

INVESTIGACION SOBRE EL AGENTE CAUSAL DE "LAS RAICES LEÑOSAS" (CORKY ROOT) DEL TOMATE EN CANARIAS

I.— PRESENCIA DE *PYRENOCHAETA LYCOPERSICI*, SCHEIDER Y GERLACH, EN EL COMPLEJO PARASITARIO DE LAS RAICES LEÑOSAS DEL TOMATE EN MUESTRAS PROCEDENTES DE CULTIVOS DE GRAN CANARIA Y TENERIFE

Rodríguez Rodríguez, R.

Departamento de Fitopatología
Servicio Agrícola de la
Caja Insular de Ahorros

ANTECEDENTES:

Durante los pasados meses de Enero y Febrero de 1981 fue observada en distintos puntos de la isla de Gran Canaria y Tenerife una enfermedad en plantas de tomates cultivadas al aire libre y en invernaderos, que presentaban distintas características de las ya conocidas por el agricultor. No era la primera vez que observamos el mal, pues desde el invierno de 1978 se venían notando daños de poca gravedad en áreas reducidas de cultivos bajo plástico, que eran relacionadas con defectos de irrigación, e incluso algunas muestras del sistema radicular de estas plantas fueron analizadas por un laboratorio holandés que aisló y dió como agente causal al hongo de suelo *Macrophomina phaseoli* (Maub) Ashby.

Las plantas enfermas tenían una talla más reducida que las sanas y presentaban las hojas más bajas amarillas o con visible desecación. Este amarilleo era

progresivo y ascendente e iba acompañado de un ahuecamiento del tallo. Sin embargo, no había flacidez de las hojas superiores como es característico en las traqueomicosis producidas por *Fusarium oyysporum lycopersici*. La reducción del número y tamaño de los frutos era también característico, no obstante en el sistema radicular de estas plantas, era donde realmente se descubrían los síntomas de más valor para un diagnóstico, con el aspecto acorchado o leñoso de las raíces gruesas y la presencia de zonas necrosadas intermitentes en las raíces finas.

La enfermedad se presentó en épocas de los meses ya apuntados en que hubo un descenso brusco de las temperaturas y sobre cultivos de plantas que ya se estaban recolectando.

Como datos orientativos podemos dar las temperaturas registradas en nuestra estación de climatología de los Moriscos para Enero y Febrero:

	ENERO	FEBRERO
Media máxima mensual	21° C	20° C
Media mínima mensual	14°.1	12°.7
Extrema mínima mensual días 13, 14 y 16	12°	
Extrema mínima mensual día 14		9°.5

Las muestras formadas por un gran número de sistemas radiculares completos de plantas enfermas que fueron recolectadas del campo, para su estudio en laboratorio, procedían de zonas del Carriзал (Ingenio), la Mareta (Telde) y San Nicolás de Tolentino, de Gran Canaria, y de Alcalá (Guía de Isora) de Tenerife, y pertenecían a las variedades comerciales, Meltime, Estrella y 187.

AISLAMIENTO Y RECONOCIMIENTO DEL COMPLEJO PARASITARIO DE "LAS RAICES LEÑOSAS"

Material y Método.—

Los aislamientos se efectuaron de trocitos de raíces no mayores de 1 cm. de longitud, de raíces gruesas leñosas, y de las finas necrosadas, las cuáles fueron, después de lavadas con agua corriente, sumergidas durante 10 minutos en una solución de hipoclorito cálcico al 2% y directamente, sin previo lavado con agua estéril, sembradas sobre PDA (Agar-patata-dextrosa) en placa Petri de 8 cm. colocando 5 trocitos por placa. Las placas fueron incubadas a temperatura normal de laboratorio bajo luz fluorescente con periodos de 12 h. luz-oscuridad, y a partir de los 3 días todos los crecimientos de micelio que iban apareciendo en los puntos de siembra se iban repicando a placas con el mismo medio de cultivo.

Aislamientos obtenidos.

El crecimiento más rápido y abundante, presente en el 60% de los puntos de siembra, fue el de *Rhizoctonia solani* Kühn, le seguía en un 25% de los puntos sembrados *Colletotrichum coccodes* (Wallr.). *Fusarium solani* (Mart.) Sn. y H, y *F. oxysporum* (Schl.) Sn. y H. aparecían en el 5 y 5% de los puntos y un *micelio gris* que debía pertenecer a *Pyrenochaeta lycopersici*, y considerado como el agente causal de "las raíces leñosas", sólo puedo ser separado del 5% de los puntos de siembra. El repicado a placas de estas especies se efectuó a los 3 días de la siembra, en cuyo momento todas presentaban un crecimiento entre 5 a 20 mm. alrededor el punto sembrado, excepto el de *micelio gris* que apenas era perceptible

sobre o alrededor de las raicillas sembradas. No hubo relación entre el tipo de raíz sembrada y la especie obtenida, pues tanto de raíces gruesas leñosas como de las finas necrosadas o no, se obtenían todas las especies a excepción del *micelio gris* que sólo fue obtenido de ciertas raicillas finas con necrosis.

Tal como se preveía el *micelio gris* resultó estéril en PDA y bajo luz fluorescente intermitente en periodos de 12 h. La media de crecimiento diario del diámetro de la colonia, tomada por triplicado y durante 26 días, fue de 2.5 mm.

CARACTERIZACION DEL PODER PATOGENO DEL MICELIO GRIS ESTERIL

Material y métodos.—

Para poner en evidencia el poder patógeno de los aislamientos del *micelio gris estéril*, se siguió un método de contaminación rápida propuesto por M CLERJEAU y M. CONUS (1973). Este método consiste en colocar un inóculo calibrado de cultivo puro sobre raíces de plantas de tomates y melones de 5 días de edad, que han germinado en placas de Petri sobre papel de filtro empapado en agua y en condiciones estériles.

Nosotros empleamos las variedades comerciales Carmelo (tomate) y Oggen (melón) que fueron previamente esterilizadas sumergiéndolas durante 10 minutos en una solución de hipoclorito cálcico al 2% y como inóculo se utilizaron círculos de 6 mm. de diámetro de cultivo puro de 11 días sobre PDA. El inóculo fue colocado sobre raíz de las jóvenes plantas a 10 mm. aprximadamente de su extremo.

La extensión de la necrosis a lo largo de las raíces inoculadas, que sirvió a los autores antes mencionados, para valorar el poder infeccioso de los aislamientos, se refleja en el siguiente cuadro, teniendo en cuenta que nosotros incubamos en cámara climatizada a 24° C, 16 h./día a 20.000 lux.

Según la escala de síntomas después de los 10 días de inoculación, en plantas de tomates, confeccionada por los autores ya mencionados, el aislamiento de *P. lycopersici* testado por nosotros está incluido dentro de la escala 4 que da **un grado de ataque muy fuerte.**



Detalle de raíz gruesa con aspecto de corcho



Sistema radicular de planta de tomate con síntomas de "Raíces leñosas"



Sistema radicular de planta de tomate con necrosis en raíces finas



Detalle de raíces finas con necrosis intermitentes



Plántulas de tomates cv Carmelo después de 10 días de inoculadas



Detalle de la extensión de la necrosis en la raíz principal de plántulas de tomates inoculadas artificialmente

Extensión de la necrosis sobre raíces de plantas de melones y tomates después de 10 días de inoculación. Medidas en mm.

	Plantas	Melones	Tomates
	1	15	8
	2	30	10
	3	30	10
	4	20	25
	5	30	20
	6	30	15
	7	25	15
	8	25	15
	8	8	20
Media		23.5	16

Posteriormente, y siguiendo el mismo método de inoculación rápida anteriormente descrito, se procedió a testar sobre 4 plantitas de tomates de la misma variedad todos los hongos que fueron aislados en asociación con el *micelio gris estéril*, menos *F. oxysporum*. Con dicho experimento pretendíamos comprobar si alguno de ellos era capaz de reproducir necrosis radicular como lo hizo la posible *Pyrenochaeta sp* anteriormente testada. A los 10 días de inoculación las plantitas presentaban el siguiente aspecto:

Tres plantitas, de las cuatro inoculadas, con *Ryzochoxia solani* habían sido colonizadas totalmente presentando pudrición blanda que incluía hojas; *Fusarium solani* colonizó solamente parte del tallo y raíz, a partir del inóculo, sin llegar a las hojas ni extremo radicular, donde se había producido una pudrición blanda oscura; *Colletotricum coccodes* produjo solamente un ligero amarilleo pardo sin pudrición en la zona del inóculo, y un repicado de la cepa del *micelio estéril* anteriormente testado produjo una ligera pudrición blanda y necrosis en la zona del

inóculo, lo cual nos hizo pensar que este hongo pierde prontamente su poder patógeno al recultivarlo en medio artificial.

