

## **Pythium butleri** Subramanian AISLADO DE PLANTITAS DE PEPINOS CON "DAMPING-OFF" ("CINTURILLA").

1. — Prueba del poder patógeno
2. — Acción de fenaminosulf, propamocarb y etridiazol
3. — Test de resistencia con 20 variedades comerciales

Rafael Rodríguez Rodríguez  
Departamento de Fitopatología

### **ANTECEDENTES**

Una de las enfermedades de mayor importancia económica que padecen los pepinos cultivados en invernaderos en Gran Canaria es el "Damping-off" ("cinturilla", nombre local), provocada por *Pythium spp.*, que obliga al agricultor a resembrar multitud de semillas ó plantitas con el consiguiente perjuicio económico, que en muchos casos es bastante importante.

Durante 1.977—78 fueron realizados trabajos de aislamientos y reconocimiento de un *Pythium sp* que aparecía en tejidos muertos de plantitas de diferentes edades, pero sin llegar a determinar la especie (R. RODRIGUEZ 1.978), la cual fué remetida posteriormente al Instituto de Micología de la Commonwealth y clasificada como *Pythium butleri* Subramanian (N.º 242267 de la colección del C.M.I.).

### **1.— PRUEBA DEL PODER PATÓGENO**

Era necesario poner de manifiesto el poder patógeno del aislamiento de *Pythium butleri* Sub. para conservar la cepa y utilizarla más tarde en distintos trabajos e investigaciones.

#### **1.1.— MATERIAL Y METODO**

El test de patogenidad se llevó a cabo según el método descrito por MESSIAEN et al. (1.977) derivado de otro anterior descrito por BOUHOT (1.975):

A plantitas de pepinos cv. Pepinex 69 en estado de hojas cotiledonarias (4 días de siembra), que habían germinado en "compost" estéril y macetitas de 5 cm. de diámetro, se les depositaba en la proximidad de la base del tallo un poco de harina de avena, y sobre ésta, un círculo (5 mm. de diámetro) de cultivo puro del hongo en C.M.A. (Agar-Harina-Maiz). Las plantitas habían germinado y permanecieron en cámara de cultivo en las siguientes condicio-

nes: 12 horas 22°C., 60% de HR y oscuridad, seguido de 12 horas a 30°C., 64% de HR y 25.000 lux.

### **1.2.— RESULTADOS**

A las 48 horas las 16 plantitas inoculadas habían muerto por "Damping-off", mientras que 3 no inoculadas y mantenidas en las mismas condiciones, permanecían sanas.

### **1.3.— CONCLUSION**

La cepa de *Pythium butleri* Subramanian testada ha resultado *patogénica* con un *alto grado de virulencia* a la cv Pepinex 69 de pepinos, según la terminología de AINSWORTH (1.971), AGRIOS (1.973) y TARR (1.972).

### **2.— Acción de control sobre Pythium butleri Subramanian y de fitotoxicidad sobre plantitas de pepinos de los fungicidas fenaminosulf, propamocarb y etridiazol**

La acción de control y de efectos fitotóxicos fue valorada en dos experimentos. El primero en una escala de concentraciones altas y el segundo en otra de concentraciones bajas de los productos.

#### **2.1.— EXPERIMENTO CON CONCENTRACIONES DEL 0.1 A 2G/1 DE M.A.**

##### **2.1.1.— Material y método**

Los productos utilizados han sido: I) sodio-p (dimetil-amino) benzenediazosulfonato, fenaminosulf (Bayer 5072); II) Propil-n-(dimetilaminopropil) carbamato-HCL, propamocarb (Shering SN 66752); y III) 5-etoxi-3-triclorometil-1,2,4-triazole, etridiazole (Oil Chemicals OM 2424).

De cada uno se prepararon concentraciones acuosas de 0.1, 0.5,

1, 1.5, y 2 g/l de materia activa, y se empaparon el "compost" estéril de pequeñas macetas (5 cm. diámetro) donde habían germinado 4 plantitas (cv Pepinex 69 en cada una. Habían, por tanto, una maceta con 4 plantitas por concentración fungicida. La inoculación con *Pythium butleri* Sub. se efectuó inmediatamente después de la aplicación fungicida siguiendo el método descrito anteriormente (en 1.1) a partir de un cultivo puro del hongo en C.M.A. de una semana. Las condiciones en que las plantitas fueron germinadas y permanecieron durante el experimento fueron también las mismas señaladas en 1.1).

