

## La Fusariosis Vascular del tabaco asociada a nematodos formadores de quistes del complejo *Globodera tabacum* en el Valle del Tiétar: estrategias de control

M. C. RODRÍGUEZ-MOLINA, E. VERDEJO ALONSO, J. A. GARCÍA BARRADO, G. ESPÁRRAGO RODILLA, M. C. MORALES RODRÍGUEZ, E. PALO NÚÑEZ, C. PALO OSORIO, L. M. TORRES-VILA

La Fusariosis Vascular del tabaco asociada a nematodos formadores de quistes del complejo *Globodera tabacum* es un problema fitopatológico grave del cultivo del tabaco en el Valle del Tiétar (Cáceres). Con el objetivo de evaluar la eficacia de la fumigación con 1,3-dicloropropeno y de variedades de tabaco con distintos componentes de resistencia a *G. tabacum* y a *F. oxysporum* en el control de la enfermedad se establecieron una serie de ensayos en 2004, 2005 y 2006 en parcelas infestadas con *G. tabacum*, y los resultados se presentan en este trabajo. La fumigación redujo la incidencia de la enfermedad en todos los años y variedades. La variedad AG-41 (portadora de los genes *Ph* y *Rk*) fue la más eficaz en el control de la enfermedad, seguida de C-4M (con el gen *Rk*), ITB-385 (con resistencia a Fusariosis Vascular) y NC-72 (con el gen *Ph*). Ninguna de las variedades mantuvo la incidencia de la enfermedad a niveles aceptables en suelos no fumigados. La combinación de la fumigación en pretransplante con el cultivo de la variedad AG-41 se presenta como la mejor estrategia de control. Ninguno de los factores estudiados tuvo efecto las densidades de población de *G. tabacum* en el suelo en 2004. La fumigación y su interacción con la fecha de muestreo tuvieron efecto significativo en las densidades de juveniles en 2005, con un descenso de la densidad entre el segundo y el tercer muestreo más acusado en las parcelas fumigadas. La densidad de *F. oxysporum* en las parcelas fumigadas fue significativamente menor que en las no fumigadas en 2004. Sin embargo en 2005 ninguno de los factores estudiados tuvo efecto en la densidad de *F. oxysporum*.

M. C. RODRÍGUEZ-MOLINA, M. C. MORALES RODRÍGUEZ, E. PALO NÚÑEZ, C. PALO OSORIO. Centro de Investigación Agraria Finca La Orden-Valdesequera. Finca La Orden, 06187 Guadajira (Badajoz). Dirección de correo electrónico: carmen.rodriguez@junta-extremadura.net

E. VERDEJO ALONSO, G. ESPÁRRAGO RODILLA, L. M. TORRES-VILA. Servicio de Sanidad Vegetal. Consejería de Agricultura y Desarrollo Rural, Avda. de Portugal s/n, 06800 Mérida (Badajoz).

J. A. GARCÍA BARRADO. Centro Tecnológico Agroalimentario de Extremadura (CTAEX). Crtra. Villafranco a Balboa, Km 1,2, 06195 Villafranco del Guadiana (Badajoz).

**Palabras clave:** *Fusarium oxysporum*, fumigación, 1,3-dicloropropeno, resistencia varietal.

### INTRODUCCIÓN

En el Valle del Tiétar (Cáceres) se localiza la principal zona de cultivo de tabaco de España, con una superficie aproximada de 8.600 ha de tabaco tipo Virginia y 1.800 de

tipo Burley (MANZANERO INIESTA y BLANCO MARTÍN, 2006). Los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* han constituido durante mucho tiempo uno de los principales problemas fitopatológicos asociados al cultivo en esta zona (ESPÁRRAGO,



Figura 1. Parcela de tabaco con plantas afectadas de Fusariosis Vascular.

1999; NAVAS *et al.*, 2001), pero en el año 2001 se detectaron por primera vez poblaciones de nematodos formadores de quistes del complejo *Globodera tabacum* asociados a síntomas característicos de Fusariosis Vascular, como amarilleamiento y marchitamiento del follaje (Figuras 1 y 2), en tabaco tipo Virginia (ESPÁRRAGO y BLANCO, 2002). Una prospección extensa realizada en 2002 puso de manifiesto que *Globodera tabacum* se encontraba ampliamente distribuido en esta zona (ESPÁRRAGO *et al.*, 2002). Del sistema vascular de plantas enfermas se obtuvieron aislados de *Fusarium oxysporum*, que tras ser inoculados en la variedad sensible Ct-681 reprodujeron los síntomas observados en las plantas enfermas (ESPÁRRAGO *et al.*, 2004), y en 2007 se identificó a *F. oxysporum* f. sp.

*batatas* como el agente causal de la Fusariosis Vascular del tabaco en Extremadura (RODRÍGUEZ-MOLINA *et al.*, 2007).

La Fusariosis Vascular puede convertirse en una de las enfermedades más graves del cultivo de tabaco cuando se asocia a infecciones de *G. tabacum*, como ya ha ocurrido en algunas zonas tabaqueras de EE.UU. (LAMONDIS y TAYLOR, 1987; LA MONDIS, 1992, 1995a). En Europa, la Fusariosis Vascular del tabaco se ha descrito en Italia (DIANA y PICCIRILLO, 1994), Grecia (TIAMOS *et al.*, 2006) y España (RODRÍGUEZ-MOLINA *et al.*, 2007).

En el Valle del Tiétar la fumigación del suelo antes del transplante con productos de efecto nematicida es una práctica habitual. El fumigante más frecuentemente aplicado es el 1,3-dicloropropeno, que controla nema-



Figura 2. Planta de tabaco con síntomas de Fusariosis Vascular.

todos formadores de quistes (*Globodera* spp., *Heterodera* spp.), de nódulos (*Meloidogyne incognita*, etc.) y otros nematodos patógenos libres (*Ditylenchus* spp., *Tylenchulus* spp., *Xiphinema* spp., etc.) así como, según productos, hongos e insectos del suelo (DE LIÑÁN, 2008). El control de *G. tabacum* mediante fumigación con dicloropropeno y metil-isotiocianato redujo la incidencia de la Fusariosis Vascular en Connecticut, EE.UU. (LAMONDIA y TAYLOR, 1987) y la aplicación de oxamilo en pretransplante limitó o retrasó la infección por *G. tabacum* a principios de campaña en esa misma zona (LAMONDIA, 1990; LAMONDIA, 1992).

