

CADERNOS DA ÁREA DE CIENCIAS AGRARIAS

13

CONGRESO GALEGO DE
PROTECCION VEXETAL



1993

PUBLICACIÓNS DO SEMINARIO DE ESTUDOS GALEGOS

A FUSARIOSE VASCULAR DO CARAVEL EN GALICIA

Andrés Ares, X. L.

Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo

RESUME

O obxectivo primordial do presente traballo era tratar de estudar o comportamento do patóxeno *Fusarium oxysporum f. sp. diathi* en relación co seu hospedeiro, nas condicións de clima e solo de Galicia. Con este fin realizáronse sucesivas prospeccións nas oito zonas mais importantes de cultivo na Comunidade Autónoma, nas que se recopilaron un total de 49 cepas do fungo. Nos invernadeiros do C.I.A.M. realizáronse sendos ensaios de inoculación das cepas recopiladas, confirmando a súa patoxenicidade e cuantificando esta mesma. Un total de 36 cepas resultaron ser patóxenas tendo unha patoxenicidade moi variable. Por último inoculando estas cepas, así como 6 patotipos enviados por GARIBALDI, sobre seis variedades caracterizantes tratouse de determinar o comportamento de ditas 6 razas enviadas polo científico italiano, así como de clasificar as 49 cepas recollidas en Galicia e 9 recopiladas en Murcia, en algún dos 8 patotipos que se citan na bibliografía, obtendo resultados bastante positivos.

SUMMARY

The main aim of the present project was the study of the behaviour of *Fusarium oxysporum f. sp. dianthi* in relation with its host, on the soil and climate conditions of Galicia. With this aim, several prospections at the eight most important carnation cultivation zones were made, during these prospections a total number of 49 strains of the pathogen were isolated and recollected. These strains were inoculated at the C.I.A.M. greenhouses, in order to prove and quantify their pathogenicity. 36 strains were confirmed to be pathogenic. Last of all we tried to classify these 49 Galician strains, as well as 9 prospected at Murcia, onto one of the 8 razes that the Italian and Dutch pathologists have discovered, obtaining some quite interesting results.

INTRODUCCION

O caravel *Dianthus caryophyllus L.*, representa, con 98 ha de superficie dun total de 270 ha adicadas ó cultivo protexido, ó cultivo intensivo de maior extensión na Comunidade Autónoma. Entre os numerosos patóxenos que atacan a este cultivo

cicais sexa *Fusarium oxysporum dianthi* o que produza unha maior cantidade de perdas económicas noutras zonas de cultivo tanto en España como do resto de Europa (Tello, Lacasa, 1990; Tramier, 1982). O obxectivo dos sucesivos mostreos, análises e ensaios, cujos resultados trataremos de sintetizar no presente traballo, era o estudo do comportamento do fungo en relación coa planta e o solo con vías de tratar de aportar algunha luz sobre o escuro campo de control da enfermidade.

Primeiramente tratouse de determinar a incidencia da enfermidade en Galicia mediante sucesivos mostreos nas 8 zonas máis importantes de cultivo (Betanzos, A Estrada, O Salnés, Redondela, O Rosal, Ribadavia, O Ferrol e Padrón), paralelamente recopilouse o maior número de cepas do fungo en cada unha das zonas prospectadas. Nos invernaderos do C.I.A.M. realizáronse sucesivas inoculacións das cepas recopiladas sobre varias variedades de caravel, coa finalidade de confirmar e cuantificar a súa patoxenicidade así como caracterizar ditas cepas en algún dos 8 patotipos que a xuício dos autores GARIBALDI e BAAYEN existen nesta forma especializada de *Fusarium oxysporum*.

MATERIALES E METODOS

* **Metodoloxía de mostreo:** no primeiro mostreo escolléronse 3 invernadeiros tipo de cada unha das zonas importantes de cultivo: un de recente implantación, outro de segunda e o terceiro de terceira ou cuarta plantación. Para a realización destes mostreos decidimos utilizar, tanto as Axencias de Extensión Agrarias como as cooperativas de comercialización como intermediarios.

No segundo mostreo visitouse o maior número de invernadeiros afectados, de cada zona a xuício dos axentes do S.E.A., coa finalidade dobre de: valorar a extensión da enfermidade na zona e recopilar o maior número de cepas do patóxeno.

