4	1	1	10	2	6	1	-	-	1

NI = no identificado.

**Tabla 4. Eficacia de los tratamientos de desinfección en semilla de destrío, de judía tipo granja asturiana, medida por la presencia de hongos tras el tratamiento (porcentaje de cada género sobre el total de semillas analizadas)**

PRODUCTO	<i>Alternaria</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Botryotrichum</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>C. lindemuthianum</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>T. roseum</i>	N.I.
Tiram	-	-	-	-	1	7	-	6	-	1	-	1
Benomilo	1	-	-	-	-	17	2	-	-	-	-	-
Tiabendazol	6	2	-	1	-	61	1	44	-	-	-	4
Captan	3	-	-	-	-	40	-	1	2	-	-	-
PCNB	2	-	-	-	-	32	-	11	-	-	-	-
Cobre	-	2	1	-	10	61	3	13	-	-	-	-
KMnO <sub>4</sub>	3	1	1	-	3	66	2	25	2	-	-	4
Lejía (A)	-	-	-	-	1	55	3	10	-	1	-	1
(B)	-	-	-	-	1	41	3	10	-	-	-	-
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1	-	-	-	2	47	1	7	-	-	-	-
Testigo	3	2	1	-	35	69	4	18	7	-	5	3

N.I.= no identificado

Tabla 5. Resultados del ensayo en campo de desinfección de semillas

Parcela	Tratamiento	Plantas nacidas <sup>a</sup>	N.M./Parcela	Producción (g)	P.M./Parcela
Siero	Testigo	249	84	11.800	3.933,33
	Tiram	291	96,6	13.000	4.500
Valdés	Testigo	255	85	6.307,61	2.102,53
	Tiram	262	87,3	5976,42	1992,14
Piloña	Testigo	190	63,3	2.900	966,66
	Tiram	237	79	3.150	1.050

N.M.= Nascencia media; P.M.= Producción media; a= sobre una población de 300 semillas sembradas.

sin tratar, de forma que, aunque el tratamiento haya eliminado la presencia de este hongo, su reducción no es estadísticamente significativa.

De la observación de las Tablas 3 y 4 podemos apuntar como relevante la diferente presencia que tienen géneros saprófitos y patógenos. Así, en la semilla de destrío aparece mayoritariamente *C. lindemuthianum* con un 69% de presencia en el testigo, que se reduce a un 7% tras el tratamiento con tiram y a un 17% tras el tratamiento con benomilo; mientras que otros tratamientos, como el tiabendazol, el cobre o la lejía, apenas reducen su presencia. Algunos saprófitos como *Cladosporium*, que también tenía una importante presencia en el testigo, se reducen con todos los tratamientos ensayados en el caso de la semilla de destrío.

En la Tabla 5 se recogen los resultados obtenidos en el ensayo realizado en campo, en el cual se evaluó la eficacia del tiram respecto a un testigo sin tratar. Mediante un test  $\chi^2$  de contingencia se ha rechazado la hipótesis de independencia entre tratamientos y nascencia, excepto en la parcela de Valdés. En la parcela de Siero, el coeficiente de correlación ( $\phi$ ) fue 0,23 y en la de Piloña 0,17. En producción no se han obtenido diferencias significativas entre tratadas y testigo, en ninguna de las parcelas. En la finca de Valdés el resultado de producción de la parcela tratada por debajo del testigo resultó paradójico, pues fue el que había tenido una nascencia más elevada y, por tanto, mayor

número de plantas en producción. Los resultados de producción en la finca de Piloña son muy bajos debido principalmente a que la siembra fue muy tardía, pues hubo que resembrar a causa de un fuerte ataque de *Delia platura* Meigen. Es de destacar, a pesar de todo, que en todos los casos, la nascencia fue mayor en las tratadas que en el testigo.

El efecto de los distintos tratamientos sobre la germinación de las semillas se muestra en la Tabla 6. En este caso sólo existieron diferencias significativas con PCNB+etridiazol sobre semilla seleccionada visualmente, que resultó muy fitotóxico a las dosis ensayadas.

Tabla 6. Porcentaje de germinación de las semillas desinfectadas con fungicidas

Producto	Semilla Comercial	Semilla de destrío
Tiram	97	95
Benomilo	96	79
Tiabendazol	98	99
Captan	97	91
Cobre	91	91
PCNB	100	91
PCNB+Etridiazol	38	-
KMnO <sub>4</sub>	99	94
Lejía	98	92 (a) / 66 (b)
Agua oxigenada	93	93
Testigo	98	98

(a)= tratamiento con lavado posterior; (b)= sin lavado.

