

Fusarium Culmorum en puerro

Al proceder al arranque de estas plantas se observa una podredumbre en su base y la pérdida del sistema radicular.

36

Cuaderno de Campo

La enfermedad, transmitida por planta de semillero afectada por el hongo, apareció el año pasado en Varea provocando graves daños

Texto y fotografías: **Juan Manuel Rodríguez García.**
Técnico de la Sección de Protección de Cultivos.

La enfermedad, causada por el hongo *Fusarium culmorum* (Wm. G. S.) Sacc, se detectó en verano del 1998 en la zona de Haro, pero se tiene constancia de su presencia en Zambrana (País Vasco) y Miranda de Ebro (Castilla-León), en la misma campaña, donde afectó a unas 20 hectáreas. Hasta esa fecha no había sido detectada en nuestro país. La aparición de esta enfermedad se ha producido en parcelas donde los últimos 20 años se ha cultivado puerro de 8 a 10 veces, y coincidiendo más o menos con la introducción del trasplante de plantas producidas en semillero en taco de turba.

En las plantas producidas en semillero en 1998 se analizaron 2 muestras de 50 plantas y no se detectó la presencia del hongo con claridad a la salida del vivero (octubre, plantas de 1 y 3 meses). El origen más probable de esta enfermedad está, quizá, en los primeros campos afectados donde el uso de rotaciones muy cortas y la repetición del cultivo en mu-

chos casos habrían permitido la aparición de esta forma especializada del hongo, y su rápida expansión.

Sin embargo, este último año la reutilización en semillero de las bandejas de polietileno expandido para la producción de planta, y su insuficiente desinfección, han dado pie a una rápida expansión de la enfermedad en la zona de Varea, en parcelas en las que no se cultivaba puerro desde hace años. La enfermedad ha causado, en algún caso, la pérdida de parcelas enteras, y en un porcentaje considerable, grados de destrucción del 40 al 60% de las plantas.

Este último año sí que se ha constatado la presencia del hongo en plantas en semillero.

Descripción del hongo

El agente causal de la enfermedad es un hongo identificado como *Fusarium culmorum* (Wm. G. S.) Sacc, que produce la podredumbre basal del puerro. La

identificación del hongo se realizó en el laboratorio nacional de referencia, por José García Jiménez, en el Departamento de Producción Vegetal de la Escuela de Ingenieros Agrónomos de Valencia, en puerros con síntomas cultivados en la localidad de Haro.

A su vez, en el Laboratorio de La Grajera se extrajeron aislados de este hongo y se cultivaron en medio PDA.

Posteriormente, con repicados de estos aislamientos se procedió a la inoculación artificial en el CIDA, en la Sección de Protección de Cultivos, donde quedó demostrada la patogenicidad de dicho hongo, puesto que se reproducían fielmente los síntomas detectados en campo.

El micelio del hongo en medio de cultivo presenta un color rojizo con macroconidias de 3 tabiques con medidas de 19 a 44 X 3 micras y con clamidosporas ovoides muy poco diferenciadas.

Algunos aislados de este hongo pueden afectar o perpetuarse en cereales u

otras plantas del género *Allium* cultivadas, como cebolla y puerro.

Síntomas

Las plantas afectadas presentan marchitez en las hojas exteriores hasta llegar a desecarse totalmente. En el cuello y la base de la planta aparece una podredumbre con coloración rojiza, por la presencia del micelio del hongo, que se localiza en parte de las raíces en contacto con el disco y la base de las vainas foliares. Al final de la enfermedad, el grado de podredumbre alcanzado imposibilita cualquier aprovechamiento comercial de estas plantas.

Las plantas afectadas se arrancan muy fácilmente, presentan lesiones en el disco y pérdida de parte del sistema radicular, con podredumbre pardas en las raíces.

En plantas jóvenes enfermas, a los 15-20 días del trasplante se aprecia un retraso en el desarrollo con desecación de hojas exteriores; al arrancarlas se observa perfectamente la podredumbre basal rojiza, que afecta a todo el cuello de la planta y que se debilita hasta el grado de seccionarse fácilmente al estirar de ellas. Si las atacadas son plantas jóvenes, llegan a morir.

