

## Etiología, importancia y distribución de la seca del garbanzo en el valle del Guadalquivir\*

ANTONIO TRAPERO CASAS y RAFAEL M. JIMÉNEZ DÍAZ

La «Seca» o «Fusariosis» del garbanzo (*Cicer arietinum*, L.), fue señalada por algunos autores como la enfermedad más importante del cultivo en Andalucía, atribuyéndole importantes pérdidas de cosecha. Sin embargo, el conocimiento en nuestro país sobre su etiología, epidemiología y lucha era prácticamente inexistente, salvo por investigaciones preliminares que indicaron la posibilidad de que la «Fusariosis» incluyera un complejo de enfermedades, que denominamos Marchitez y Podredumbre de Raíz (MPR). Los objetivos generales de las investigaciones incluidas en este trabajo fueron determinar la importancia y distribución de la MPR en el valle del Guadalquivir y su naturaleza etiológica y sintomatológica.

Durante 1979 a 1981, se realizaron prospecciones sistemáticas en 108 campos de garbanzo en la Campiña de Córdoba y Sevilla, con un total de más de 1.300 ha., en las que se efectuaron observaciones sobre la sintomatología, incidencia y severidad de los ataques de la MPR. Plantas afectadas con los síntomas característicos se muestrearon para completar las descripciones sintomatológicas de campo y aislar en cultivo puro e identificar los posibles agentes asociados.

La patogenicidad de los organismos consistentemente aislados se investigó en inoculaciones con suelo infestado artificialmente, o por inmersión de raíces o cultivo de plantas, en una suspensión de inóculo. En suelo infestado con aislamiento patogénicos de *Fusarium oxysporum* y *F. solani*, se investigó la susceptibilidad a ellos de once especies de leguminosas cultivadas, así como las diferencias en patogenicidad para varios cultivos de garbanzo.

Cinco complejos sintomatológicos, amarilleamiento, marchitez, podredumbre seca de raíz, enanismo amarillento y clorosis, se identificaron asociados con la MPR del garbanzo. Todos ellos estuvieron uniformemente distribuidos en la campiña de Córdoba y Sevilla, siendo amarilleamiento y marchitez los más importantes.

Tres especies fúngicas, *F. oxysporum*, *F. solani* y *Macrophomina phaseolina*, se aislaron consistentemente de plantas afectadas de los diferentes complejos sintomatológicos y resultaron patogénicos sobre garbanzo en inoculaciones artificiales. Los aislamientos de *F. oxysporum* fueron clasificados en tres grupos por características morfofisiológicas y patogénicas, caracterizándose, principalmente, por el tipo de síntoma que causaron: marchitez vascular, amarilleamiento vascular y amarilleamiento no vascular con lesiones necróticas corticales en el cuello y raíz. Los dos primeros grupos mostraron especificidad patogénica para garbanzo, por lo que pueden ser considerados como *F. oxysporum* f. sp. *ciceri*. La patogenicidad diferencial de ambos grupos sobre cultivares de garbanzo indica que pertenecen a diferentes razas fisiológicas. *F. solani* causó amarilleamiento y podredumbre negra de cuello y raíz, existiendo diferencias morfofisiológicas y de patogenicidad entre aislamientos. Uno de los más virulentos fue identificado como *F. eumartii*. Los aislamientos de *F. solani* y *F. eumartii* resultaron patogénicos sobre garbanzo, haba (*Vicia faba* L.), guisante (*Pisum sativum* L.), lenteja (*Lens esculenta* Moench.), *Lupinus albus*, *L. angustifolius*, *L. luteus* y *L. mutabilis*, por lo que rigurosamente no pueden ser caracterizados como alguna de las formas especializadas conocidas, aunque por la reacción observada parecen mejor adaptados a garbanzo, haba y guisante que a las restantes especies. *M. phaseolina* causó amarilleamiento y podredumbre seca de cuello y raíz. Las infecciones en inoculaciones artificiales fueron más severas a altas temperaturas y bajo contenido de agua en el suelo, confirmando así las observaciones de campo.

Nuestros resultados señalan a *F. oxysporum* como agente de la marchitez y del amarilleamiento vasculares, a *F. solani* como agente del amarilleamiento no vascu-

\* Galardonado con accésit en el «Premio Jorge Pastor 1983».

lar asociado con podredumbre negra de cuello y raíz y a *M. phaseolina* como agente de la podredumbre seca de raíz; si bien, en el complejo amarilleamiento estuvieron implicadas las tres especies fúngicas, así como factores abióticos. Nuestras observaciones indican, asimismo, que el enanismo amarillento puede ser causado por el virus del enrollado de las hojas del guisante (PLRV), aunque otros virus pueden estar implicados, y que la clorosis resulta de una deficiencia férrica.

ANTONIO TRAPERO CASAS y RAFAEL M. JIMÉNEZ DÍAZ. Departamento de Patología Vegetal. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad de Córdoba.

## INTRODUCCION

El cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es tradicional en la agricultura española, y en particular en la andaluza donde su aprovechamiento representa actualmente más del 60% de la superficie y producción nacionales.

Durante años, los rendimientos de este cultivo han sido disminuidos considerablemente por ataques de *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. (PUERTA ROMERO, 1964), el agente de la rabia; sin embargo, observaciones recientes han señalado como errática dicha enfermedad, indicando por el contrario la creciente importancia de la conocida como «Seca» o «Fusariosis» (CUBERO, 1975), una enfermedad citada por BENILOCH asociada con hongos del género *Fusarium*, que causa pérdidas severas (BENILOCH, 1949) y está ampliamente distribuida en España (JIMÉNEZ DÍAZ y VARES, 1983; PUERTA ROMERO, 1964).

Investigaciones preliminares realizadas en el Departamento de Patología Vegetal, ETSIA, Universidad de Córdoba, pusieron de manifiesto que la Seca del garbanzo podía incluir un complejo de enfermedades, con al menos una *Marchitez Vascular* y una *Podredumbre de Raíz*, razón por lo que lo hemos denominado *Marchitez y Podredumbre de Raíz* (MPR). Este complejo de enfermedades, referido en la literatura fitopatológica como «wilt», «wilt and root rot», «wilt complex» o «wilt like disorders», incluye gran número de enfermedades generalmente reconocidas por su sintomatología

severa y ocurre en la mayoría de los países cultivadores del garbanzo en los cinco continentes, ocasionando importantes pérdidas de cosecha (HAWTIN y CHANCELOR, 1978; ICRISAT, 1975).

La sintomatología inespecífica en las plantas afectadas favoreció una larga controversia sobre la naturaleza etiológica del complejo, asignando el papel etiológico fundamental, unos a factores ambientales o de la planta («marchitez fisiológica»), y otros a microorganismos patógenos («marchitez patológica»). Esta situación comenzó a aclararse tras un simposio celebrado en 1973 en la India; y las investigaciones realizadas en diversos países desde entonces han puesto de manifiesto la gran variedad de agentes asociados al complejo, así como las dificultades que presenta la lucha contra el mismo (COTHER, 1977; HAWTIN y CHANCELOR, 1978; ICRISAT, 1975, 1979; NENE, 1980; NENE *et al.*, 1978; WETERLUND *et al.*, 1974).

A pesar de la importancia en la disminución de cosecha atribuida a la Seca del garbanzo en Andalucía (CUBERO, 1975), el conocimiento existente en nuestro país sobre su etiología, epidemiología y lucha era prácticamente inexistente, hasta el punto de que la inespecificidad sintomatológica del complejo ha llevado a los no especialistas a confundirlo con ataques de rabia, o atribuirlo a múltiples factores ambientales.

Dada la importancia de las pérdidas que ocasiona y el escaso conocimiento existente sobre este complejo de enfermedades en España, iniciamos en 1978 un programa de

investigaciones cuyos objetivos generales fueron:

1. Conocer la importancia y distribución de la seca del garbanzo en el valle del Guadalquivir.

2. Determinar su naturaleza sintomatológica y etiológica.

3. Estudiar el progreso epidemiológico y sus posibles modificaciones en relación a variaciones ambientales o de cultivares.

4. Diseñar medidas de lucha contra la seca, incluyendo el desarrollo de cultivares resistentes y la validez de tratamientos fungicidas.

Estas investigaciones, que aún continúan en fase de desarrollo, constituyen la Tesis Doctoral del primer autor (TRABERO CASAS, 1983). En este artículo se recopilan los resultados desarrollados durante 1979-81 relativos a los dos primeros objetivos. La información de esta naturaleza podría contribuir a disminuir la severidad e importancia de la seca en los cultivos de garbanzo en Andalucía, de una parte, y al conocimiento general sobre las características, problemática y metodología que rodean a la investigación etiológica en los complejos de enfermedades de las plantas.

Como agentes causantes de las enfermedades incluidas en el complejo MPR han sido citadas en la literatura fitopatológica principalmente especies de hongos, aunque también se mencionan virus, bacterias, nematodos, fanerógamas parásitas, y agentes abióticos (NENE *et al.*, 1978; SHING y VAN DER MAESEN, 1977).

Entre los hongos patógenos implicados en la MPR del garbanzo se pueden distinguir dos grandes grupos: 1) los causantes de marchitez vascular, y 2) los causantes de podredumbre de raíz o tallo. Estos últimos han sido frecuentemente citados entre los primeros, debido a que inducen algunos síntomas similares a los de marchitez vascular.

En el primer grupo se incluyen las marchiteces debidas a *Fusarium oxysporum*, *F.*

*lateritium*, *Verticillium albo-atrum* (ERWIN, 1957, 1958) y *Acrophialophora fusicarpa*, aunque en este último caso no se especifica la naturaleza vascular de las infecciones.

En el segundo grupo se incluyen marchiteces en sentido amplio y podredumbres radiculares debidas a *F. solani*, *F. avenaceum* (COTTER, 1977), *F. arthrosporioides* (COTTER, 1977), *F. acuminatum* (SORAN, 1977), *F. equiseti* (SINGH y CHOCHAN, 1977), *F. moniliforme* (GURHA y MISHRA, 1980), *Neocosmopora vasinfecta* (MATHEWS, 1981) y *Macrophomina phaseolina*. Así como otros causantes de podredumbres radiculares (*Rhizoctonia solani*, *R. violácea*), podredumbre de cuello (*Sclerotium rolfsii*), podredumbre de cuello y raíz (*Ozonium texanum* var. *parasitium*), podredumbre de pie (*Operculella padwickii*, *Trichoderma harzianum*), podredumbre de tallo (*Sclerotinia sclerotiorum*), podredumbre de raíz y semilla («sterile fungus»), podredumbre de raíz y muerte de eplántulas (*Pythium* spp., *Phytophthora* spp.), citados por NENE *et al.*, en su revisión bibliográfica (NENE *et al.*, 1978) o en artículos generales sobre enfermedades del garbanzo (NENE, 1980; NENE *et al.*, 1978).

Seis virus, incluyendo el virus del mosaico de la alfalfa (AMV), el virus del mosaico amarillo de la judía (BYMV), el virus del mosaico del pepino (CMV), el virus del amarilleamiento necrótico de la lechuga (LNYV), el virus de las excrescencias del guisante (PEMV) y el virus del enrollado de la hoja del guisante (PLRV), y posiblemente un «MLO» («Phyllody»), han sido citados infectando naturalmente garbanzo y asociados con enanismo, proliferación, clorosis y marchitez (KAISER y NENE, 1975; REDDY *et al.*, 1979), es la más ampliamente distribuida (NENE *et al.*, 1980).

Una especie bacteriana, *Xanthomonas cassiae*, ha sido citada en India por RANGASWAMI y PRASAD en 1959 (NENE, 1980; VAN DER MAESEN, 1972) como causante de podre-

dumbre y muerte de plántulas en post-emergencia.

Especialmente de siete géneros de nematodos han sido citadas en la India asociadas con el sistema radicular del garbanzo, de ellas únicamente dos especies de *Meloidogyne*, *M. incognita* y *M. javanica*, han sido destacadas en condiciones de regadío como patógenos importantes, causando enanismo, amarilleamiento, sistema radicular de color negro con nódulos y muerte de plantas (NENE, 1980; NENE *et al.*, 1978).

Ataques de *Cuscuta hyalina* (VYAS y JOSHI, 1975) y daños por insectos (NENE *et al.*, 1978) también han sido citados asociados con este complejo de síntomas.

Entre los agentes abióticos que han sido considerados capaces de inducir síntomas normales incluidos en el complejo MPR, cabe citar a heladas, deficiencia de nutrientes, salinidad, altas temperaturas y condiciones desfavorables del suelo (principalmente temperaturas altas y bajo contenido de agua disponible) (NENE *et al.*, 1978).

Aunque cualquiera de los agentes citados puede tener individualmente gran importancia, con frecuencia, las referencias sobre este complejo de enfermedades hacen alusión a la asociación de varios organismos en la misma parcela (CHANDRA *et al.*, 1974; DOMSCH *et al.*, 1980; SINGH *et al.*, 1974; VIDHYASE KARAN *et al.*, 1978), por lo que el papel de su interrelación, aunque no haya sido puesto de manifiesto, debe ser importante.

No obstante, las enfermedades citadas más frecuentemente a lo largo de la literatura consultada y los agentes causantes son:

Enfermedad	Agente
Marchitez.	<i>F. oxysporum</i>
Podredumbre negra de raíz	<i>F. solani</i>
Podredumbre seca de raíz	<i>M. phaseolina</i>
«Stunt»	Virus enrollado de la hoja del guisante (PLRV)

Las tres primeras, posiblemente también la cuarta, y una deficiencia de hierro, han sido diagnosticadas junto con otras enfermedades no descritas anteriormente en la literatura fitopatológica e interacciones entre los agentes asociados, durante las investigaciones que han dado lugar a este trabajo. La importancia mundial de las 5 enfermedades reseñadas en la literatura fitopatológica, así como su sintomatología y etiología, se resumen a continuación.

### 1. Marchitez

La marchitez del garbanzo («wilt» en la terminología inglesa, «rabia» en México, «ukhera» o «soka» en la India) es la enfermedad más ampliamente distribuida y severa de las que integran el complejo MPR del garbanzo.

Aunque existen citas desde 1910 (ERWIN, 1958) sobre una marchitez del garbanzo, el diagnóstico de esta enfermedad no se completó hasta 1940, en que PADWICK (1940) identificó el agente causante al que entonces denominó como *F. orthoceras* var. *ciceri*.

Desde entonces, la enfermedad ha sido citada en Argentina, Birmania, E.E.UU., Etiopía, India, Malawi, México, Pakistán, Perú, Turquía y URSS (CARRERA, 1975; ECHANDI, 1970; ERWIN, 1958; HITWIN y CHANCELLOR, 1978; HITRON y CAMPOS, 1966; KANNAIYAN, 1981; NENE, 1980; NENE *et al.*, 1978). En un número de países, incluyendo Australia, Chile, Egipto, Iran, Iraq, Nepal, Siria, Sudán (HATWIN y CHANCELLOR, 1978; ICRISAT, 1975, 1979), se han citado *Fusarium* spp. asociadas con marchitez y/o podredumbre de raíces, y es probable que la marchitez vascular ocurra también en alguno de ellos.

No existe información precisa sobre pérdidas de rendimiento originadas por la marchitez del garbanzo y la mayoría de las estimaciones efectuadas se refieren al complejo MPR. Todas las estimaciones coinci-

den en señalar a la MPR como una de las principales factores limitantes de la producción del garbanzo (HATWIN y CHNCELLOR, 1978; ICRISAT, 1975, 1979). Según estimaciones globales realizadas para la MPR, pero referidas principalmente a *F. oxysporum*, se han calculado en, aproximadamente, un 10% de pérdida media de rendimiento en todos los estados cultivadores de garbanzo de la India, llegándose en algunos casos a pérdidas del 100% de la cosecha (SINGH y DAHIYA, 1973). GREWAL (GREWAL *et al.*, 1974), menciona pérdidas anuales de 2-5% de rendimiento en los estados del norte de la India, aunque éstas alcanzaron en algunas áreas el 30-60%. Pérdidas de cosecha de hasta el 80% se han citado en Etiopía donde se considera al complejo MPR como responsable de los bajos rendimientos medios obtenidos (MENGISTU, 1979) y del 20-40% de pérdidas debidas a *Fusarium* spp. han sido reconocidas en Túnez (BOUSLAMA, 1980).

Las reducciones de rendimiento causadas por la marchitez varían con el estado fenológico de la planta cuando se manifiestan los síntomas, siendo más severas cuando éstos ocurren en los primeros estados de desarrollo de las planta. No obstante, en plantas marchitas en las últimas fases del cultivo, aunque se producen semillas, éstas son de inferior calidad (NENE, 1980).

En la parte aérea de la planta, el síntoma más característico de la marchitez del garbanzo es la flacidez de algunas hojas, que progresa rápidamente afectando a la planta completa. No obstante, el modo en que progresa dicha flacidez, y los cambios de color de las hojas asociados con ella, han sido descritos de forma distinta por diversos autores. PRASAD y PADWICK (1939), distinguieron dos tipos de síntomas: uno de expresión rápida, en el que el progreso de la flacidez es basípeto desde las hojas apicales y no existen cambios marcados en el color de la planta antes de que la flacidez y desecación posterior sean generales; y otro en el que las

hojas se vuelven amarillas gradualmente, tras lo cual ocurre la flacidez y entonces las hojas asintomáticas se marchitan rápidamente y la planta se seca. Ambos resultan indistinguibles cuando las plantas están severamente afectadas o muertas. Tradicionalmente se han reconocido el primer tipo de síntomas (NARAASIMHAN, 1929; NENE, 1980; RAHEJA y DAS, 1957; VAN DER MAESEN, 1972). Una marchitez general, pero con ligero cambio de color de las hojas a amarillo pálido, ha sido mencionada por ERWIN (ERWIN, 1958; ERWIN y SNYDER, 1958), y también se han citado con frecuencia amarilleamiento y marchitez para describir los síntomas de esta enfermedad (CHAUHAN, 1962; ECHANDI, 1970; GREWAL *et al.*, 1974 b; MORALES *et al.*, 1982; WETERLUND *et al.*, 1974), señalando frecuentemente la progresión acrópeta de los mismos (CHAUHAN, 1962; GREWAL *et al.*, 1974 b; MORALES, *et al.*, 1982; WETERLUND *et al.*, 1974). EESTERLUND *et al.* (1974) mencionan un amarilleamiento de progresión acrópeta como el único síntoma inducido por aislamientos del hongo obtenidos de plantas con amarilleamiento y marchitez. CHAUHAN (1962), destaca como síntoma inicial un clareamiento de nerviaciones de progresión acrópeta. MORALES GÓMEZ *et al.* (1982) separan los síntomas de marchitez y amarilleamiento progresivo atribuyendo los primeros a la semilla infectada. NENE *et al.* (1978), en una detallada descripción del síntoma de marchitez, señalan cómo algunos cultivares muestran una reacción diferente caracterizada por la desecación de las hojas bajas previa a la flaccidez de la parte apical.

Los síntomas de la marchitez pueden observarse afectando sólo a una parte de la planta (marchitez parcial) como señalan la mayoría de las descripciones.

En la parte subterránea el progreso de los síntomas ha sido caracterizado con menos precisión. La mayoría de los autores los describen en plantas ya marchitas, y señalan la presencia de necrosis de cuello y raíz, que

adquieren coloraciones marrón oscuro-negro, y pérdida de raíces laterales (CHAUHAN, 1962; ECHANDI, 1970; GREWAL *et al.*, 1974 b; NARASIMHAN, 1929; RAHEJA y DAS, 1957; SARAF, 1974). En cambio, otros autores (MORALES *et al.*, 1982; NENE *et al.*, 1978; WETERLUND *et al.*, 1974) destacan la ausencia de síntomas en las zonas referidas. Esta ausencia de síntomas ha sido asociada en plantas no severamente afectadas (NENE *et al.*, 1978).

Todas las descripciones sintomatológicas que mencionan la parte interna del tallo y raíz, destacan la coloración marrón oscuro de los tejidos del xilema y, a veces, de la médula.