**Desinfección con antibacterianos.**

En cuanto al ensayo de desinfección con antibacterianos, los resultados se recopilan en las Tablas 7 y 8. En la Tabla 7 se muestran los resultados obtenidos en el ensayo de campo, donde puede observarse que la nascencia media fue mayor en el testigo sin tratar, pero con un resultado que no difiere significativamente del obtenido por la kasugamicina con cobre y la estreptomycin. El tratamiento desinfectante menos eficaz, con diferencia, fue el copac. Comparando las medias muestrales de los distintos tratamientos mediante una prueba t de Student, sólo se obtuvieron diferencias significativas con el testigo en el caso del copac.

En la Tabla 8 se representa el resultado obtenido en el ensayo realizado en laboratorio. Comparando la nascencia de las tratadas respecto al testigo mediante una  $\chi^2$  no se encontraron diferencias significativas ( $\alpha=99\%$ ). Respecto a la presencia de la bacteria, la reducción resultó significativa en el caso de la kasugamicina con cobre y de la estreptomycin cuando se aplicó el mismo test. Las diferencias de nascencia en este caso no fueron muy acusadas entre los tres tratamientos; sin embargo, sigue siendo mayor en el testigo sin tratar. En cuanto a su eficacia, la estreptomycin fue el antibiótico que más redujo la presencia del patógeno, seguido por la kasugamicina. El copac apenas parece tener efectividad.

Tabla 7. Nascencia de semillas de judía en parcelas experimentales tratadas con antibacterianos

Producto	Total nacidas/ Sembradas	Media	Error típico
Kasugamicina	277/400	69,75	3,90
Copac	48/400	12	3,55
Estreptomycin	242/400	60,5	6,63
Testigo	279/400	69,25	4,64

Tabla 8. Nascencia y presencia de *Pseudomonas syringae. pv. phaseolicola* en semillas de judía granja asturiana tratadas con agentes antibacterianos en el laboratorio

Producto	Nascencia*	Presencia de <i>P.s.</i> *
Copac	74	12
Estreptomycin	75	1
Kasugamicina	78	3
Testigo	90	13

\* sobre un total de 100 semillas por tratamiento.

**DISCUSIÓN**

De los resultados obtenidos en el ensayo de desinfección con fungicidas recomendados para una amplia gama de semillas como son tiram, tiabendazol, benomilo, captan, PCNB y PCNB+ etridiazol, se encontró que varios reducían el porcentaje de hongos fitopatógenos en la semilla de destrío de forma significativa y de ellos, el tiram era el que tenía una acción más importante seguido ya a cierta distancia por el benomilo, que redujo muy significativamente la presencia de *C. lindemuthianum*, pero no eliminó *Fusarium* spp. Estos resultados apoyan los descritos hace tres décadas por MESSIAEN y LAFON (1968), que ya citaban al tiram como el fungicida más interesante “ya que además de tener una eficacia general muy buena, estimula la germinación y la nascencia”.

Respecto a la reducción en el porcentaje de infección por hongos en la semilla seleccionada, los productos que mejor se comportaron fueron tiram, benomilo, quintoceno y su mezcla con el etridiazol, captan, y permanganato potásico. Pero estos resultados no son estadísticamente significativos, dado que el porcentaje de infección de la semilla de partida era muy bajo (2% de hongos patógenos). Es de señalar que la mezcla de PCNB y etridiazol ha resultado muy fitotóxica a la dosis ensayada.

Los productos que actúan como desinfectantes del tegumento de la semilla, como

el permanganato potásico, la lejía o el agua oxigenada, tienen escasa efectividad en la desinfección de semilla de judía granja asturiana que tiene un gran tamaño y una superficie muy lisa. Ahora bien, podrían obtenerse mejores resultados en semillas de pequeño tamaño con pilosidad y/o rugosidades. De hecho en ensayos realizados por otros autores (TELLO, comunicación personal; GIL, 1991) se ha comprobado que la lejía es eficaz y el permanganato potásico, al ser menos fitotóxico, podría incluso ser mejor.