En algunas parcelas en la zona de Varea hemos encontrado síntomas parecidos, con podredumbre blandas del cuello de la planta, que no presentaban coloraciones rojizas. El examen minucioso de algunas de estas plantas permite descubrir la presencia de larvas de la mosca de la cebolla (*Hylemia antiqua*), que producen heridas sobre las cuales se desarrolla la bacteria *Erwinia carotovora*, que produce una pudrición blanda y maloliente de las plantas. Así, en una parcela cultivada en Varea con la variedad Goliath, se recogieron 79 plantas con síntomas de podredumbre basal el 2 de septiembre. Un 40% presentaban síntomas con coloraciones rojizas en la base de la planta y en un 13% aparecían larvas de mosca y podredumbre blanda bacteriana; sin embargo, en el 47% de las plantas no se

podía establecer claramente el origen de la enfermedad, por no aparecer claras las coloraciones rojizas del micelio o no llegar a encontrar larvas de mosca al diseccionar las plantas. A pesar de ello, las lesiones en las raíces deberían ser el resultado de la acción del fusarium, aunque no aparezca su coloración rojiza.

En otros países (Estados Unidos, Italia, Francia) se ha encontrado esta enfermedad, que puede afectar al puerro en cualquier época del año. Sin embargo, no se ha citado en campos con puerro en siembra directa, lo que sugiere la hipótesis de ser un parásito débil que en situaciones de estrés de la planta puede convertirse en enfermedad grave: en campos de trasplante con rotaciones cortas (1 de cada 3 años) se producen pérdidas de hasta el 50% de las plantas.

Las temperaturas en las que puede actuar el hongo son de 11 a 32° C, con un óptimo en torno a los 24-25°, por lo que los trasplantes en los meses de mayo y junio son los que se ven más afectados, y las mayores pérdidas se producen de agosto a noviembre.

La mayor sensibilidad de la planta es en el trasplante, cuando existen heridas recientes por las que fácilmente puede penetrar el hongo. Los síntomas se aprecian a los 20-30 días de trasplantar.

En el momento del trasplante, se puede observar si las plantas presentan o no la enfermedad examinando atentamente las raíces: la presencia de coloraciones rojizas o necrosis y pardeamiento de raíces son señales de la presencia del hongo.

Pruebas de patogenidad

Se han realizado 3 inoculaciones artificiales, una el 23 de febrero del 98 y

otras dos el 2 de julio de ese mismo año. En dos de ellas se ha inoculado el patógeno sobre plantas jóvenes con 2 hojas, variedades Goliath y Nepal, y en otra con plantas de 3 hojas, de la variedad Nepal.

Las plantas se sumergieron durante 5 minutos en una disolución de concentración conocida de conidias del hongo, a partir de micelio del hongo cultivado en el Laboratorio de la Grajera. El número de unidades formadoras de colonias de la disolución se calculaba utilizando un hematímetro y un microscopio a 400 aumentos. Se preparó una única disolución base batiendo en 250 ml de agua destilada las placas de cultivo del hongo y luego añadiendo más hasta llegar a una concentración conocida de conidias en la disolución.

Previamente se comprobaba en cada una de estas placas de cultivo la presencia de conidias del fusarium y la ausencia de contaminaciones.

En la primera prueba en la variedad Goliath, se mantuvieron las plantas en cámara a 27 ± 2 °C hasta el 18 de marzo de 1999 cuando se pasaron a un invernadero hasta terminar la experiencia; en las otras 2 pruebas se mantuvieron las plantas en cámara hasta el último control. La cámara mantenía 16 horas de luz, 8 de oscuridad y una humedad relativa del 80%.

En la primera prueba no se realizaron repeticiones, puesto que se buscaba la puesta a punto de una metodología válida. En la segunda prueba se hicieron 5 repeticiones para poder realizar un análisis de varianza y un tratamiento estadístico de los datos.

En todos los casos las plantas procedían del mismo semillero, y no se realizaba ningún tratamiento ni desinfección sobre ellas.