En cada invernadeiro primeiramente valorouse «de visu» a superficie afectada, e posteriormente recopiláronse de 10-15 plantas afectadas por bancal. No Cadro 1 podemos apreciar a superficie mostreada por zona, 1 por provincia e en Galicia.

* Metodoloxía de análises microbiolóxicas:

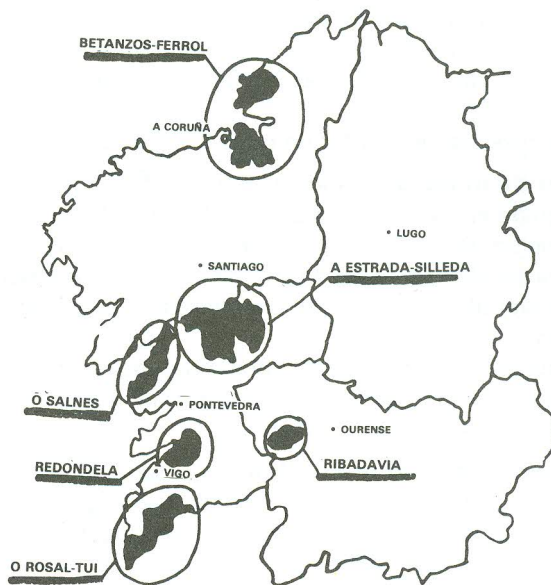
O primeiro paso realizado no laboratorio foi a descrición dos síntomas tanto externos como internos das plantas mostreadas. Unha vez seccionada a planta e escollida a zona afectada máis apropiada para a análise pasamos a levar ditas fraccións do talo eliminando os posibles restos de terra ou sustrato. Posteriormente flameáronse as fraccións para sementalas en medio de cultivo, unha vez secas no papel de filtro.

Os medios de cultivo utilizados foron 3:

- Medio microbiolóxico xeral: Agar de patacas glucosado PDA.
- Medio selectivo para *Fusarium*: medio Komada.
- Medio específico para *Phytophthora* e *Pythium*: medio Ponchet.

As placas permañeceron a temperatura de laboratorio e foron leídas cada 48 horas durante 15 días. Repicáronse as colonias que aparecían dos seguintes fungos: *Fusarium oxysporum* vascular, *Fusarium roseum*, *Phialophora* spp., *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* spp.. As cepas recopiladas destes fungos repicáronse a micote-

EL CLAVEL EN GALICIA



CADRO 1

MOSTREO DE INVERNADEIROS DE CARAVEL EN GALICIA

Zona	Provincia	Superficie total baixo plástico (m ²)	N.º explotacións mostreadas	Superficie mostreada (m ²)
Betanzos	A Coruña	230.000	8	4.190
A Estrada	Pontevedra	< 30.000	5	4.312
O Salnés	Pontevedra	230.000	3	6.300
Redondela	Pontevedra	30.000	9	7.100
O Rosal	Pontevedra	400.000	7	5.100
Ribadavia	Ourense	30.000	4	3.400
O Ferrol	A Coruña	96.000	10	8.080
Padrón	A Coruña	195.000	6	4.600
<hr/>				
A CORUÑA		716.000	24	16.870
PONTEVEDRA		900.000	24	22.812
OURENSE		30.000	4	3.400
<hr/>				
TOTAL		1.646.000	52	43.082

NOTA: Superficie total de cultivo protexido adicado a cultivos hortícolas e a flor, donde ésta representa o 40% da devandita superficie, e o caravel, o 36%.

ca na que se utilizaban tubos de ensaio de 15 mL con medio de cultivo mineral Czapeck, recheos con vaselina líquida estéril unha vez repicado e desenrolado o fungo.

* **Análises microbiolóxicas de esqueixes:** os esqueixes recibidos laváronse, eliminando todo tipo de terra ou sustrato para, posteriormente, sementar a zona do tallo nos medios de cultivo: microbiolóxico xeral PDA e selectivo para *Fusarium* (Komada).

A lectura realizouse da mesma forma que no caso das plantas enfermas.

* **Preparación de inóculos:** os inóculos elaboráronse mantendo as cepas en medio Czapeck líquido en axitación (Baayen, 1988). Unha vez preparado realizouse o conteo microscópico das conidias utilizando unha cámara de Burk. A concentración de conidias foi axustada a 1 millón de conidias por ml. A inoculación realizouse por rego directo ó sustrato, no momento en que as plantas arraigaron e atopábanse en pleno desenrolo.