Una segunda y tercera inoculación fue efectuada a los 5 y 10 días de la primera, para comprobar el efecto de permanencia de los fungicidas en las plantas que no sucumbieron a la primera inoculación.

### 2.1.2.— RESULTADOS

En el siguiente cuadro se reflejan los resultados obtenidos.

### 2.1.3.— DISCUSION

El examen del cuadro anterior revela claramente como todos los productos fungicidas a todas las concentraciones dan control de *Pythium butleri* durante los 5 días después de la primera inoculación, puesto que las plantas muertas a las 24 horas en el tratamiento con etridiazol a las concentraciones 2, 1, 5, 1, y 0.5 g/l ha sido como consecuencia de un efecto fitotóxico. En este mismo tiempo las 20 plantitas no tratadas (testigo) e inoculadas han muerto por "Damping-off".

Después de la 2ª inoculación, efectuada al 5º día, se producen bajas al 7º y 8º día en los tratamientos con fenaminosulf, y después de la 3ª inoculación, a los 10 días, se produce una nueva baja en el mismo tratamiento. Sin embargo, estas respuestas no muy coherentes con los tratamientos porque para estas fechas las plantitas que se han desarrollado en la reducida área de la macetita pre-

PRODUCTOS	g/l, m.a.	NUMERO DE PLANTAS MUERTAS A LAS											
		24 h	48 h	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d
fenaminosulf	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
»	1.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
»	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
»	0.5	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—	—	—
»	0.1	—	—	—	—	—	—	2	1	—	—	—	—
propamocarb	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
»	1.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
»	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
»	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
»	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
etridiazole	2	4(+)											
»	1.5	4(+)											
»	1	4(+)											
»	0.5	4(+)											
»	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Testigo		—	6	3	2	9	—	—	—	—	—	—	—

(+) Muerte por fitotoxidad

↑ 2ª inoculación

↑ 3ª inoculación

sentan una mayor resistencia a la enfermedad debida a la consistencia más leñosa de sus tallos. Una valoración de fitotoxicidad fue efectuada por la longitud del nervio central de la primera hoja verdadera de las plantitas a los 6 días del tratamiento, valores que se reflejan en el cuadro siguiente:

comportamiento puede ser distinto al ser aplicado sobre áreas de suelo más extensas. Dosis altas de propamocarb no parecen retardar el crecimiento de las plantas en comparación con dosis bajas, al contrario de lo que sucede con el fenaminosulf y según se deduce del cuadro anterior.

LONGITUD NERVIO CENTRAL A LOS 6 DIAS DE TRATAMIENTO						
Hoja N.º		1	2	3	4	Media
fenaminosulf	2 g/l	14 X	19	10	11	13.5
»	1.5 »	19	23	15	16	18.25
»	1 »	20	24	20	25	22.25
»	0.5 »	29	29	26	23 <sup>+</sup>	26.75
»	0.1 »	22	20 <sup>+</sup>	11 <sup>+</sup>	11 <sup>+</sup>	16.00
propamocarb	2 g/l	28	26	33	29	29.00
»	1.5 »	30	26	34	25	28.75
»	1 »	34	32	33	30	32.25
»	0.5 »	30	32	32	29	30.75
»	0.1 »	30	31	35	29	31.25
etridiazol	0.1 g/l	31	25	24	30	27.50

X = longitud en mm.    + = de plantas que murieron más tarde.

#### 2.1.4.— CONCLUSIONES

De momento son pocas las conclusiones derivadas de experimento y solo aplicables a nivel laboratorio.

Todos los productos ensayados se muestran activos en el control de *Pythium butleri* a todas las concentraciones. Naturalmente el fenaminosulf juega con la desventaja de no ser sistémico por lo que su duración en la planta debe ser menor y por consiguiente su aplicación ha de ser más frecuente.

En cuanto a fitotoxicidad, las dosis de etridiazol deben ser bien ajustadas pues por encima de 0.5 g/l han sido fitotóxica en las condiciones del ensayo. En las condiciones de campo estas dosis deberán ser verificadas puesto que en ellas el

#### 2.2.— EXPERIMENTO CON CONCENTRACIONES DE 0.05 A 0.4 G/L DE M.A.

##### 2.2.1.— Material y método

Los productos utilizados y la metodología seguida han sido los mismos expuestos en el apartado 2.1.1. Las únicas diferencias son: las concentraciones usadas de todos los fungicidas (0.05, 0.1, 0.2, y 0.4 g/l de m.a.); el número de plantitas por macetas que fueron de 3 a 5 con idea de elegir solo plantas en idéntico estado vegetativo y por tanto de la misma susceptibilidad al patógeno; el tipo de macetita cuadrangular de 7X7X6 cm.; y que la 2ª inoculación se efectuó a los 3 días de la 1ª.