La severidad de los síntomas ha sido relacionada con el estado fenológico de la planta, indicándose este hecho en algunas descripciones (CHAUHAN, 1960, 1962; NENE *et al.*, 1978). Dicha relación ha sido especialmente marcada en la India y Pakistán, dado que en las referencias a esta enfermedad se citan frecuentemente las dos fases en las que aquélla es más severa: marchitez temprana («early wilt», plántula) y marchitez tardía («late wilt», postfloración) (CHADRA *et al.*, 1974; NEMA y KHARE, 1973; RAHEJA y DAS, 1957; SARAF, 1974; SATTAR *et al.*, 1953; SINHA, 1973). En la primera fase la enfermedad ocurre principalmente en rodales y las plantas afectadas mueren generalmente. En la segunda fase, la distribución de las plantas en rodales ocurre menos marcadamente, ya que los síntomas progresan con rapidez pudiendo afectar a la totalidad de la parcela (RAHEJA y DAS, 1957). En esta fase la enfermedad es también muy severa, causando importantes pérdidas en el rendimiento y calidad de la semilla.

En otros países no se diferencian marcadamente estas fases, pero se destaca frecuentemente la distribución en rodales (ERWIN y SNYDER, 1958; MORALES *et al.*, 1982).

El agente causante de la marchitez del garbanzo fue identificado por PADWICK (PADWICK, 1940 a) en la India como *Fusa-*

*rium orthoceras* App. et Wr. var. *ciceri* Padw., siguiendo para la denominación del agente el sistema de clasificación de especies de *Fusarium* desarrollado por WOLLENWEBER y colaboradores. El mismo año, SNYDER y HANSEN (1940), propusieron un nuevo concepto de especie en *Fusarium* y comenzaron la revisión de las diferentes secciones del género comprendidas en el sistema de WOLLENWEBER. Tras su revisión, las tres subsecciones comprendidas en la sección Elegans: *Orthocera*, *Constrictum* y *Oxysporum*, quedaron reducidas a una sola especie, *F. oxysporum*, proponiendo al mismo tiempo la creación de formas biológicas intraespecíficas basadas en la patogenicidad selectiva sobre diferentes huéspedes. En el mismo artículo (SNYDER y HANSEN, 1940), los autores hicieron referencia a que otros *Fusarium* causantes de marchiteces, entre los que incluyeron al causante de la marchitez del garbanzo, podían ser tratados de forma similar. PADWICK (PADWICK, 1940 b), aunque aceptó parcialmente dicha modificación, se opuso a la revisión total del género (CHATTOPADHYA y SEN, 1967) y rechazó globalmente el sistema de SNYDER y HANSEN, razón por la cual mantuvo para el agente causante de la marchitez del garbanzo la denominación inicial de *F. orthoceras* var. *ciceri*, denominación que fue usada en la India hasta que en 1967 CHATTOPADHYAY y SEN GUPTA (1967), en base a estudios morfofisiológicos y de patogenicidad, lo denominaron como *F. oxysporum* f. *ciceri* (Padw.) Sny. et Hans.

Años antes, en 1958, ERWIN (1958), siguiendo el sistema propuesto por SNYDER y HANSEN, había identificado el agente causante de la marchitez del garbanzo en California como *Fusarium lateritium* (Nees) Snyd. et Hans. Tras comparar sus aislamientos con uno de *F. orthoceras* var. *ciceri* procedente de la India, y en base a las similitudes encontradas con las descripciones hechas por PADWICK (PADWICK, 1940 a), ERWIN concluyó que el cultivo *F. orthoceras* var. *ciceri* y sus aisla-

mientos de *F. lateritium* pertenecían a la misma especie, que denominó como *F. lateritium* (Nees) Sny. et Hans. f. *ciceri* (Padw.) Erwin, al contrastar la no patogenicidad de sus aislamientos para las otras especies vegetales susceptibles a *F. lateritium*. MATUO y SATO (1962) estudiaron el cultivo de Erwin y propusieron para el mismo la denominación *F. oxysporum* (Schl.) Snyd. et Hans. f. *ciceri* (Padw.) Matuo et Sato. Esta denominación ha sido incluida en el sistema taxonómico del género *Fusarium* de Booth (BOOTH, 1971) en el que el agente causante de la marchitez del garbanzo aparece designado como *F. oxysporum* Schl. f. sp. *ciceri* (Padw.) Matuo et Sato.

Actualmente la denominación indicada en el sistema de BOOTH (como *ciceris* o *ciceri*) y *F. oxysporum* (Schl.) Snyd. et Hans. f. sp. *ciceri* (Padw.) Snyd. et Hans., son gradualmente utilizados para denominar al agente causante de la marchitez del garbanzo.

Diferencias morfológicas y fisiológicas entre aislamientos de *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* han sido citadas por varios autores (CHATTOPADHYAY y SEN, 1967; CHAUNAN, 1962; PADWICK, 1940 a), pero ninguna de ellas fue considerada fuera del rango de variación de esta especie, la más variable del género *Fusarium* (BOOTH, 1971).

La primera evidencia sobre *Fusarium* sp. asociado con la marchitez del garbanzo se debió a MCKERRAL en 1923 (1923). Varios autores (DASTUR, 1935; McRAE, 1924, 1926; RHIND, 1926) obtuvieron resultados negativos al tratar de contrastar la patogenicidad de los aislamientos de *Fusarium* sp. obtenidos de plantas con marchitez, a veces sin síntomas en la parte subterránea (DASTUR, 1935), por lo que rechazaron su papel como causa primaria de la enfermedad y postularon que otros factores ambientales o de la planta eran los responsables («marchitez fisiológica»). Fue NARASIMHAN en 1929, quien probó por primera vez la patogenicidad de aislamientos de *Fusarium* sp. asociados con

la marchitez del garbanzo, sembrando semillas en suelo estéril artificialmente infestado por el hongo o depositando estructuras del mismo junto al cuello de la planta. En ambos casos tuvo lugar la infección dando lugar a síntomas similares a los observados en campo. Desde entonces han sido contrastados distintos métodos de inoculación y en todos ellos se pone de relieve la no necesidad de heridas artificiales para que la infección tenga lugar, aunque en algunos casos (ECHAND, 1970; ERWIN, 1958; WETERLUND *et al.*, 1974), se señala su efecto favorable en el desarrollo de la enfermedad. La edad de la planta en el momento de la inoculación es inversamente proporcional a la susceptibilidad en inoculaciones artificiales (CHAUNAN, 1960).

En razón de las inoculaciones u observaciones en condiciones de infección natural, realizadas hasta ahora en numerosas especies leguminosas o no leguminosas (CHATTOPADHYAY y SEN, 1967; ERWIN, 1958; NARASIMHAN, 1929, PADWICK, 1940 b; WETERLUND *et al.*, 1974); y en especies de género *cicer* (NENE y HAWARE, 1980), *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* resulta ser patógeno sólo de especies de *Cicer*. Infecciones asintomáticas han sido puestas de manifiesto en raíces de cayán (*Cajanus cajan*), caupí (*Vigna sinensis*), guisante (*Pisum sativum*) y lenteja (*Lens esculenta*) (AWARE, 1982 a; WETERLUND *et al.*, 1974). Varios autores (CHAUNAN, 1960; PRASAD y PADWICK, 1939) indicaron diferencias de patogenicidad entre aislamientos de *F. oxysporum* f. sp. *ciceri*, pero no evaluaron esta reacción en distintos cultivares. Aunque existían fundadas sospechas sobre la existencia de razas fisiológicas del patógeno, por las reacciones observadas en ensayos de evaluación de resistencia en campo (VAN DER MAESEN, 1972) y en inoculaciones artificiales (TRAFERO y JIMÉNEZ, 1981), la caracterización de las mismas no fue realizada hasta 1982 en que HAWARE y NENE citaron la existencia de cuatro razas (denominadas 1, 2, 3 y 4) en

base a la reacción diferencial de diez cultivares de garbanzo.

## 2. Podredumbre negra de raíz

Esta enfermedad se conoce con el nombre de podredumbre negra de raíz o podredumbre de pie. Aunque posiblemente haya sido conocida desde los primeros trabajos sobre la MPR del garbanzo, en los que se citaban diferentes especies de *Fusarium* una causante de marchitez (*F. oxysporum* f. sp. *ciceri*) y otras de podredumbres de semilla (PRASAD y PADWICK, 1939), su diagnóstico no se concretó hasta que KRAFT en 1969 (KRAFT, 1969) identificó y contrastó la patogenicidad de *F. solani* sobre garbanzo.

Desde entonces la enfermedad ha sido citada en Argentina (CARRERA, 1975), E.E.UU. (KRAFT, 1969; WETERLUND *et al.*, 1974) y la India (GREWAL *et al.*, 1974 a).

Aunque existen referencias de que la podredumbre negra de raíz puede ser severa en algunos casos (GREWAL *et al.*, 1974 b), no existen datos precisos sobre pérdidas debidas a esta enfermedad en garbanzo, en parte por su relativamente reciente diagnóstico, y también, por haber sido confundida frecuentemente con otras enfermedades del complejo MPR (SINGH *et al.*, 1974). En varios estados de la India se ha citado a *F. solani* como uno de los dos patógenos (junto con *F. oxysporum* f. sp. *ciceri*) más importantes asociados con la MPR (SARAF, 1974; VIDHYASEKARAN *et al.*, 1978); habiéndose señalado como el más importante en algunos estados noroccidentales de dicho país (GREWAL *et al.*, 1974 b; JAIN y BAHL, 1974). En California *F. solani* f. sp. *pisi* fue el organismo más frecuentemente aislado de plantas con marchitez y podredumbre de raíz (WETERLUND *et al.*, 1974).

Sintomatológicamente, esta enfermedad se caracteriza por podredumbre del cuello y raíz que adquieren coloración negra, amari-

lleamiento de las hojas bajas con progresión acrópeta, ausencia de coloración vascular en el tallo, detención del crecimiento y muerte de plantas (CARRERA, 1975; GREWAL *et al.*, 1974 a; KRAFT, 1969; WETERLUND *et al.*, 1974).

El agente de la podredumbre negra de raíz del garbanzo fue identificado por KRAFT (1969) como *F. solani* (Mart.) App. & Wr. f. sp. *pisi* (Jones) Snyd. et Hans. CARRERA (1975) siguiendo el sistema de WOLLEMEWEBER menciona dos variables aisladas del garbanzo: var. *minus* y var. *martii* citadas como sinónimo de *F. solani* en el sistema taxonómico de BOOTH (1971). En este sistema, el estado anamorfo del agente causante de la podredumbre negra de raíz del garbanzo es referido como *F. solani* (Mart.) Sacc. f. sp. *pisi* (Jones) Snyd. et Hans. y su estado teleomorfo con *Nectria haematococa* Berk. et Br.

El nombre de su forma especializada fue asignado por KRAFT (1969) en base a que resultó patógeno también sobre guisante. WETERLUND *et al.* (1974) inocularon aquí, garbanzo, guisante, judía (*Phaseolus vulgaris*) y soja (*Glycine max*) con diez aislamientos de *F. solani* obtenidos de garbanzo con podredumbre radicular, resultando todos ellos patógenos sólo sobre garbanzo y guisante. Además de estas dos especies, son también susceptibles a *F. solani* f. sp. *pisi* (MATUO y SNYDER, 1972) la morera (*Morus alba*) y el «ginseng» (*Panax ginseng*), y se conocen diversos huéspedes (VAN ETEN, 1978).

Salvo en los trabajos mencionados anteriormente, en las restantes referencias sobre esta enfermedad se cita *F. solani* o *F. solani* f. sp. *pisi*, pero no se han efectuado inoculaciones de otros huéspedes distintos de garbanzo. Diferencias morfológicas y de patogenicidad entre aislamientos de *F. solani* procedentes de garbanzo han sido mencionadas recientemente en la India (VISWAKARMA y CHAUDHARY, 1981).

### 3. Podredumbre seca de raíz

La enfermedad se conoce actualmente como podredumbre seca de raíz (NENE *et al.*, 1978) y ha sido citada en Australia, EE.UU., Etiopía, India, Irán, Líbano, México, Siria y Turquía (NENE, 1980).

Fue citada por primera vez en la India (DASTUR, 1935) donde ha sido tradicionalmente conocida como «Rhizoctonia-wilt» (VAN DER MAESEN, 1972). Debido a que también ha sido generalmente confundida con otras enfermedades del complejo MPR, no existen datos específicos sobre pérdidas que origina, aunque se suele destacar como una de las enfermedades más importantes del garbanzo en las regiones semiáridas de los trópicos (ICRISAT, 1981).

Los primeros síntomas en cultivares de semilla pequeña y color oscuro son el bronceado de las hojas bajas de algunas ramas, que más tarde cambia a amarillo y finalmente a marrón; el raquis adquiere una consistencia rígida y ligeramente vuelto hacia arriba y los folíolos quedan algo levantados cayendo prematuramente. En plantas severamente afectadas o muertas puede distinguirse esta enfermedad por la coloración marrón de tallos y hojas, defoliación, ramas erectas y rígidas, y raquis levantado (DASTUR, 1935). Sin embargo, NENE *et al.* (1978) señalan como único síntoma característico de esta enfermedad la desecación del conjunto de la planta sin flaccidez, salvo en el ápice caulinar, con las hojas y tallos de color paja, y a veces en la parte baja de la planta, de color marrón.

En la parte subterránea el síntoma más característico es la podredumbre seca del sistema radicular de color marrón-negro. Dicha podredumbre se inicia por el ápice de la raíz principal o de las laterales. En plantas severamente afectadas, la podredumbre afecta al sistema radicular completo, quedando la raíz principal desprovista de raíces laterales, deshilachada y rígida. A veces, pueden obser-

varse con una lupa de mano esclerocios del hongo subepidérmicos o en la médula. Las plantas afectadas presentan una distribución al azar en el campo DASTUR, 1935; NENE *et al.*, 1978).

El agente causante de la podredumbre seca de raíz del garbanzo fue identificado por DASTUR (1935) como *Rhizoctonia bataticola* (Taub.) Butl., sinónimo de *Sclerotium bataticola* Taub., cuya forma conidial es *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid (HOLLIDAY y PUNITHALIGAM, 1970).

*M. phaseolina* es un hongo de suelo, termófilo, mundialmente distribuido y polífago. En general, la temperatura óptima de crecimiento es de 30-37°C., aunque depende del aislamiento utilizado (DHINGRA y SINCLAIR, 1978). Su gama de huéspedes es extremadamente amplia, comprendiendo desde plantas leñosas a herbáceas anuales; habiéndose citado 250 huéspedes en 1947 (REICHERT y HELLINGER, 1947). Con frecuencia *M. phaseolina* no ha sido considerado patógeno, ya que las enfermedades causadas por este hongo han estado siempre asociadas con temperaturas altas (DHINGRA y SINCLAIR, 1978). REICHERT y HELLINGER (1947) estudiaron las características morfológicas, fisiológicas y patogénicas de un aislamiento de garbanzo y lo incluyeron en la subespecie *typica*. Con este aislamiento inocularon berenjena (*Solanum melongena*), calabaza (*Cucurbita pepo*), garbanzo, judía (*Phaseolus vulgaris*) y tomate (*Lycopersicon esculentum*) resultando patógeno sólo para judía. Además, la judía resultó susceptible a otros aislamientos procedentes de diferentes huéspedes, existiendo diferencias de patogenicidad entre ellos y en el aislamiento de garbanzo.

En garbanzo, la podredumbre seca de raíz causada por *M. phaseolina* es favorecida por temperaturas altas (25-35°C.) y baja humedad del suelo (NENE, 1980). Los vertisoles parecen favorecer la enfermedad más que los alfisoles (NENE, 1980). Con frecuencia inocu-

laciones de garbanzo en condiciones artificiales ha dado resultados negativos, y sólo después de someter a las plantas a un régimen de estrés de agua (WETERLUNG *et al.*, 1974), o a altas temperaturas (DASTHUR, 1935), se observaron lesiones radiculares discretas en el primer caso y síntomas de amarilleamiento en el segundo; pero en ningún caso se reprodujeron los síntomas típicos de plantas infectadas naturalmente. En la India la enfermedad es más severa en los estados más cálidos del Centro y del Sur, donde la temperatura ambiental en el período de postfloración es de unos 30°C. (NENE, 1980).

Aunque, generalmente, esta enfermedad es más severa en los últimos estados del cultivo (DASTUR, 1935; NENE, 1980; VIDHYASEKARAN *et al.*, 1978), también se ha citado muerte en preemergencia a temperaturas altas (SINGH y MEHROTRA, 1980 a; SINGH y MEHROTRA, 1980 b).

#### 4. «Stunt»

La virosis del garbanzo conocida como «Stunt» en la literatura fitopatológica fue citada por primera vez en garbanzo por KAISER y DANESH en Irán (KAISER y DANESH, 1971 b), y en base a la sintomatología ha sido diagnosticada posteriormente en Argelia, Etiopía, Líbano, Nepal, Marruecos, Pakistán, Siria, Sudán, Túnez y Turquía (NENE, 1980; REDDY *et al.*, 1980; SAH, 1980).

Al igual que ocurre con otras enfermedades integrantes del complejo MPR, es posible que esta enfermedad haya sido conocida desde los primeros trabajos sobre la «marchitez» del garbanzo, ya que PRASAD y PADWICK citaron en 1939 (PRASAD y PADWICK, 1939) unos síntomas similares a los de «Stunt» asociados a la marchitez; y posiblemente haya sido también responsable en gran medida de la confusión creada en torno a la teoría de la «marchitez fisiológica» (NENE, 1980). Generalmente, la incidencia de esta enfermedad es inferior al 5%, pero oca-

sionalmente pueden observarse campos con 50-90% de plantas afectadas (NENE, 1980; REDDY *et al.*, 1980); habiéndose señalado una incidencia mayor en la parte central y norte de la India que a la parte sur (NENE y REDDY, 1976). La reducción media del rendimiento de las plantas afectadas se estima en más del 80% (NENE y REDDY, 1976), y la escasa semilla obtenida de plantas infectadas es de baja calidad (KAISER y DANESH, 1971 a).

Los síntomas característicos de esta enfermedad incluyen enanismo, coloraciones amarillentas o pardo-rojizas de las hojas (amarilleamiento en los cultivares tipo «kabuli»: de flores blancas y semillas grandes (>0,25 g./semilla), globosas, de color claro y con cubierta seminal débilmente adherida a los cotiledones; y pardo-rojizas en los de tipo «desi»: de semillas pequeñas, irregulares, de color oscuro y con cubierta seminal fuertemente adherida a los cotiledones), proliferación y coloración castaño-oscuro del floema. Muchas plantas mueren prematuramente y las que sobreviven producen muy pocas vainas. Las plantas afectadas, frecuentemente distribuidas al azar, pueden ser distinguidas fácilmente en el campo por su coloración y enanismo (NENE, 1980; NENE *et al.*, 1978). Síntomas similares a los indicados o con ligeras variaciones, han sido también descritos como inducidos por otros virus (ERWIN y SNYDER, 1958; KAISER y DANESH, 1971 b; KAISER y NENE, 1975; SNYDER *et al.*, 1956).

El agente causante de esta enfermedad ha sido identificado como el virus del enrollado de la hoja del guisante PLRV (KAISER y DANESH, 1971 b; REDDY *et al.*, 1979), un Luteovirus del grupo del virus del enanismo amarillo de la cebada (MATHEWS, 1981), cuyo rango de plantas susceptibles está confinado a las leguminosas (KAISER y DANESH, 1971 a; TINSLEY, 1959).

En garbanzo, la transmisión mecánica no ha tenido éxito (KAISER y DANESH, 1971 b; NENE y REDDY, 1976) y tampoco se conoce que se transmita por semilla (NENE y HAWARE,

1980). La dispersión del virus ocurre mediante la transmisión por diferentes áfidos vectores (KAISER y DANESH, 1971 a; NENE y REDDY, 1976).

Con frecuencia se han observado infecciones por *F. oxysporum* o *F. solani* en plantas afectadas de «Stunt» (KAISER y DANESH, 1971 b; NENE *et al.*, 1978).