PRUEBAS PARA LA OBTENCION DE FRUCTIFICACIONES DE HONGO

Una vez puesto de manifiesto el poder patógeno de los aislamientos de *micelio gris estéril*, sobre plantitas de tomates y melón, podíamos concluir que dichos aislamientos eran los responsables de las "necrosis radiculares" y "raíces leñosas", de las plantas de tomates que fueron recogidas en el campo. El único patógeno del tomate que produce este característico daño es, *Pyrenochaeta lycopersici*; lógicamente, a esta especie había que imputar los daños. No obstante, siempre queda la duda razonable, cuando el reconocimiento del patógeno ha sido incompleto, pues no habíamos obtenido, alguna de sus formas reproductivas, que en definitiva, son las que caracterizan a una especie.

En 1959, Ebben, pudo observar de forma muy excepcional, la formación de

picnidios, en cultivo puro sobre medio gelosado, que aparentemente pertenecían al género *Pyrenochaeta*. Gerlach y Scheneider (1964), pudieron obtener fructificaciones de muchos aislamientos del hongo, cultivándolo en medio gelosado que contenía raíces de tomates, y sobre tallos esterilizados en autoclave, expuestos a iluminación intensa, o a la luz ultravioleta. Estos mismos autores también obtuvieron picnidios, sobre raíces de tomates infectadas, y mantenidas sobre un sustrato húmedo, y en 1966 muestran las características morfológicas de los mismos, así como, de conodióforos y conidias que caracteriza a una nueva especie, *P. lycopersici*, Schn. y Gerl.

Clerjeau (1974), pudo observar la

formación de picnidios en la superficie de tejidos radiculares, de plántulas de tomates (cv Monalvo) y melones (cv Charentais), contaminadas artificialmente, según técnica anteriormente descrita (Clerjeau y Conús, 1973). Las plántulas contaminadas, fueron mantenidas bajo iluminación intensa (16 horas/día a 6.000 lux), y los picnidios se obtenían a los 12 días).

Nosotros, en primer lugar, intentamos comprobar la esterilidad del *micelio gris*, sobre distintos medios de cultivos gelosados, en los cuales se estudió la razón de crecimiento y el color de la colonia, por cuadruplicado. En ninguno de los medios usados hubo respuesta a la fructificación, y poca variación morfológica, según se refleja en el siguiente cuadro:

Medio	Color-Colonia	Razón-crecimiento
Bean Pod Agar (Difco)	Gris	2.5mm./día
Lima Bean Agar (Difco)	Gris-claro	3.0 » »
Harina Avena Agar	Gris-claro	2.4 » »
Corn Meal Agar (Difco)	Gris-claro	3.0 » »
Potato Dextrosa Agar (Difco)	Gris-oscuro	2.5 » »

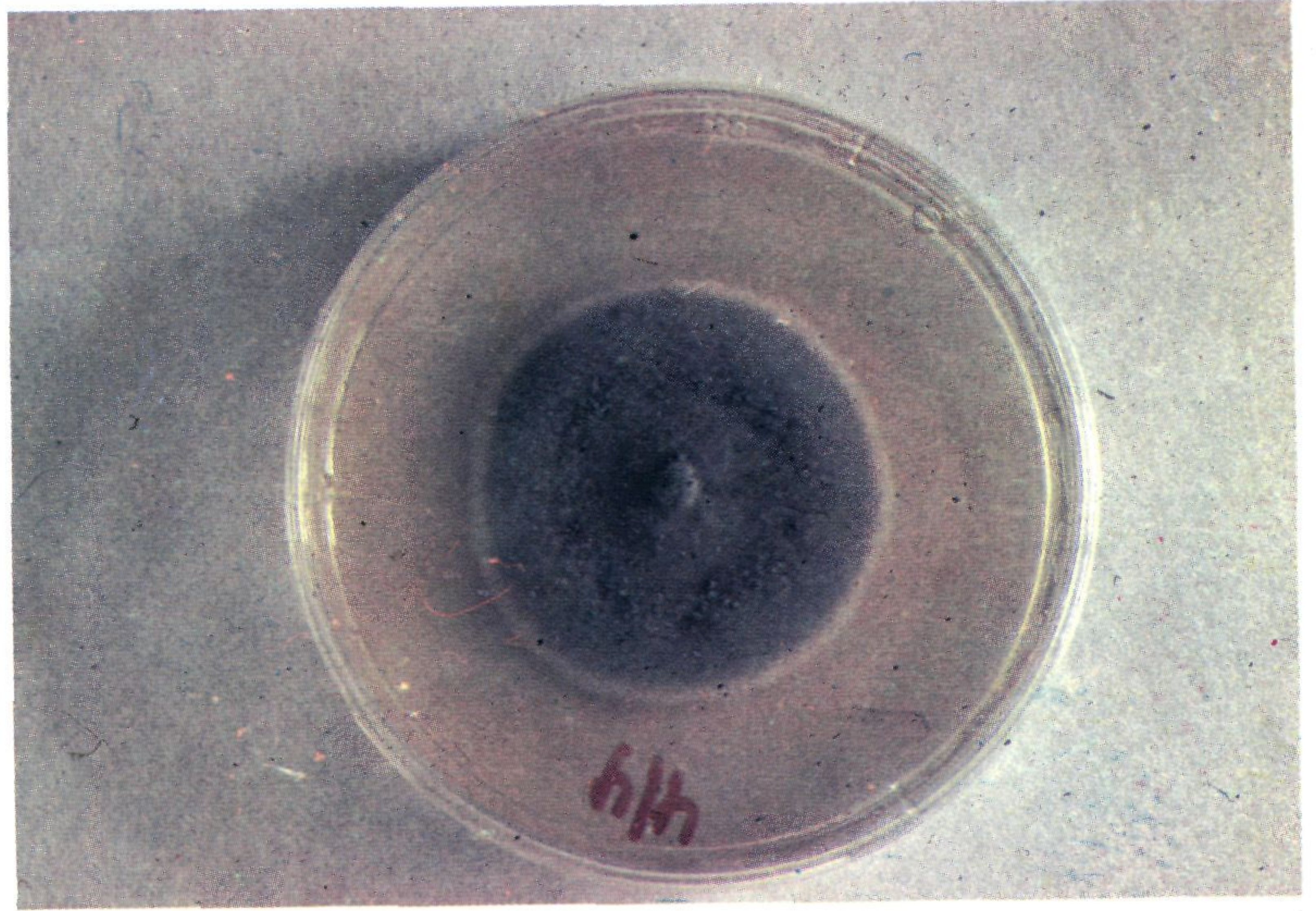
Los repetidos intentos de obtención de picnidios, sobre tejidos radiculares de plántulas de tomates y melones, en condiciones semejantes a las de Clerjeau, fueron siempre negativos, e igualmente sucedió, con distintos tipos de raíces de plantas adultas de tomates y melones, mantenidas bajo iluminación y sustrato húmedo.

Después de repetidos fracasos en la obtención de fructificaciones de *P. lycopersici*, probamos un método que ya habíamos utilizado con éxito, con otro patógeno estéril en medio de cultivo gelosado, *Phomopsis sclerotioides* Van Kest., que ocasiona "la pudredumbre negra" de las raíces del pepino. El método como ya se explicaba entonces (R. Rodríguez 1979), consiste en sembrar el hongo en varios puntos sobre medio gelosado, y

junto a vainas de judías secas, y esterilizadas en autoclave, que se han colocado sobre el medio, en placas Petri. El hongo crece radicalmente y coloniza las vainas de judías, y en este sustrato, de tejido blando, se producen las fructificaciones. por este método se obtuvieron en 15 días, abundantes picnidios de *P. lycopersici*, en varias placas mantenidas bajo luz fluorescente (1.000 lux) con intermitencia de 12 horas.

M Clerjeau (1974), en sus pruebas de producción de picnidios de *P. lycopersici*, obtenía claramente una mayor producción, a medida que los fotoperiodos, a los que sometía a las plántulas contaminadas, eran mayores. Comprobando que la producción de picnidios en la oscuridad, era nula, o casi nula. Nosotros pensamos que realmente, la intensidad y el tiempo