No ensaio de caracterización de patotipos optamos por cambiar de sistema de inoculación: sumerxíronse as raíces dos esqueixes nunha suspensión de propágulos do fungo en auga destilada durante 30 minutos.

* **Deseño dos ensaios de inoculación:** no ensaio de patoxenicidade utilizouse unha variedade de caravel sensible á fusariose como é Kali; plantáronse 15 esqueixes por cubeta e inoculouse unha cepa en cada cubeta. O sustrato utilizado foi unha mezcla de area, turba e humus a partes iguais esterilizando no autoclave durante 30 minutos. No ensaios de caracterización de patotipos inoculamos cada unha das cepas recollidas sobre 6 variedades caracterizantes de caravel.

Os ensaios realizáronse en banquetas elevadas de invernadeiro de vidro con apoio térmico no inverno. As temperaturas e humidades foron recollidas semanalmente por un termohidrógrafo. As técnicas culturais realizadas foron as seguintes: non se realizou ningún tipo de fertilización para evitar alterar a flora microbiana e aplicáronse tratamentos fitosanitarios con ZINEB para evitar ataques dos fungos da parte aérea.

* **Valoración de síntomas:** a gravidade da enfermidade determinouse visualmente mediante unha escala de síntomas que iba de 0: planta sá, ata 7: planta morta.

RESULTADOS E DISCUSION

Tras realizar unha revisión bibliográfica sobre as enfermidades fúnxicas que atacan ó caravel, observamos como a maior parte dos autores especializados (Albertos García e Odriozola Azurmendi, 1976; Herreros Delgados, 1979; Cebolla, 1982; Tello, Lacasa, 1990) destacan a fusariose vascular como enfermidade mais importante dos invernadeiros mediterráneos de caravel. Pero dadas as condicións edafoclimatolóxicas de Galicia, cabía a posibilidade que outra enfermidade de tipo vascular, como a producida por *Phialophora cinerescens* mais frecuentes en zonas con clima mais fresco, ou ben outras enfermidades producidas por fungos do solo, como *Phytophthora* ou *Rhizoctonia*, tiveran maior importancia que a traqueofusariose.

Este interrogante foi aclarado tras os resultados dos mostreos, que veñen reflexados no Cadro 2 de flora fúnxica obtida nas análises de plantas enfermas. Nesta táboa reflexamos a porcentaxe de plantas na que se aillou cada fungo respectivo so-

CADRO 2

FLORA FUNXICA DAS ANALISES MICROBIOLÓXICAS

FUNGOS	ZONAS DE MOSTREO								COR	PONT	OUR.	GLOBAL
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII A				
Alternaria sp	2.4	12.7	8.0	3.8	3.9	2.9	4.2	0.9	2.7	8.4	1.6	4.8
Aureobasidium sp	0.3	0.3	--	--	--	--	--	--	0.1	0.1	0.0	0.05
Botrytis sp.	2.6	2.1	2.4	--	--	0.6	--	--	1.3	1.3	0.0	1.0
Cephalosporium	3.3	6.4	2.4	3.8	--	0.6	3.3	--	2.7	3.8	0.6	2.7
Cladosporium sp	3.6	13.8	2.4	4.5	12.4	7.2	5.4	--	3.5	10.1	7.2	6.6
Epicoccum sp.	0.6	0.5	--	--	--	--	--	--	0.3	0.2	0.0	0.2
F. moniliforme	0.6	0.3	--	0.6	--	0.2	--	0.9	0.4	0.2	0.2	0.3
F. oxysporum	45.6	2.1	44.9	23.0	27.4	46.5	14.0	45.0	36.0	18.0	45.1	31.0
F. roseum	2.0	7.4	--	1.9	--	0.8	0.8	0.9	1.5	3.4	1.0	2.2
F. solani	0.9	0.3	--	--	1.5	--	--	--	0.4	0.5	0.0	0.35
Mucorais	0.3	0.3	--	--	0.2	0.8	--	--	0.4	0.3	0.2	0.25
Penicillium sp	2.4	10.9	4.0	1.3	6.0	4.8	0.4	--	1.3	7.0	4.8	4.5
Phialophora sp	0.3	--	--	--	--	0.8	--	0.8	--	0.4	0.1	0.0
Phialophora sp	0.3	--	--	--	--	0.4	0.0	1.7	0.3	2.4	0.4	1.2
Rhizopus sp	0.3	5.6	--	--	--	--	--	--	0.9	1.6	0.0	1.0
Stemphyllium sp	1.2	1.3	1.6	1.3	2.5	--	0.8	--	0.9	0.6	0.2	0.6
Trichoderma sp	1.8	0.5	--	1.3	0.5	0.2	1.7	--	0.9	0.6	0.2	0.6
Trichotecium sp	--	3.4	--	1.9	10.4	2.2	--	--	--	4.3	2.2	2.3
Verticillium sp	0.3	1.3	0.8	--	0.5	--	0.4	--	0.4	0.8	0.0	0.5
Rizoctonia s.	--	--	--	--	--	--	1.2	4.4	1.2	--	--	0.4