Otros productos recomendados para el tratamiento de semillas tales como tiabendazol, cobre y captan, tampoco han dado buenos resultados con la semilla de judía granja asturiana de destrío. El quintoceno se mantiene en una eficacia media entre todos los tratamientos ensayados, pues reduce a algo menos de la mitad el porcentaje de infección por *C. lindemuthianum* y elimina *Fusarium* spp. Medir una eficacia para parásitos como *C. lindemuthianum* que se dispersan muy fácilmente, debe tender a reducir totalmente la infección, puesto que de otra forma, a partir de un pequeño número de colonias, en las condiciones adecuadas de propagación podría ocasionarse una epidemia.

En la semilla seleccionada visualmente se encuentra una mayor presencia de *Alternaria* y *Cladosporium*, que son hongos saprófitos que ocuparían un mayor "espacio" en una semilla más limpia y, por tanto, con más espacio para colonizar. La importante presencia de estos hongos sobre semilla seleccionada visualmente y tratada es una observación que puede llevarnos a una reflexión interesante sobre el papel que juegan los hongos saprófitos como colonizadores de la semilla. En este sentido, se han intentado utilizar tratamientos de "espolvoreo" con especies fúngicas que se consideran buenas colonizadoras; sin embargo, estos tratamientos no se han consolidado porque tienen una eficacia más que dudosa. Artificialmente resulta difícil, por tanto, reproducir lo que ocurre de forma natural con estas especies. Es interesante, pues, considerar que la desin-

fección de la semilla, con ser una práctica recomendable, podría combinarse con otros tratamientos en los que la semilla se pusiese en contacto con microorganismos que tengan una relación positiva con el huésped, de cara a un mejor desarrollo del mismo.

En cuanto al efecto sobre la germinación, se detectó diferente grado de fitotoxicidad con los productos ensayados. Así, la mezcla de quintoceno y etridiazol resultó ser muy fitotóxica sobre semilla seleccionada, por lo que ya no se ensayó en destrío. La lejía resultó también ser muy fitotóxica siempre y cuando no se realizasen posteriores lavados con agua, pues es sabido que el cloro reduce la germinación. Sin embargo, los restantes tratamientos no han afectado significativamente a la germinación de las semillas.

Respecto al contraste de resultados en campo, en todos los casos el tiram mejoró la nascencia respecto al testigo. Los datos de producción no son tan concluyentes, pero hay que tener en cuenta que en este parámetro influyen muchos factores a lo largo del cultivo que pueden hacer que la producción final se desvíe considerablemente de la esperada según los datos iniciales de nascencia; a pesar de lo cual lo hemos mantenido como una referencia indirecta del resultado de la desinfección ya que tiene relación con el número de plantas que llegaron a producir.

Para concluir, es necesario hacer una reflexión, pues estos datos se han obtenido con una semilla de destrío típica de Asturias y, por lo tanto, fuertemente infectada por *C. lindemuthianum*. Esto quiere decir que el comportamiento de los productos y las conclusiones obtenidas pueden no ser generalizables para semillas infectadas por hongos diferentes de los aquí contemplados. Sin embargo, la recomendación del tratamiento con tiram nos parece una buena medida puesto que es un producto de amplio espectro que ha demostrado no tener efectos negativos sobre la germinación de las semillas. Luego como resumen podría admitirse el tiram como la opción fungicida más eficaz de las ensayadas para proteger las semillas.

Con los resultados obtenidos en el tratamiento de desinfección con antibacterianos (estreptomycina, kasugamicina con cobre y copac) no nos es posible recomendar la realización sistemática de tratamientos de semillas de judía, más que en casos muy concretos en los que sea interesante tratar la muestra por su valor como recurso fitogenético. Además, dado que algunos antibióticos, aunque con un uso restringido, todavía tienen utilidad en sanidad humana y más aún en sanidad animal, no deberían utilizarse de ninguna manera en agricultura. Ese sería el caso de la estreptomycina (no autorizada en nuestro país, pero sí en otros) y el cloranfenicol, del cual ha habido algunas formulaciones en el mercado para uso agrícola que lo combinan con otros agentes químicos.

Los datos expuestos apoyan que debería evitarse el tratamiento quimioterápico para erradicar las bacterias fitopatógenas de las semillas dado que, además de su escasa eficacia, puede suponer graves problemas a la salud pública por una doble contraindicación,

por un lado restos de antibiótico pueden llegar a las partes comestibles de la planta y de ahí pasar a la cadena alimentaria humana y, por otro lado, la presencia de antibiótico puede seleccionar cepas resistentes a las moléculas utilizadas y a otras de la misma familia por mecanismos de resistencia cruzada. En caso necesario, la kasugamicina sería la alternativa. Estas consideraciones llevan a plantearse, en el caso de las bacterias, tratar de sanear la semilla mediante la exclusión del patógeno como alternativa más útil al tratamiento químico que serviría además para sanear simultáneamente el material de virus y, de esta manera, obtener una semilla de siembra saneada.