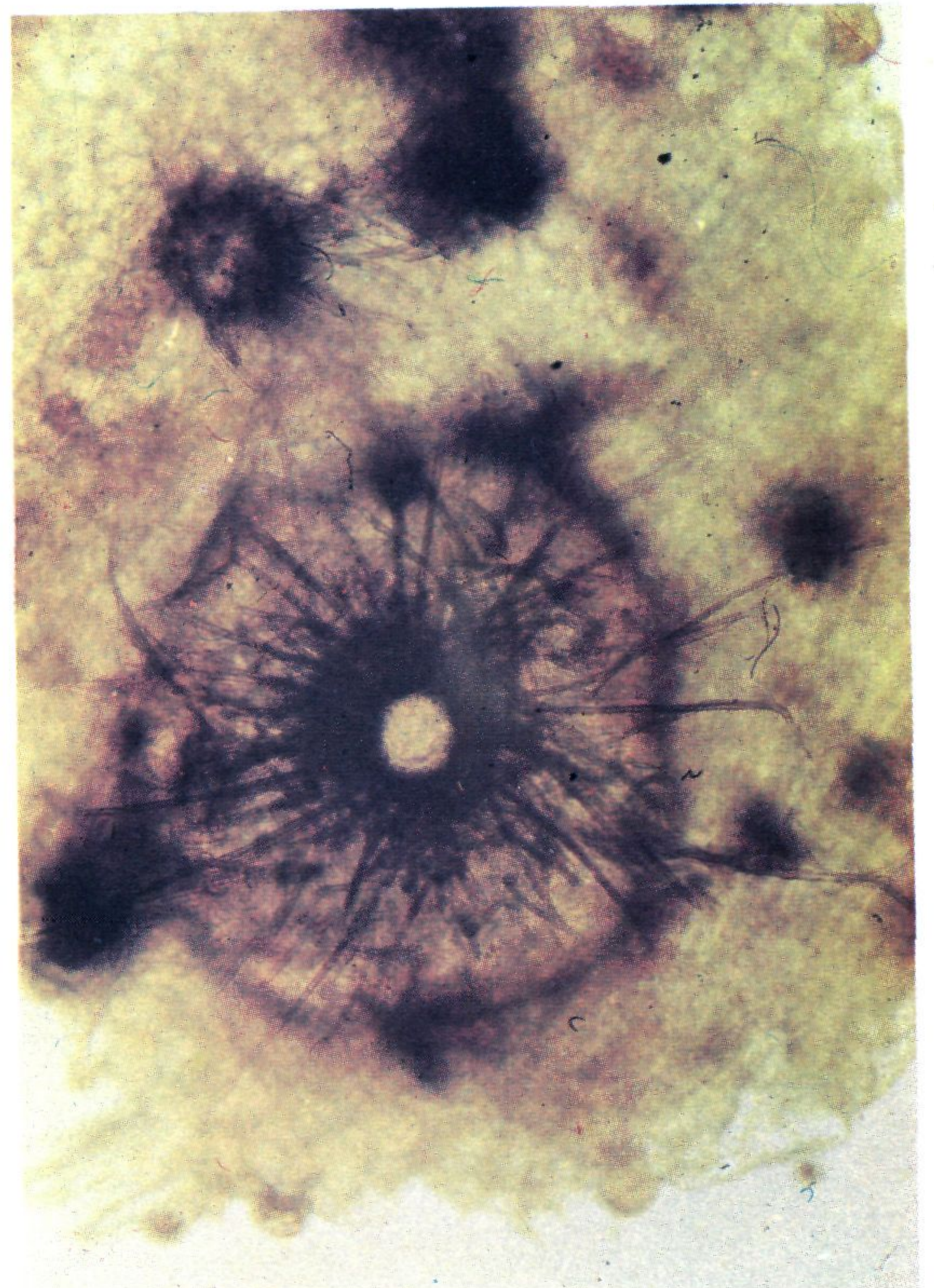
Cultivo puro de *Pyrenochaeta lycopersici*, de 20 días, sobre PDA



Picnidio ostiolado, con las características cerdas tabicadas, de *P. lycopersici*, (vista horizontal) semisumergido en sustrato de vainas de judías estériles



Picnidio (vista lateral)



de luz juegan un importante papel en la producción de picnidios del hongo: Sin embargo, trabajando con una intensidad de 1.000 lux y fotoperíodos de 12 horas, en tejidos radiculares de plántulas y de plantas adultas de tomates y melones, los resultados siempre fueron negativos. Por el contrario, en las mismas condiciones de iluminación, y sobre sustrato de vainas de judías, los resultados fueron positivos, lo cual nos hace pensar en un factor más importante que la iluminación, la naturaleza o consistencia del tejido vegetal que sirve de sustrato.

Una repetición posterior de la prueba de fructificación sobre vainas de judías estériles con una cepa de *P. lycopersici* varias veces recultivada nos llevó a la obtención de sólo 3 picnidios, en un conjunto de 6 trozos de vainas de judías colonizadas. Esto nos sugiere que el patógeno va perdiendo su capacidad de fructificación a medida que es recultivado en medio artificial.

En un último intento de conseguir las fructificaciones del hongo en medio de cultivo artificial, se iluminaron durante

60 días placas de cultivo artificial, se iluminaron durante 60 días placas de cultivo puro del hongo sobre PDA, con una iluminación combinada de "luz negra" y "luz blanca fría". El iluminador fue preparado con un porta-lámpara para 3 tubos de 122 cm., con un tubo central de "luz negra" (Philips TL 40 W/08) y uno a cada lado de "luz blanca fría" (Philips MCFE 40 W/33). La mesa sobre la que se ponían las placas para ser irradiadas se encontraba a 35,5 cm. de distancia, en cuyo punto se midió una iluminación de 3.000 lux (12 h./día). En estas condiciones tampoco se formaron los picnidios de *P. lycopersici*.

Gran número, aunque variable, de microesclerocios, que parecen ser característicos de la especie, se formaban en cultivos viejos (después de 30 días), hundidos en el Agar y principalmente contra el fondo de la placa de cultivo.

DESCRIPCION DEL PARASITO

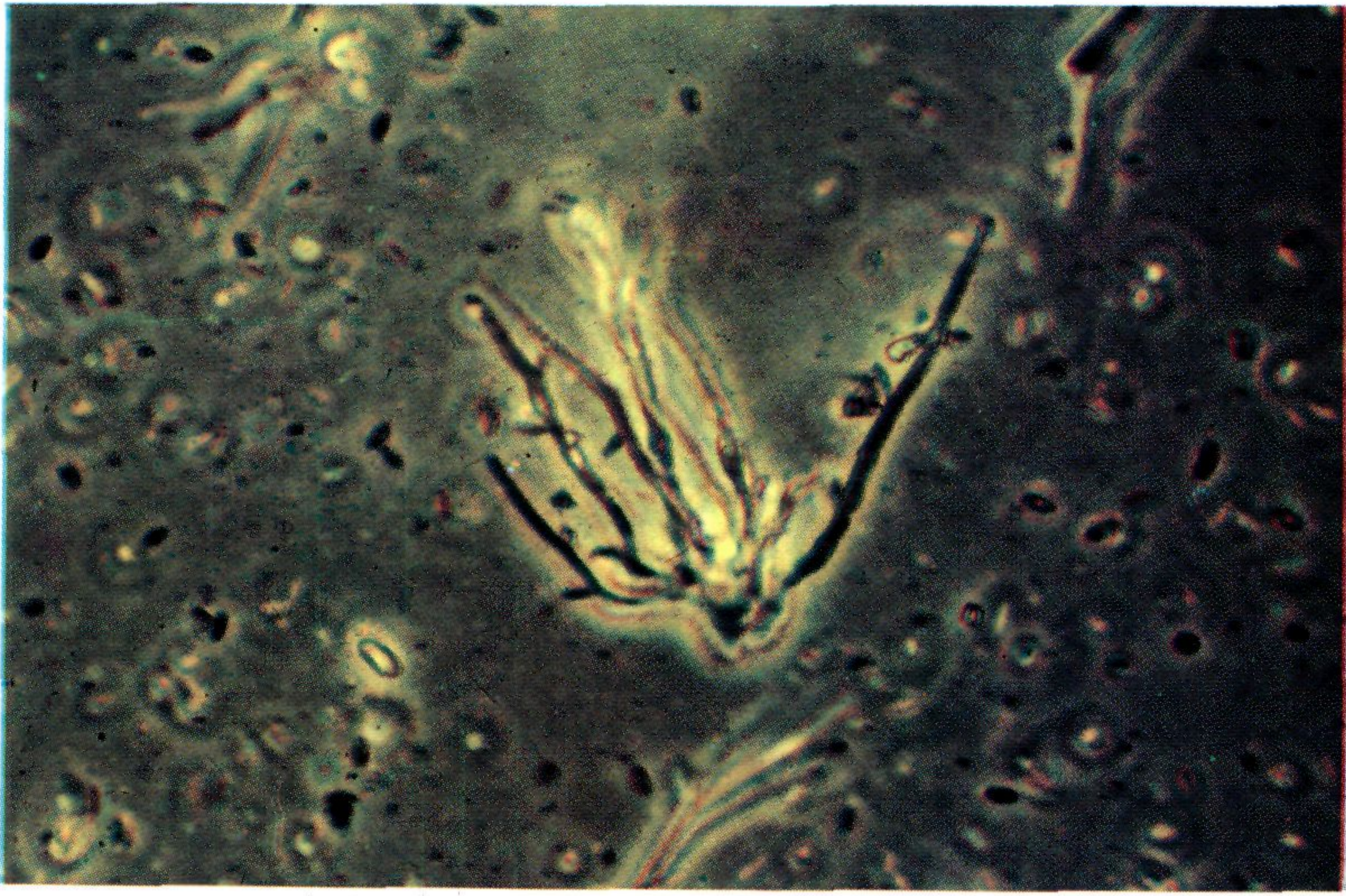
R. Schneider (1979) en su revisión del género *Pyrenochaeta*, hace la siguiente descripción de *P. lycopersici*:

Colonia sobre Harina de Avena - Agar, 45 mm. de diámetro en 14 días, sobre Extracto de Malta-Agar la mitad de crecimiento (Algunas razas, no obstante difieren en su rápido o lento crecimiento radial); algodonosa con el borde pelado en aproximadamente 0,5 mm. de ancho, casi siempre gris-oscuro, rara vez gris-ratón o gris claro, algunas veces con tintes rojizos suplementarios, reverso semejante u oscuro

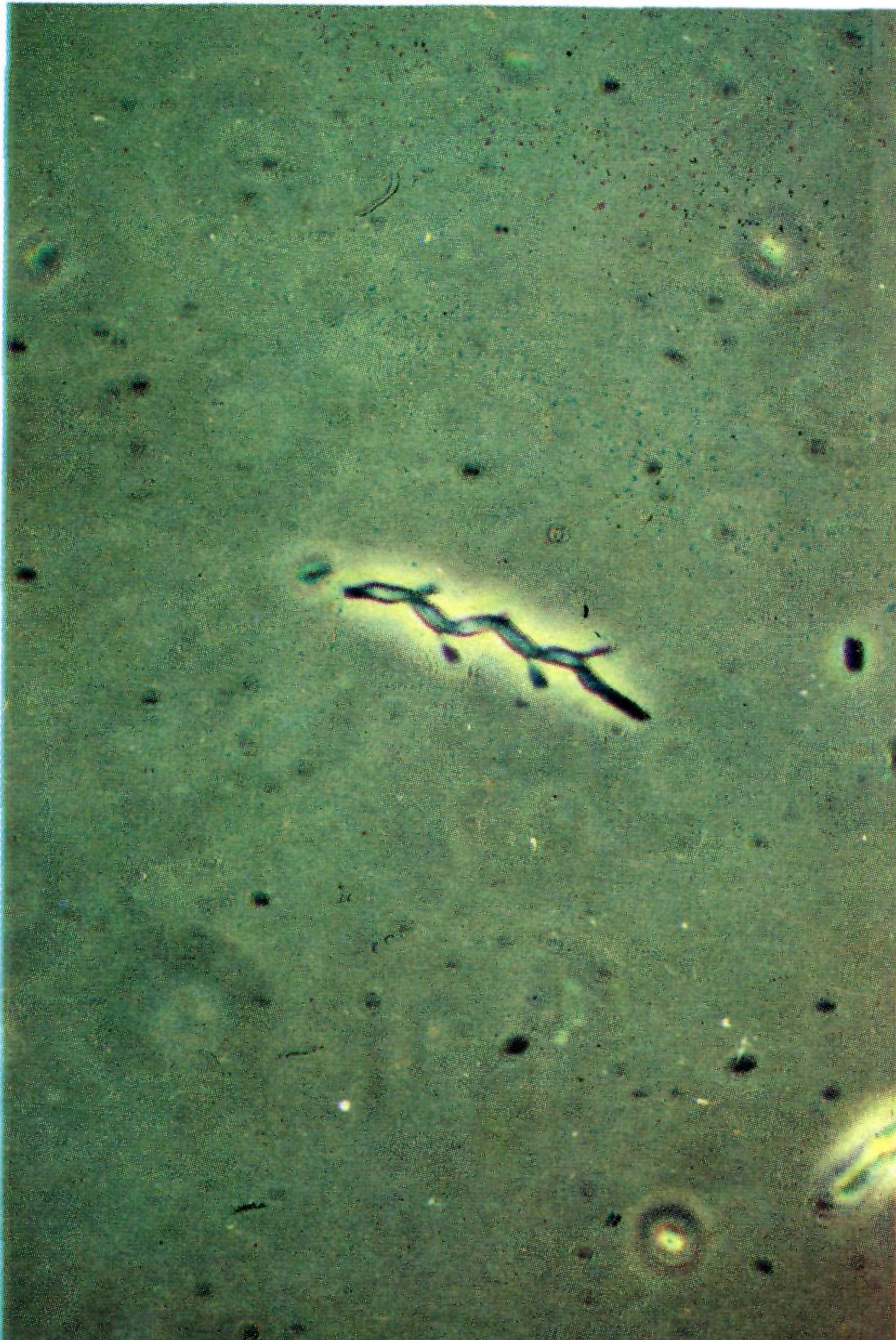
Picnidio en cultivos irradiados con U.V. sobre cebada, solitario, esparcidos o reunidos, 100 - 300 (400) u de diámetro, marrón a negro, esférico o ligeramente achatado,

Ostiolo brevemente papilado, redondo, 15 u de diámetro, con borde oscuro perforado de poros, bordeado con \pm numerosas cerdas tabicadas marrón claro, de 100 - 150 (300) u de largo y 4 a 7 u en la base y estrechando en punta en el ápice. Pared pseudoparenquimática, 12-15 u grueso, sobre \pm abundantes capas de cédulas poligonales, la pared gruesa externa oscura al igual que la interna. **Conidioforo** revisitando la pared interna del Picnidio e inmersos en ella, a excepción del ápice, en forma de filamentos tabicados, simple o reunidos, de muy variable longitud, hasta 100 u largo y 3-4 ancho. **Conidia**, cilíndrica con los extremos redondeados, derecha o ligeramente curvada, con dos gotitas grasas, (3) 4,4-5, (8) x (1) 1,2-1,5 (2) u de tamaño. Es característico de la especie los Microesclerocios negros de forma y tamaño irregulares, se forman por supuesto no en todas las razas en el micelio aéreo (sobre todo observadas en pared de cristal) y sumergidas en el Agar.

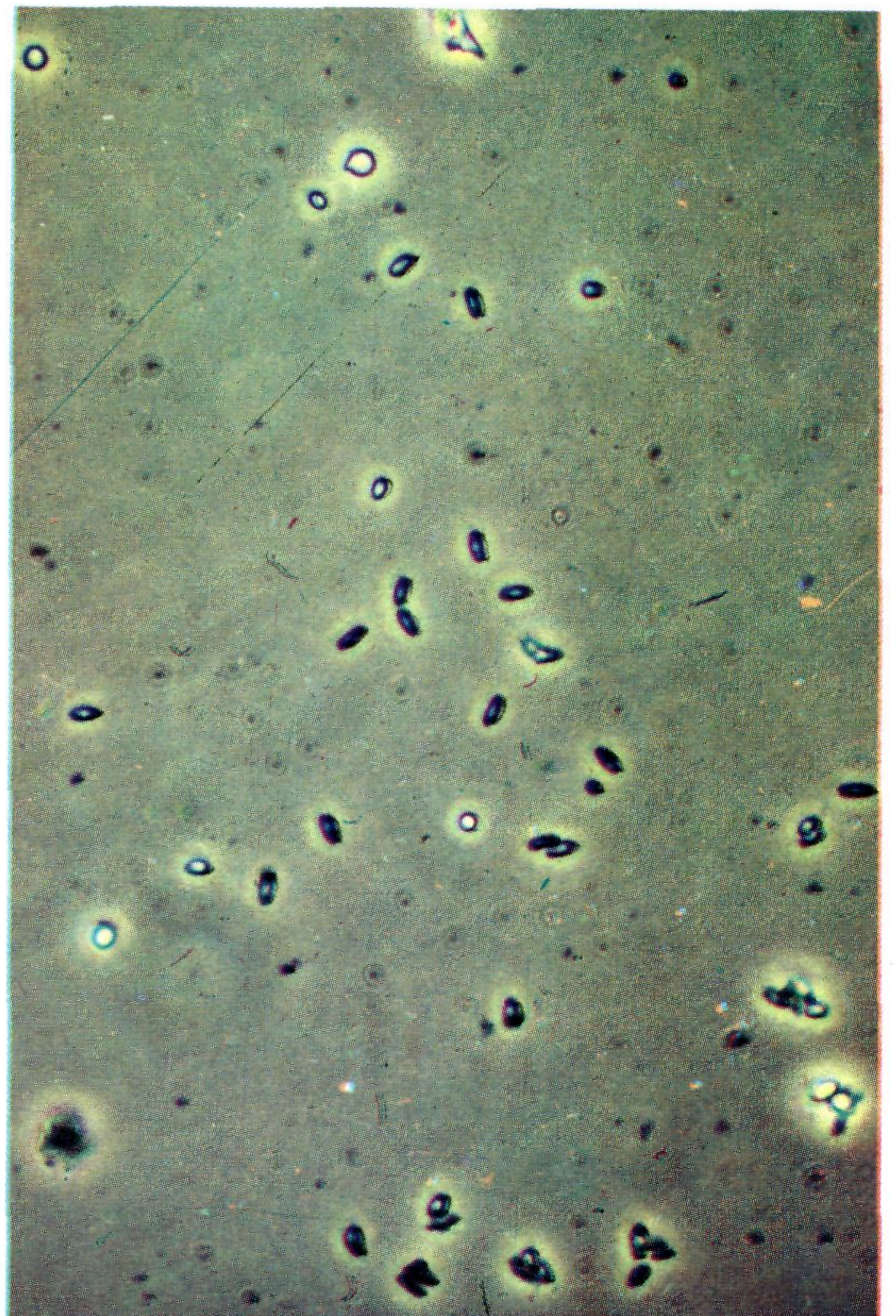
Temperaturas de crecimiento: Mínimo 5° C, óptimo entre 26 a 28 C, Máximo 30° C.