Nº PLANTAS 338 337 125 156 201 501 241 113 692 859 501 2052

% de presenza de cada fungo sobre o total de plantas analizadas.

ZONAS : I-BETANZOS, II-ESTRADA, III-SALNES, REDONDELA, V-ROSAL, VI-RIBADAVIA

VII FERROL VIII PADRON

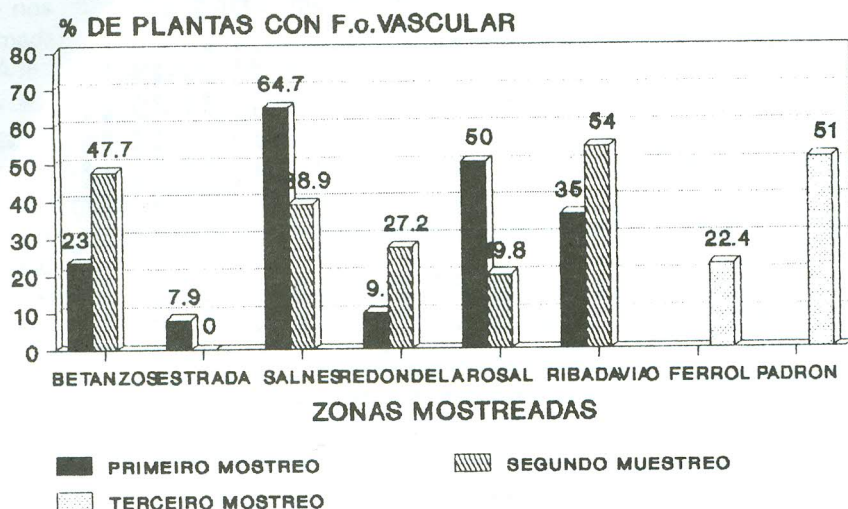
bre o total de plantas analizadas nas distintas zonas. O fungo que aparece con maior frecuencia en 7 das 8 zonas de mostreo (únicamente non predomina en A Estrada) é *Fusarium oxysporum*. As porcentaxes referidas a este fungo son moito maiores que as referidas ó resto dos fungos patóxenos do caravel (*Phialophora cinerescens*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium roseum* e *Botrytis cinerea*), e que ó resto da flora fúnxica.

Para unha mais precisa determinación da incidencia da enfermidade hai que considerar non só a porcentaxe de plantas onde se aillou o patóxeno, senon tamén a porcentaxe de cultivo afectado, estes dous índices veñen reflexados para cada unha das zonas mostreadas nas Gráficas 1 e 2, onde vemos como destaca Ribadavia como zona de maior incidencia por ter as porcentaxes mais altas en ambos índices. Na zona de A Estrada a incidencia é mínima xa que soio foi detectada a epifitina nun invernadeiro.

Unha vez detectada a enfermidade e valorada a súa incidencia tiña especial interés indagar na posible existencia dun foco de entrada de material vexetal enfermo. Durante os meses de Abril, Maio e Xuño de 1989 recibíronse no laboratorio un total de 583 esqueixes, repartidos en 13 partidas diferentes. Estes analizaríanse según o indicado no apartado de materiais e métodos. Un resumen do resultado de ditas análises parece na Táboa 3, na que especificamos as porcentaxes de plantas nas que aparece os distintos xéneros de fungos. En dita táboa, observamos como a porcentaxe de esqueixes con *Fusarium oxysporum* non é excesivamente alto (3,5%) pero si é moi superior á porcentaxe de esqueixes no que aparece o outro fungo vascular —*Phialophora*—; ademais a porcentaxe de partidas infectadas si é importante (10%) o que nos indica que existe un claro foco de entrada de material vexetal enfermo na Comunidade Autónoma.