## 2.2.2.— RESULTADOS

Los resultados de control y efecto fitotóxico pueden verse en los siguientes cuadros:

etridiazole dan el mismo control, pues no se producen muertes por "Damping-off" después de la segunda inoculación.

En la valoración de crecimiento por

	N.º plantas Inoculadas	N.º de plantas muertas a las:					
		24 h	48 h	3 d	4 d	5 d	8 d
fenaminosulf 0.4 g/l	5	—	—	—	—	3	—
» 0.2 »	4	—	—	—	1	—	1
» 0.1 »	4	—	—	—	—	2	—
» 0.05 »	5	—	—	—	—	1	—
propamocarb 0.4 »	4	—	—	—	—	—	—
» 0.2 »	4	—	—	—	—	—	—
» 0.1 »	4	—	—	—	—	—	—
» 0.05 »	5	—	—	—	—	—	—
etridiazol 0.4 »	4	—	—	—	—	—	—
» 0.2 »	5	—	—	—	—	—	—
» 0.1 »	3	—	—	—	—	—	—
» 0.05 »	5	—	—	—	—	—	—
testigo	14	—	12	—	—	—	—

↑ 2ª Inoculación

### Longitud nervio central en mm. a los 8 días del tratamiento

	1	2	3	Media
fenaminosulf 0.4 g/l	50	51	—	50.5
» 0.2 »	52	42	—	47.0
» 0.1 »	36	38	—	37.0
» 0.05 »	45	46	42	44.3
propamocarb 0.4 g/l	55	56	54	55.0
» 0.2 »	48	55	51	51.3
» 0.1 »	50	53	48	50.3
» 0.05 »	57	45	43	48.3
etridiazol 0.4 g/l	53	40	30	41.0
» 0.2 »	58	47	46	50.3
» 0.1 »	57	51	31	46.3
» 0.05 »	54	52	55	53.6
testigo	59	59	54	57.3

(Sin tratar y sin inocular)

## 2.2.3.— DISCUSION

Las únicas bajas que se producen en este segundo experimento corresponden a plantitas tratadas con las concentraciones de fenaminosulf, pero después de la segunda inoculación, lo cual confirma el corto periodo residual de este producto. Por tanto a corto plazo los tres fungicidas dan un buen control de *Pythium butleri* Subr. A más largo plazo propamocarb y

la longitud del nervio central de la primera hoja verdadera no podemos concluir en el caso de fenaminosulf por falta de datos. Por el contrario en el caso de etridiazole y propamocarb no parece existir una clara relación entre concentraciones y crecimientos, que puede ser interpretada como una falta de influencia para el crecimiento entre la aplicación de una concentración de 0.05 g/l y una de 0.4 g/l. Sin

embargo, si parece existir una relación entre cualquiera de los productos con el crecimiento de plantitas testigos, en las mismas condiciones que las tratadas, todos los productos parecen frenar el crecimiento de las plantitas en relación con otras sin tratar.

#### 2.2.4.— CONCLUSIONES

Las conclusiones de este segundo experimento se pueden resumir en que se comprueba un control preventivo de *Pythium butleri* Subr. por todos los productos y concentraciones a corto plazo (3 días) y solo de propamocarb y etridiazole a más largo plazo (hasta 8 días que duró el experimento), que ninguno de ellos resultó claramente fitotóxico a estas bajas concentraciones, aunque si frenan en pequeña medida el normal crecimiento.

#### 2.2.5.— CONCLUSIONES FINALES

Después de efectuados los dos experimentos en la utilización de fenaminosulf, propamocarb y etridiazole en concentraciones altas y bajas para el control de *Pythium butleri* Subr. en plantitas de pepinos, solo podemos concluir lo siguiente:

fenaminosulf, a concentraciones altas y bajas da un buen control a corto plazo, por lo que debe ser aplicado en el campo con cierta frecuencia. Dosis altas del producto (hasta 2 g/l de m.a.) retardan

sensiblemente el crecimiento de las plantitas.