Ramo de conidióforos de *P. lycopersici*



Conidióforo de crecimiento simpodial (observé la formación de conidias laterales a partir del tabique)



Conidias bigotuladas de *P. lycopersici*

ECOLOGIA Y EPIDEMIOLOGIA DEL PATOGENO

Algunos trabajos de la investigación francesa, han puesto de manifiesto, aspectos de la ecología de *P. lycopersici*, que pueden tener importancia en la evolución de esta enfermedad.

Davet (1973), estudió la evolución del complejo de las raíces del tomate en una región del Líbano, donde predominaba *P. lycopersici*. En las raíces aparentemente sanas, encontró, que la microflora de la zona cortical, era distinta de la del cilindro central, donde predominan los parásitos vasculares. En las raíces enfermas, la población de hongos no son diferentes entre las dos partes anatómicas de las mismas. *Fusarium oxysporum*, se encuentra muy raramente en raíces sanas (excepto en el sistema vascular), y *Fusarium solani* no aparecía; por el contrario, estas dos especies junto con *P. lycopersici* eran abundantes en raíces enfermas. El número relativo de hongos más frecuentemente aislados variaba con la estación, y no era el mismo en Primavera que en Otoño, pues parecía estar influenciado por la temperatura. Algunas especies como *Rhizoctonia solani* y los *Fusarium spp*, eran más abundantes en suelos con alta temperatura, mientras que *P. lycopersici* y *Cephalosporium acremonium* aparecían más cuando la temperatura era muy baja.

El mismo Davet en 1976, encuentra que *F. oxysporum*, restringe considerablemente la instalación de *P. lycopersici* en raíces de plantas de tomates, pero por otra parte, las raíces previamente parasitadas por *P. lycopersici*, son más rápidamente y fácilmente invadidas por *F. oxysporum*. El equilibrio entre estos dos hongos está grandemente influenciado por la temperatura. El autor piensa que de los anteriormente, se pueden derivar algunas consecuencias prácticas de control, como, la inoculación sistémica de razas no especializadas de *F. oxysporum*, o la selección de poblaciones de este género, con el empleo de fungicidas apropiados como el PNCB (quintoceno), que aumenta la competencia. Por otra parte, parece posible, que los ataques iniciales de *P. lycopersici*, con bajas temperaturas, pueden ser agravadas, más adelante, por

F. oxysporum, cuando las temperaturas sean ascendentes.

Abundando en el tema, y con relación a la competencia señalada por Davet (1976), nosotros pensamos que la aplicación indiscriminada de productos al suelo, tales como los que derivan a BMC (Benzimidazo-metil-carbamato) o sea, thiabendazol, benomilo, metiltiophanato y carbendazin, los cuáles son conocidos inhibidores de *Fusarium spp*, y aunque también los son de *P. lycopersici*, podrían, en determinadas épocas, producir un desequilibrio que favoreciera el desarrollo de este último. Sería por tanto prudente, recomendar estos últimos productos, solamente cuando las temperaturas son bajas y existiera el riesgo de ataque de *Pyrenochaeta*.

Clerjeau (1976), estudió el comportamiento de muchos aislamientos de *P. lycopersici* en relación con la temperatura, y según su agresividad a plantas de tomates y melón los clasificaba en: Aislamientos "Fríos" ($22^{\circ}\text{C} \leq$, máx. temperatura de crecimiento $< 26^{\circ}\text{C}$), los cuáles no eran patógenos a plántulas de tomates por encima de $20^{\circ} - 22^{\circ}\text{C}$, ni a plántulas de melones por encima de $24^{\circ} - 26^{\circ}\text{C}$; Aislamientos "Templados" ($26^{\circ}\text{C} \leq$, máx. temp. $< 30^{\circ}\text{C}$), que no eran agresivos por encima de $24^{\circ} - 26^{\circ}\text{C}$ y $26^{\circ} - 28^{\circ}\text{C}$, respectivamente a tomates y melones. Aislamientos "Calientes", capaces de crecer por encima de 34°C , que no pudieron ser testados en agresividad, debido a su pérdida de patogenidad por conservación "in vitro". La gran adaptación del patógeno a la temperatura, concluye el autor, puede ser causa de su extensión geográfica.

La supervivencia de *P. lycopersici* en suelos infectados, fue estudiada por Davet (1976), la cual, dice este autor, parece estar asegurada, por las raicillas con síntomas necróticos, que por ser siempre muy finas, quedan en la tierra, al ser arrancadas las plantas al final de la cosecha. La conservación del hongo en forma de micelio libre, parece posible, pero debido a la inaptitud de *P. lycopersici* parece poco probable que se pueda encontrar en esta forma.

Punithalingam y Holliday (1973), en su recopilación de citas sobre el patógeno, dicen, que la extensión de los da-

ños por *P. lycopersici* crece más rápidamente en el 2º año de la infección, decrece con la profundidad del suelo y aumenta aún cuando se use un porta-injerto tolerante, y que los síntomas de acorchamiento de las raíces, decrecen de una estación de cultivo a la siguiente, lo cual probablemente está asociado, con el aumento de la población del hongo que no permite la formación de raíces gruesas que son las que presentan este síntoma.

MEDIDAS DE CONTROL

El control químico de *Pyrenochaeta lycopersici* ha sido investigado por muchos patólogos en el transcurso de los últimos años. Se ha dicho que debido a su conservación en las capas superficiales del suelo, puede ser eliminado con la aplicación de vapor de agua insuflado bajo lonas. Igualmente han sido citados como activos, los fumigantes bromuro de metilo, cloropicrina, y todas las formas de metil-iso-tiocianato (VAPAN, BASAMID, TRAPEX, etc.).

La aplicación de fungicidas durante el cultivo por la modalidad de "soil drench" puede ser también un buen método de control a la vista de la actividad que muestran "in vitro" los sistémicos que derivan a BMC (Benzimidazol-Metil-Carbamato), como Thiabendazol, benomil, Metiltiofanato y carbendazim.

Resultados excelentes se obtienen con la utilización del porta injerto KVFN, derivado de *Lycopersicon hirsutum*, que resulta resistente a la enfermedad. No obstante el método resulta bastante engorroso.

De momento sólo se dispone de algunos híbridos holandeses tolerantes a *Pyrenochaeta*, parece que ha de pasar algún tiempo, antes de que se pueda disponer de variedades híbridas con resistencia VFN (Verticillium, Fusarium Nemátodos) y altamente tolerantes a *Pyrenochaeta*.

RESUMEN

Pyrenochaeta lycopersici Scheneider y Gelarch, agente causal de las raíces leñosas ("corky root") del tomate, ha sido aislado de raíces de plantas enfermas procedentes de distintos puntos de Gran

Canaria y Tenerife. El poder patógeno de las cepas aisladas ha sido puesto en evidencia mediante una prueba rápida de inoculación en plántulas de tomates y la determinación correcta de la especie ha sido posible, al haberse obtenido fructificaciones asexuales del hongo (picnidios), que excepcionalmente se forman en medio de cultivo artificial, mediante una metodología distinta a la hasta ahora ensayada, por los autores que han trabajado con este patógeno.

BIBLIOGRAFIA:

- CLERJEAU M. CONUS M. (1973): Methode rapide de contamination de jeunes plantules par *Pyrenochaeta lycopersici* Schn. et Gerl. Ann. Phytopathologie 5 (2) 143-150 INRA (FRANCE).
- CLERJEAU M. (1974): Etude de la fructification de *Pyrenochaeta lycopersici* Schnei. et Gerl. sur racines de tomate et de Melon. Ann Phytopathologie 6 (1) 45-54. INRA (FRANCE)
- CLERJEAU M. (1976): Exigences thermiques de croissance et d'agressivité de divers isolats de *Pyrenochaeta lycopersici* Schn. et Gerl. Ann. Phyl. 8 (1) 9,16. INRA (FRANCE).
- DAVET P. (1973): Distribution et evolution du complexe parasitaire des racines de tomate dans une region du liban où prédomine le *Pyrenochaeta lycopersici* Schn. et Gerl. Ann. *Phytopathologie* 5 (1) 53-64. INRA (FRANCE).
- DAVET P. (1976): Compatement Sur divers substrats des champignons associés á la maladie des racines liégeuses de la tomate au Liban. Ann *Phytopcoth* 8 (2) 159-170. INRA (FRANCE).
- DAVET P. (1976): Etude de quelques interactions entre les champignons associés á la maladie des racines liégeuses de la tomate. I et II. Ann. *Phytopapcoth*. 8 (2) 171-190. INRA (FRANCE).
- DAVET P. (1976): Etude d'interaction entre *Fusarium oxysporum* et le *Pyrenochaeta lycopersici* sur les racines de la tomate. Ann. *Phytopathologie* 8 (2) 191-202. INRA (FRANCE).
- PUNITHALINGAM E. Y HOLLIDAY P. (1973): CMI Description of Pathogenic Fungi and Bacteria N.º 398. Ferry Lane, Kew, Surrey, ENGLAND.
- RODRIGUEZ R. (1979): Presencia en Gran Canaria (Islas Canarias) de "la pudredumbre negra de las raíces y marchitamientos del pepino en invernadero, causado por *Phomopsis Sclerotoides* Van Kesterem, XOBA Vol. 3 número 1, 36-39. Servicio Agrícola, Caja Insular de Ahorros de Gran Canaria.
- RODRIGUEZ R. (1981): Métodos de lucha contra las enfermedades vasculares y radicales. Plagas y enfermedades. XOBA Monografía 2, El tomate 87-89. Servicio Agrícola, Caja Insular de Ahorros de Gran Canaria.
- SCHNEIDER R. (1979): Die Gattung *Pyrenochaeta* De Notaris. Biologische Bundesanstalt für land- und Forstwirtschaft, Institut für Mikrobiologie, Berlin - Dahlem.