## 5. Clorosis

Las deficiencias de oligoelementos han sido también tradicionalmente asociadas con el complejo MPR del garbanzo. Una de ellas denominada clorosis, debida a una deficiencia de hierro (Fe), ha sido recientemente diagnosticada (NENE *et al.*, 1978). Esta carencia ha sido citada en varios estados de la India y Túnez (NENE *et al.*, 1978; REDDY *et al.*, 1980) y aunque no existen datos sobre las pérdidas que ocasiona, puede resultar en una considerable reducción del rendimiento, sobre todo, en algunos genotipos susceptibles (GOWDA y SMITHSON, 1980).

Los síntomas característicos (NENE *et al.*, 1978) son clorosis y amarilleamiento de progresión basípeta, siendo más acentuados en las hojas más jóvenes de la planta. Al progresar los síntomas ocurren necrosis apicales y las plantas pueden quedar enanas. Generalmente, los síntomas aparecen en plantas jóvenes que suelen recuperarse, al menos parcialmente, con el tiempo. En casos extremos, las plantas adquieren una coloración ligeramente marrón similar a la de las plantas afectadas por «Stunt», pero no existe la coloración castaño-oscura del floema.

La mayor susceptibilidad de las plantas en los primeros estados de crecimiento y la recuperación con el tiempo, ha sido asociada con una menor movilidad del Fe en las plántulas en las que se acumula en el sistema radicular (MALEWAR *et al.*, 1982). Los síntomas de esta deficiencia han sido frecuentemente observados en garbanzo culti-

vado en vertisoles (GOWDA y SMITHSON, 1980).

## MATERIAL Y METODOS

Durante abril, mayo y junio de 1979, 1980 y 1981, se realizaron prospecciones fitopatológicas en las zonas más importantes de cultivo de garbanzo de Córdoba y Sevilla. Para la realización de los muestreos se fijó con anterioridad un itinerario que abarcara la mayor parte de la zona a estudiar, en el que se muestrearon todos los campos encontrados en el recorrido, salvo cuando éstos fueron muy abundantes y homogéneos, en cuyo caso se muestrearon 1/3-1/5 de los campos encontrados.

En todos los años de prospección, algunas zonas fueron muestreadas 2-3 veces en el mismo año. En estos casos, se eligieron itinerarios distintos cada vez, aunque con algunas partes comunes en las que un cierto número de campos se muestrearon en distintos estados fenológicos del cultivo.

Durante 1979-80, la información recogida para cada campo prospectado incluyó datos y observaciones sobre sintomatología, incidencia y distribución de las plantas afectadas, severidad de las infecciones y características agronómicas del cultivo, como tipo de suelo y siembra, fecha de siembra, labores, abonado, tratamientos fitosanitarios y alternativa de cultivos seguida en la parcela con indicación del último año en el que se sembró garbanzo.

Los diferentes tipos de síntomas fueron descritos tras observar todos los órganos de la planta, teniendo en cuenta las descripciones sintomatológicas que sobre este complejo de enfermedades existen en la literatura consultada (CHAUNAN, 1962; ERWIN, 1958; KAISER y DANESH, 1971 b; NENE *et al.*, 1978; WETERLUND *et al.*, 1974).

La incidencia y distribución de cada tipo de síntoma se evaluó mediante conteo de las

plantas sintomáticas y asintomáticas en 10 metros de la línea de siembra (60-100 plantas), en zonas distintas y representativas de la superficie total del campo. El número de observaciones por campo varió en función del tamaño y uniformidad del mismo, con un mínimo de tres conteos en el caso más simple (parcela uniforme de superficie infe-

rior a 2 ha.). Cuando la distribución de las plantas afectadas fue en rodales, además del conteo indicado, se estimó el número de los mismos en el campo y su superficie respecto a la total.

La severidad de la reacción en la parte aérea se evaluó utilizando una escala 1-5 (1=no síntomas, 5=planta muerta), contras-

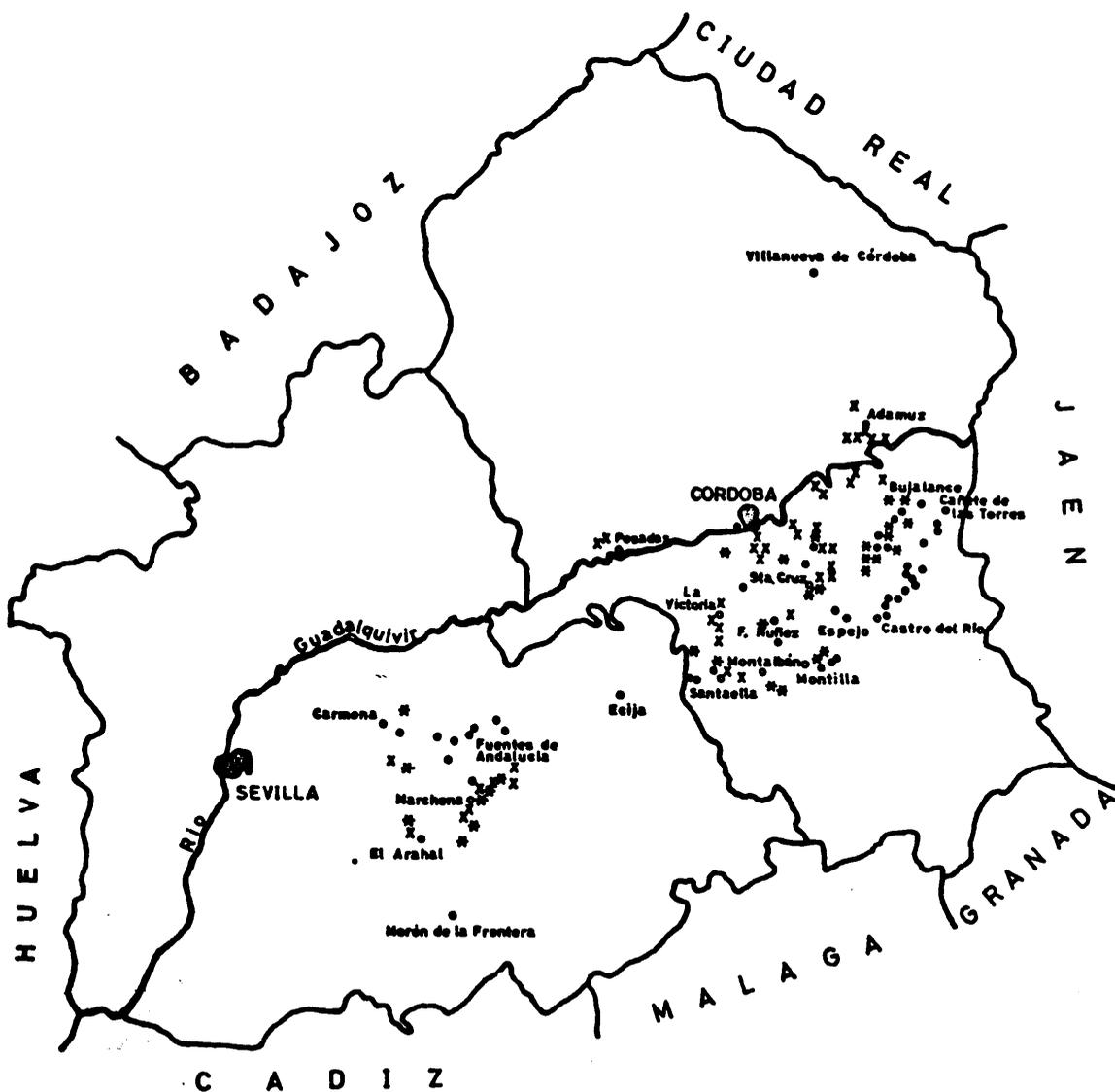


Fig. 1.—Distribución de los campos muestreados en 1979 (x), 1980 (\*) y 1985 (.).

tada previamente en inoculaciones experimentales preliminares (TRAPERO, 1983).

En 1981, las prospecciones tuvieron por finalidad confirmar los resultados de los dos años anteriores respecto a los tipos de síntomas y organismos asociados con cada uno de ellos. Por ello, en los campos examinados no se efectuaron conteos para cuantificar la incidencia de plantas afectadas y severidad de las reacciones, aunque sí se anotaron los diferentes tipos de síntomas, con una estimación global que su incidencia, distribución y severidad, junto con las características agronómicas del cultivo.

Muestras de al menos 12 plantas completas de cada tipo de síntoma y de plantas asintomáticas, de cada campo prospectado, fueron llevadas al laboratorio donde se efectuó una observación más detallada de los síntomas en los diferentes órganos de la planta, así como de la presencia de signos del agente. Este examen de laboratorio y los pasos siguientes del diagnóstico se siguieron también con las muestras de plantas enfermas enviadas al Departamento de Patología Vegetal por agricultores y técnicos.

## RESULTADOS

Durante los 3 años de prospecciones se inspeccionaron 108 campos de garbanzo distribuidos en Córdoba y Sevilla (fig. 1), incluyendo una superficie total superior a 1,300 ha. Dicha superficie representó el 1,0, 0,8 y 3,4% de la total cultivada en estas provincias en 1979, 1980 y 1981, respectivamente.

Aunque los cultivares, ambiente, tipos de suelo y sistemas de cultivo variaron entre los diferentes campos muestreados (TRAPERO, 1983), salvo excepciones, no existió correlación de estos factores con las diferentes enfermedades diagnosticadas, por lo que los resultados de las prospecciones se presentan globalizados para dichas características.

## 1. Sintomatología

Las observaciones de plantas afectadas en los primeros estados de desarrollo sintomatológico permitieron distinguir con claridad cinco complejos de síntomas, que hemos denominado según la(s) característica(s) más sobresaliente(s), y en orden decreciente de importancia:

1. Amarilleamiento.
2. Marchitez.
3. Podredumbre seca de raíz.
4. Enanismo amarillento.
5. Clorosis.

En plantas severamente afectadas resultó difícil distinguir unos de otros. Precisamente al ser esta fase la más llamativa, este conjunto de enfermedades ha sido caracterizado tradicionalmente bajo la denominación común de seca, quema, ahogado, coquera o socarrina.

En la zona del cuello de la planta (hipocotilo y epicotilo subterráneo) fue donde confluyeron un mayor número de características diferenciales básicas de los diferentes tipos de síntomas.

### 1.1. Amarilleamiento

Las plantas afectadas estuvieron distribuidas generalmente de forma errática y en los casos de síntomas severos, en rodales de tamaño variable (fig. 2-D), llegando a abarcar a veces la parcela completa (fig. 2-E). En ocasiones estos rodales estuvieron asociados con algún problema del suelo (fig. 2-F).

Los primeros síntomas se observaron en plántulas de unos 20 días, pero estos fueron más notables desde el comienzo de la floración hasta maduración.

En la parte aérea el síntoma característico consistió en un amarilleamiento de los folíolos de las hojas inferiores. Este amarilleamiento afectó progresivamente a las hojas superiores, quedando las inferiores ne-

cróticas y defolioladas y pudiendo apreciarse por ello tres zonas en la parte aérea (fig. 2-A):

— Zona inferior con hojas parcialmente defoliadas quedando algunos folíolos amarillos o necrosados de color castaño claro.

— Zona media con amarilleamiento y ligera necrosis y defoliación.

— Zona superior de color verde normal con algunos folíolos cloróticos en la transición con la zona media.

A veces, alguna rama fue más afectada que el resto de la planta. En estos casos, frecuentemente podía apreciarse también un menor desarrollo de las plantas, que tenían un color verde pálido y se distribuían principalmente en rodales.

En la parte subterránea se observaron con frecuencia, pero no siempre, necrosis de color marrón o negro en la zona del cuello y podredumbre de la raíz principal acompañada o no por la de raíces secundarias (fig. 2-B).

En cortes realizados en el cuello, o en tallo y raíz principal próximos a éste, se podía distinguir con frecuencia, una coloración marrón oscura de los tejidos del xilema y médula, que a veces ascendía por el tallo hasta el ápice (fig. 2-C).

Cuando el amarilleamiento, asociado con coloración del xilema y médula, progresó hasta el ápice caulinar, la última etapa en la progresión del síntoma aéreo fue, generalmente, muy rápida. En este caso, las hojas superiores mostraron flaccidez y los folíolos necrosados permanecieron adheridos al raquis. Entre estos folíolos podían distinguirse unos de color castaño claro que habían amarilleado previamente, y otros de color verde-grisáceo en los que la necrosis ocurrió sin apenas cambio de color. Esta fase severa del amarilleamiento fue observada más frecuentemente en las últimas etapas del cultivo, aunque en algunos rodales o en parcelas donde ocurrieron severas epidemias, pudo observarse antes (figs. 2-D, E, G).

## 1.2. *Marchitez*

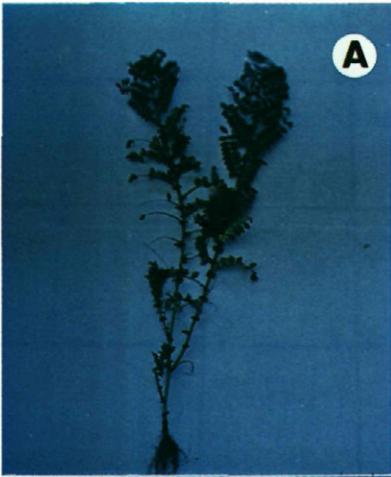
Una de las características más notables de este complejo de síntomas fue la rapidez con que éstos se manifestaron, ya que en observaciones secuenciales, plantas asintomáticas aparecían muertas en menos de una semana. Los primeros síntomas se observaron en plántulas de unos 20 días, siendo estos más frecuentes desde el comienzo de la floración. En la parte aérea, los síntomas consistieron en flaccidez de algunas hojas, en cualquier nivel de la planta, con desecación de folíolos que se tornaban de color verde-grisáceo (fig. 3-A). Prontamente, la planta completa mostraba dichos síntomas, adquiriendo los folíolos, pecíolos y tallo necrosados un color castaño claro, a lo que siguió la muerte de la planta. Los folíolos necrosados quedaron adheridos al raquis.

Con frecuencia, las plantas afectadas presentaron sólo unas pocas ramas sintomáticas mientras el resto permanecían verdes. También frecuentemente, sobre todo, a partir de la floración de marchitez estuvo asociada con amarilleamiento (figs. 3-B, C).

La parte subterránea de plantas afectadas en los primeros momentos de la expresión sintomatológica de la parte aérea, no mostró lesiones ni decoloraciones externas en cuello ni en raíces, que permanecían con sus nódulos intactos. Más tarde, las plantas muertas mostraron podredumbre de cuello y de las raíces principal y secundarias (fig. 3-B).

Interiormente, tanto en tallo como en cuello y raíz principal, el xilema y la médula mostraron una coloración marrón-oscuro que alcanzó a veces el ápice caulinar de la

Fig. 2.—Síntomas de amarilleamiento. A) Progreso acrópero de los síntomas en una planta afectada. B) Síntomas severos en la parte aérea asociados con necrosis del cuello y raíces. C) Coloración marrón oscuro del xilema (flechas) y médula. D) Rodal de plantas afectadas. E) Síntomas severos en maduración: parcela con el 100% de plantas afectadas. F) Rodal de plantas afectadas en un suelo escasamente fértil. G) Síntomas severos en maduración: amarilleamiento y marchitez.



planta y fue más acentuada en la zona del cuello (fig. 2-C).

### 1.3. Podredumbre seca de raíz

Los síntomas de esta enfermedad sólo se observaron a partir del final de la floración y fueron más frecuentes en maduración. Las plantas afectadas se distribuyeron errática-

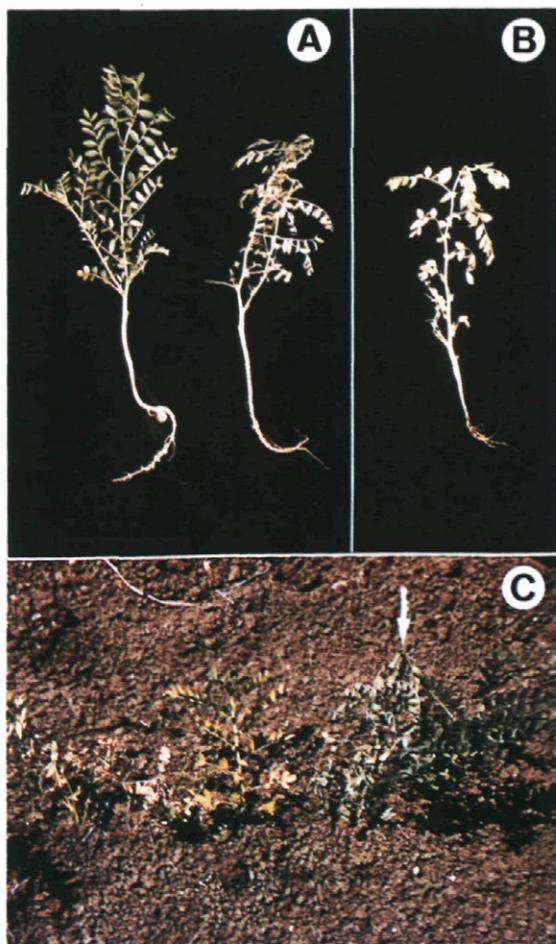


Fig. 3.—Síntomas de Marchitez. A) No síntomas (izquierda), síntomas severos (derecha). B) Síntomas de amarilleamiento y marchitez asociados en la misma planta con necrosis de cuello y raíces. C) Síntomas severos de amarilleamiento y marchitez (flecha) en campo.

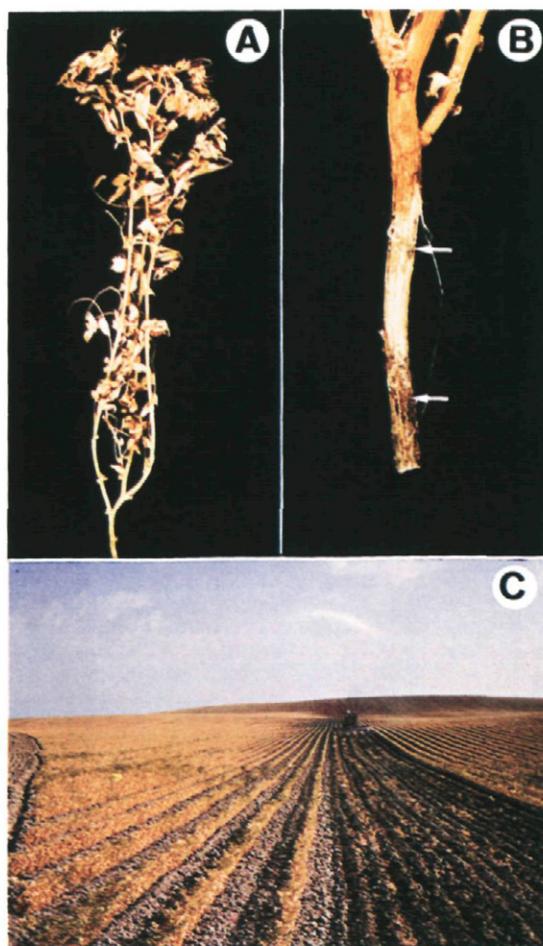


Fig. 4.—Síntomas y signos de Podredumbre Seca de Raíz. A) Deseccación general de la planta con ligera flaccidez de las hojas apicales (maduración precoz). B) Cuello con podredumbre seca y deshilachado. Esclerocios subepidérmicos (flechas). C) Epidemia severa de podredumbre seca de raíz, asociada con altas temperaturas y déficit de agua en el suelo, que ocasionó graves pérdidas de cosecha en 1981.

mente y en ocasiones se observaron pequeños rodales.

En la parte aérea el único síntoma caracterizado fue la necrosis generalizada de la planta que adquirió un color paja, más oscuro en la parte baja del tallo. Las hojas de la zona apical mostraron ligera flaccidez e, inicialmente, los folíolos de las mismas eran de color verde-grisáceo cuando el resto

de la planta estaba necrosado y de color paja (fig. 4-A).

Los síntomas más característicos de esta enfermedad se observaron en la parte subterránea de la planta, y consistieron en la podredumbre seca del suelo y raíz, que, a veces, progresó sobre la superficie del suelo afectando a la parte baja del tallo principal y ramas secundarias (fig. 4-B). La raíz principal y cuello quedaban completamente secos y quebradizos por lo que se tronchaban con facilidad y, generalmente, las raíces secundarias eran muy escasas o no existían. Al progresar la podredumbre, la epidermis se separó en algunas partes del cuello y raíz, por lo que estos aparecían con frecuencia deshilachados (fig. 4-B).