- propamocarb a concentraciones altas y bajas da un buen control a corto y más largo plazo (12 días en el experimento). Dosis altas del producto no afectan al crecimiento en comparación con dosis bajas.
- etridiazole a concentraciones altas y bajas da un buen control a corto y largo plazo (12 días en el experimento). Dosis altas del producto (entre 0.5 y 2 g/l) produjeron la muerte de las plantitas en el primer experimento, por lo que las dosis de este producto deben ser bien ajustadas en el campo.
- Todos los productos ensayados aún a concentraciones bajas retardan algo el normal crecimiento de las plantitas de pepinos.

### 3.— Test de resistencia a *Pythium butleri* Subramanian con 20 variedades comerciales de pepino

Uno de los métodos más eficaces usados actualmente para el control de enfermedades, es el empleo de variedades resistentes, en cuya obtención están empeñados muchos centros de investigaciones. Era por tanto necesario reunir las principales variedades de pepinos que actualmente se están cultivando en Gran Canaria y algunas más que se quieren introducir para testarlas con respecto a su susceptibilidad a *Pythium butleri* Subramanian.

#### 3.1.— MATERIAL Y METODO

Las variedades comerciales utilizadas en esta prueba de resistencia fueron las siguientes:

N.º	Variedad	Casa Obtentora	Procedencia	Características
1	Sporu	Vandenberg	Holanda	Hibrida Monoica
2	Farbiola	»	»	♀
3	Sandra	Nunhens Zaden	»	»
4	Stereo	Vandenberg	»	»
5	Corona	»	»	»
6	Pepinex 69	Sluis y Groot	»	»
7	Astrid	Bruinsma	»	»
8	Boneva	»	»	»
9	868/76	»	»	»

N.º	Variedad	Casa Obtentora	Procedencia	Características
10	247/76	Bruinsma	Holanda	Hibrida
11	268/76	»	»	»
12	1419(761091)	Royal Sluis	»	»
13	768414	»	»	»
14	761452	»	»	»
15	Bambola	»	»	»
16	68/77	Nunhems Zade	»	»
17	31/77	»	»	»
18	55/77	»	»	»
19	Reform RZ	Rijk Zwaan	»	»
20	Type 363	»	»	»

Todas las semillas utilizadas en la obtención de plantitas para inocular, fueron previamente lavadas con sucesivos cambios de agua destilada para arrastrar todo el producto fungicida (T.M.T.D.) que traen como desinfección de origen, y a continuación sembradas a razón de 5 por cada macetita de 7x7x6 cm., en un "compost" comercial previamente esterilizado con vapor a 1 atm. y 120°C durante 1/2 hora.

A los 5 días de sembradas todas las plantitas que habían germinado y estaban en estado de hojas cotiledonarias bien des-

plegadas fueron inoculadas utilizando un poco de harina de avena y círculos de un cultivo puro de *P. butleri* en gelosa, tal como se describió en el 1.1-) de este trabajo.

Las plantitas permanecieron durante el experimento en las mismas condiciones que ya fueron apuntadas anteriormente.

### 3.2.— RESULTADOS

En el cuadro que a continuación se da pueden verse todas las incidencias del ensayo:

Variedad	N.º de plantas	N.º de plantas	N.º Plantas muertas a las					Total plantas	% plantas muertas	
			24 h.	48 h.	3 d	4 d	5 d			8 d
1	Sporu	14	—	9	1	—	—	—	10	71.42
2	Farbiola	15	—	8	3	—	—	1	12	80.00
3	Sandra	11	—	10	—	—	—	—	10	90.90
4	Stereo	15	—	10	4	—	—	—	14	93.33
5	Corona	15	—	8	1	—	—	1	10	66.66
6	Pepinex 69	14	—	12	—	—	—	—	12	85.71
7	Astrid	12	—	9	—	—	—	—	9	75.00
8	Boneva	14	—	10	1	—	—	—	11	78.57
9	868/76	13	1	12	—	—	—	—	13	100.00
10	247/76	12	1	9	—	—	—	—	10	83.33
11	268/76	15	—	15	—	—	—	—	15	100.00
12	1419(761091)	7	—	3	2	—	—	—	5	71.42
13	768414	11	—	7	1	—	—	—	8	72.72
14	761452	15	1	7	2	—	—	—	10	66.66
15	Bambola	6	1	2	2	—	—	—	5	83.33
16	68/77	12	—	8	—	—	—	1	9	75.00
17	31/77	13	1	9	1	1	—	—	12	92.30
18	55/77	12	—	8	1	1	—	1	11	91.66
19	Reform RZ	12	1	2	3	—	1	—	7	58.33
20	Type 363	12	—	11	1	—	—	—	12	100.00
Totales		250	6	169	23	2	1	4	205	82.00