GRAFICA 1

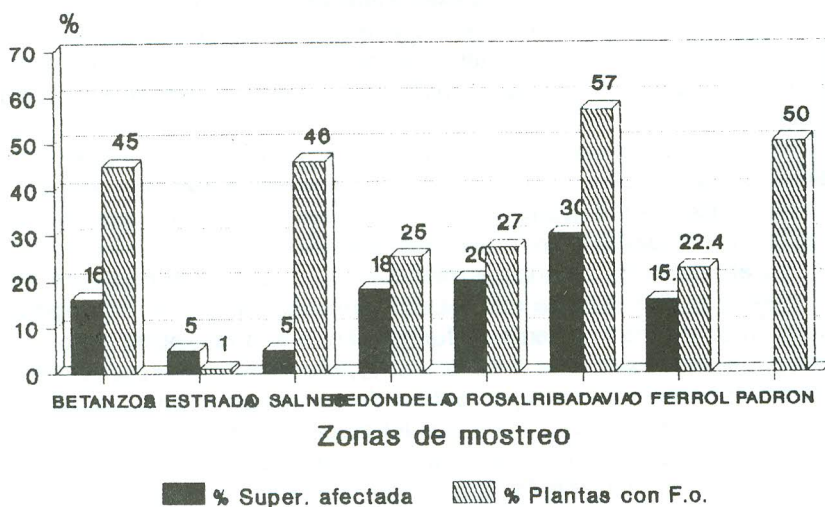
A FUSARIOSE VASCULAR
INCIDENCIA EN GALICIA



% de plantas con *Fusarium oxysporum*
sobre o total de plantas analizadas

GRAFICA 2

FUSARIOSE VASCULAR EN GALICIA
SUPERFICIE AFECTADA E % PLANTAS CON F.o.



TABOA 3. Análisis microbiológico de las partidas de esquejes
(J. Collar; J. L. Andrés: Abril, Mayo, Junio 1989)

HONGO	Nº PLANTAS CON PRESENCIA	PORCENTAJE (%)
<i>Fusarium oxysporum</i>	20	3.43
Otros Fusaria	28	4.80
<i>Penicillium</i> sp.	188	32.25
<i>Alternaria</i> sp.	53	9.09
<i>Cladosporium</i> sp.	48	8.23
<i>Cephalosporium</i> sp.	38	6.52
<i>Trichoderma</i> sp.	29	4.97
<i>Rhizopus</i> sp.	23	3.95
<i>Ostrachoderma</i> sp.	23	3.95
<i>Botrytis</i> sp.	19	3.26
<i>Stemphylium</i> sp.	17	2.92
Otros Mucorales sp.	16	2.74
<i>Phoma</i> sp.	7	1.20
<i>Phialophora</i> sp.	6	1.03
<i>Verticillium</i> sp.	4	< 1
<i>Acremonium</i> sp.	2	< 1
<i>Epiccocum</i> sp.	2	< 1
<i>Aspergillus</i> sp.	2	< 1
<i>Rhizoctonia</i> sp.	1	< 1
<i>Sporothrix</i> sp.	1	< 1
<i>Doratomyces</i> sp.	1	< 1
<i>Pestalotia</i> sp.	1	< 1
<i>Aureobasidium</i> sp.	1	< 1
<i>Gliocladium</i> sp.	1	< 1

(*) Sobre un total de 583 esquejes analizados.

Nº de partidas analizadas :	132
Nº de plantas por partida :	4-5
Nº de variedades analizadas :	71
Nº de casas comerciales :	8
Nº de esquejes analizados :	583