La resistencia varietal es otra posible estrategia de control de la enfermedad. Aunque se han detectado ciertos niveles de resistencia a *G. tabacum solanacearum* en

especies silvestres de *Nicotiana* (BAALAWY y FOX, 1971; HERRERO *et al.*, 1996; HAYES *et al.*, 1997), las variedades comerciales más ampliamente empleadas son susceptibles (WANG *et al.*, 1997). Sin embargo, las variedades que son portadoras del gen *Ph* de resistencia a *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* suprimen la reproducción de *G. tabacum solanacearum* (JOHNSON y CLARKE, 2003). En investigaciones previas se ha comprobado que en las variedades que poseen dicho gen, como son Coker 371 Gold y NC- 297, el índice de reproducción de *G. tabacum* es significativamente menor que en las variedades que no lo poseen, como es K-326 (G. ESPÁRRAGO, datos no publicados). Además, las líneas en las que se ha incorporado el gen *Rk* de resistencia a *M. javanica* y *M. incognita* procedente de

germoplasma de Sudáfrica parecen ser tolerantes a *G. tabacum* (I. BLANCO MARTÍN, datos no publicados).

La resistencia a la Fusariosis Vascular en tabaco es poligénica e incompleta, de forma que las plantas no son inmunes a la infección de *F. oxysporum* y pueden llegar a manifestar síntomas cuando las densidades de inóculo del hongo son elevadas (GRITTON *et al.*, 1965; SHEW y LUCAS, 1991; LAMONDIA, 1995a). Además, la interacción hongo-nematodo provoca una predisposición de las plantas de tabaco a la Fusariosis Vascular, lo que conlleva un incremento de la incidencia y severidad de la enfermedad (LAMONDIA y TAYLOR, 1987; SHEW y LUCAS, 1991).

A la vista de los posibles métodos de control de la Fusariosis Vascular del tabaco asociada a *G. tabacum* se plantearon una serie de ensayos en el Valle del Tiétar en las campañas de 2004, 2005 y 2006. El objetivo de estos ensayos era evaluar la eficacia de la fumigación con 1,3-dicloropropeno y de variedades de tabaco con distintos componentes de resistencia a *G. tabacum* y *F. oxysporum* en el control de la enfermedad, considerando su efecto en la incidencia de la Fusariosis Vascular y en las poblaciones de *F. oxysporum* y de *G. tabacum* en el suelo. En este trabajo se presentan los resultados de dichos ensayos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

En las campañas 2004 y 2005 se estudió el efecto de la fumigación con 1,3-dicloropropeno, de la variedad de tabaco y de la fecha de evaluación o muestreo en la incidencia de la enfermedad y en las poblaciones de *F. oxysporum* y *G. tabacum* (huevos y juveniles) en el suelo. En base a los resultados obtenidos estos dos años, en la campaña 2006 tan solo se estudió el efecto de dichos factores en la incidencia de la enfermedad. Los ensayos se establecieron en parcelas de cultivo de tabaco localizadas en el Valle del Tiétar y en las que previamente se habían detectado problemas de Fusariosis Vascular en las plantas y la presencia de *G. tabacum*

en el suelo, y se siguió un diseño de bloques con cuatro repeticiones y tres factores: 1) aplicación o no de fumigante antes del trasplante, 2) variedad de tabaco, y 3) fecha de evaluación o muestreo. Las parcelas elementales fueron de 36 m<sup>2</sup> con 3 filas de plantas por cada variedad (1,2 m entre líneas y 0,5 m entre plantas). En la fila central de cada parcela se realizaron las evaluaciones del estado sanitario de las plantas y los muestreos de suelo. Mediante un Análisis de la Varianza (ANOVA) Modelo I se estableció el efecto de los tres factores estudiados (considerados con efecto fijo) y sus interacciones en la incidencia de la enfermedad y en las poblaciones de *G. tabacum* y *F. oxysporum* en el suelo. Para la normalización de los datos de incidencia de la enfermedad se realizó la transformación  $\arcsen(x)$ , mientras que para los datos de las poblaciones de *G. tabacum* y *F. oxysporum* se realizó la transformación  $\log(x + 1)$ . Para la realización de los análisis estadísticos se utilizó el programa SYSTAT 10.0.

### 1. Variables estudiadas

**1.1. Incidencia de la enfermedad.** En cada fecha de evaluación se contabilizó el número de plantas sanas, plantas con síntomas de Fusariosis Vascular y plantas muertas, y se estimó la incidencia de la enfermedad (IE) en porcentaje.

**1.2. Poblaciones de *Globodera tabacum* en el suelo.** Para la cuantificación de las poblaciones de *G. tabacum* en el suelo se empleó la metodología descrita por LAMONDIA (1995b). Las muestras de suelo se secaron al aire y los quistes de *G. tabacum* se extrajeron con un aparato de Fenwick modificado. Los quistes se rompieron mediante aplastamiento en agua, y el número de huevos y juveniles se determinó mediante conteo bajo microscopio estereoscópico en dos alícuotas de la suspensión obtenida. Los resultados se expresan en número de huevos (o de juveniles) / 100 cm<sup>3</sup> de suelo.