% Muertas a las 24 H. .... 2.4  
 % Muertas a las 48 h. .... 67.6  
 % Muertas a los 3 días ..... 9.2

% Muertas a los 4 días..... 0.8  
 % Muertas a los 5 días..... 0.4  
 % Muertas a los 8 días..... 1.6

### 3.3. — DISCUSION

Por la experiencia obtenida en anteriores experimentos el ensayo solo se mantiene 8 días después de la inoculación, pues para entonces las plantitas pierden la susceptibilidad a *Pythium* en condiciones de cultivo en macetitas. Véase como el 67,6% de las plantitas han muerto a las 48 horas, y como el 79,2% (2,4 + 67, 7 + 2) es el total a los 3 días. Esta susceptibilidad manifiesta de las plantitas durante los 3 primeros días al "Damping-off" está totalmente en concordancia con lo que apunta TARR (1.972) de la especialización de los hongos como *Pythium spp* para infectar tejidos parenquimáticos inmaduros o jóvenes de plantitas de semilleros, mientras que tejidos más viejos presentan resistencia a dicha infección. Asimismo AGRIOS (1.973) dice que si la infección inicial por *Pythium spp* ocurre cuando las plantitas están realmente bien desarrolladas y presentan la cutícula del tallo gruesa y lignificada solo se puede desarrollar una pequeña lesión en el punto de la infección. Los tejidos desarrollados y maduros resisten considerablemente la presión mecánica y la actividad enzimática del hongo. Lo cual sugiere que una resistencia en plantitas de semilleros vendrá marcada por la velocidad con que los tejidos jóvenes envejecen. Por otra parte y siguiendo de nuevo a TARR (1.972) los casos de resistencia a hongos como *Pythium spp* suelen ser poco frecuentes porque dicha resistencia depende de muchos genes (poligénica).

### 3.4. — CONCLUSION

Todas las variedades testadas resul-

tan más o menos susceptibles a *Pythium butleri* Subr., destacando por su mediana resistencia Reform RZ, 761452 (Royal Sluis) y Corona.

### 4. — RESUMEN

*Pythium butleri* Subramanian fue aislado de tejido muerto del cuello de plantas de pepinos de diferentes edades y sometido a pruebas de patogenicidad, de control con fenamino-sulf, propamocarb y etridiazole y a un test de resistencia con 20 cv de pepinos. La cepa del hongo resultó patogénica con alto grado de virulencia a plantitas de semillero de pepinos; el hongo fue efectivamente controlado por los fungicidas ensayados a todas las concentraciones empleadas, algunas de las cuales resultaron fitotóxicas (etridiazole 2,1.5,1,0.5 g/l de m.a.) y otras de acción frenante al crecimiento (fenamino-sulf a dosis altas); todos los fungicidas ensayados en dosis bajas frenan el crecimiento en pequeña medida.

Todas las cv de pepinos resultaron más o menos susceptibles a *Pythium butleri* Subr.

### 5. — AGRADECIMIENTO

Al Departamento de Horticultura de la Granja Agrícola Experimental del Excmo. Cabildo Insular de Gran Canaria por facilitarnos gran parte de las semillas de cv de pepinos utilizadas en test de resistencia.

#### Bibliografía

1. — Agrios G.N. (1973). Plant Pathology. Academic Press. New York and London.
2. — Ainsworth G.C. (1971). Dictionary of the fungi. C.M.I., Kew, Surrey England.
3. — Bouhot D. (1975). Technique selective et quantitative d'estimation du potentiel infectieux des sols terreaux et substrats infestés par *Pythium sp.* Ann. Phytopathologie 7(2) 147-158.
4. — Messiaen C.M., Barriere Y., Belliard-Alonzo L., de la Tullaye B., Bouhot D. (1977). Etude qualitative des *Pythium* dans quelques sols des environs de Versailles. Ann. Phytopathologie 9(4) 455-465.
5. — Papavizas G.C., Lewis J.A., Lumsden R.D., Adam P.B., Ayers W.A. y Kantzes J.G. (1977). Control of *Pythium* Blight on Bean with ethazol and Prothiocarb. Phytopathology 67:1293-1299.
6. — Rodríguez R. (1978). Investigación sobre el agente causal de la "cinturilla" (Damping-off) y marchitamiento de plantas de pepinos cultivadas en invernadero. XOBA vol. 1 n.º3
7. — Tarr S.A.J. (1972). Principales of Plant Pathology. The MacMillan Press. London.