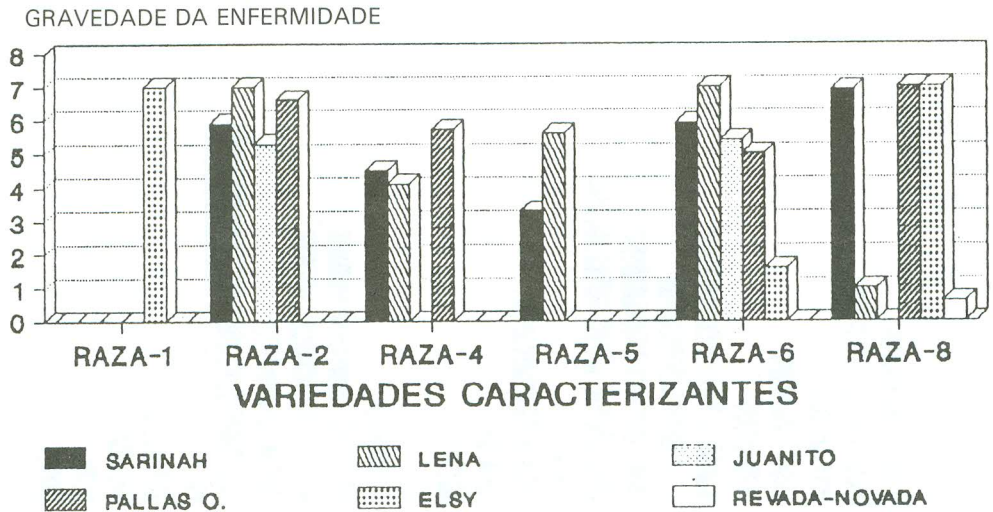
- Fusarium oxysporum*: - en 20 plantas representa el 3.43% de las plantas analizadas.
- en 13 partidas diferentes supone un 9.84% del total analizado.

A seguinte interrogante que se nos plantexou respecto á enfermidade era saber si existía unha parada na actividade do patóxeno nos meses de inverno ou non. Para contestar a esta pregunta tívose que realizar un seguimento da enfermidade, valorando a gravidade da mesma (% de superficie afectada) ó longo do tempo en 4 invernadeiros afectados. Os resultados deste seguimento quedan reflexados nos Gráficos 3 e 4. Neles observamos como existe unha diminución da gravidade da enfermidade durante os meses que van de Novembro-Decembro a Abril-Maio, onde volve a aumentar e aparecen os primeiros síntomas. Isto contrasta claramente co comportamento do patóxeno en Murcia onde aumenta a gravidade da enfermidade ata o mes de Abril diminuíndo exclusivamente no mes de Maio (Tello, Lacasa, 1990). Isto abre a posibilidade dunha maior eficiencia no método de control químico mediante a desinfección do solo.

En Febreiro de 1990 escomenzouse no C.I.A.M. o primeiro ensaio de inoculación das cepas recopiladas de *Fusarium oxysporum*, coa dobre finalidade de confirmar e cuantificar a patoxenicidade das mesmas. A vista dos resultados deste ensaio concluímos que a maioría dos aillamentos do fungo recollidos en Galicia son patóxe-

GRAFICA 6

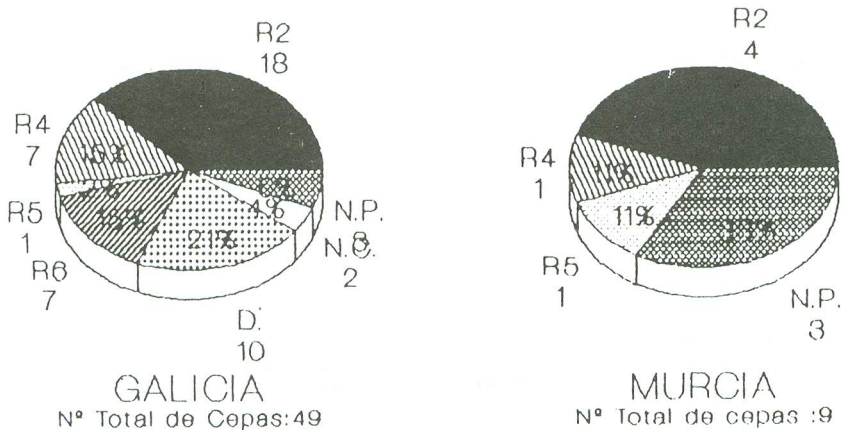
COMPORTAMIENTO DE 6 PATOTIPOS DE F.o.d. INOCULADOS SOBRE 6 VARIETADES DE CARAVEL CARACTERIZANTES



Valoración da gravidade da enfermidade mediante unha escala de síntomas: valor 0: planta sá; valor 7: planta morta.