**1.3- Poblaciones de *Fusarium oxysporum* en el suelo.** Para la cuantificación de las poblaciones de *F. oxysporum* en el suelo se

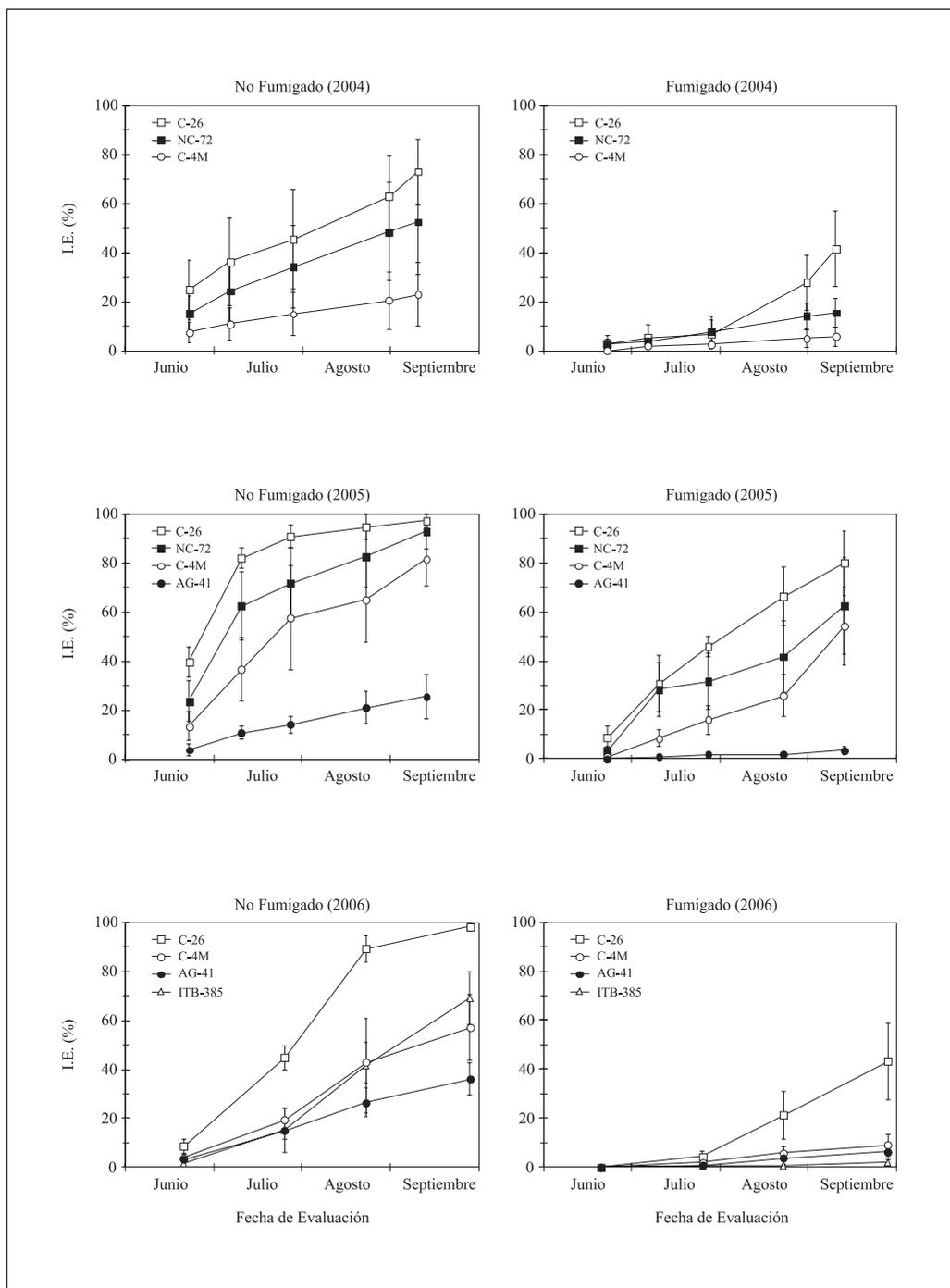


Figura 3. Incidencia media (%  $\pm$  error estándar) de la Fusariosis Vascular (I.E.: Incidencia de la Enfermedad) en distintas variedades de tabaco a lo largo de las campañas 2004, 2005 y 2006 en parcelas no fumigadas y fumigadas.

siguió el método descrito por TELLO *et al.* (1991) basado en añadir una pequeña cantidad de la tierra a analizar al medio selectivo de KOMADA (1975) fundido. Por cada muestra se realizaron cuatro repeticiones, y los resultados se expresan como unidades formadoras de colonias por gramo de suelo (u.f.c./g de suelo).

Tanto para la estimación de las poblaciones de *F. oxysporum* como de *G. tabacum* en cada fecha de muestreo se extrajeron ocho muestras de suelo de puntos distribuidos a lo largo de la línea central de cultivo, y de los primeros 25 cm de profundidad, para formar una muestra compuesta de aproximadamente 500 g.

## 2. Factores estudiados

**2.1. Aplicación de fumigante en pre-transplante.** Se comparó suelo sin fumigar con suelo fumigado. En el caso del suelo fumigado se realizó un tratamiento con 1,3-dicloropropeno (TELONE II EC, Dow AgroSciences), aplicando el producto a la dosis recomendada (95 l/ha) 20 días antes del transplante. La aplicación se practicó en el suelo mullido, con tempero, mediante inyección localizada del producto a 20 cm de profundidad en las bandas y bajo el caballón. Posteriormente se selló mediante riego.

**2.2. Variedades de tabaco.** Las variedades de tabaco Virginia ensayadas fueron: C-26, sin resistencia a *G. tabacum* ni a *F. oxysporum*; NC-72, portadora del gen *Ph*; C-4M, portadora del gen *Rk*; AG-41, portadora de los genes *Ph* y *Rk*; ITB-385, línea experimental proporcionada por el Instituto del Tabaco de Bergerac (Francia), y que presenta resistencia a la Fusariosis Vascular.