En la raíz y cuello, con ayuda de una lupa de mano 16X, pudieron observarse, subepidérmicos y/o en la médula, numerosos esclerocios que daban tonalidad grisácea a los tejidos afectados (fig. 4-B). No obstante, con frecuencia, en plantas afectadas con el complejo de síntomas característicos de esta enfermedad, no se detectaron los esclerocios, ni en la observación de campo ni en el examen más detallado en el laboratorio. Estas plantas eran, por tanto, difícilmente distinguibles de plantas afectadas severamente por cualquiera de los otros complejos sintomatológicos citados.

A pesar de la severidad con que se manifestaron los síntomas, al presentarse éstos en los últimos estados fenológicos del cultivo, muchas plantas afectadas produjeron normalmente vainas, pero éstas estaban vacías o con semillas de tamaño reducido y baja calidad, ocasionando pérdidas severas de cosecha (fig. 4-C).

#### 1.4. *Enanismo amarillento*

Las plantas afectadas se distribuyeron, generalmente, de forma errática (fig. 5-H), aunque con frecuencia se observaron, ade-

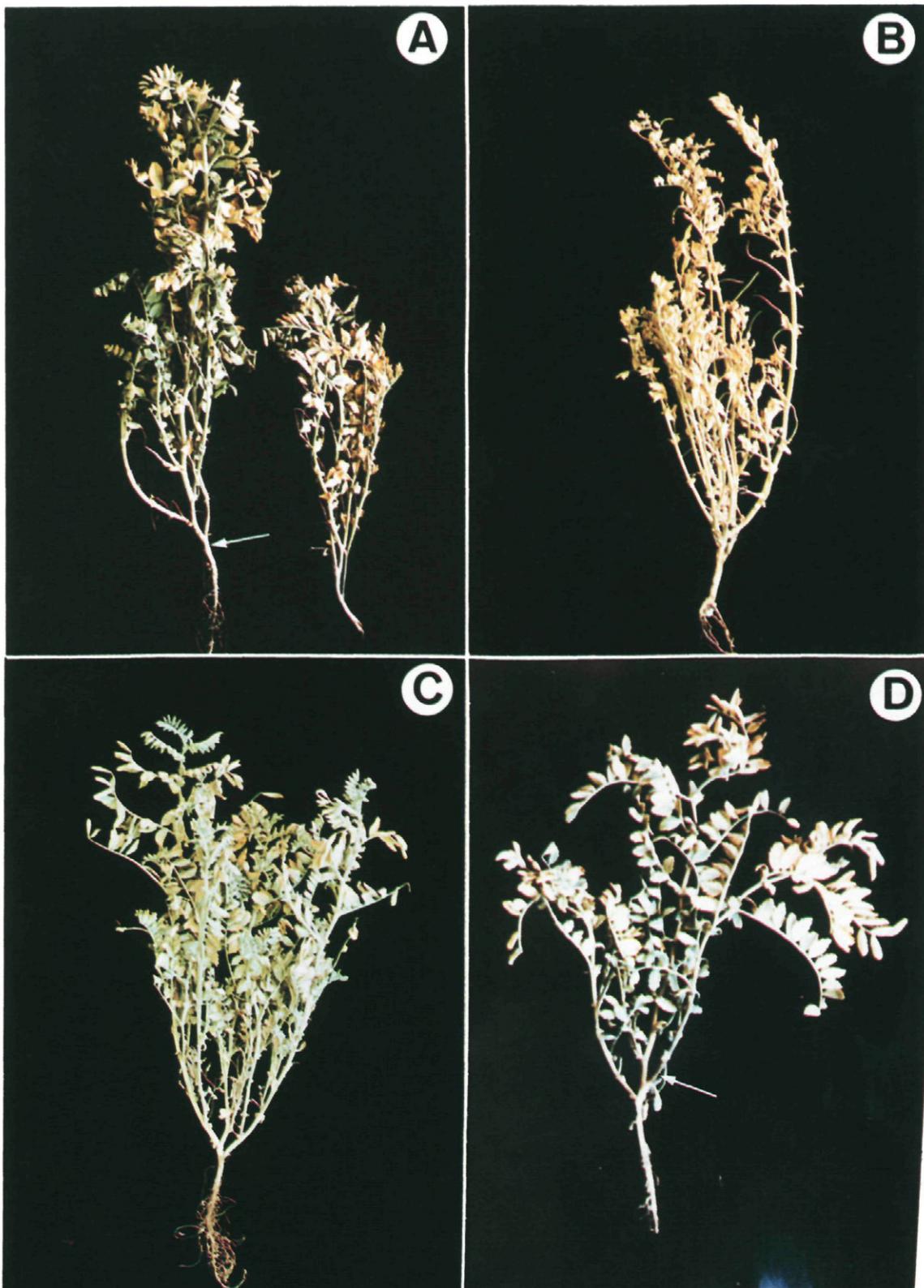
más, rodales de forma irregular con una incidencia más elevada. Estos rodales estuvieron asociados frecuentemente con los bordes de la parcela o con densidades bajas de plantas (fig. 5-I).

Los síntomas de esta enfermedad se observaron desde 30-40 días después de la siembra hasta maduración, variando su severidad según el estado fenológico de la planta en el momento de su aparición. Las plantas afectadas cuando jóvenes quedaron frecuentemente enanas, con folíolos más pequeños, acortamiento de entrenudos y raquis, y a veces, con tallos y hojas algo más gruesos y rígidos de lo normal (fig. 4-A, C). El acortamiento de entrenudos y raquis fue más acentuado en las partes jóvenes de la planta confiriéndole, por ello, un aspecto arrosado. En cambio, cuando la aparición de los síntomas fue más tardía, las plantas mantuvieron su altura normal y los síntomas señalados fueron menos acusados. También, a veces, se observaron plantas con algunas ramas normales y otras con menor desarrollo (fig. 5-B).

El resto de los síntomas que componen el complejo sintomatológico de esta enfermedad fue similar para los dos casos. El color amarillo dorado que mostraron los folíolos de las plantas afectadas fue el síntoma más conspicuo de esta enfermedad en campo (fig. 5-A, H, I). El amarilleamiento comenzó por los ápices y márgenes de los folíolos de las hojas terminales, donde era más acentuado, para ir extendiéndose al resto del foliolo y con el tiempo hacia las hojas inferiores hasta alcanzar la planta completa. Paralelamente al progreso basípero, ocurrió frecuentemente necrosis de los ápices caulinares (fig. 5-F).

Con frecuencia, las plantas afectadas desarrollaron un mayor número de ramas secundarias que le conferían un porte excesivamente ramificado muy característico (fig. 5-C).

La raíz y cuello de las plantas afectadas



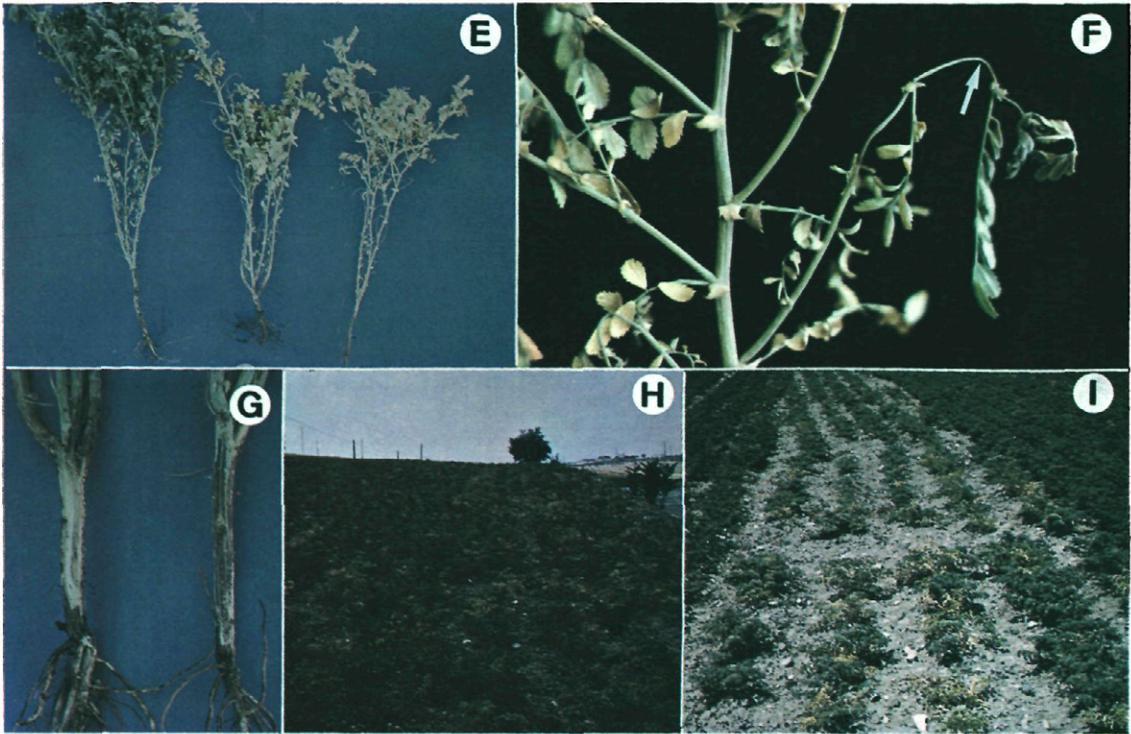


Fig. 5.—Síntomas de Enanismo Amarillento. A) Color amarillo dorado de los folíolos más acentuado en los ápices y márgenes, enanismo, cuello de color blanco-púrpura (flecha). B) Proliferación de ramas alcanzando diferente altura en la planta. C) Proliferación de ramas y amarilleamiento de hojas superiores. D) Arrosetado y amarilleamiento de hojas apicales, coloración verde-marrón del tallo (flecha). E) No síntomas (izquierda), síntomas de enanismo amarillento y de amarillento en la misma planta (centro y derecha). F) Necrosis del ápice caulinar (flecha). G) Coloración castaño oscuro de floema (derecha), planta asintomática (izquierda). H) Distribución errática de las plantas afectadas. I) Incidencia más elevada en siembras poco densas.

no mostraron inicialmente síntomas externos algunos, aunque el cuello, de color blanco en plantas sanas, adquirió en plantas afectadas una tonalidad blanco-purpurea, como consecuencia de la coloración interna del floema (fig. 5-A). Más tarde, en plantas severamente afectadas, se observaron necrosis de color marrón o negro en cuello y raíz. La necrosis fue más acentuada en los puntos de nacimiento de las raíces secundarias.

Mediante raspado de la epidermis en la zona del cuello se apreció una coloración marrón del floema. Este fue el síntoma más característico de esta enfermedad (fig. 5-G). Efectuando un corte transversal en esta zona,

pudo distinguirse un anillo subepidérmico de color marrón correspondiente al floema.

Externamente, los tallos de las plantas severamente afectadas presentaron con frecuencia zonas de color verde-marrón (fig. 5-D) que se correspondían con la coloración interna acentuada del floema, y a veces también, un contorno poligonal y crecimiento en zig-zag. Generalmente, sobre todo en la parte alta del tallo, las zonas verde-marrón se necrosaban, tomando un color marrón-oscuro, y el tallo perdía consistencia, por lo que se doblaba sin quebrarse por dicha zona, quedando el ápice caulinar colgado de la zona necrosada (fig. 5-F).

La mayoría de las plantas afectadas murieron prematuramente y las plantas que sobrevivieron produjeron muy pocas vainas con garbanzos de baja calidad.

Aunque en plantas severamente afectadas o muertas resultó muy difícil distinguir los distintos tipos de síntomas, sin embargo, en el caso del enanismo amarillento, pudimos utilizar algunas características que cuando confluían en la misma planta, nos ayudaron en el diagnóstico. Estas características fueron:

- a) Enanismo acentuado.
- b) Elevado número de ramas secundarias desarrolladas y, a veces, con grupos de ramas de diferente altura (fig. 5-B).
- c) Zonas próximas a los ápices caulinares de color más oscuro (marrón) que el resto de la planta (ocre), con el tallo, muy delgado y retorcido en estas zonas y los ápices colgados de las mismas (fig. 5-F).
- d) Tallo con algunas zonas marcadas de color marrón-oscuro.
- e) Coloración marrón del floema en el cuello observable mediante raspado cuidadoso de la epidermis o corte transversal. En plantas no muy secas esta coloración fue observable también en el tallo.

Con frecuencia el enanismo amarillento se presentó en la misma planta asociada con síntomas de amarilleamiento y/o marchitez (fig. 5-E). En estos casos, además de la coloración castaño oscuro del floema, se observó también frecuentemente, la coloración marrón oscuro del xilema y médula.

Los síntomas señalados para el enanismo amarillento se observaron en todos los cultivos normales sembrados en el valle del Guadalquivir. Sin embargo, en siembras experimentales de cultivares de tipo «desi» hemos observado, como síntomas diferencial de los ya señalados, la coloración pardorajiza de los folíolos en lugar del color amarillo dorado característico.

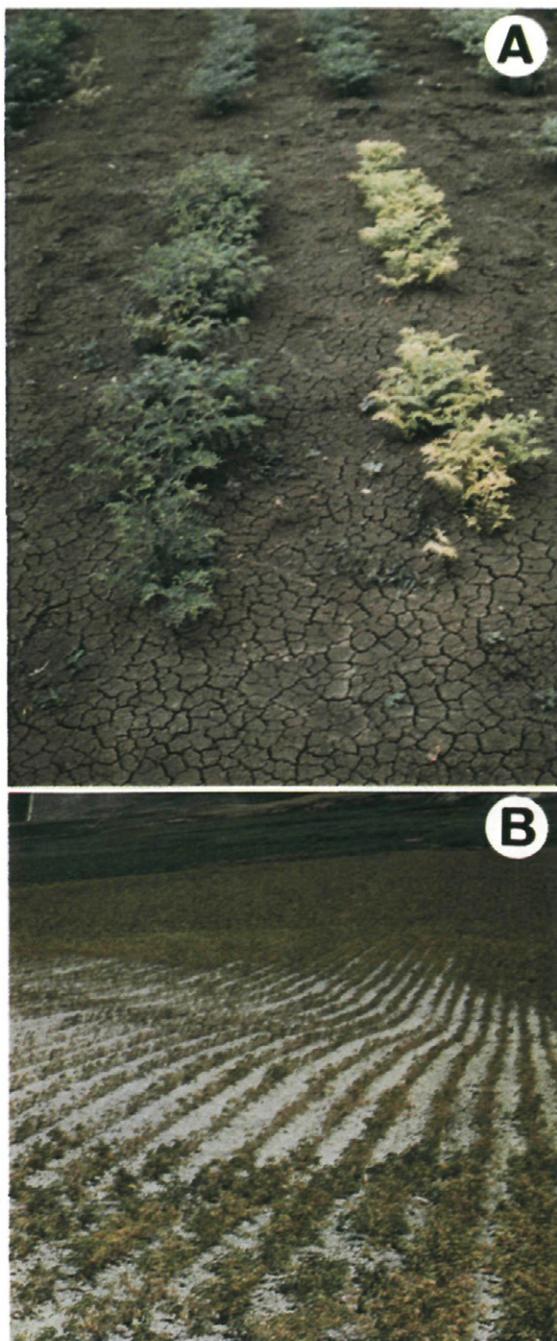


Fig. 6.—Síntomas de Clorosis. A) Reacción diferencial de cultivares: no síntomas (izquierda), síntomas severos (derecha). B) Rodal de suelo calizo con plantas severamente afectadas.

### 1.5. *Clorosis*

Las plantas afectadas se distribuyeron erráticamente y en rodales de forma y tamaño variables con el tiempo. A veces, estos rodales estuvieron asociados con suelos blancos calizos (fig. 6-B). Los síntomas se observaron desde la nascencia y fueron menos acusados a partir de la floración. El color amarillo claro que presentaron los folíolos de las plantas afectadas fue el síntoma más conspicuo de esta enfermedad (fig. 6-A). Inicialmente, los folíolos de las hojas terminales perdían gradualmente su color verde hasta adquirir el color amarillo claro característico; destacándose en todo momento principalmente el nervio central de color verde. Más tarde, cuando el síntoma progresó hacia abajo, ocurrió la necrosis de ápices.

Las plantas severamente afectadas quedaron enanas, con folíolos de menor tamaño y a veces más ramificados de lo normal. Sin embargo, en la mayoría de los casos, no se produjo la muerte de la planta. Normalmente la decoloración afectó solo a las hojas terminales y fue más severa las primeras fases del cultivo. Al pasar el tiempo, las plantas recuperaron parcialmente el color verde normal. Si se había producido necrosis apical, eran las más secundarias las que con su desarrollo normal ocultaban el síntoma del tallo principal. A veces, en plantas recuperadas, pudo observarse un moteado clorótico en los folíolos de las hojas intermedias.

En la parte subterránea de las plantas afectadas en las primeras fases del desarrollo sintomatológico, no se observaron síntomas externos o internos. Sin embargo, las plantas muy severamente afectadas presentaron también síntomas de amarilleamiento y podredumbre de raíces.

En algunos casos, las plantas severamente afectadas de clorosis podían confundirse con las afectadas por el enanismo amarillento, sin embargo, en estos casos la coloración marrón del floema servía para distinguirlas.

En siembras experimentales de colecciones de cultivares se observaron algunos cultivares severamente afectados cuando el resto permanecían asintomáticos (fig. 6 A). Estos cultivares más susceptibles eran de tipo «desi», y presentaron además como característica diferencial, posiblemente relacionada con esta enfermedad, una maduración más tardía que el resto de los cultivares.

## 2. Importancia y distribución

### 2.1. Amarilleamiento

El amarilleamiento fue el complejo más ampliamente distribuido en el conjunto de los 3 años de muestreo (cuadro 1). El 80% de los campos prospectados tuvieron plantas afectadas, y de ellos el 87% con una incidencia superior al 50%. La proporción de campos con amarilleamiento fue máxima en 1980 (96%) y mínima en 1981 (58%).

En el 62% de los campos con amarilleamiento la severidad media fue inferior a 3,0 en la escala 1-5 y en el 38% restante, donde la severidad media fue superior a 3,0, existió otro problema como marchitez (50%), podredumbre seca de raíz (5%), enanismo amarillento (2%), o suelo muy erosionado (1%).

### 2.2. Amarilleamiento y marchitez severos

Una de las características más sobresalientes de la marchitez observada durante las prospecciones fue la rapidez con que se manifestaban todos los síntomas en las plantas afectadas. Por ello, en las observaciones sólo se evaluaron plantas severamente afectadas o plantas muertas. Como muchas de ellas resultaban indistinguibles de plantas severamente afectadas de amarilleamiento con coloración del xilema médula y, además, como frecuentemente la marchitez estuvo asociada con amarilleamiento, hemos englobado los datos referentes a dicha sintomatología dentro de la clase «Amarilleamiento y marchitez severos» (cuadro 1).

Cuadro 1.—Importancia y distribución de la marchitez y podredumbre de raíz del garbanzo en el valle del Guadalquivir

Complejo Sintomatológico (a)	Año	Campos afectados/ Campos prospectados (Nº/Nº)	Número de campos con incidencia (%)				Severidad media (b) (Rango)
			<5	5-20	21-50	>50	
Amarilleamiento .....	1979	35/40	4	6	—	25	2-5
	1980	29/30	1	—	—	28	2-5
	1981	22/38	—	—	—	22	2-5
<b>Total .....</b>		<b>86/108</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>—</b>	<b>75</b>	<b>2-5</b>
Amarilleamiento y marchitez severos ....	1979	12/40	10	2	—	—	4-5
	1980	28/30	13	10	5	—	4-5
	1981	14/38	7	2	—	5	4-5
<b>Total .....</b>		<b>54/108</b>	<b>30</b>	<b>14</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>4-5</b>
Podredumbre seca de raíz .....	1979	3/40	3	—	—	—	4-5
	1980	3/30	3	—	—	—	4-5
	1981	26/38	—	3	5	18	4-5
<b>Total .....</b>		<b>32/108</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>18</b>	<b>4-5</b>
Enanismo amarillento .....	1979	16/40	13	3	—	—	4-5
	1980	4/30	3	1	—	—	4-5
	1981	6/38	5	1	—	—	4-5
<b>Total .....</b>		<b>26/108</b>	<b>21</b>	<b>5</b>	<b>—</b>	<b>—</b>	<b>4-5</b>
Clorosis .....	1979	5/40	4	1	—	—	2-4
	1980	4/30	4	—	—	—	2-4
	1981	0/38	—	—	—	—	—
<b>Total .....</b>		<b>9/108</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>—</b>	<b>—</b>	<b>2-4</b>

(a): Para la descripción de los complejos sintomatológicos véase página 81.