CUADRO 1. RESULTADO 1ª INOCULACIÓN

Fecha siembra	30/12/98	2 hojas	Var. " Goliath"	
Fecha inoculación	23/2/99	45 días aprox.		
Fecha último control	8/6/99	155 días aprox.		
Resultado				
último control	Plantas muertas	Plantas vivas	Total Plantas	% Mortalidad
600 u.f.c./mm 3	22	11	33	66.66
400 u.f.c./mm 3	26	9	35	74.28
300 u.f.c./mm 3	28	7	35	80.00
240 u.f.c./mm 3	19	16	35	54.28
Testigo	2	30	32	6.25

Se puede apreciar en el cuadro 1 que la inoculación sobre plantas jóvenes ha presentado mortalidades importantes, pero ésta tarda mucho en manifestarse, y la prueba se alarga hasta 3 meses, lo que indicaría que a pesar de

situar el patógeno en condiciones óptimas para su desarrollo, la progresión de la enfermedad es muy lenta.

La mortalidad que aparece en los testigos evidencia la contaminación de plantas en el propio semillero de fusa-

rium y de *Hylemia antiqua*, que puede producir la muerte a las plantas jóvenes.

Los resultados varían en función de la concentración utilizada de unid. for. de colonias.

CUADRO 2. RESULTADO 2ª INOCULACIÓN

Sobre plantas jóvenes															
Fecha inoculación		23/7/99		2 hojas 45 días											
Fecha último control		27/9/99		105 días		Var. "Enak"									
UFC/ml		1840		920		460		230		TESTIGO					
	V	M	%	V	M	%	V	M	%	V	M	%	V	M	%
1ª repetición	18	6	25	2	22	8	17	7	29	24	3	13	24	-	0
2ª repetición	12	12	50	21	3	13	17	7	29	24	6	25	24	-	0
3ª repetición	15	9	38	2	13	13	18	6	25	24	1	4	24	-	0
4ª repetición	17	7	29	2	13	13	24	0	0	24	5	21	24	-	0
5ª repetición	17	7	29	20	4	17	24	0	0	24	4	17	24	-	0
MEDIA	16	8	34	2	13	13	20	4	17	24	4	17	24	-	0
V = número de plantas vivas M = número de plantas muertas % = porcentaje de mortalidad															
Sobre plantas más viejas: 3 hojas															
Fecha inoculación		23/7/99		3 hojas 60 días											
Fecha último control		27/9/99		110 días		Var. "Enak"									
UFC/ml		1840		920		460		230		TESTIGO					
	V	M	%	V	M	%	V	M	%	V	M	%	V	M	%
1ª repetición	18	6	25	2	22	8	17	7	29	24	3	13	24	-	0
2ª repetición	12	12	50	21	3	13	17	7	29	24	6	25	24	-	0
3ª repetición	15	9	38	2	13	13	18	6	25	24	1	4	24	-	0
4ª repetición	17	7	29	2	13	13	24	0	0	24	5	21	24	-	0
5ª repetición	17	7	29	20	4	17	24	0	0	24	4	17	24	-	0
MEDIA	16	8	34	2	13	13	20	4	17	24	4	17	24	-	0

CUADRO 3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO. PRUEBAS DE PATOGENIDAD**Sobre inoculación en plantas jóvenes con 2 hojas y 45 días**

Fuente	Suma cuadros	Grados de libertad	Varianza	F calculada	Probabilidad
Tesis	2989.040	4	747.260	9.653	0.000
Repet.	394.240	4	98.560	1.273	0.321
Error	1328.560	16	77.410		

En este ensayo aparecen diferencias significativas entre Tesis en el análisis de varianza: probabilidad < 0.01: en el 99%

de los casos estudiados las diferencias en mortalidad se deben a la inoculación del hongo. Se comparan las distintas dosis de

inoculación, o tesis con el test de Tukey, para comparar las medias y ver las diferencias estadísticas que presentan entre sí.

Tesis	Testigo	1840 ufc/ml	920 ufc/ml	460 ufc/ml	230 ufc/ml
Testigo	1.000				
1840 ufc/ml	0.000	1.000			
920 ufc/ml	0.195	0.011	1.000		
460 ufc/ml	0.058	0.041	0.957	1.000	
230 ufc/ml	0.071	0.034	0.977	1.000	1.000

La única dosis de inóculo que ha tenido efecto ha sido la de 1840 ufc/ml, las otras no han presentado diferencias sig-

nificativas con el testigo. Sólo existen diferencias estadísticas entre las distintas dosis cuando en el cuadro de compara-

ción con letras, 2 dosis presentan letras distintas entre sí.