**2.3. Fecha de evaluación o muestreo.** En todas las campañas el transplante se realizó la segunda quincena de mayo. En las campañas 2004 y 2005 se realizaron cinco evaluaciones del estado sanitario del cultivo, y cuatro en la campaña 2006. Para el seguimiento de las poblaciones de *G. tabacum* se realizaron tres muestreos en 2004 y cinco en 2005. Para el seguimiento de las poblaciones de *F. oxysporum* se realizaron cinco muestreos en 2004 y en 2005.

## RESULTADOS

Considerando la incidencia de la enfermedad en las variedades C-26 y C-4M, que son las que se evaluaron los tres años de ensayos, los resultados indican que la incidencia de la Fusariosis Vascular en el año 2005 fue mayor que en los otros dos, y en 2006 más elevada que en 2004 (Figura 3). Los resultados de los ANOVAs de los datos de incidencia de la enfermedad se presentan en la Tabla 1. En el año 2004 fue significativo el efecto de la fumigación, así como el de la variedad y de la fecha de evaluación. La incidencia de la enfermedad en los suelos no fumigados fue mayor que en los fumigados en las tres variedades, y fue la variedad C-26 la más afectada, seguida por NC-72 y ésta por C-4M (Figura 3). En los años 2005 y 2006 también fueron significativos los efectos de la fumigación, la variedad y la fecha de evaluación, pero además fueron significativas varias interacciones dobles (Tabla 1). También estos dos años la incidencia de la enfermedad fue menor en los suelos fumigados y las diferencias entre variedades fueron más acusadas cuando no se fumigó el suelo (Figura 3), siendo otra vez la variedad C-26 la más afectada, seguida por NC-72, y ésta por C-4M (y por ITB-385 en 2006). La variedad AG-41 fue la menos afectada los dos años en que se ensayó. La interacción variedad x fecha de evaluación no fue significativa en 2004 y el patrón de incremento de la incidencia a lo largo de la campaña fue similar en las tres variedades ensayadas (Figura 3). Sin embargo, esta interacción fue significativa en 2005, año en el que el patrón de incremento de incidencia de la variedad AG-41 fue claramente diferente del de las otras tres variedades, y en 2006, año en el que el patrón de incremento de C-26 difirió del de las otras tres variedades portadoras de algún tipo de resistencia (Figura 3). En los años 2004 y 2005 la interacción fumigación x fecha de evaluación no fue significativa (Tabla 1), y las diferencias entre las parcelas fumigadas y no fumigadas ya fueron evidentes en la primera fecha de evaluación (Figura 3).

**Cuadro 1. Análisis de Varianza (ANOVA) Modelo I a tres vías de los efectos de la fumigación (F), variedad (V), fecha de evaluación (FE) y sus interacciones en la incidencia de la Fusariosis Vascular en tabaco en los años 2004, 2005 y 2006.**

Año	Fuente	SC	gl	CM	F	P
2004	Fumigación (F)	2,372615	1	2,372615	35,31	< 0,001
	Variedad (V)	1,601810	2	0,800905	11,92	< 0,001
	Fecha de evaluación (FE)	1,816989	4	0,454247	6,76	< 0,001
	F x V	0,390668	2	0,195334	2,91	ns
	F x FE	0,265051	4	0,066262	0,99	ns
	V x FE	0,542943	8	0,067867	1,01	ns
	F x V x FE	0,069901	8	0,008737	0,13	ns
	Bloque	1,019922	1	1,019922	15,18	< 0,001
	Error	5,980571	89	0,067197		
2005	Fumigación (F)	4,837344	1	4,837344	65,54	< 0,001
	Variedad (V)	8,578149	3	2,859383	38,74	< 0,001
	Fecha de evaluación (FE)	6,747356	4	1,686839	22,86	< 0,001
	F x V	0,769346	3	0,256448	3,47	< 0,05
	F x FE	0,493731	4	0,123432	1,67	ns
	V x FE	1,685785	12	0,140482	1,90	< 0,05
	F x V x FE	0,213490	12	0,017790	0,24	ns
	Bloque	0,573543	1	0,573543	7,77	< 0,05
	Error	5,830680	79	0,073806		
2006	Fumigación (F)	4,282700	1	4,282700	118,12	< 0,001
	Variedad (V)	2,671035	3	0,890345	24,56	< 0,001
	Fecha de evaluación (FE)	4,409440	3	1,469813	40,54	< 0,001
	F x V	0,820171	3	0,273390	7,54	< 0,001
	F x FE	1,958068	3	0,652689	18,00	< 0,001
	V x FE	1,536904	9	0,170767	4,71	< 0,001
	F x V x FE	0,433035	9	0,048115	1,33	ns
	Bloque	0,004602	1	0,004602	0,13	ns
	Error	3,444482	95	0,036257		

SC: Suma de Cuadrados; gl: grados de libertad; CM: Cuadrados Medios.

ra 3). Sin embargo en 2006 la interacción fumigación x fecha de evaluación fue significativa y la incidencia en la primera fecha de evaluación fue similar en las parcelas fumigadas y no, pero a lo largo de la campaña fue incrementándose de forma mucho más acusada en las parcelas no fumigadas (Figura 3).

Respecto a las poblaciones de *G. tabacum*, en el año 2004 no fue significativo el efecto de ninguno de los factores estudiados ni en la densidad de huevos, ni en la de juveniles ni en la total (huevos + juveniles) ( $P > 0,05$ ). En 2005 la densidad de huevos

y total fueron más elevadas que en 2004, y la fecha de muestreo afectó a la densidad de huevos ( $F_{4, 79} = 6,11$ ;  $P < 0,001$ ), juveniles ( $F_{4, 79} = 28,02$ ;  $P < 0,001$ ) y total ( $F_{4, 79} = 10,88$ ;  $P < 0,001$ ). En la densidad de juveniles también fue significativo el efecto de la fumigación ( $F_{1, 79} = 9,42$ ;  $P < 0,001$ ) y de la interacción fumigación x fecha de muestreo ( $F_{4, 79} = 5,63$ ;  $P < 0,001$ ). Entre el penúltimo y el último muestreo hubo un descenso de la densidad de huevos en todas las variedades (Figura 4). En el caso de la densidad de juveniles el descenso se produ-

jo en todas las variedades entre el segundo (pocos días después del transplante) y el tercer muestreo, pero este descenso fue más acusado en las parcelas fumigadas (que tenían densidades más elevadas que las no fumigadas en el segundo muestreo) que en las no fumigadas (Figura 4).