II.— SENSIBILIDAD DE *PYRENOCHAETA LYCOPERSICI*, SCHEIDER Y GERLACH A VARIOS FUNGICIDAS IN VITRO, Y A LA COLONIZACION DE PLANTITAS DE TOMATES PREVIAMENTE TRATADAS

Cardona, J. F.

Colaborador científico

Rodríguez Rodríguez, R.

Departamento de Fitopatología

Servicio Agrícola de la

Caja Insular de Ahorros

ANTECEDENTES

Una revisión bibliográfica de los últimos años, nos muestra como los ensayos de control químico de *Pyrenochaeta lycopersici* Schne. y Gerl., agente causal de las "raíces leñosas" del tomate, se han basado en la esterilización de suelo con vapor o bromuro de metilo: RPP (56) 850 (Review of plant pathology (Volumen) n.º del abstracts), RPP (59) 5922; RPP (60) 2953; en el empleo de fumigantes de preplantación, y en especial las distintas formas de metil-iso-tiocianato (vapan, Basamid etc.); RPP (56) 1739/5803; RPP (59) 3898/5922; o en tratamientos al suelo durante el cultivo con los fungicidas sistémicos que derivan a BMC (benomilo, carbendazin, etc.): RPP (56) 3845; RPP (59) 5372. Algunos de estos productos han sido testados directamente en el campo, y otros solamente "in vitro", y en general han mostrado una actividad más o menos notable en la limitación de sus daños en el campo, y en la inhibición del crecimiento del hongo.

En muchos cultivos de tomates de Gran Canaria, y aún cuando todavía, no había sido confirmada la presencia de *P. lycopersici*, la aplicación al suelo, a través de riego por goteo, de productos como benomilo y carbendazin, han limitado el desarrollo de la enfermedad cuando ésta ya era evidente en los cultivos, y en algunas parcelas donde se había aplicado Vapan en preplantación, la incidencia del "corky root" fue aparentemente menor que en parcelas no tratadas. Sin embargo la eficacia de un fumigante del tipo metil-

iso-tiocianato, depende tanto de una correcta aplicación, en preparación de suelo, humedad, dosificación etc., que hace poco fiable los resultados, que muchos agricultores obtienen de su uso.

Uno de los medios más rápidos de comprobar la actividad de un producto en el control de una enfermedad, es por la capacidad que tiene el patógeno de crecer en presencia de diversas concentraciones del producto, con la ventaja además, de verificarse casi siempre, que si una materia, es activa contra un patógeno "in vitro", normalmente es activa contra el patógeno en condiciones naturales, o sea, en el campo, aunque condicionada, desde luego, a otros factores de clima, suelo, toxicidad a las plantas, etc. No pretendíamos en este trabajo llegar a un cálculo exacto de la ED 50 (Dosis que inhibe el 50% del crecimiento) de cada producto, sólo deséabamos comprobar la eficacia a groso modo, para poder recomendar un tratamiento con ciertas garantías de éxito.

MATERIAL Y METODO

La materias activas de los productos ensayados son las siguientes:

Thiabendazol, benomilo, metiltiofanato, sulfato de oxiquinolaina, Metam-Na, TCMTB (2- tiociano-metiltio) benzo-tiazol.

Cada producto era preparado en 3 concentraciones: 10,50 y 100 ppm. en medio de cultivo artificial (PDA = Agar-patata-dextrosa) en placa Petri de 8 cm. de o), añadiéndolo al medio en forma de

dilución conocida en agua estéril, cuando aquel estaba en surfusión. Cada concentración se repetía 3 veces. Una vez solidificado el medio en las placas, se sembraban, colocando un círculo (6 mm. de ϕ) de cultivo puro de *Pyrenochaeta lycopersici* de 20 días sobre PDA, en el centro de cada placa, y a continuación se dejaban en condiciones normales de laboratorio.

Para valorar el crecimiento se midió el diámetro de la colonia de todas las placas 6 veces, durante 30 días, e igualmente las 3 placas sembradas sobre medio sin productos, que servía de control (testigo).

En un segundo experimento se pretendió comprobar la sensibilidad de *P. lycopersici* a varios fungicidas que habían sido aplicados a pequeñas plantas de tomates recién germinadas, con lo que al mismo tiempo, podíamos, también comprobar la sensibilidad de las plantitas a los fungicidas (acción de fitotoxicidad).

Para este experimento se prepararon soluciones de 500 ppm. de los fungicidas benomilo, thiabendazol, metiltiofanato, sulfato de oxiquinolaina, thiabendazol + sulfato de oxiquinolaina y TCMTB (2- (tiocianato-metiltio) benzotia-

zol). La concentración fue estudiada para que fuera aproximadamente semejante a la que reciben las plantas en el campo en tratamiento localizado al cuello.

Cuatro plantas de cv CARMELO recién germinadas y en estado de hojas cotiledonarias, eran sumergidas en cada una de las soluciones fungicidas durante 14 minutos y a continuación dispuestas en placas de Petri de 8 cm. de ϕ sobre papel de filtro húmedo, e inmediatamente inoculadas con un círculo de cultivo puro sobre PDA de 20 días de edad. Este método de inoculación rápida ya ha sido descrito anteriormente (R. RODRIGUEZ 1981) y se debe a CLERJEAU Y CONUS (1973).