Tesis	Media % mortalidad	Letra Prob.0.000
Testigo	0	A
920 ufc/ml	12.8	A
230 ufc/ml	16	A
460 ufc/ml	16.6	A
1840 ufc/ml	34.2	B **

Sin embargo, en la prueba realizada con plantas de mayor edad, 3 hojas y 60 días, la inoculación realizada no ha mostrado ningún efecto significativo. Hay que destacar que se produjo una gran

pérdida de plantas por ataque de larvas de mosca de la cebolla.

Las plantas sobre las que se realizaban las inoculaciones provenían directamente de vivero; la inoculación posterior

de éstas no ha producido ningún efecto y, sin embargo, en testigos por la acción del fusarium y de las larvas de mosca, se llega a alcanzar una mortalidad media del 50 % de las plantas.

Sobre inoculación en plantas con 3 hojas y 60 días

Fuente	Suma cuadrados	Grados de libertad	Varianza	F. calculada	Probabilidad
Tesis	1628.240	4	407.060	2.665	0.071
Repet.	889.440	4	222.360	1.456	0.262
Error	2443.760	16	152.735		

En las plantas adultas aparecen los mismos síntomas: podredumbre basal rojiza y pérdida de raíces al arrancarlas.

Conidias u órganos de propagación del fusarium teñidas de azul de metileno, a 400 aumentos en el microscopio.





Aspecto rojizo de las podredumbres.
Milagros Marín (Laboratorio Regional).

Resultados de pruebas de patogeneidad

• Sobre plantas jóvenes con 2 hojas y 45 días

La experiencia ha sido muy positiva. Permite la aproximación a la puesta a punto de un método válido para poder reproducir la enfermedad en condiciones controladas, y de esta manera estudiar el comportamiento de distintas variedades (proyectos de mejora y selección), o el estudio de métodos adecuados de control de la enfermedad: eficacia de productos o técnicas de lucha.

• Sobre plantas con 3 hojas y 60 días

La inoculación en estas condiciones no ha producido ningún efecto con las concentraciones ensayadas. Las condiciones de obtención de la planta en vivero son muy negativas, se han perdido hasta el 50% de las plantas testigo por la acción del patógeno y las larvas de la mosca de la cebolla.

No es aconsejable mantener mucho tiempo las plantas en las bandejas de PE expandido, porque en el trasplante se incrementan mucho las pérdidas de planta; cuando envejecen demasiado, invaden todo el cepellón de turba, y con el trasplante se producen gran cantidad de heridas que facilitan la entrada del patógeno.

Con la edad de la planta es posible que la sensibilidad al patógeno disminuya, puesto que no se ha encontrado ninguna respuesta a la inoculación.

Medios de lucha

• En semillero

Se debe evitar que se produzca la contaminación de las plantas en el propio semillero; si éste se realiza al aire libre y

en terreno que no ha manifestado la enfermedad, el problema no aparecerá.

Cuando los semilleros se realizan en tacho de turba en bandejas de PE, éstas deben mantenerse libres de la enfermedad. Con ese fin, se pueden "estrenar" bandejas todos los años o proceder a una adecuada limpieza y desinfección con aquellas bandejas procedentes de parcelas que hayan manifestado la enfermedad.

La limpieza debe realizarse con agua a presión para eliminar de las bandejas todos los restos orgánicos.

La desinfección puede realizarse por calor (85° C) con aire caliente, o en una disolución de lejía comercial al 25% durante 24 horas, con posterior enjuague.

Existen equipos totalmente automatizados para realizar todas estas operaciones, pero su coste (por encima de 5 millones), sólo está al alcance de grandes instalaciones.

Otra posibilidad es la de utilizar fundas de plástico no renovables en las bandejas, como barrera física para evitar la entrada del patógeno a la planta.

Evitar el contagio de las bandejas exige mantener un manejo óptimo del invernadero, no se pueden desinfectar las bandejas y luego amontonarlas al lado de otras que todavía no lo hayan sido.

En todo caso, es recomendable no alargar en exceso el período de semillero, y crear una película con cobre en las bandejas para que se produzca una especie de repicado químico, y así disminuir heridas y lesiones a las raíces, que son puerta de entrada de muchas infecciones.