En cuanto a las poblaciones de *F. oxysporum*, en el año 2004 fueron significativos los efectos de la fumigación ( $F_{4, 89} = 4,69; P < 0,05$ ) y de la fecha de evaluación ( $F_{4, 89} = 5,04; P < 0,05$ ). Las densidades en las parcelas fumigadas fueron inferiores a las de las no fumigadas en todas las fechas y para todas las variedades, observándose un incremento de la población en los dos últimos muestreos, excepto en la variedad NC-72 (Figura 5). En 2005 las poblaciones de *F. oxysporum* fueron en general más elevadas que en 2004 y ninguno de los factores estudiados tuvo efecto significativo ( $P > 0,05$ ), a pesar de que en las parcelas no fumigadas las densidades en la variedad C-26 fueron superiores a las de las demás variedades, y de que en las parcelas fumigadas se produjo un des-

censo de la densidad en el último muestreo en las cuatro variedades (Figura 5).

**DISCUSIÓN**

Los resultados de los ensayos muestran que la incidencia de la Fusariosis Vascular varía según el año considerado, lo que indica la influencia determinante de los factores ambientales, variables de un año a otro. El año de mayor incidencia fue el 2005, siendo también el año en el que se detectaron las densidades más elevadas de *F. oxysporum* y de *G. tabacum* (huevos y total) en el suelo. En este sentido, ADAMS et al. (1982) pusieron de manifiesto la influencia de la temperatura en el ritmo de desarrollo y reproducción de *G. solanacearum*, así como en el tamaño de los quistes y el número de huevos y juveniles en los quistes; WANG et al. (1997) encontraron diferencias en la eclosión de huevos de *G. tabacum solanacearum* en función de la temperatura, y WANG et al. (2001) demostraron que la temperatura del suelo influía en la infección de las raíces por estos

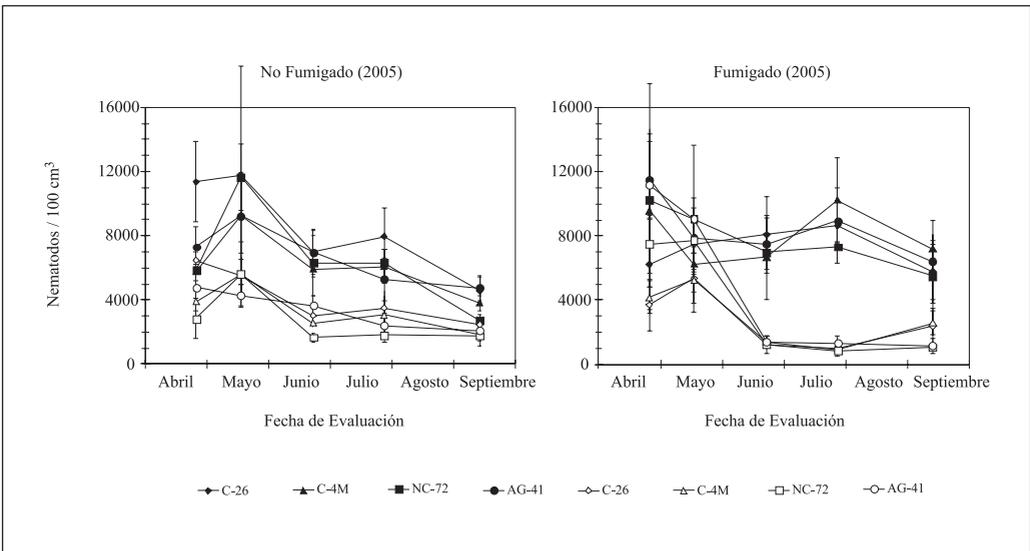


Figura 4. Número medio (± error estándar) de huevos (símbolos negros) y juveniles (símbolos blancos) del nematodo *Globodera tabacum* en 100 cm³ de suelo de cultivo de distintas variedades de tabaco a lo largo de la campaña 2005 en parcelas no fumigadas y fumigadas.

nematodos, si bien la temperatura tenía poco o ningún efecto en el desarrollo de los mismos una vez que los juveniles se habían establecido en las raíces.

La fumigación con 1,3-dicloropropeno en pretransplante redujo la incidencia de la enfermedad los tres años de estudio y en todas las variedades. Sin embargo, nuestros resultados indican que para conseguir un control aceptable de la enfermedad es necesario combinar la fumigación con el empleo de una variedad portadora de algún tipo de resistencia, especialmente los años en los que las condiciones son favorables para el desarrollo de la enfermedad. Así, en el caso

de la variedad C-26, que carece de resistencia a *G. tabacum*, la fumigación no controló adecuadamente la enfermedad ni siquiera en el año 2004 en el que la incidencia fue, en general, menor. Por otro lado, ninguna de las variedades ensayadas controló la enfermedad a un nivel aceptable en suelos no fumigados. La resistencia a *G. tabacum* procedente de germoplasma de Sudáfrica, que es la que incorpora la variedad C-4M, parece ser más eficaz en el control de la enfermedad que la resistencia asociada al gen *Ph*, que es la que porta la variedad NC-72. El mejor control se consigue con la combinación de ambos tipos de resistencia, que es lo que