GRAFICA 7

DISTRIBUCION DE PATOTIPOS DE F.o.d. CEPAS RECOPIADAS EN GALICIA E MURCIA
 R2: RAZA 2; R4: RAZA 4; R5: RAZA 5; R6: RAZA 6;
 D: DUDOSAS; N.P.: NON PATOXENAS; N.C.: NON CARACTERIZADAS



Número de cepas clasificadas en cada un dos 6 patotipos inoculados.

nos, 24 dun total de 36. Nos que non aparece o fungo brotando dos vasos das fracción de vexetal analizado, non podemos confirmar a non patoxenicidade dos mesmos xa que inoculando ditas cepas sobre outra variedade baixo outras condicións ambientais si podería haber infección. As zonas con maior número de aillamentos patóxenos son Ribadavia co 100% e Betanzos co 86%. Nesta zona recopulouse o aillamento de maior patoxenicidade, Fo-Be-4, no que se reaillou o fungo nas 15 plantas inoculadas, como podemos ver na Gráfica 5.

Por último imos comentar brevemente os resultados obtidos no ensaio mais importante realizado nos invernadeiros do C.I.A.M. que consisteu na caracterización en patotipos das cepas recopiladas. Para a realización do mesmo recibíronse a traveso do Dr. Tello 6 dos 8 patotipos que cita a bibliografía, enviados por Garibaldi e Baayen. Estes 6 patotipos así como as 49 cepas recopiladas en Galicia e 9 en Murcia, foron inoculadas sobre 6 variedades de caravel e minicaravel: Kali (ou Sarinah), Lena, Sacha (ou Juanito), Pallas (ou Pallas orange), Elsy e Revada (ou Novada). Os 6 patotipos tiveron un comportamento sustancialmente diferente sobre as 6 variedades, o cual aparentemente reforza algo mais a idea da existencia de ditas razas. Tomando o comportamento destes 6 supostos patotipos (Gráfica 6) como testigos tratáronse de caracterizar as 58 cepas inoculadas, obtendo os resultados que se observan na Gráfica 7, onde preveemos a existencia en Galicia, polo de pronto, soio de 4 das 8 posibles razas (R2, R4, R5 e R6) e 3 tan soio en Murcia (R2, R4 e R5). Nembargantes existen 12 cepas (casi o 25% das cepas recollidas en Galicia) que non puideron ser caracterizados ó ter un comportamento pouco claro; 3 cepas resultaron non ser patóxenas. Entre as de Murcia apareceron 3 non patóxenas e ningunha dudosas. Este ensaio deberá ser repetido coa finalidade de confirmar uns resultados que poden variar sustancialmente con factores tan débiles como as condicións ambientais do ensaio e a densidade do inóculo utilizado.

AGRADECEMENTOS

Quixera expresar o meu mais profundo agradecemento ás seguintes persoas, sen cuio apoio e axuda este traballo non chegaría á luz: Javier Tello, Jesús Collar, Pablo Bielza, Teolindo, Benito, Carmen, Isabel, Luz, S.E.A. e cooperativas que colaboraron nos mostreos, e moi especialmente a Elvira.

BIBLIOGRAFIA

- ALBERTO GARCIA, J., ODRIOZOLA AZURMENDI, J. M. (1976). Cultivo intensivo del clavel. Publicaciones del S.E.A. 35 págs.
- BAAYEN, R. P., ELGERSMA, D. M. (1985). Colonitacion and histopathology of susceptible and resistant carnation cultivars infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. Neth. J. Pl. Path. 91: 119-135 págs.
- CEBOLLA, V. La fusariosis vascular. Agricultura: 692-697 págs.
- HERREROS DELGADO, L. M. (1979). Enfermedades fúngicas del clavel. Publicaciones del S.E.A. Núm. 17-18/79 HD: 20 págs.
- PONCHET, J., AUGE, G. La mycoflore associée aux racines de l'oeillet. 133-136 págs.
- RAPILLY, F. (1968). Les techniques de mycologie en pathologie végétale. Ann. Epiphyties. 19: 101 págs. (Hors série).
- ROSAURO HERNANDEZ, J. (1983). El clavel para flor cortada. Publicaciones del S.E.A. Núm. 4/83 HD: 24 págs.
- TELLO, J. (1989). *Fusarium oxysporum* en los cultivos intensivos del litoral mediterráneo en España. Fases parasitaria (*Fusariosis* vasculares del tomate y clavel) y no parasitaria. Tesis Doctoral. E.T.S.I. Agrónomos de Madrid. Universidad Politécnica. 250 págs.
- TRAMIER, R. (1986). La fusariose vasculaire de l'oeillet: dix ans de recherche. Phytoma-Dèfense des cultures. Febrero: 45-48 págs.