(b): Según una escala 1-5 (1=no síntomas; 5=planta muerta).

La severidad media de las plantas afectadas fue, por tanto, de 4-5 más frecuentemente 5, y el porcentaje de campos con plantas afectadas en 1979-1981 fue el 30, 93 y 37%, respectivamente, siendo 50% para el total de los campos. En el conjunto de los 3 años, la incidencia fue baja, en general, teniendo el 56% de los campos afectados menos del 5% de plantas afectadas y el 26% de ellos una incidencia que osciló entre el 5-20%. No obstante, en el 9% de los campos afectados la incidencia varió entre el 21-50%

y el mismo porcentaje de campos tuvo una incidencia de plantas afectadas superior al 50%

De todos los campos con una incidencia superior al 50% y del 60% de los campos con incidencia comprendida entre el 21-50%, se pudo conocer la alternativa de cultivos seguida por el agricultor, que incluyó garbanzo entodos los casos, cultivado no más de cuatro años antes de la siembra observada en nuestras prospecciones. En el resto de los campos, cuando se pudo conocer la alternativa, las incidencias más elevadas estuvieron

asociadas casi siempre con siembras anteriores de garbanzo en la misma parcela.

### 2.3. *Podredumbre seca de raíz*

La importancia y distribución de este complejo estuvo estrechamente relacionada con el año de prospección (cuadro 1). Del 8 y 10% de los campos con plantas afectadas con una incidencia inferior al 5% en 1979 y 1980, se pasó en 1981 al 68% de los campos con plantas afectadas con una incidencia superior al 5%, de los cuales, el 69% tenía una incidencia superior al 50%.

Es importante señalar que en 1981 la mayor parte de las prospecciones se efectuaron durante el 20-30 de junio, después de 15 días de temperaturas muy elevadas que remataban un año extremadamente seco. En dichas prospecciones se diagnosticaron 25 de los 26 campos afectados de la podredumbre seca de raíz (cuadro 1), y en la mayoría de las parcelas observadas existió una alta mortalidad de plantas, atribuida por el agricultor a las condiciones ambientales mencionadas, llegándose incluso a arar el cultivo antes de la recolección (fig. 5-C). No obstante, en el 81% de estas plantas muertas se aisló *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., el hongo fitopatógeno asociado con la podredumbre seca de raíz del garbanzo. La importancia relativa de *M. phaseolina* como agente causal, con respecto a la sequía y temperatura no se pudo establecer en las prospecciones. Además la alta incidencia de plantas muertas en los campos visitados en este período pudo enmascarar la posible ocurrencia del resto de los complejos sintomatológicos observados durante las prospecciones, por lo que la importancia y distribución de alguno de ellos pudo quedar reflejada en este año con intensidad inferior a la real.

### 2.4. *Enanismo amarillento*

Aunque algo más preponderante en 1979 (cuadro 1), la importancia y distribución de

este complejo fue similar en los tres años de prospecciones, con un porcentaje total de campos con plantas afectadas del 24% y una incidencia inferior al 5% en el 81% de ellos, y entre el 5-20% en el 19% restante.

Para este complejo sintomatológico hubo una asociación marcada entre la importancia de la enfermedad y el tamaño de la parcela. Durante los tres años, de los 5 campos con mayor incidencia, comprendida entre el 5-20%, cuatro fueron de extensión igual o inferior a 1 ha. y la superficie del quinto fue de 4 ha. Además, en los 21 campos restantes con incidencia inferior al 5%, que incluían superficies entre 0,5-60 ha., las plantas afectadas se distribuyeron principalmente en rodales situados próximos a caminos, linderos y caseríos.

### 2.5. *Clorosis*

Fue el complejo menos importante de los cinco diagnosticados. No obstante, su distribución real pudo ser algo mayor que la observada, ya que la mayoría de las plantas afectadas se recuperaron de los síntomas y el núcleo principal de las prospecciones se efectuó a partir de la floración, cuando se había iniciado dicha recuperación. En 1981, año en el que la mayor parte de las observaciones se hicieron en las últimas etapas del cultivo, no se detectaron campos con plantas afectadas de clorosis. En 1979 y 1980, el porcentaje de campos con plantas afectadas fue del 13% en los dos años y la incidencia fue inferior al 5% salvo en un campo en que se elevó el 10%. La severidad de los síntomas en plantas afectadas sujetas a la recuperación ya indicada superó raramente el valor 3,0 de la escala 1-5. Sólo en contadas ocasiones observamos plantas muertas.

La mayor incidencia y severidad de los síntomas parecieron estar asociados con períodos anteriores nublados y lluviosos, mientras que la recuperación de las plantas afectadas normalmente tuvo lugar en días secos

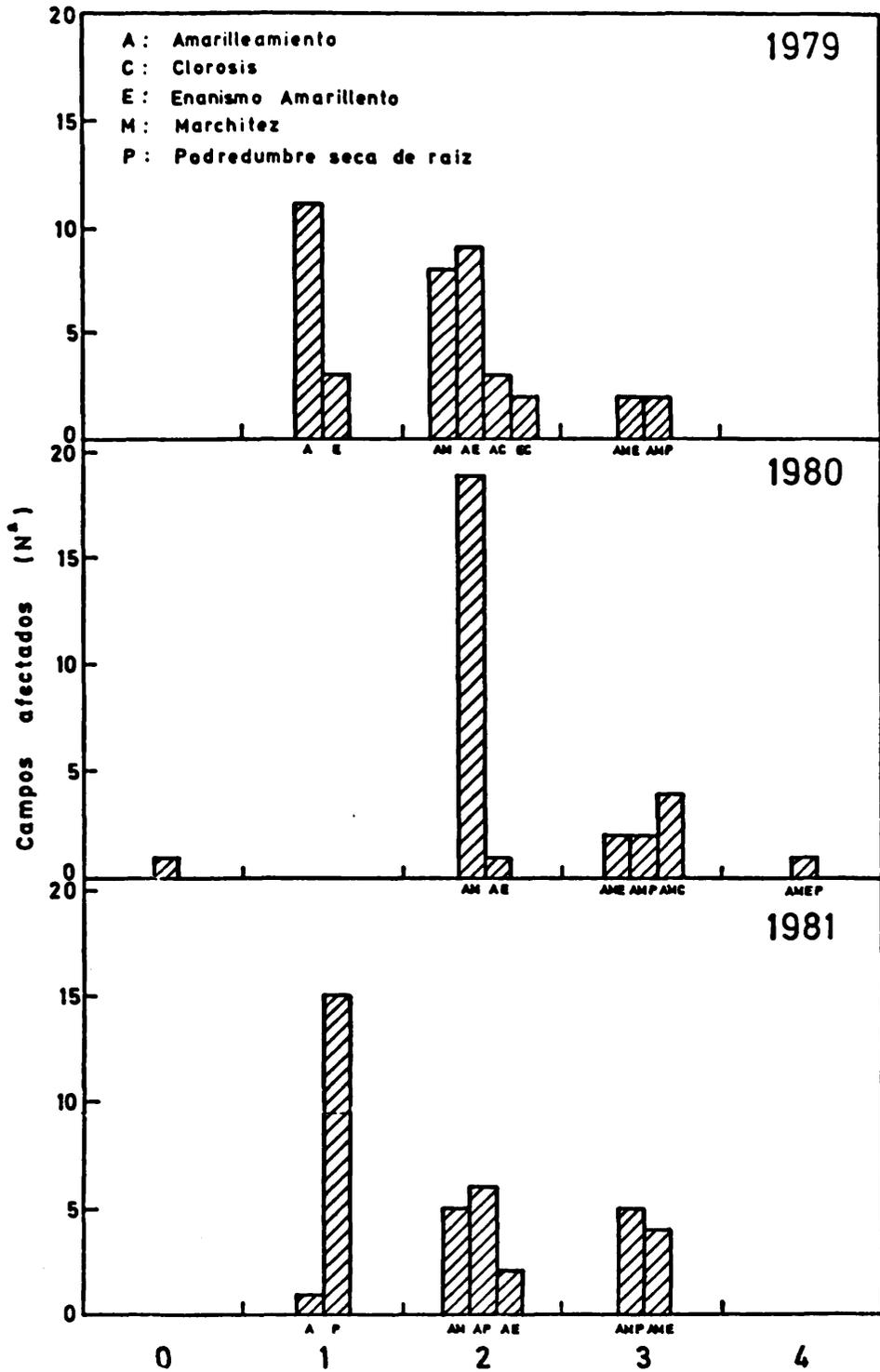


Fig. 7.—Número de campos afectados por 0, 1, 2, 3 ó 4 complejos sintomatológicos.

y soleados. Esta observación, aunque bastante consistente, no ha sido objeto de comprobación experimental posterior.

Con frecuencia, en los campos visitados se diagnosticaron dos o más enfermedades. Este hecho se ilustra en la figura 7, donde se representan para cada año el número de campos afectados por ninguno, 1, 2, 3, ó 4, complejos sintomatológicos. En ocasiones, incluso se observaron plantas afectadas de varios complejos.

Por lo que respecta a la influencia de la incidencia y severidad de los diferentes complejos en la producción final, aunque en nuestras observaciones no se ha efectuado evaluación alguna de componentes de la producción del cultivo, cabe destacar que dada la extrema severidad con que se manifestaron algunos de los complejos (por ejemplo, amarilleamiento y marchitez severos, podredumbre seca de raíz y enanismo amarillento), la pérdida de cosecha en estos casos es casi equiparable a la incidencia, ya que la mayoría de las plantas afectadas murieron después de la floración. Aunque alguna de las plantas severamente afectadas pudo dar alguna producción, esta fue, generalmente, de baja calidad comercial.

Comparando con los datos de producción para Córdoba y Sevilla expresados en el cuadro 2, cabe destacar un marcado paralelismo entre éstos y la importancia de la MPR del garbanzo. En 1979 y 1980 no exis-

tieron notables diferencias en el rendimiento medio, ni tampoco en la importancia del total de enfermedades incluidas en la MPR. En cambio en 1981, el 58% de los campos prospectados, que incluyeron el 91% de la superficie muestreada, tuvieron más del 50% de plantas muertas de amarilleamiento y marchitez severos y/o podredumbre seca de raíz. Los datos de producción (cuadro 2) muestran que en 1981 el rendimiento medio disminuyó un 65% con respecto a 1979 y 1980.

## AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE LOS AGENTES

### MATERIAL Y METODOS

Tanto las muestras recogidas durante las prospecciones, como las enviadas para su diagnóstico por diversos agricultores y técnicos, fueron examinadas detalladamente en el laboratorio, clasificadas definitivamente por su sintomatología y preparadas para efectuar los aislamientos. Después de esta segunda ordenación, cada muestra quedó constituida por al menos seis plantas, excepto en algunos casos, en los que por el tamaño de las muestras que nos fueron enviadas, o por las subdivisiones en clases hechas en el laboratorio, nos vimos obligados a disponer de un número inferior.

Los primeros aislamientos se efectuaron tomando porciones de tejidos sintomáticos y asintomáticos, incluyendo raíz, cuello, tallo y peciolos. Más adelante, cuando se puso de manifiesto la mayor consistencia de los diferentes aislamientos de tejidos del cuello de la planta, se utilizó un trozo de esta zona por planta. No obstante, en aquellos casos en los que existían dudas sobre el tipo de síntoma, también se realizaron aislamientos de trozos de distintas partes de raíz y tallo.

Las partes de cada planta destinadas a aislamientos fueron lavadas cuidadosamente

Cuadro 2.—Superficie de cultivo y rendimiento de garbanzo en Córdoba y Sevilla en 1979-81\*.

Provincia	Superficie (ha.)			Rendimiento medio (qm./ha)		
	1979	1980	1981	1979	1980	1981
Córdoba.	11.144	6.000	6.000	4,9	4,7	2,0
Sevilla .	15.000	19.000	18.000	7,0	6,8	2,3
TOTAL.	16,144	25.000	24.000	6,1	6,3	2,2

(\* Datos extraídos del Boletín Mensual de Estadística Agraria. N° 10-1981.

bajo chorro de agua de grifo, durante 5-10 minutos. Un trozo de cada parte, de 5 a 10 milímetros de longitud, fue esterilizado superficialmente sumergiéndolo durante 30 seg.-2 min. en una solución acuosa al 20% de lejía blanca comercial que contenía 50 g./l. de cloro activo. Tras ser secados con papel de filtro estéril, los trozos fueron depositados en placas Petri (5-6 por placa) con agar-patata-dextrosa (APD) o agar-agua (AA). Ambos medios son utilizados con carácter general para aislamiento de hongos o bacterias de tejidos vegetales (TUTTE, 1969). Posteriormente, cuando no existieron dudas sobre la naturaleza de los síntomas, se empleó para la realización de los aislamientos, APDA (APD acidificado con 1 ml. de ácido láctico por litro de medio;  $\text{pH} \approx 4,5$ ).

Las placas conteniendo los trozos vegetales fueron precintadas con tiras de plástico, adhesivo y colocadas en la oscuridad en estufa a 24-28°C. durante 3 días, y posteriormente a temperatura ambiente en el laboratorio (20-27°C.), bajo un régimen luminoso de 2.000 lux, 12 h./día, proporcionado por tubos fluorescentes de luz blanca y próxima a la ultravioleta, suspendidos 50 cm. sobre los cultivos. Después de 2-3 días en estas condiciones, se hicieron las observaciones de las colonias obtenidas.

De las diferentes colonias resultantes, se realizaron montajes utilizando colorantes generales en lactofenol o en agua (RAPILLY, 1968; TUTTE, 1969), para una primera identificación genérica. Asimismo, porciones de las colonias fúngicas que se desarrollaron de forma consistente a partir de los trozos vegetales, se transfirieron a placas con APDA o con el medio PCNB (NASH y SNYDER, 1962) o PCNB modificado (PAPAVIZAS, 1967), ambos selectivos de *Fusarium* spp. Después de comprobar su pureza por observación macro y microscópica y de purificar los contaminados mediante diversas técnicas (FRENCH y HERBERT, 1980; MESSIAEN y CASSINI, 1968), los cultivos puros se transfirieron a tubos de

ensayo con APD y se sometieron a las mismas condiciones descritas para el aislamiento. Por último, tras ser comprobada su identidad, se conservaron en frigorífico a 4-8°C., siendo mantenidos por transferencia masal realizada cada 6 meses.

Con las observaciones macro y microscópicas de las colonias obtenidas en los aislamientos, se pudo establecer el género de los organismos aislados consistentemente. El género *Fusarium* se distingue de los géneros más próximos por sus macroconidias fusiiformes con célula basal en forma de pie (BOOTH, 1971), y *Macrophomina* por la producción de esclerocios y picnidios en cultivo, estos últimos con estroma externo y con conidias hialinas de paredes delgadas, aseptadas y de longitud: anchura=3:1 (DHINGA y SINCLAIR, 1978). Estas características eran observables fácilmente sin necesitar otras técnicas que la observación microscópica directa del cultivo puro creciendo en APD.

Otros hongos aislados, pero de forma no consistente, fueron también identificados a nivel genérico mediante observación de los montajes realizados, siguiendo claves taxonómicas generales (AINSWORTH, 1973; ARX, 1974; BARNETT y HUNTER, 1972; BARRON, 1972; DOMSCH *et al.*, 1980) y/o por comparación con ejemplares de estos géneros, existentes en la micoteca del Departamento de Patología Vegetal, ETSIA, Universidad de Córdoba, procedentes de anteriores investigaciones (MARÍN, 1979).

Para la identificación de las especies de *Fusarium* aisladas se siguió el sistema taxonómico de BOOTH (BOOTH, 1971, 1977), aunque para una primera identificación rápida de los numerosos aislamientos obtenidos se utilizó también el sistema de nueve especies de SNYDER y HANSEN (MESSIAEN y CASSINI, 1968; TOUSSOUN y NELSON, 1968).

En 1979 se seleccionaron siete aislamientos de los *Fusarium* spp. aislados, y de cada uno de ellos se obtuvieron cinco cultivos

monoconídicos (BOOTH, 1971). Con ellos se efectuaron las identificaciones específicas mediante observaciones sobre las siguientes características:

- *Colonia*: Diámetro a los 4 días en agar-patata-sacarosa (APS), tipo de crecimiento, aspecto, color.
- *Microconidias*: Presencia, forma, septación, tamaño, tipo de conidióforo, tipo y tamaño de la célula conidiógena.
- *Macroconidias*: Presencia, forma, septación, tamaño, tipo de conidióforo, tipo y tamaño de la célula conidiógena.
- *Clamidosporas*: Presencia, tipo, forma y tamaño.
- *Otras características*: Esclerocios, estado teleomorfo, etc.

Para la observación de los conidióforos y células conidiógenas se realizaron microcultivos en portas según el método descrito por RIDELL (TUIITE, 1969). Los montajes normales se efectuaron de distintas zonas de la colonia de cultivos que habían crecido en APD o APS durante tiempo y condiciones ambientales variables.

La identificación del resto de los aislamientos de *Fusarium* spp. obtenidos en 1979 se realizó tomando como referencia los siete aislamientos más exhaustivamente estudiados.

Después de esta identificación específica preliminar y tras determinar su patogenicidad, siete cultivos con características morfológicas y patogénicas distintas, fueron enviados al Commonwealth Mycological Institute (C.M.I.) donde fue confirmada su identidad por BOOTH y quedaron depositados en la micoteca de este organismo con las siguientes referencias: IMI-249635, 249636, 249637, 262812, 263813, 263814 y 263815.

La identidad de los aislamientos de *Fusarium* spp. obtenidos posteriormente se determinó utilizando como referencia a los aislamientos cuya identificación había sido previamente confirmada.

La identificación de los aislamientos de *Macrophomina phaseolina* se efectuó a par-

tir de observaciones macro y microscópicas de los cultivos puros obtenidos en APD o APDA, en base a las descripciones de diferentes autores (DHINGRA y SINCLAIR, 1978; GOIDANICH, 1964; GOIDANICH y CAMICI, 1946, 1947; HOLLIDAY y PUNITHALINGAN, 1970; REICHERT y HELLINGER, 1947) y utilizando como referencia a cultivos de esta especie existentes en la micoteca del Departamento de Patología Vegetal, ETSIA, Universidad de Córdoba, procedentes de anteriores investigaciones (BLANCO, 1980; JIMÉNEZ y MONTES, 1974).