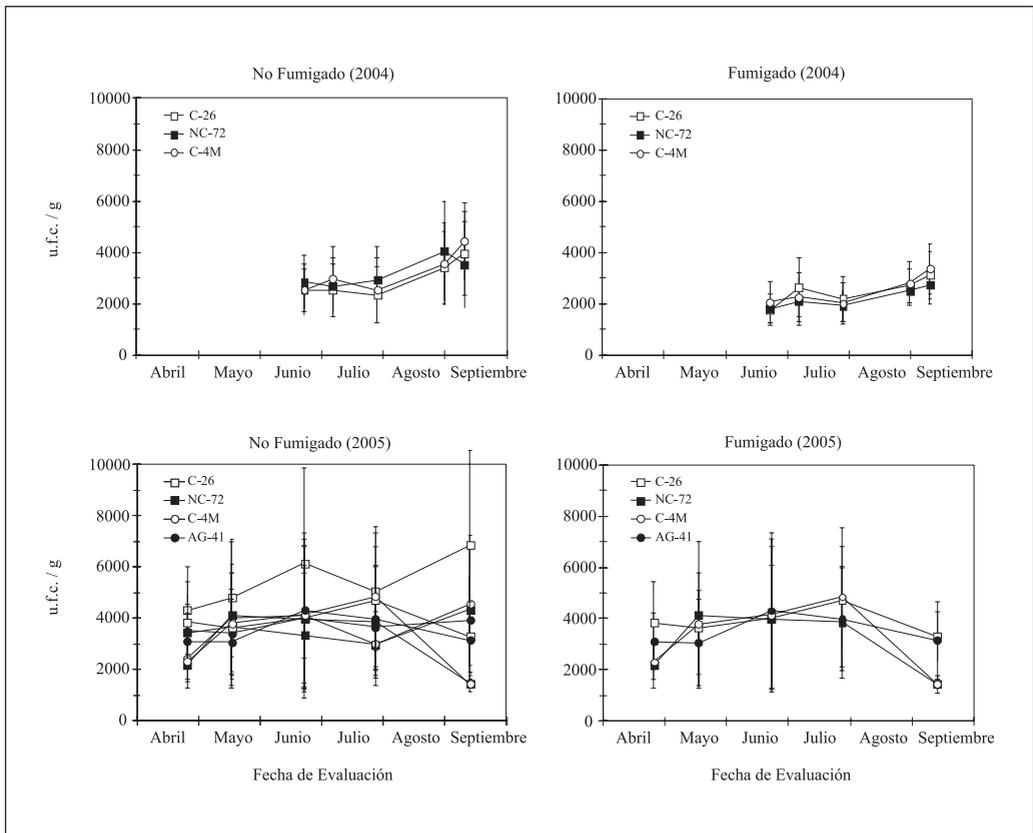


Figura 5. Densidad media ( $\pm$  error estándar) de *Fusarium oxysporum* (nº de unidades formadoras de colonias (u.f.c.) / g de suelo) en el suelo de cultivo de distintas variedades de tabaco a lo largo de las campañas 2004 y 2005 en parcelas no fumigadas y fumigadas.

ocurre en la variedad AG-41. Aunque sólo se dispone de datos de un año de ensayo, la tolerancia a la Fusariosis Vascular presente en la línea experimental ITB-385 parece una alternativa prometedora, si bien su eficacia necesita ser confirmada en futuros ensayos. De las distintas estrategias de control ensayadas, la más recomendable para mantener la enfermedad en unos niveles aceptables es la fumigación en pretransplante junto con el cultivo de la variedad AG-41. LAMONDIA (1992) también señala la necesidad de combinar fumigación y resistencia varietal para lograr un control adecuado de la enfermedad en Connecticut (EE.UU.).

El efecto de la fumigación y de la variedad en la incidencia de la enfermedad fue patente, pero el efecto de estos factores en las poblaciones de *G. tabacum* no fue tan claro. JOHNSON *et al.* (1989) estudiaron el efecto de la variedad y la aplicación del nematocida fenamifos en las densidades de huevos y juveniles de *G. tabacum solanacearum* durante varios años y en varias localidades, y tampoco obtuvieron resultados consistentes, ya que los efectos eran significativos o no dependiendo del año y de la localidad considerada. Resultados similares se obtuvieron en ensayos posteriores con el mismo y con otros nematocidas (JOHNSON, 1990, 1995) en los que el efecto de los tratamientos en la densidad de huevos de *G. tabacum solanacearum* no fue claro, aunque si se comprobó su efecto en el rendimiento del cultivo. Algunas tendencias si fueron evidentes, como que el empleo de variedades resistentes redujo la densidad de *G. tabacum solanacearum* al final del ciclo de cultivo y que los tratamientos nematocidas disminuyeron la densidad de población a lo largo del ciclo (JOHNSON *et al.*, 1989; JOHNSON, 1990, 1995). En nuestros ensayos no se apreció ningún efecto de la variedad, pero en 2005 si fue significativo el efecto de la fumigación en la densidad de juveniles, produciéndose un descenso de la densidad entre el segundo (pocos días después del transplante) y el tercer muestreo más acusado en las parcelas fumigadas, que además mantuvieron una

densidad inferior a la de las parcelas sin fumigar hasta principios de septiembre. LAMONDIA (1992) encontró que durante las primeras semanas después del transplante en los suelos fumigados con oxamilo el número de juveniles en las raíces era menor que en los no fumigados, igualándose las densidades a lo largo del ciclo de cultivo. En nuestros ensayos el efecto de la fumigación en la densidad de huevos y en la total no fue significativo. Aunque el conteo de huevos se recomienda como método para estimar la densidad poblacional de nematodos, presenta el problema de la dificultad de identificar los huevos viables (LAMONDIA *et al.* 1986; BARKER *et al.*, 1987). Por tanto, es posible que una proporción indeterminada de huevos extraídos de suelos fumigados no sea viable (JOHNSON, 1995), aunque puedan parecerlo en la observación microscópica (WANG *et al.*, 1999).