## AGRADECIMIENTOS

A la Prof<sup>a</sup> Concepción Jordá por la elaboración de un suero frente a *P. syringae* pv. *phaseolicola*. A la Prof<sup>a</sup> M<sup>a</sup> Carmen Mendoza y al Prof. Julio César Tello por la revisión crítica de este trabajo.

## ABSTRACT

GONZÁLEZ A. J. 2003. Bean seed (*Phaseolus vulgaris* L.) type "granja asturiana" disinfection with fungicides and bactericides. *Bol. San. Veg. Plagas*, **29**: 461-470.

Several disinfectant products for bean seeds (visually with and without disease symptoms) of *Phaseolus vulgaris* L. were evaluated in order to obtain healthy bean seeds to be used for sowing. The products tested as fungicides were general disinfectants (bleach, oxygenated water) and specific fungicides (captan, thiram,...) and as antibacterials (kasugamycin-copper, estreptomycin and copac E). The efficacy assays were carried out in the laboratory and then contrasted with field work. The disinfectant efficacy was evaluated in terms of the number and type of species and c.f.u. number of the different species of fungi recovered from the treated bean seeds and the detection of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* by an ELISA-DAS test; as well as by the phytotoxicity of the treatment (germination power of the treated seeds vs. the control). The most relevant findings were: i) two products, the quintozone and etridiazole mixture and the bleach were highly phytotoxic, ii) the most efficient fungicide was thiram, followed by benomyl, iii) the presence of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in seeds treated with kasugamycin-copper or streptomycin was much lower than with copac and the control; iv) results from the fungicides led us to propose the treatment with thiram (1,5 g/K of seed) as an efficient disinfectant treatment but results from the antibacterials do not enable us to make a choice for treatment; and v) results from this work led us to propose the selection of healthy seed by procedures of pathogen-exclusion as an alternative to chemical antibacterial treatment.

**Key words:** Disinfection, seed, *Phaseolus vulgaris*, fungicides, bactericides.

## REFERENCIAS

- ANÓNIMO. 1993. F & N Tests.
- BARNETT, H.L., HUNTER, B.B. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. 3ª ed. Burgess Publishing Co, Minneapolis, USA, 241pp.
- GIL, R. 1991. Transmisión de enfermedades por las semillas de hortalizas. Su prevención. Hojas Divulgadoras N°6/90HD, MAPA, 16pp
- GARDAN, L., SHAFIK, H.L.; BELOUIN, S.; BROCH, R.; GRIMONT, F.; GRIMONT, P.A.D. 1999. DNA relatedness among the pathovars of *Pseudomonas syringae* and description of *Pseudomonas cannabina*, sp. Nov. (ex Susic and Dowson, 1959). Int. J. Syst. Bacteriol. 49: 469-478.
- GONZÁLEZ, A.J. 2000. Microbiota patógena en semilla de judía tipo granja asturiana. Obtención de semilla sana. Tesis Doctoral, Universidad de Oviedo, 132pp.
- MESSIAEN, C.M., LAFON, R. 1968. Enfermedades de las hortalizas. Ed. Oikos-tau, Barcelona, 361 pp.
- MUSKETT, A.E., MALONE, J.P. 1941. The Ulster method for the examination of flax seed for the presence of seed-borne parasites. Ann. appl. Biol. 28: 8-13
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. 1980. Principles and procedures of statistics (2ª ed) McGraw-Hill Book Co, New York.
- TELLO, J.C., GONZÁLEZ, A.J., VARÉS, F., FUEYO, M.A. 1990. Espermatoflora de las judías (*Phaseolus vulgaris* L.) para siembra de Asturias. ITEA, 86 (2): 67-74
- UNED. 1982. Estadística (aplicada a la Biología). Ministerio Educación y Ciencia, 222 pp.
- VON ARX, J.A. 1974. The genera of fungi sporulating in pure culture. 2ª ed J. Cramer, Vaduz, 315 pp.

(Recepción: 19 diciembre 2002)

(Aceptación: 10 junio 2003)