## RESULTADOS

### 1. Aislamiento de los agentes

Tres especies fúngicas fueron aisladas consistentemente de plantas afectadas de la MPR del garbanzo. La frecuencia relativa de cada una de ellas varió con el complejo sintomatológico del que se aislaron y por orden de importancia fueron:

- *Fusarium oxysporum* Shlecht.
- *Fusarium solani* (Mart.) Sacc.
- *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

Los resultados referentes a la frecuencia de aislamiento de cada una de estas especies para cada complejo sintomatológico y año, están expuestos en el cuadro 3. Sobre estos datos conviene hacer algunas matizaciones:

a) Se ha incluido un cuarto grupo de organismos denominado *Fusarium* spp. que representa a especies de *Fusarium* (probablemente, *F. oxysporum* y *F. solani*) aisladas consistentemente, que no pudieron identificarse específicamente debido a la dificultad para separarlas de otros organismos que crecieron rápidamente en el mismo aislamiento, en particular *M. phaseolina*.

b) En el apartado «Varios», se ha incluido aquellos aislamientos en los que no creció organismo alguno o bien resultaron en crecimientos esporádicos de hongos y bacterias, de diversos géneros. Entre éstos, los más frecuentes fueron hongos de los géne-

Cuadro 3.—Organismos de plantas de garbanzo afectadas de la marchitez y podredumbre de raíz (a)

Complejo sintomatológico	Año	Frecuencia de aislamiento (% de plantas)				
		Varios (b)	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>Macrophoma phaseolina</i>	<i>Fusarium</i> spp.
Amarilleamiento .....	1979	34	58	23	4	—
	1980	50	39	18	3	3
	1981	37	49	17	5	12
	<b>Total</b> .....	<b>38</b>	<b>52</b>	<b>21</b>	<b>4</b>	<b>3</b>
Amarilleamiento y marchitez severos .....	1979	0	91	68	—	—
	1980	2	89	86	27	—
	1981	2	97	34	11	1
	<b>Total</b> .....	<b>1</b>	<b>93</b>	<b>56</b>	<b>13</b>	<b>—</b>
Podredumbre seca de raíz .....	1979	0	67	11	72	6
	1980	0	44	44	89	—
	1981	7	15	5	81	30
	<b>Total</b> .....	<b>6</b>	<b>19</b>	<b>7</b>	<b>80</b>	<b>27</b>
Enanismo amarillento .....	1979	37	63	36	—	—
	1980	12	88	88	—	—
	1981	43	43	33	13	—
	<b>Total</b> .....	<b>37</b>	<b>59</b>	<b>46</b>	<b>4</b>	<b>—</b>
Clorosis .....	1979	71	24	5	5	—
	1980	60	30	—	10	—
	1981	—	—	—	—	—
	<b>Total</b> .....	<b>68</b>	<b>26</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>—</b>

(a): Plantas muestreadas en prospecciones realizadas en 108 campos distribuidos en las provincias de Córdoba y Sevilla, durante 1979-81.

(b): Aislamientos negativos o no consistentes (ver pág. 95).

ros: *Rhizopus*, *Chaetomium*, *Gliocladium*, *Trichoderma*, *Trichurus*, *Trichothecium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* (posiblemente *F. equiseti* y *F. culmorum*), *Alternaria*, *Gliocladium*, *Stemphylium*, *Botrytis*, *Rhizoctonia*, etc.

c) Los datos del «Total» de los 3 años para cada complejo sintomatológico están calculados como porcentajes del total de plantas de ese complejo utilizadas para el aislamiento durante los 3 años.

De los resultados obtenidos (cuadro 3) conviene destacar:

1.1. *Amarilleamiento*. Aunque el 62% de los aislamientos de plantas afectadas de amarilleamiento dio lugar a alguna de las tres especies fúngicas (*F. oxysporum*, *F. solani*, *M. phaseolina*), pero principalmente, *F. oxysporum*; dada la escasa especificidad de dicha sintomatología, que a veces puede confundirse con una reacción de senescencia o estrés de la planta, los resultados correspondientes a este complejo están desglosados en función de las características particulares del campo muestreado (cuadro 4). En particular cabe señalar:

a) De plantas con amarilleamiento procedentes de parcelas con suelo seco, erosionado, pedregoso, poco profundo, o escasamente fértil, de siembras muy densas, o con daños de insectos en la raíz, no creció consistentemente ningún organismo. La especie más frecuentemente aislada fue *F. oxysporum* que, en el caso más favorable, se obtuvo en el 42% de las plantas muestreadas.

b) En el 85% de plantas con amarilleamiento procedentes de campos donde se observaron plantas severamente afectadas de amarilleamiento y machitez, se obtuvieron *F. oxysporum*, *F. solani* o *M. phaseolina*, siendo las frecuencias individuales: 80%, 35% y 2%, respectivamente.

c) De plantas con amarilleamiento procedentes de campos sin alguna de las características mencionadas en los apartados anteriores se aislaron algunas de las tres especies fúngicas referidas anteriormente en el 76% de las plantas, con la distribución: 48% *F. oxysporum*, 38% *F. solani* y 19% *M. phaseolina*.

Como se desprende de los porcentajes expuestos, con frecuencia los aislamientos de una sola planta resultaron ser más de una especie fúngica. Considerando el total de los 3 años, del 62% de aislamientos consistentes, *F. oxysporum* se obtuvo en el 52% de los casos, bien solo (34%) o asociado con *F. solani* (18%). Para el resto de los hongos ais-

Cuadro 4.—Organismos aislados de planta de garbanzo afectadas de «Amarilleamiento» según características del campo muestreado (a)

Características del campo	Año	Frecuencia de aislamiento (% de plantas)				
		Varios (b)	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>Macrophoma phaseolina</i>	<i>Fusarium</i> spp.
Elevada incidencia de «Amarilleamiento y machitez severos» .....	1979	4	87	54	4	—
	1980	9	91	18	—	—
	1981	39	61	4	—	—
<b>Total</b> .....		15	80	35	2	—
Suelo muy seco, erosionado, pedregoso, poco profundo o escasamente fértil .....	1979	59	41	—	—	—
	1980	59	23	23	5	5
	1981	50	—	—	10	50
<b>Total</b> .....		50	30	7	3	8
Siembra muy densa .....	1979	58	42	—	—	—
	1981	100	—	—	—	—
<b>Total</b> .....		71	29	—	—	—
Daños de insectos en raíz .....	1979	100	—	—	—	—
Campos sin características especiales .....	1979	31	31	15	23	—
	1981	12	75	75	12	—
<b>Total</b> .....		24	48	38	19	—
<b>Total de plantas de «amarilleamiento»</b> .....		38	52	21	4	3

(a): Plantas muestreadas en prospecciones realizadas en 108 campos distribuidos en las provincias de Córdoba y Sevilla, durante 1979-81.  
 (b): Aislamientos negativos o no consistentes (véase pág. 95).

lados las frecuencias fueron *M. phaseolina*, 4%; *F. solani*, 3%; *Fusarium* spp., 1%, y *Fusarium* spp. + *M. phaseolina*, 2%.

En el complejo amarilleamiento se incluyeron plantas con síntomas de amarilleamiento en la parte aérea, con o sin necrosis externa en cuello y raíz y con o sin coloración interna en la médula y/o xilema. De todas las plantas con intensa coloración marrón del xilema y/o médula, se aisló algún organismo, principalmente, *F. oxysporum*. En cambio, en el resto de los casos, los resultados fueron menos consistentes.

1.2. *Amarilleamiento y marchitez severos*. Los resultados correspondientes a este complejo fueron similares cada año en el período de muestreo, 1979-81 (cuadro 3). En el total de los tres años, la frecuencia de aislamientos en los que no creció ningún organismo o sólo se obtuvieron organismos contaminantes fue muy baja (1%), siendo *F. oxysporum* la especie más frecuentemente aislada (93%), bien sola (37%), o asociada con *F. solani* (47%), con *M. phaseolina* (3%), o con ambos (6%). El 6% restante correspondió a *F. solani* (2%), *M. phaseolina* (3%) y *F. solani* + *M. phaseolina* (1%).

*F. solani* se aisló tanto solo como asociado con *F. oxysporum* principalmente de plantas con marchitez parcial y menor desarrollo, o bien de plantas con síntomas severos próximos a la muerte. La mayoría de ellas con necrosis en el cuello y/o raíces de color negro. Asimismo, *M. phaseolina* se aisló también de plantas con síntomas muy severos. Por el contrario, de plantas con síntomas iniciales de marchitez se aisló casi exclusivamente *F. oxysporum*.

1.3. *Podredumbre seca de raíz*. La mayoría de las plantas afectadas de este complejo sintomatológico utilizadas para efectuar los aislamientos fueron plantas muertas, o próximas a la muerte, con podredumbre seca de raíz y cuello. Menos del 50% de ellas tenían esclerocios.

Los resultados fueron similares en los 3

años de muestreo (cuadro 3), por lo que nos referiremos al total en el período. *M. phaseolina* se aisló en un 80% de los casos, bien como única especie (47%), bien asociada con *Fusarium* spp. (21%), *F. oxysporum* (10%) o con *F. oxysporum* y *F. solani* (2%). Del 14% restante, donde no se obtuvo *M. phaseolina*, se aisló *Fusarium* spp. (6%), *F. oxysporum* (3%), *F. solani* (1%) y *F. oxysporum* + *F. solani* (4%).

1.4. *Enanismo amarillento*. Considerando los resultados para el conjunto de los 3 años de muestreo, en el 63% de las plantas afectadas de este complejo sintomatológico los aislamientos resultaron en *Fusarium* spp. o *M. phaseolina*. Las frecuencias de aislamiento de cada especie fueron (cuadro 3): *F. oxysporum*, 59%; *F. solani*, 46%, y *M. phaseolina*, 4%. La asociación *F. oxysporum* + *F. solani* fue la combinación más frecuente. En estas plantas, además de los síntomas característicos del enanismo amarillento, se observaron también fuertemente necrosis externa de color negro en cuello y raíces, y a veces, síntomas aéreos de amarilleamiento.

No obstante, de plantas con síntomas poco severos de enanismo amarillento y sin necrosis externa en cuello y raíces, no se aisló consistentemente ningún organismo. Este hecho viene reflejado por el 37% de aislamientos de «Varios» (cuadro 3) obtenido en el total de los 3 años.

1.5. *Clorosis*. En el 68% de las plantas afectadas con este complejo de síntomas no se aisló consistentemente ningún organismo (cuadro 3). Sin embargo, en algunas muestras, generalmente de plantas con necrosis en cuello y raíz, se aislaron *F. oxysporum* (26%), *F. solani* (3%) y *M. phaseolina* (6%).

## 2. Identificación de los agentes

Nuestras identificaciones de *F. oxysporum* y *F. solani* fueron confirmadas por Booth y los cultivos enviados quedaron depositados

en la micoteca del C.M.I. con las referencias: IMI-249635, 249636, 263812 y 263813 para los aislamientos de *F. oxysporum*, e IMI-249637, 263814 y 263815 para los de *F. solani*.

Por lo que respecta a los aislamientos de *M. phaseolina*, las características observadas en nuestros cultivos se correspondieron con las descripciones de *M. phaseolina* (Tassi) Goid. facies picnídica de *Sclerotium bataticola* Taub. (= *Rhizoctonia bataticola* (Taub.) Butl.) y con las de los cultivos de esta misma especie, existentes en el Departamento de Patología Vegetal, ETSIA, Universidad de Córdoba.

Otros agentes implicados en la MPR del garbanzo en el valle del Guadalquivir, como los causantes del enanismo amarillento y de la clorosis, no han sido objeto de este trabajo. Sin embargo, la sintomatología observada por nosotros en ambos complejos coincide con la de dos enfermedades del garbanzo descritas por NENE *et al.* (1978) en la India (J. B. Smithson, comunicación personal). La primera de éstas, con sintomatología similar al enanismo amarillento, y denominada «Stunt», es causada por el virus del enrollado de la hoja del guisante «pea-leaf roll virus» (PLRV) (REDDY *et al.*, 1980); aunque otros virus han sido citados en garbanzo asociados con una sintomatología similar (ERWIN y SNYDER, 1958; KAISER y DANESH, 1971; KAISER y NENE, 1975). La segunda, con una sintomatología semejante a la clorosis y denominada «Chlorosis», es debida a una deficiencia de hierro (NENE *et al.*, 1978). Recientemente hemos obtenido evidencia sobre este último agente, ya que con la aplicación de un quelato de hierro (Sequestrene® 138 Fe, Ciba-Geigy) en pulverización sobre la planta y en el suelo, se obtuvo una disminución marcada de los síntomas en plantas severamente afectadas de clorosis.

2.1. *Fusarium oxysporum* Schlecht. Atendiendo a características morfológicas, nues-

tros aislamientos de *F. oxysporum* se clasificaron en dos grupos, que hemos denominado para facilitar su referencia como FO-salmón y FO-rojo.

2.1.1. *Grupo FO-salmón.* En este grupo se incluyeron aislamientos obtenidos sólo de plantas afectadas de amarilleamiento y marchitez severos o de podredumbre seca de raíz, más frecuentemente del primero (cuadro 5). Una característica destacada de este grupo fue que se obtuvieron de todos los trozos de raíz, cuello, y tallo, exceptuando a veces del ápice caulinar, utilizados para el aislamiento. Generalmente, no se aislaron de raquis ni de foliolos. Las colonias resultantes tuvieron un crecimiento más acentuado en el extremo de los trozos (fig. 8-A, B).

Las características morfológicas y fisiológicas de los cultivos puros de estos aislamientos fueron:

Cuadro 5.—Clasificación de los aislamientos de *Fusarium oxysporum* obtenidos de plantas afectadas de la MPR del garbanzo en el valle del Guadalquivir durante 1979-81.

Complejo sintomatológico y caract. del campo muestreado	Frec. de aislam. (*) (%)		
	FO- salmón	FO- rojo	FO-sal- món+FO rojo
Amarilleamiento (total) ..	30	47	43
Campos con amarillea- miento y marchitez se- veros .....	48	17	35
Suelo muy seco, erosio- nado, pedregoso, poco profundo o escasamen- te fértil .....	—	100	—
Siembra muy densa ...	—	100	—
Campos sin característi- cas especiales .....	—	100	—
Amarilleamiento y marchi- tez severos .....	54	8	38
Podredumbre seca de raíz.	66	23	10
Enanismo amarillento ...	—	100	—
Clorosis .....	—	100	—

(\*) Para la descripción de los grupos de aislamientos véase página 99.

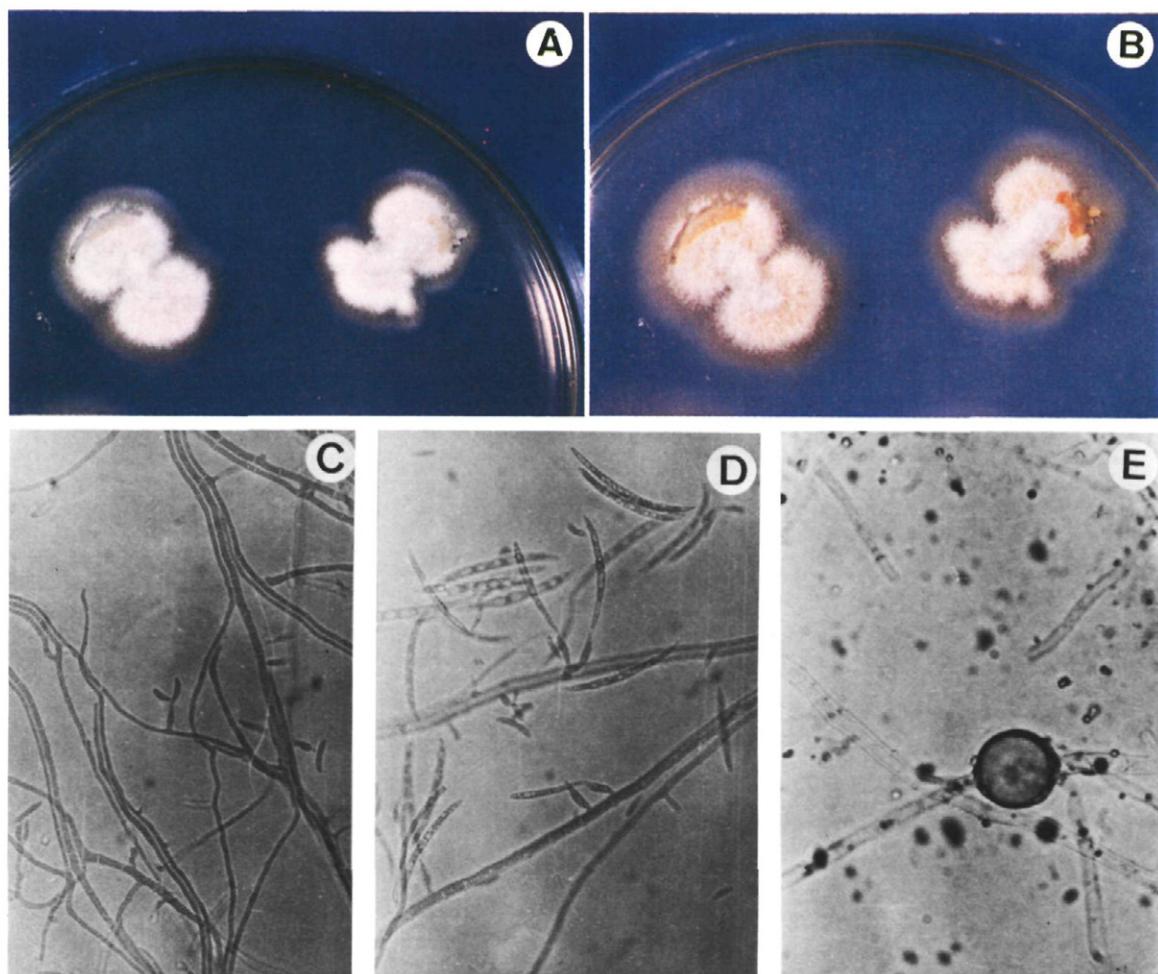


Fig. 8.—*Fusarium oxysporum* (grupo salmón). A) Aislamiento en APD a partir de trozos de tallo de plantas infestadas incubado en oscuridad. Nótese el crecimiento más acentuado a partir de los extremos del trozo. B) Aislamiento en APD a partir de trozos de tallo de plantas infectadas después de un día bajo luz próxima a ultra violeta. C) Microconidias y fiálidas. D) Macroconidias y fiálidas. E) Clamidóspora.

Colonia de 3,3-4 cm. de diámetro a los 4 días de crecimiento en APS a 25°C., excepto en un cultivo monoconídico cuyo diámetro fue 1.1 cm. Micelio aéreo abundante, algodonoso y denso, generalmente muy elevado y poco esporulado en cultivos viejos, de color blanco en la oscuridad y rosa salmón bajo luz (fig. 8-A, B). En cultivo líquido en caldo de patata-dextrosa (CPD) el color del sustrato colonizado varió entre crema y salmón claro.

Microconidias (fig. 8-C), generalmente abundantes, de forma variable (normalmente elipsoidal-oval, a veces, oblonga con extremos obtusos), rectas o curvadas (alantoides, reniformes), aseptadas (<25% con 1 septa) y de tamaño variable comprendido entre  $4-12 \times 1,5-4 \mu\text{m}$ . Producidas en fiálidas cortas (fig. 8-C) con frecuencia abombadas en su parte central o ampuliformes, a veces curvadas, situadas en conidióforos nada o escasamente ramificados y de dimensiones com-

prendidas entre  $4-24 \times 1,5-4 \mu\text{m}$ ., más frecuentemente  $5-12 \times 2-4 \mu\text{m}$ .

Las macroconidias (fig. 8-D) normalmente abundantes, aunque también escasas en algunos aislamientos, fueron regularmente fusiformes, a veces poco curvados, pero frecuentemente falcadas, agudas en los dos extremos (el apical puntiagudo y el basal parcialmente truncado en forma de pie), con 2-7 septas (más frecuentemente 3-5) y dimensiones comprendidas entre  $20-50 \times 2-4 \mu\text{m}$ . Producidas en fiálidas similares en forma y tamaño a las de microconidias (fig. 8-D), aunque en escasas ocasiones se observaron algunas más largas (hasta  $36 \mu\text{m}$ ) e irregulares (curvadas y sinuosas).

Las clamidosporas (fig. 8-E) fueron más frecuentemente terminales, pero también se observaron intercaladamente en las hifas, de paredes lisas o rugosas, generalmente solitarias y algunas veces en pares o en cadenas, esféricas o algo aplanadas o alimonadas las terminales, y esféricas-ovales las intercalares, y de diámetro medio variable entre  $5-16 \mu\text{m}$ . En cultivos viejos o conservados en frío, se produjeron también clamidosporas conidiales.

No se observaron esclerocios ni otras estructuras peculiares, aunque cabe señalar que a diferencia de los aislamientos del grupo FO-rojo, era muy frecuente observar, principalmente en cultivos poco esporulados, paquetes de hifas entrelazadas.