En cuanto a las densidades de *F. oxysporum* es necesario hacer algunas consideraciones. Respecto al método de cuantificación, indicar que permite estimar la densidad de *F. oxysporum* total, sin que sea posible diferenciar en el análisis las formas no patógenas de la forma especializada *batatas*, que es la causante de la enfermedad. Por otro lado, el fumigante empleado está descrito como nematocida, no como fungicida, por lo que en principio no era previsible que tuviera efecto en las poblaciones de *F. oxysporum*. Sin embargo, las densidades de *F. oxysporum* fueron significativamente menores en las parcelas fumigadas en el año 2004, lo que sugeriría cierto efecto fungicida del 1,3-dicloropropeno. Puesto que esta situación no se repitió en 2005, los resultados del 2004 deben ser interpretados con precaución, siendo necesarios más ensayos para determinar el efecto de este producto en *F. oxysporum*. En los resultados obtenidos por LAMONDIA (1995a) con variedades de tabaco resistentes y susceptibles a la Fusariosis Vascular, los niveles de *F. oxysporum* en el suelo al final del cultivo eran más elevados con variedades susceptibles que con resistentes. En nuestros ensayos se consiguió un

control aceptable de la enfermedad con la línea experimental resistente ITB-385, pero no se estudió su efecto en la densidad de *F. oxysporum* en el suelo.

Aunque los mecanismos de interacción entre *G. tabacum* y *F. oxysporum* no se conocen bien, parece que *G. tabacum* puede actuar reduciendo los niveles de inóculo de *F. oxysporum* necesarios para que se produzca enfermedad, y que es necesaria una densidad mínima de nematodos (umbral) para que se produzca este efecto (LAMONDIS y TAYLOR, 1987). Los mecanismos de interacción son complejos y, además de las heridas pro-

ducidas en las raíces por los juveniles y que facilitan la penetración del hongo, se producen modificaciones fisiológicas en el hospedador que tienen influencia en los procesos de infección por hongos del suelo (POWELL, 1971; MAI *et al.*, 1987; BACK *et al.*, 2002).

## AGRADECIMIENTOS

A los técnicos de las ATRIAS de tabaco de Cáceres por su colaboración en los ensayos de campo. El presente trabajo fue financiado por el proyecto 2PR03B32 del II PRI de la Junta de Extremadura.

## ABSTRACT

RODRÍGUEZ-MOLINA, M. C., E. VERDEJO ALONSO, J. A. GARCÍA BARRADO, G. ESPÁRRAGO RODILLA, M. C. MORALES RODRÍGUEZ, E. PALO NÚÑEZ, C. PALO OSORIO, L. M. TORRES-VILA. 2009. Fusarium wilt of tobacco associated to the tobacco cyst nematode (*Globodera tabacum*) complex in the Tiétar Valley: control strategies. *Bol. San. Veg. Plagas*, **35**: 103-114.

Fusarium wilt of tobacco associated to the tobacco cyst nematode (*Globodera tabacum*) complex is a grave phytopathological problem of tobacco in the Tiétar Valley (Cáceres). Several field tests were conducted in 2004, 2005 and 2006 in *G. tabacum*-infested fields in order to evaluate the effects of 1,3-dicloropropene application and of tobacco varieties with resistances to *G. tabacum* and *F. oxysporum* on disease control, and results are presented in this work. 1,3-dicloropropene application reduced disease incidence all the years and in all tested varieties. Variety AG-41 (carrying resistance genes *Rk* and *Ph*) was the most effective in disease control, followed by C-4M (carrying gene *Rk*), ITB-385 (Fusarium wilt-resistant) and NC-72 (carrying gene *Ph*). No variety was effective in unfumigated soils. Pretransplant fumigation combined with use of AG-41 proved to be the best control strategy. The studied factors had no significant effect on *G. tabacum* densities in soil in 2004. Fumigation and the interaction fumigation x sampling date had significant effect on numbers of juveniles in 2005, with a more marked density decrease between second and third sampling in fumigated than in unfumigated soils. In 2004 *F. oxysporum* density in fumigated soils was significantly lower than in unfumigated ones, but in 2005 none of the factors studied had significant effect on *F. oxysporum* density.

**Key words:** *Fusarium oxysporum*, fumigation, 1,3-dicloropropene, varietal resistance.

## REFERENCIAS

- ADAMS, H.S., OSBORNE, W.W., WEBBER, A.J.JR. 1982. Effect of temperatures on development and reproduction of *Globodera solanacearum*. *Nematropica*, **12** (2): 305-311.
- BAALWY, H.A., FOX, J.A. 1971. Resistance to Osborne's cyst nematode in selected *Nicotiana* species. *Journal of Nematology*, **3**: 395-398.
- BACK, M.A., HAYDOCK, P.P.J., JENKINSON, P. 2002. Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soilborne pathogens. *Plant Pathology*, **51**: 683-697.
- BARKER, K.R., STARR, J.L., SCHMITT, D.P. 1987. Usefulness of egg assays in nematode population-density determinations. *Journal of Nematology*, **19**: 130-134.
- DE LIÑÁN, C. 2008. *Vademecum de Productos Fitosanitarios y Nutricionales*. Ediciones Agrotécnicas S.L., Madrid, 784 pp.