• En pleno campo

Se deben utilizar medidas preventivas: no trasplantar plantas con síntomas de la enfermedad (revisar las bandejas) y



mantener una rotación adecuada para impedir la aparición de la enfermedad. En la rotación se deben cultivar plantas dicotiledóneas, puesto que el hongo puede mantenerse en los cereales.

En Estados Unidos e Italia se ha encontrado respuesta a tratamientos con benomilo (Benlate) en las bandejas de semillero sumergiéndolas en soluciones de 1-2 Kg de producto durante 10 minutos antes de trasplantar.

En la Sección de Protección de Cultivos hemos ensayado este tipo de tratamientos en nuestras condiciones: sin embargo, el grado de ataque producido por la enfermedad ha sido muy bajo, por lo que las conclusiones de estos ensayos no deben tomarse como definitivas.

En un ensayo se transplantó a primeros de julio, cuando la incidencia de la enfermedad es baja, y en el otro (trasplantado el 5/6/99) se encuentra respuesta a estos tratamientos, pero al tratarse de una parcela donde nunca se habían cultivado puerros, el grado de ataque producido es muy bajo: media de 3,25 plantas /bandeja en 2 controles: 25/6/99 y 4/9/99, con 216 tacsos cada bandeja.

**CUADRO 4. PLANTAS MUERTAS SEGÚN LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS**

Tratamiento	Día	Bandeja 1	Bandeja 2	Bandeja 3	Bandeja 4	Media
BENLATE 1Kg /100 litros						
10 minutos	5/6/99	0	0	0	0	0
	8/7/99	0	0	0	0	0
BENLATE 250 gr/100 litros						
1 minuto	5/6/99	0	0	0	3	0,75
	8/7/99	0	0	0	1	0,25
BENLATE Pulveriz. suelo						
2 gr/m ²	5/6/99	2	2	6	3	3,25
	8/7/99	0	0	0	0	0
TESTIGO						
	5/6/99	4	2	4	3	3,25
	8/7/99	0	0	0	0	0

ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN PARCELA TRASPLANTADA 5/6/99

Fuente	Suma cuadrados	Grados de libertad	Varianza	F. calculada	Probabilidad
TESIS	34.188	3	11.396	7.043	0.010
REPETICIÓN	5.688	3	1.896	1.172	0.373
ERROR	14.563	9	1.618		

En el análisis estadístico de varianza aparecen diferencias significativas entre las tesis estudiadas con una probabilidad del 1%: en el 99% de los casos, las dife-

rencias entre los distintos tratamientos aplicados y el testigo se deben al efecto del Benlate. En el siguiente cuadro, se realiza la comparación entre los distintas

tesis o tratamientos aplicados, pudiéndose considerar que producen un efecto distinto aquellos que tienen una letra distinta. El test aplicado es el de Tukey.

Tratamiento	Media plantas muertas/bandeja	Letra
BENLATE 1 Kg/ 100 litros (10 minutos)	0	A *
BENLATE 250 gr/ 100 litros (1 minuto)	0.75	AB
BENLATE Pulveriz. suelo 2 gr/m ²	3.25	B
TESTIGO	3.25	B

Conclusiones

La incidencia de la enfermedad es máxima cuando se hacen rotaciones cortas o se repite el cultivo y cuando se parte de planta que pueda venir infectada ya de semillero.

Es necesario revisar con atención la planta que se va a trasplantar, evitando aquellas partidas que puedan mostrar síntomas de la enfermedad.

Los tratamientos químicos con Benlate, sumergiendo las bandejas, pueden contribuir a atenuar las pérdidas en campo: baño en una disolución de 1 Kg de Benlate en 100 litros de agua durante 10 minutos, pero no es un sistema que sea fácilmente aplicable cuando se trate de trasplantar gran cantidad de bandejas.

La mejor estrategia de control de esta enfermedad es la prevención: utilización de planta sana y rotaciones adecuadas que impidan la aparición y difusión de la enfermedad.

El trasplante se debe realizar en torno a los 45 días. A partir de entonces, la planta sufre en el cepellón y aumentan las pérdidas en el trasplante.



Detalle de larvas de mosca de la cebolla atacando plantas jóvenes de puerro; en el trasplante se puede producir gran mortandad de plantas. Cuando producen daños, el ataque se produce en el cuello, respetando las raíces, lo que permite distinguir sus ataques de los de Fusarium.