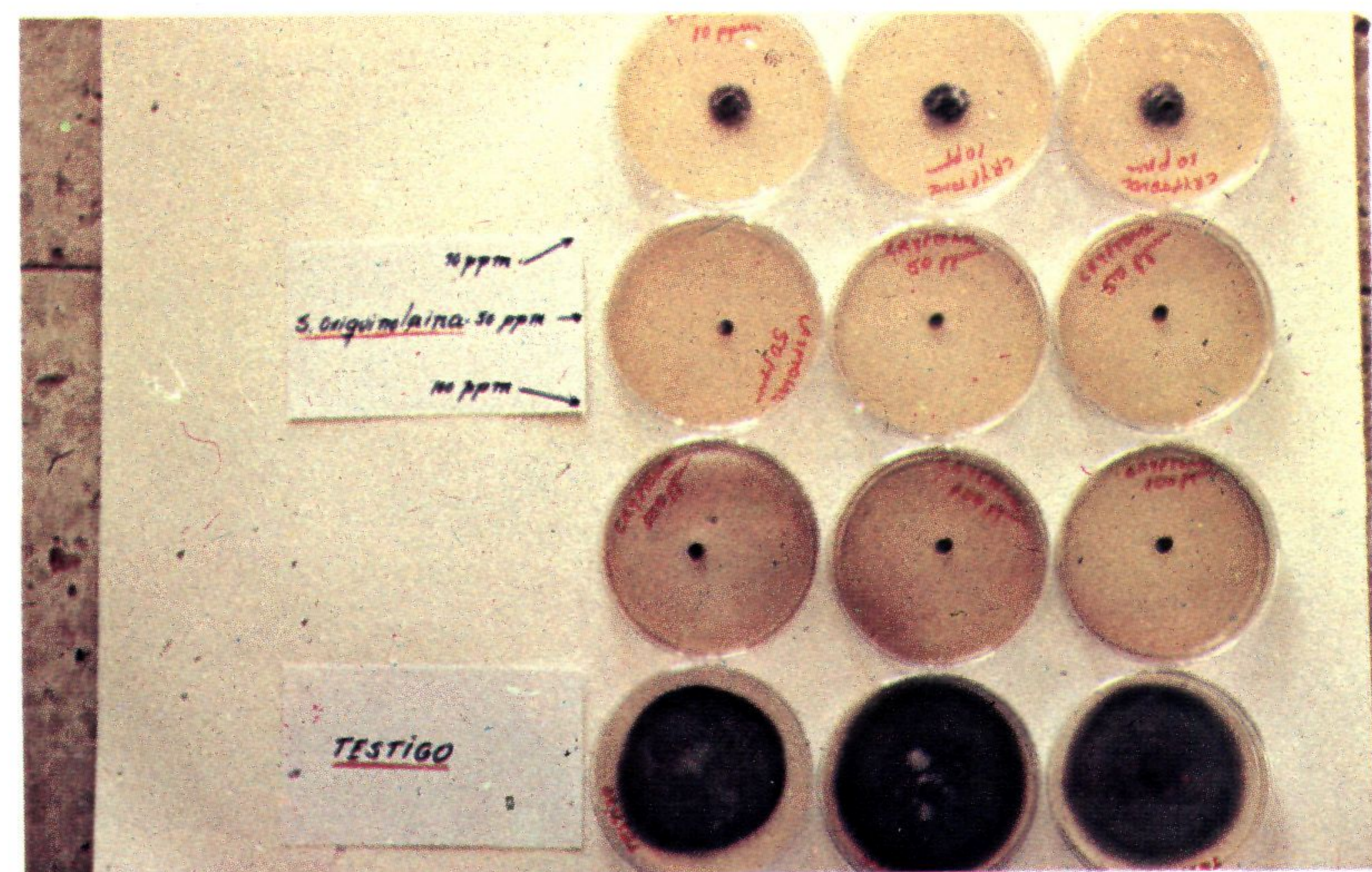
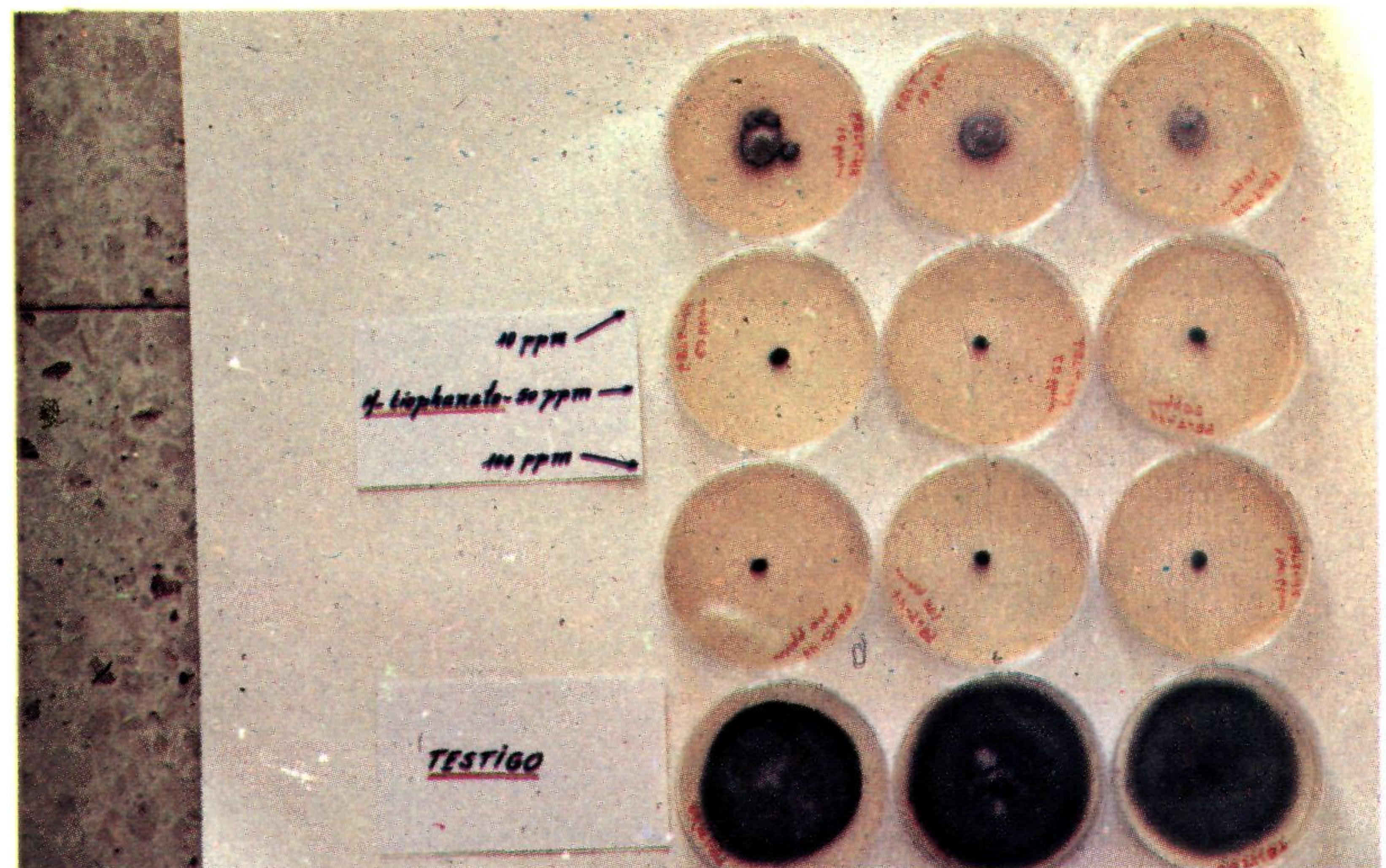
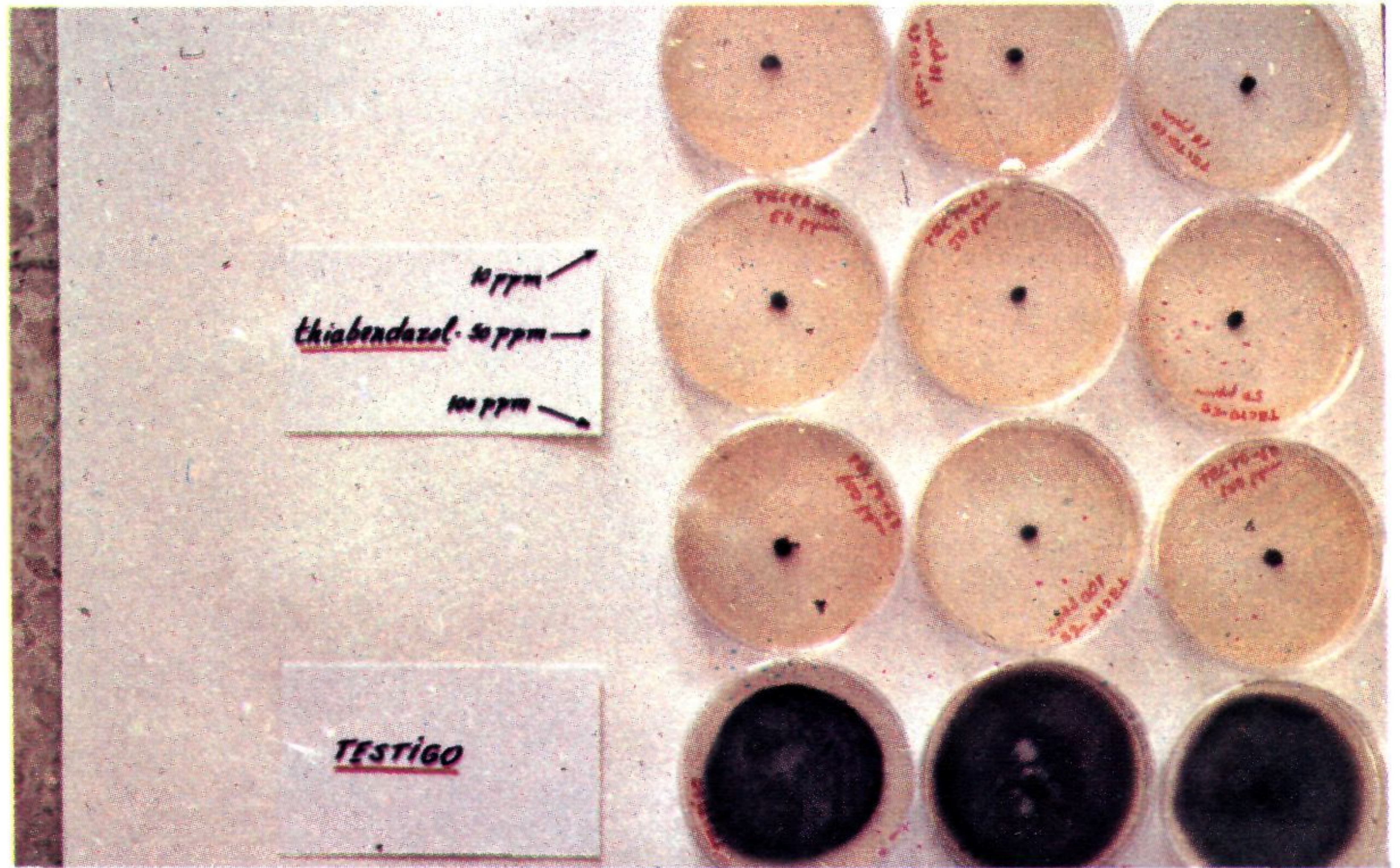
Las plantas inoculadas permanecieron durante 10 días en una cámara de cultivo a 22° C, 70% de humedad relativa y periodos de luz (25.000 lux) y oscuridad de 16 - 8 horas respectivamente.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos de la prueba "in vitro" se reflejan en el siguiente cuadro:

Crecimientos Medios de las colonias en mm., a los

PRODUCTOS	ppm	6 días	10 días	14 días	18 días	22 días	30 días	% inhibición crecimiento
benomilo	10	0	0	5,3	8	11	18	75,34
	50	0	0	0	0	0	0	100,00
	100	0	0	0	0	0	0	100,00
Thiabendazol	10	0	0	0	0	0	0	100,00
	50	0	0	0	0	0	0	100,00
	100	0	0	0	0	0	0	100,00
Metiltiofanato	10	12	13,3	15	16,3	17,6	18	75,35
	50	0	0	0	0	0	0	100,00
	100	0	0	0	0	0	0	100,00



Tres ejemplos de la metodología usada en la prueba de inhibición de crecimiento de *P. lycopersici*, en presencia de diferentes productos fungicidas

TCMTB	10	9	13	16	18	22	26,3	63,90
	50	0	0	0	5	6	7,3	89,95
	100	0	0	0	3	3	3	95,90
Metam-Na	10	21	31,3	49,6	58,3	68,3	76	0,00
	50	18	30,6	44,6	51,0	62,3	69,3	5,07
	100	6	15,6	26,3	31,0	40,0	45,6	37,53
S. oxiquin.	10	7,3	10	12	12,6	16,0	18,17	75,35
	50	0	0	0	0	0	0	100,00
	100	0	0	0	0	0	0	100,00
CONTROL	0	22,3	32,3	52	59,3	67,6	73	0

En cuanto al experimento sobre plantas inoculadas que previamente habían sido sumergidas en solución fungicida, los resultados fueron los siguientes:

PRODUCTO	CONCENTRACION	OBSERVACIONES
Benomilo	500 ppm.	4 plantas No colonizadas por el hongo, aspecto normal sano.
Thiabendazol	» »	4 plantas No colonizadas por el hongo, síntomas de fitotoxicidad.
Metiltiophanato	» »	4 plantas No colonizadas por el hongo, aspecto normal sano.
S. oxiquinolaina	» »	4 plantas No colonizadas por el hongo, síntomas de fitotoxicidad.
Thiabendazol + S. oxiquinolaina	» »	4 plantas No colonizadas por el hongo, síntomas de fitotoxicidad.
TCMTB	» »	4 plantas No colonizadas por el hongo, síntomas de fitotoxicidad.
TESTIGO	» »	4 plantas colonizadas por el hongo, con pudredumbre en la zona del inóculo y poca extensión de la necrosis fuera de esta zona.

Los síntomas de fitotoxicidad en los productos señalados, se mostraban por amarilleo y necrosis de las hojas catiledoarias, muerte de la raíz principal y falta de crecimiento de las plantitas.

DISCUSION

Los fungicidas que derivan a BMC (benzimidazolmetil-carbamato); thiabendazol, benomilo y metiltiophanato, han demostrado una buena actividad contra *P. lycopersici* "in vitro", en especial el primero. La ED 50 de estos productos están por debajo de 10 ppm. y la del thiabendazol han de ser más bajas que la de los otros dps.

El TCMTB podría resultar de gran utilidad como fumigante de suelo en preplantación, o postplantación (dependiendo de su fitotoxicidad) puesto que muestra una buena actividad frente del desarrollo del hongo. Su ED 50 también ha de estar por debajo de 10 ppm., aunque será ligeramente superior a los fungicidas que derivan a BMC.

El Metam-Na, que como se sabe deriva en el suelo a metil-isotiocianato, ha demostrado una actividad relativamente baja, su ED 50 se encontrará por encima de 100 ppm. Esto no se puede considerar anormal puesto que este producto ha demostrado su efectividad en el campo, a dosis muy altas, del orden de 50 a 100 g. de m. activa por metro cuadrado, lo cual puede suponer una concentración en el agua de riego de 5.000 a 10.000 ppm.

El sulfato de oxiquinolaina ha mostrado una actividad comparable a benomilo y metiltiophanato, puede ser un producto muy importante para utilizar donde existan o vayan apareciendo, razas resistentes a los anteriores.

En la prueba de sensibilidad sobre pequeñas plantas de tomates, se consideró una dosis alta de concentración (0,5 g. de materia activa por litro), pero que pueden fácilmente recibir las plantas en el campo, en tratamiento localizado, por goteo, o por aplicación directa al cuello.

Todos los productos no han permitido que las plantitas fueran colonizadas por *P. lycopersici* en el plazo de 10 días, sin embargo los únicos que han resultado inocuos para las mismas han sido benomilo y metiltiophanato. Tal resultado no

quiere decir que los productos que se han mostrado fitotóxicos sean rechazados para usar en el campo, puesto que, en aquellas condiciones no se suelen emplear en plantas recién germinadas, que son mucho más sensibles, y pueden ser ensayadas dosis más bajas efectivas, que no sean *fitotóxicas*.

CONCLUSION

A la vista de los resultados obtenidos en las pruebas de sensibilidad con fungicidas, para el control de *P. lycopersici*, parece aconsejable, teniendo en cuenta que la variedad comercial más usada en Canarias para exportación (Meltime), no posee genes de resistencia a *P. lycopersici*; probar aplicaciones al suelo de preplantación, con Metam-Na, a dosis no menores de 40-50 g. de producto activo por metro cuadrado, efectuadas con correcta humedad de suelo en capacidad y tiempo. El TCMTB puede ser un sustituto del Metam-Na con la ventaja que supone el empleo de la materia que verdaderamente es activa al degradarse el Metam-Na (metil-isotiocianato), además del manejo de un volumen mucho menor de producto. Su empleo en cultivos ya establecidos deben ser previamente ensayado para valorar sus posibles efectos fitotóxicos, y teniendo en cuenta su actividad "in vitro" pensamos que igualmente se han de ensayar dosis entre 500 a 1.200 g. de materia activa por Ha., referidas a riego por goteo o aplicación localizada.

Los fungicidas sistémicos que derivan a BMC, incluido el carbendazin que no ha sido incluido en el ensayo, pero debe tener una actividad semejante a los ensayados, se han usado en la práctica a razón de 0,2 g. por planta de producto activo. Estos pueden ser utilizados durante el cultivo, en suelos que previamente han sido, o no, tratados con un fumigante. Pensamos que el momento de aplicación ha de coincidir con el comienzo de la época de más bajas temperaturas Diciembre o Enero; y efectuar 2 ó 3 aplicaciones durante la misma. El que más actividad ha mostrado de los productos ensayados, thiabendazol, debe ser previamente ensayado con respecto a sus posibles efectos fitotóxicos. por úl-

timo el sulfato de oxiquinolaina, una vez que se compruebe, que las plantas de tomates lo resiste bien en el campo, puede ser de gran utilidad para utilizar conjuntamente con alguno de los anteriores, o en tratamientos alternativos, y evitar la rápida presencia de razas resistentes del patógeno, que con frecuencia se presentan cuando se utilizan repetidas veces un fungicida sistémico.

RESUMEN

Mediante dos experimentos, uno "in vitro" y otro sobre plántulas de tomates, se han determinado la sensibilidad de *Pyrenochaeta lycopersici* Scheneider y Gelarch, a los fungicidas thiabendazol, benomilo, metiltiophanato, sulfato de oxiquinolaina, Metam-Na y TCMTB. La mayor actividad "in vitro" la ha conseguido el thiabendazol. 500 ppm. de concentración de los productos anteriormente reseñados (menos Metam-Na) y de una formulación de thiabendazol + sulfato de oxiquinolaina, han impedido la

colonización de plántulas de tomate inoculadas con el patógeno, thiabendazol, sulfato de oxiquinolaina, thiabendazol + s. oxiquinolaina y TCMTB han mostrado efectos fitotóxico en las plántulas a la concentración antes mencionada.

BIBLIOGRAFIA:

CLERJEAU M. CONUS M. (1973): Methode rapide de contamination de jeunes plántulas de tomate par *Pyreno chaeta lycopersici* Schn. et Gerl. Ann Phytopatologie 5 (2) - 150 IWRA (FRANCE).

REVIEW OF PLANT PATHOLOGY: Vol. 55 Abstracts 3845; Vol. 56 Abstracts 850, 1.739, 5.803; Vol. 59 Abstracts 2.953. Commonwealth Agricultural Bureaux. Farnham Royal, Slough SL 2 3BN. Uk.

RODRIGUEZ R. (1978): Comprobación "in vitro" de la acción de varios fungicidas contra *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, aislada de manchas foliares del pepino. XOBA Vol. 2, N.º 1 - 45-49. Servicio Agrícola de la Caja Insular de Ahorros de Gran Canaria.