- DIANA, G., PICCIRILLO, P. 1994. Avversità della coltura del tabacco: funghi. *Informatore Fitopatologico*, **1**: 7-16.
- ESPÁRAGO, G. 1999. Nematodos en tabaco en Extremadura. En: *Temas de I + D Agrario en Extremadura*. Consejería de Agricultura y Comercio, Junta de Extremadura, Mérida. 271 pp.
- ESPÁRAGO, G., BLANCO, I. 2002. First report of the Cyst Nematode (*Globodera tabacum*) Complex on flue-cured tobacco in Spain. *Plant Disease*, **86**: 1402.
- ESPÁRAGO, G., BLANCO, I., PULIDO, I. 2002. Distribution of *Globodera tabacum* in the Vera region of Spain. *Nematology*, **4**: 265-266.
- ESPÁRAGO RODILLA, G., RODRÍGUEZ-MOLINA, M.C., VERDEJO ALONSO, E., PALO NÚÑEZ, E., BLANCO MARTÍN, I. 2004. La Fusariosis Vascular del tabaco asociada a *Globodera tabacum* en el Valle del Tiétar (Extremadura). *XII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología*, Lloret de Mar (Girona), 143 pp.
- GRITTON, E.T., JONES, G.L., POWELL, N.T., MATZINGER, D.F. 1965. Inheritance of resistance to Fusarium wilt in flue-cured tobacco. *Crop Science*, **5**: 547-550.
- HAYES, A.J., WILKINSON, C.A., JOHNSON, C.S. 1997. Evaluation of tobacco accessions for resistance to tobacco cyst nematode and wildfire. *Crop Science*, **37**: 586-591.
- HERRERO, S., RUFTY, R.C., BARKER, K.R. 1996. Evaluation of tobacco germ plasm for resistance to the tobacco cyst nematode, *Globodera tabacum solanacearum*. *Plant Disease*, **80**: 61-65.
- JOHNSON, C.S. 1990. Control of *Globodera tabacum solanacearum* by rotating susceptible and resistant flue-cured tobacco cultivars. *Journal of Nematology*, **22** (4S): 700-706.
- JOHNSON, C.S. 1995. Use of fosthiazate to control tobacco cyst nematodes in flue-cured tobacco. *Tobacco Science*, **39**: 69-76.
- JOHNSON, C.S., CLARKE, C.T. 2003. Host resistance and fumigation to control *Globodera tabacum solanacearum* in 2002. *Plant Disease*, **93** (6, Supplement): S41.
- JOHNSON, C.S., KOMM, D.A., JONES, J.L. 1989. Control of *Globodera tabacum solanacearum* by alternating host resistance and nematicide. *Journal of Nematology*, **21** (1): 16-23.
- KOMADA, H. 1975. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soils. *Review of Plant Protection Research*, **8**: 114-125.
- LAMONDIA, J.A. 1990. Effect of oxamyl on *Globodera tabacum* population dynamics and shade tobacco growth and yield. *Journal of Nematology*, **22** (S): 654-657.
- LAMONDIA, J.A. 1992. Predisposition of broadleaf tobacco to Fusarium wilt by early infection with *Globodera tabacum* or *Meloidogyne hapla*. *Journal of Nematology*, **24** (3): 425-431.
- LAMONDIA, J.A. 1995a. Influence of resistant tobacco and tobacco cyst nematodes on root infection and secondary inoculum of *Fusarium oxysporum* f. sp. *nicotianae*. *Plant Disease*, **79**: 337-340.
- LAMONDIA, J.A. 1995b. Shade tobacco yield loss and *Globodera tabacum tabacum* population changes in relation to initial nematode density. *Journal of Nematology*, **27** (1): 114-119.
- LAMONDIA, J.A., RAWSTHORNE, D., BRODIE, B.B. 1986. Methods for reducing experimental variation in *Globodera rostochiensis*. *Journal of Nematology*, **18**: 415-418.
- LAMONDIA, J.A., TAYLOR, G.S. 1987. Influence of the tobacco cyst nematode (*Globodera tabacum*) on Fusarium wilt of Connecticut broadleaf tobacco. *Plant Disease*, **71**: 1129-1132.
- MAI, W.F., ABAWI, G.S. 1987. Interactions among root-knot nematodes and Fusarium wilt fungi on hosts plants. *Annual Review of Phytopathology*, **25**: 317-338.
- MANZANERO INIESTA, J.J., BLANCO MARTÍN, I. 2006. Tabaco. En: *La Agricultura y la Ganadería Extremeñas*. Informe 2005 y Análisis de una Década: 1996-2005. Caja de Ahorros de Badajoz, Badajoz, 495 pp.
- NAVAS, A., CASTAGNONE-SERENO, P., BLÁZQUEZ, J., ESPÁRAGO, G. 2001. Population diversity and genetic structure of *Meloidogyne* on tobacco in a local region. *Nematology*, **3**: 243-253.
- POWELL, N.T. 1971. Interactions between nematodes and fungi in disease complexes. *Annual Review of Phytopathology*, **9**: 253-274.
- RODRÍGUEZ-MOLINA, M.C., PALO, E., PALO, C., ESPÁRAGO, G., VERDEJO, E., TORRES-VILA, L.M., GARCÍA, J.A., BLANCO, I. 2007. First report of Fusarium Wilt of flue-cured tobacco caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *batatas* in Spain. *Plant Disease*, **91** (3): 323.
- SHEW, H.D., LUCAS, G.B. 1991. *Compendium of Tobacco Diseases*. APS, St. Paul, Minnesota, 68 pp.
- TELLO, J.C., VARES, F., LACASA, A. 1991. Análisis de muestras. En: *Manual de Laboratorio. Diagnóstico de hongos, bacterias y nematodos fitopatógenos*. MAPA, Madrid, 485 pp.
- TIAMOS, S.E., MARKAKIS, E.A., ANTONIOU, P., PAPLOMATAS, E.J. 2006. First record of Fusarium wilt of tobacco in Greece imported as seedborne inoculum. *Journal of Phytopathology*, **154**: 193-196.
- WANG, J., JOHNSON, C.S., EISENBACK, J.D. 1997. Enhanced hatching of *Globodera tabacum solanacearum* juveniles by root exudates of flue-cured tobacco. *Journal of Nematology*, **29**: 484-490.
- WANG, J., JOHNSON, C.S., EISENBACK, J.D. 2001. Effects of host resistance and temperature on development of *Globodera tabacum solanacearum*. *Journal of Nematology*, **33** (2-3): 132-136.
- WANG, J., JOHNSON C.S., EISENBACK, J.D., REED, T.D. 1999. Effects of tobacco cyst nematode on growth of flue-cured tobacco. *Journal of Nematology*, **31** (3): 326-333.

(Recepción: 3 noviembre 2008)

(Aceptación: 24 marzo 2009)