2.1.2. *Grupo FO-rojo*.—En este grupo se incluyeron aislamientos obtenidos principalmente de plantas afectadas de amarilleamiento (en campos sin amarilleamiento y marchitez severos), enanismo amarillento y clorosis (cuadro 6). En el resto de los casos, es decir, amarilleamiento (en campos con amarilleamiento y marchitez severos), amarilleamiento y marchitez severos y podredumbre seca de raíz, también se obtuvieron, pero con menor frecuencia y a menudo asociados con los del grupo FO-salmón (cuadro 6). También los aislamientos de este grupo

resultaron asociados con *F. solani*, con mayor frecuencia que lo fueron los del grupo FO-salmón.

Los componentes del grupo FO-rojo generalmente sólo se aislaron a partir de trozos de raíz principal y cuello, y en algunas ocasiones también de la parte baja del tallo. El crecimiento de la colonia fue, generalmente, circular alrededor del trozo utilizado para el aislamiento (fig. 9-B). Este grupo resultó más heterogéneo que el FO-salmón incluyendo entre sus aislamientos además de características similares a las descritas para el grupo FO-salmón, otras que incluso están fuera del rango descrito para *F. oxysporum*.

Por ello, los resultados que se exponen a continuación, aunque se refieren al conjunto de los aislamientos de este grupo, destacan también estas características diferenciales propias de algunos aislamientos.

El diámetro de la colonia a los 4 días de crecimiento en PSA a  $25^{\circ}\text{C}$ . fue de 4-5 cm. El micelio aéreo algodonoso y con frecuencia pulverulento, generalmente no compacto, y a veces con un centro más algodonoso que el resto de la colonia de tipo mucilaginoso. También en ocasiones se observaron colonias completamente mucilaginosas y algo filamentosas. El color del micelio fue blanco morado-rojizo en oscuridad y rosa-rojo tinto oscuro bajo luz (fig. 9-A). En cultivo líquido en CPD el color del sustrato colonizado varió entre rojo granate y rojo tinto oscuro.

Las microconidias, generalmente muy abundantes, fueron muy variables en la forma, desde elipsoidales-ovales a oblongas con extremos obtusos y claviformes («clavate»), estas últimas producidas a veces en cadenas (fig. 9-C). La septación y dimensiones fueron similares a las descritas para el grupo FO-salmón. Asimismo, la mayoría de las fiálidas fueron similares a las descritas para dicho grupo, aunque se observaron también otras normalmente simples y de dimensiones comprendidas entre  $6-60 \times 1,5-3 \mu\text{m}$ ., más anchas en el tercio inferior y adelga-

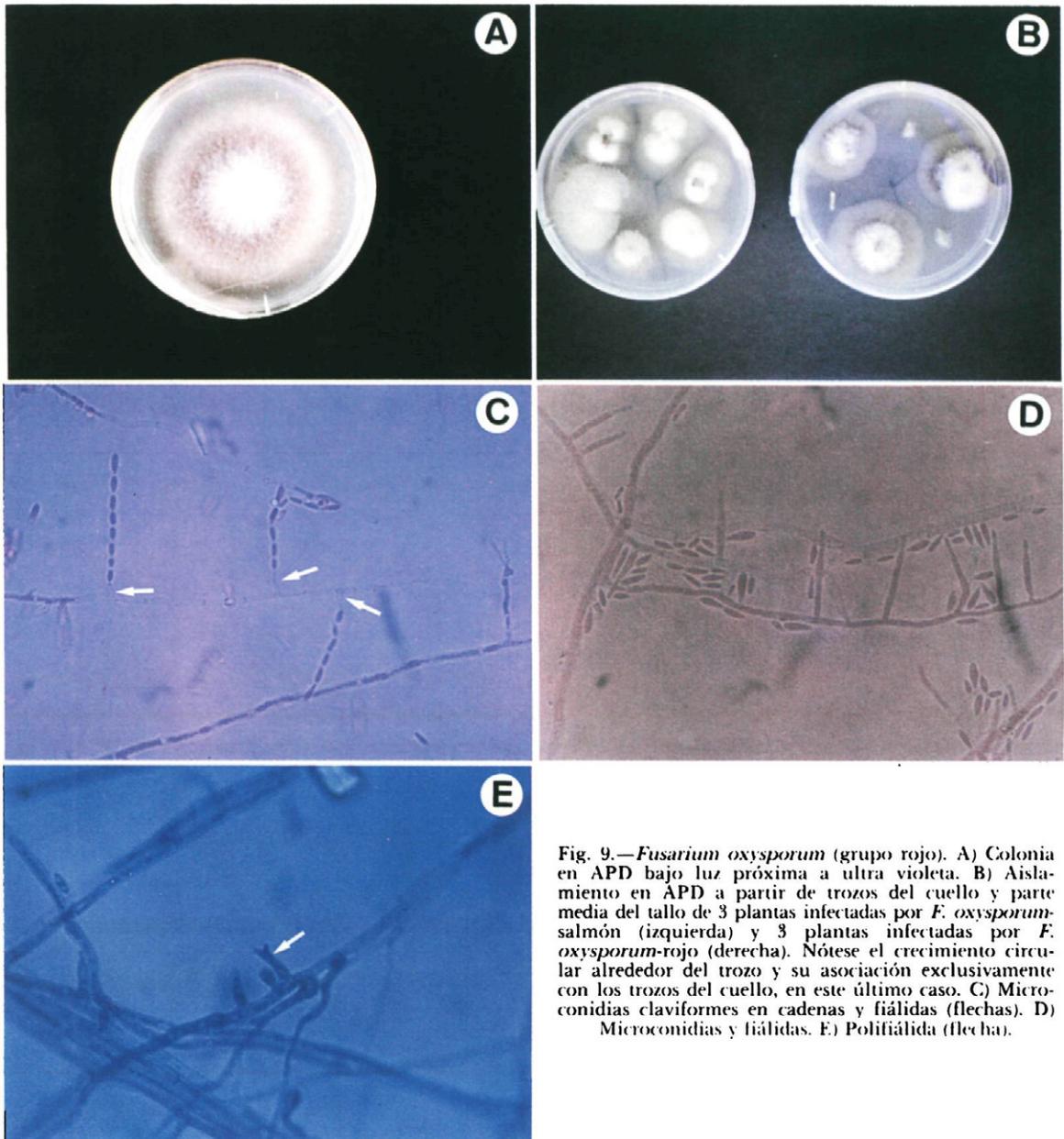


Fig. 9.—*Fusarium oxysporum* (grupo rojo). A) Colonia en APD bajo luz próxima a ultra violeta. B) Aislamiento en APD a partir de trozos del cuello y parte media del tallo de 3 plantas infectadas por *F. oxysporum*-salmón (izquierda) y 3 plantas infectadas por *F. oxysporum*-rojo (derecha). Nótese el crecimiento circular alrededor del trozo y su asociación exclusivamente con los trozos del cuello, en este último caso. C) Microconidias claviformes en cadenas y filálicas (flechas). D) Microconidias y filálicas. E) Polifilálica (flecha).

zándose gradualmente hacia el ápice (fig. 9-D), y polifilálicas (fig. 9-E).

El tipo, forma, tamaño y modo de producción de las macroconidias y clamidospo-

ras fue similar a lo descrito para el grupo FO-salmón excepto algunos aislamientos que produjeron macroconidias próximas a las de *F. solani* y otros en que los conidióforos formaban esporodocios.

## 2.2. *Fusarium solani* (Mart.) Sacc.

Nuestros aislamientos de esta especie constituyeron un grupo morfológicamente más homogéneo que los de *F. oxysporum*. No obstante, un aislamiento mostró características diferentes al resto, en cuanto al aspecto de la colonia, morfología, biometría de sus estructuras y patogenicidad. Este aislamiento fue identificado por BOOTH como *Fusarium eumartii* Carpenter, quedando depositado en la micoteca de C.M.I. con la referencia IMI-263815.

Esta especie denominada como tal por CARPENTER en 1915 (BOOTH, 1971), fue considerada una variedad de *F. solani*: *F. solani* var. *eumartii* (Carp.) Wr. por WOLLENWEBER en 1931 (BOOTH, 1971), como una forma especial de *F. solani*: *F. solani* f. sp. *eumartii* (Carp.) Snyder & Hansen (SNYDER y HANSEN, 1940); y aceptada como esta última denominación en el sistema taxonómico de BOOTH (BOOTH, 1971). Recientemente en el sistema de WOLLENWEBER y colaboradores modificado por GERLACH y colaboradores (DOMSCH *et al.*, 1980; GERLACH, 1970, 1977, 1981) se separa de *F. solani*, con la denominación *F. eumartii* Carpenter, en base a características morfológicas de sus estados anamorfo y teleomorfo, principalmente del primero (DOMSCH *et al.*, 1980). Los estados teleomorfos de *F. eumartii* y *F. solani* han sido definidos en este sistema (GERLACH, 1981) como *Nectria haematococca* Berk. et Br. var. *haematococca* y *N. haematococca* Berk. et Br. var. *breviconica* (Wollenw.) Gerlach., respectivamente.

Debido a que *F. eumartii* no se incluye como especie diferente de *F. solani* en los dos sistemas taxonómicos seguidos por nosotros (BOOTH, 1971; MESSIAEN y CASSINI, 1968; TOUSSOUN y NELSON, 1968), y a que la identificación del aislamiento IMI-263815 tuvo lugar en 1981, no se han revisado las identificaciones de los aislamientos de *F. solani* para determinar con precisión cuales podían

pertenecer a *F. eumartii*. Por ello, al referirnos a este grupo de aislamientos lo denominaremos como *F. solani* (*sensu lato*), aunque para las descripciones morfológicas y patológicas hagamos mención algunas veces a *F. eumartii* para referirnos al aislamiento IMI-263815 de *F. solani* (*sensu lato*).

Para la descripción de las características morfológicas y fisiológicas, los aislamientos de *F. solani* (*sensu lato*) han sido divididos en dos grupos: *F. solani* y *F. eumartii*. Ambos grupos de aislamientos se obtuvieron sólo a partir de trozos de raíz principal y cuello y en algunas ocasiones de la parte baja del tallo, y las colonias crecieron alrededor del trozo con forma circular.

2.2.1. *Fusarium solani*.—Las colonias de este grupo de aislamientos tuvieron un diámetro comprendido entre 3-4 cm. a los cuatro días de crecimiento en APS a 25°C. El micelio aéreo fue estriado, suelto o poco denso, a veces, elevado y de color blanco algo grisáceo tanto en oscuridad como bajo luz (fig. 10-A). Con frecuencia, sobre todo en cultivos de más de 10 días de crecimiento, se observaron zonas gutuladas o irregulares de aspecto mucilaginoso («pionnotes») de color beige-crema o verde azulado. También, frecuentemente, la colonia presentó una marcada zonación en su crecimiento.

Las microconidias (fig. 10-B), generalmente abundantes, fueron ovales-elipsoidales, a veces, reniformes, con las paredes bien marcadas y, generalmente, aseptadas (<25% con 1 septa). Su tamaño varió entre 6-20×2-4  $\mu\text{m}$ ., y estuvieron producidas en fiálidas largas, cilíndricas, rectas, frecuentemente septadas y de tamaño comprendido entre 45-100×2-4  $\mu\text{m}$ . (fig. 10-C), situadas en condidióforos escasamente ramificados. Con frecuencia se observaron agrupaciones de microconidias en los extremos de las fiálidas, formando falsas cabezas (fig. 10-D, E).

Las macroconidias (fig. 10-F), también formadas abundantemente, fueron fusiformes aunque no regulares, ya que frecuentemente

presentaban la misma anchura en toda su longitud excepto en las células extremas y, a veces, el diámetro mayor correspondía al tercio superior.

Las macroconidias presentaron 1-7 septas (más frecuentemente 3), y su tamaño varió entre 20-50 (ERWIN, 1958 a; GERLACH, 1977)  $\times$  4-5,5  $\mu\text{m}$ . Estuvieron producidas en fiálidas situadas en conidióforos inicialmente simples, pero más ramificados con el tiempo (fig. 10-F, G), llegando a constituir frecuentemente esporodocios. Estas fiálidas no fueron largas, cilíndricas y rectas como las de microconidias, sino similares a las de micro y macroconidias de *F. oxysporum*, y con tamaño comprendido entre 8-10 $\times$ 2-4  $\mu\text{m}$ .

Las clamidosporas (fig. 10-H, I) simples o en parejas, se formaron terminal o intercaladamente. Sólo en raras ocasiones constituyendo cadenas. Su forma fue oval-esférica o también, en el caso de clamidosporas terminales, aperada; con diámetro medio de 6-12  $\mu\text{m}$ ., y con paredes frecuentemente lisas, a veces rugosas y en escasas ocasiones equinuladas. También, en cultivos viejos o conservados en frío se observaron clamidosporas conidiales.

En nuestros cultivos no hemos observado esclerocios ni el estado teleomorfo, aunque este último se trató de inducir sembrando con diferentes aislamientos los extremos de trozos esterilizados de paja de trigo colocados en placas de petri con AA.

2.2.2. *Fusarium eumartii*. Las características taxonómicas que separan a este especie de *F. solani* son el tamaño y septación de las macroconidias (DOMSCH *et al.*, 1980; GERLACH, 1977). En el aislamiento observado, las macroconidias (fig. 11-A) tuvieron

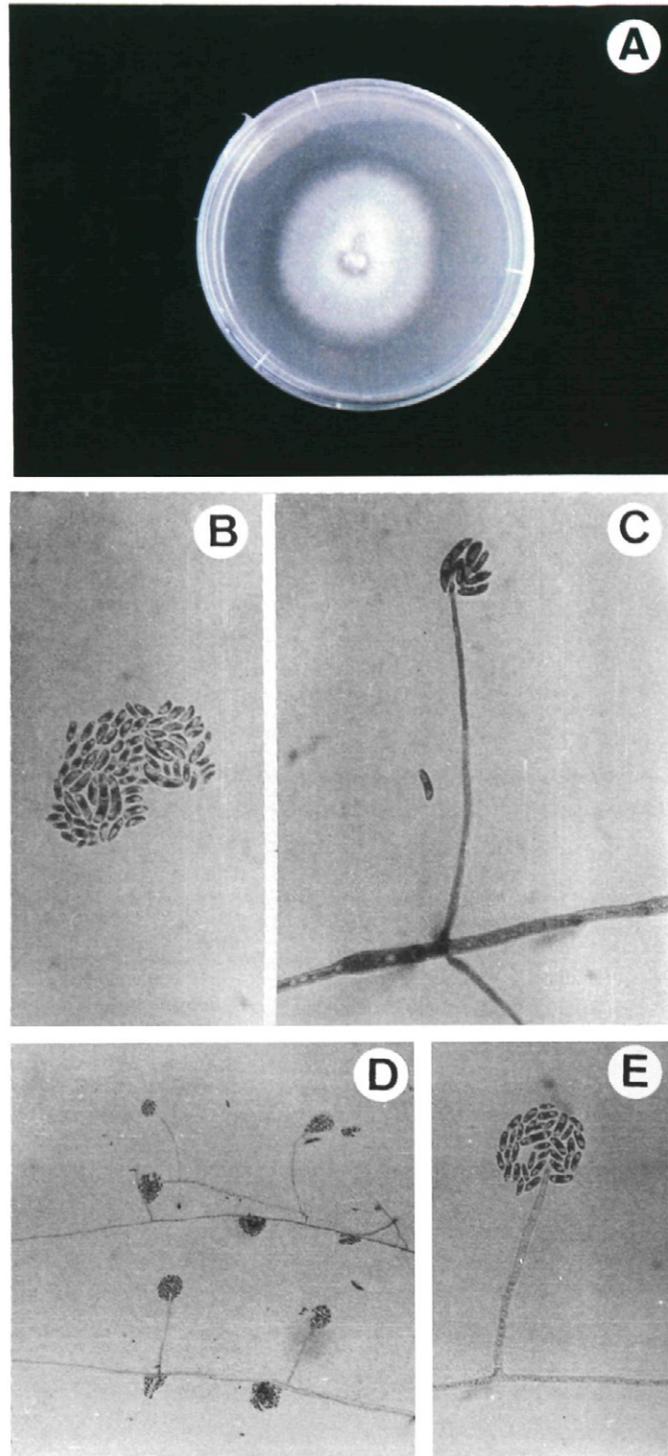
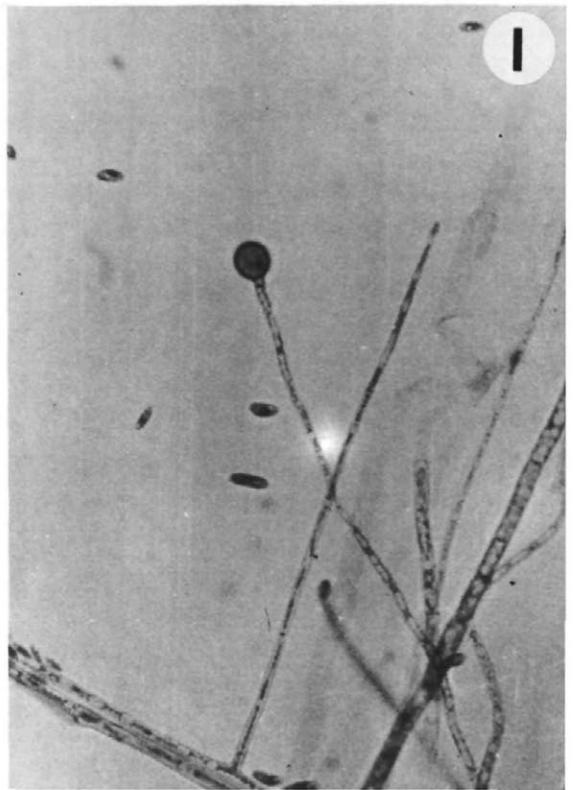
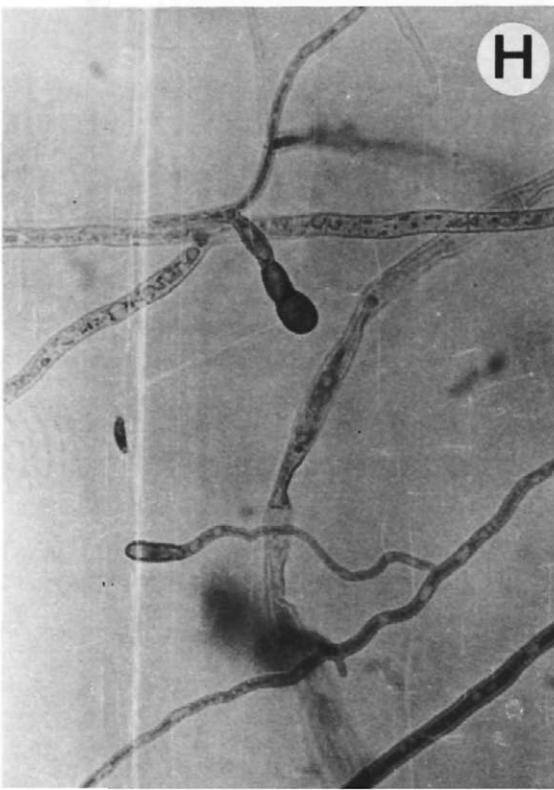
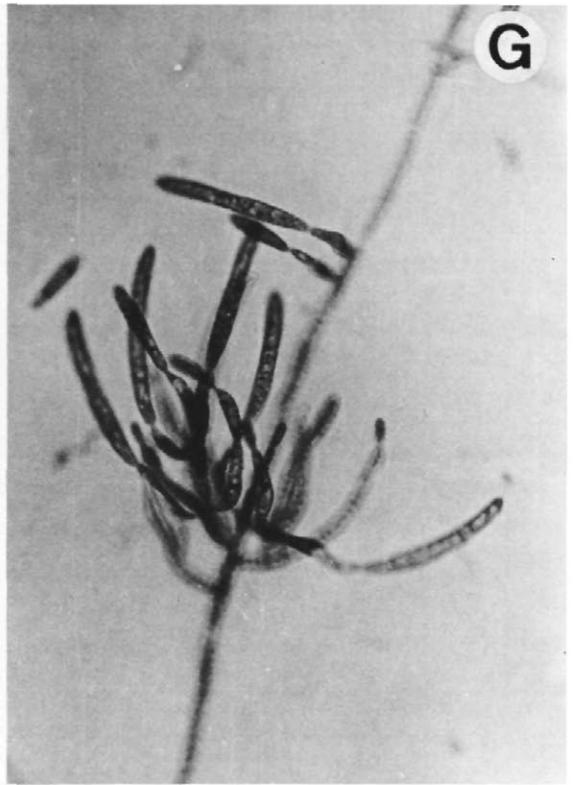
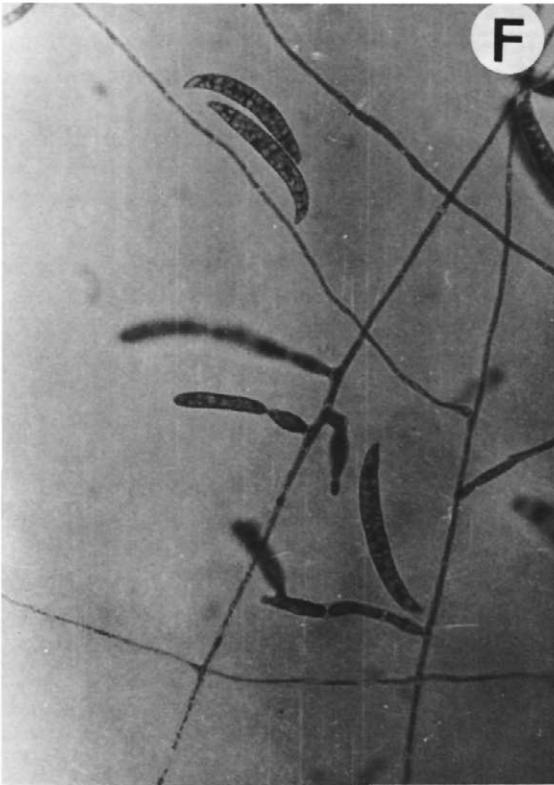


Fig. 10.—*Fusarium solani*. A) Colonia en APD bajo luz próxima a ultra violeta. B) Microconidias. C) Microconidias y fiálida. D) Agrupaciones de microconidias en los extremos de las fiálidas formando falsas cabezas. E) Detalle de la agrupación de microconidias en el extremo de una fiálida. F) Macroconidias y fiálidas. G) Conidióforo ramificado y fiálidas simples con macroconidias. H, I) Clamidosporas.



1-9 septas (más frecuentemente 5) y sus dimensiones fueron de  $30-60 \times 3,5-5 \mu\text{m}$ .

Otras características diferenciales de menor relevancia y sin valor taxonómico específico, pero que se observaron en los cultivos de este aislamiento, fueron una coloración marrón que adquiriría el medio de cultivo (APD o APS), algunas fiálidas de microconidias algo más largas (hasta  $160 \mu\text{m}$ .) (fig. 11-B) y la presencia de esclerocios globosos de  $8-50 \mu\text{m}$  de diámetro (figs. 11-C, D, E).

Las demás características observadas fueron semejantes a las descritas para los aislamientos de *F. solani*. Tampoco se obtuvo el estado teleomorfo de esta especie, aunque tratamos de inducirlo de forma similar a lo señalado para los aislamientos de *F. solani*.

### 2.3. *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

La facies esclerocial de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. denominada *Sclerotium bataticola* Taub. (= *Rhizoctonia bataticola* (Taub.) Butl.) fue observada en todos los aislamientos de esta especie.

El crecimiento en cultivo de los aislamientos obtenidos fue superior a temperaturas próximas a  $30^\circ\text{C}$ . que a temperaturas inferiores, produciéndose colonias con micelio aéreo, inicialmente arborescente y adherido a la superficie del medio de cultivo, y después también elevado, suelto, de color marrón-negro y formando esclerocios antes de 72 horas.

Las hifas, hialinas al principio, adquirieron después una coloración marrón a gris oscuro tanto en oscuridad como bajo luz. En su crecimiento, las hifas formaron ramificaciones arborescentes con ángulos de divergencia, generalmente, agudos, aunque a veces, también en ángulo recto formando en estos casos una constricción en el punto de unión con la hifa principal y una septa de la hifa secundaria próxima a dicho punto. El diámetro de las hifas fue muy varia-

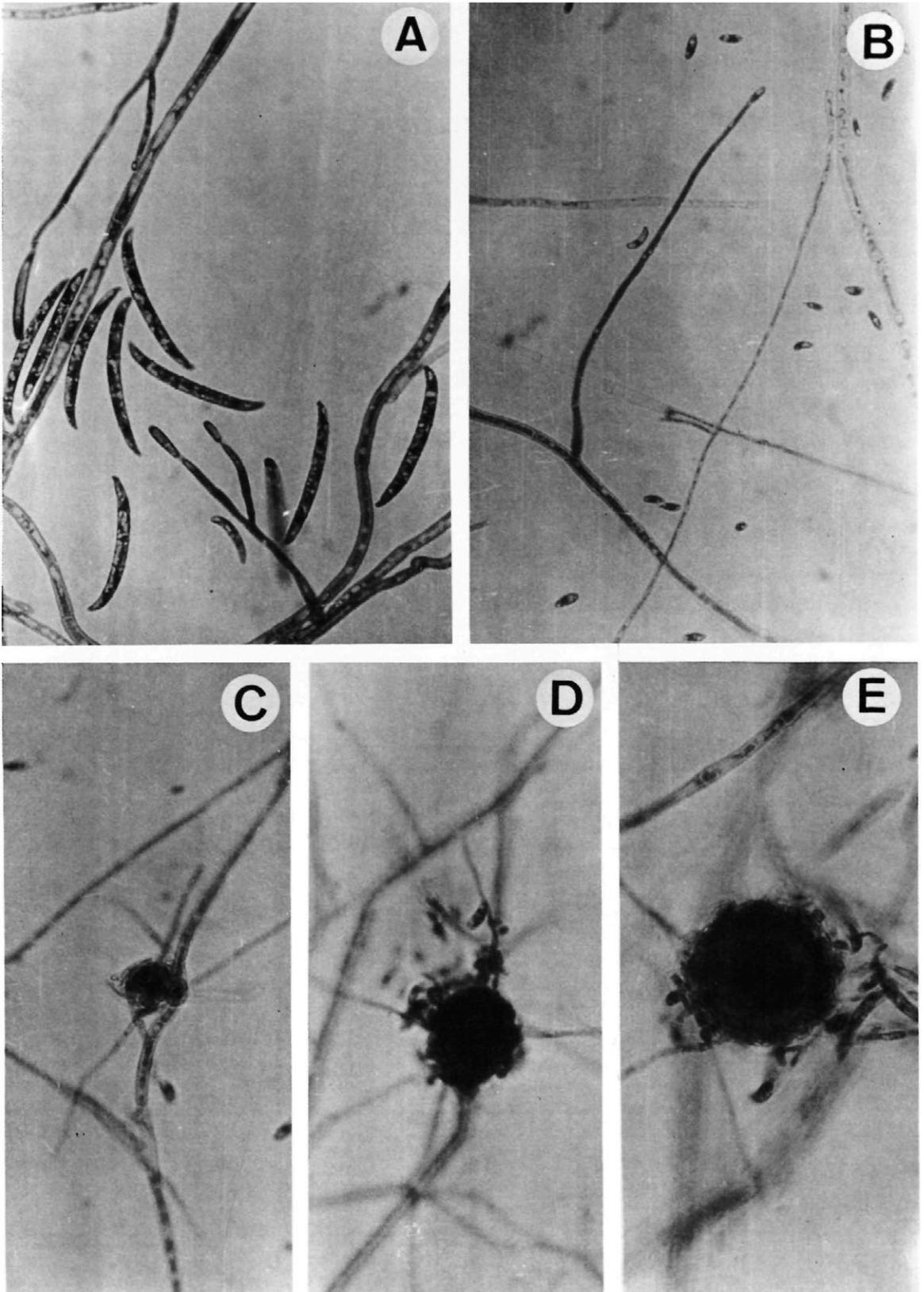
ble, desde  $1 \mu\text{m}$ . en las más jóvenes hasta  $15 \mu\text{m}$ . en higas próximas a un esclerocio. Las septas presentes en las hifas de más edad de la colonia, estuvieron irregularmente distanciadas variando esta distancia frecuentemente entre  $5-45 \mu\text{m}$ . Las células hifales, normalmente cilíndricas, se presentaron a veces hinchadas en forma de barril en algunos tramos de las hifas, generalmente en zonas próximas a un esclerocio (fig. 12-A). También se observaron otros tramos de las hifas colapsadas.

Los esclerocios (fig. 12-A), formados profusamente en PDA o APD tanto a partir de hifas individuales como en la intersección de varias de ellas, fueron de color marrón al principio y negro una vez maduros, esféricos-ovales, a veces irregulares y de diámetro medio variable entre  $36-180 \mu\text{m}$ . ( $\bar{X}=92 \mu\text{m}$ .) En cambio, los esclerocios formados en el cuello y raíz de plantas de garbanzo (fig. 12-B, C), tanto subepidérmicos como en los tejidos medulares, fueron más regulares y esféricos y su diámetro medio varió entre  $36-110 \mu\text{m}$ . ( $\bar{X}=64 \mu\text{m}$ .)

En algunos casos se obtuvieron picnidios de *M. phaseolina*, que se formaron exclusivamente en los trozos de tejidos afectados utilizados en los aislamientos. Estos picnidios (fig. 12-D) fueron de color marrón oscuro-negro, semiinmersos en los trozos vegetales y también superficiales, globosos, con pared multicelular y de diámetro medio comprendido entre  $140-280 \mu\text{m}$ . ( $\bar{X}=196 \mu\text{m}$ .) Generalmente tuvieron un solo ostiolo, rara vez dos (fig. 12-E), con cuello más o menos alargado que alcanzó hasta  $60 \mu\text{m}$ . de longitud.

Las conidias (fig. 12-F) fueron hialinas, no septadas, de paredes delgadas, con contenido granular, de forma elipsoidal-oval, aunque en algunas ocasiones con contorno

Fig. 11.—*Fusarium eumartii*. A) Macroconidias y fiálidas. B) Microconidias y fiálida. C, D, E) Esclerocios en diferentes estados de formación.



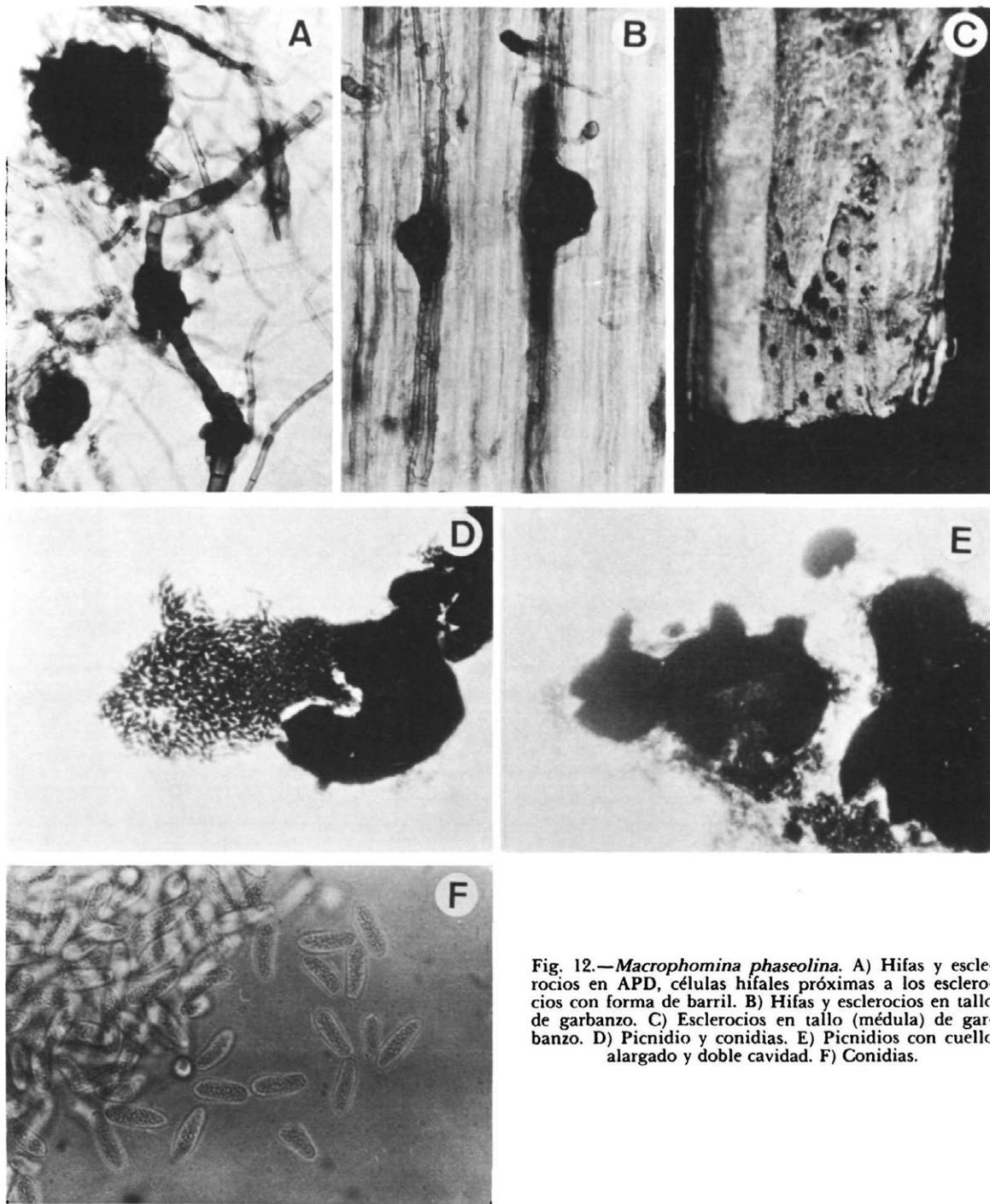


Fig. 12.—*Macrophomina phaseolina*. A) Hifas y esclerocios en APD, células hifales próximas a los esclerocios con forma de barril. B) Hifas y esclerocios en tallo de garbanzo. C) Esclerocios en tallo (médula) de garbanzo. D) Picnidio y conidias. E) Picnidios con cuello alargado y doble cavidad. F) Conidias.

Cuadro 6.—Enfermedades diagnosticadas en muestras de plantas de garbanzo enviadas al Departamento de Patología Vegetal, ETSIA, Córdoba en 1979-81

Procedencia		Año	Nº de plantas	Complejo sintomatológico diagnosticado	Severidad media (a)	Frecuencia de aislamientos (Nº de plantas de)		
Localidad	Provincia					FO-salmón	FO-rojo	<i>F. solani</i>
Palma del Río	Córdoba	1980	5	Amarilleamiento	2,5	—	—	5
Carmona	Sevilla	1980	1	Amarilleamiento + enanismo amarillento	4,7	—	—	1
Porcuna	Jaén	1980	4	Amarilleamiento y marchitez severos	4,5	4	—	1
			3	Amarilleamiento	3,5	3	—	1
			1	Enanismo amarillento + amarilleamiento	4,0	—	1	1
Fernán Núñez	Córdoba	1981	1	Amarilleamiento	4,0	—	1	—
Hinoja del Duque	Córdoba	1981	2	Amarilleamiento	4,0	—	2	2
			2	Enanismo amarillento	4,0	—	—	—
Santaella	Córdoba	1981	9	Amarilleamiento y marchitez severos	4,5	9	—	4

(a): Evaluada en una escala 1-5 (1=no síntomas; 5=planta muerta).

irregular y su tamaño varió entre 18-26×7-9  $\mu\text{m}$ . ( $\bar{X}$ =22×7,7). Las dimensiones observadas de las conidias concordaron con la relación 3:1 longitud: anchura, características de este género. (DHINGRA y SINCLAIR, 1978).

### 3. Enfermedades diagnosticadas en las muestras de plantas con síntomas de «seca» o «fusariosis»

Seis muestras de plantas de garbanzo con síntomas de la seca o fusariosis nos fueron enviadas para su diagnóstico. Aunque el tamaño muestral fue muy variable, los resultados obtenidos (cuadro 6), coinciden con los de nuestras prospecciones. Tres complejos sintomatológicos amarilleamiento, enanismo amarillento y amarilleamiento y marchitez severos fueron diagnosticados en 5, 3 y 2 muestras, respectivamente. En 3 muestras se observó el amarilleamiento junto al enanismo amarillento y en 2 de éstas, ambos complejos en la misma planta.

Por orden decreciente de frecuencia, los organismos aislados fueron: *F. solani*, de

plantas con amarilleamiento o amarilleamiento y marchitez severos; *F. oxysporum* (grupo rojo) de plantas con amarilleamiento y *F. oxysporum* (grupo salmón) de plantas con amarilleamiento y marchitez severos. Con frecuencia varios organismos estuvieron asociados con la misma planta (cuadro 6). De plantas con síntomas de enanismo amarillento exclusivamente no se aisló ningún organismo. En cambio, se aislaron *F. solani* y *F. oxysporum* (grupo rojo) de plantas afectadas de este complejo y de amarilleamiento (cuadro 6).

## PATOGENICIDAD DE LOS AGENTES

### MATERIALES Y METODOS

#### 1. Patogenicidad de *Fusarium* spp.

Para determinar la patogenicidad de los aislamientos de *F. oxysporum* y *F. solani* se utilizaron cuatro métodos de inoculación —inmersión de raíces (IR), infestación del suelo con inóculo incrementado en vermicu-

lita —caldo de patata-destrosa (VCPD), infestación del suelo con inóculo incrementado en arena-harina de maíz-agua (AMA) y cultivo en una suspensión de inóculo (CSI)—, manteniendo varios aislamientos comunes en los diferentes experimentos a efectos comparativos y debido a que, simultáneamente, también se trató de seleccionar el método más adecuado para ser utilizado en experimentos posteriores.

Con ligeras modificaciones (TRAPERO, 1983), la metodología seguida para IR y VCPD fue similar a la desarrollada por WESTERLUND *et al.*, (1974) y BOUHOT y ROUXEL (1970), respectivamente. Asimismo, las inoculaciones con AMA Y CSI, fueron similares a las utilizadas por NENE *et al.* (NENE y HAWERE, 1980). Tras los primeros experimentos, se eligieron para posteriores inoculaciones el método AMA, porque a igualdad de condiciones de cultivo con la IR y VCPD, se obtuvo una reacción más severa; y el método CSI, para trabajos con gran número de aislamientos o cultivares, por la economía de tiempo, espacio y material (TRAPERO, 1983). Por ello, en la metodología experimental sólo se desarrollarán estos métodos.

En el método AMA la inoculación se efectuó sembrando semillas germinadas en suelo infestado. Como inóculo se utilizaron cultivos que habían crecido 15 días en arena: harina de maíz, agua desionizada, en proporción 9:1:2 en peso. La arena seca, tras ser tamizada, fue mezclada con la harina de maíz y el agua, y la mezcla distribuida en matraces Erlenmeyer de 250, 500 ó 1.000 ml. (100, 200 ó 400 g./matraz, respectivamente) y esterilizada dos veces a 1,25 kp./cm.<sup>2</sup> durante 1,5 h. Al sustrato esterilizado se añadieron, según el tamaño del matraz, 5, 10 ó 20 discos de agar de 5 mm. de diámetro, tomados de un cultivo de 7-14 días de crecimiento en APD a 26±3°C. El sustrato estéril que sirvió como testigo recibió el mismo número de discos idénticos de APD libres de hongo. Todos los matraces fueron agitados cada 3-4

días para favorecer la colonización homogénea del sustrato por el hongo. A los 15 días, el sustrato colonizado por el hongo fue incorporado al suelo esterilizado resultando una mezcla de 100 g. de sustrato colonizado/l. de suelo seco ( $\approx$  1:12 en peso). El suelo utilizado en los experimentos fue una mezcla de arena, limo y turba (1:1:1, en volumen), suplementada con superfosfato, nitrato potásico, sulfato potásico, carbonato cálcico y sulfato magnésico (SAH, 1980) y esterilizada a 1,25 kp./cm.<sup>2</sup> durante 1,5 h., dos veces.

En cada experimento se utilizaron macetas de arcilla, esterilizadas igual que el suelo, que se llenaron con 1,1 l. del suelo seco infestado, disponiéndose 3 plantas/maceta. Las macetas se regaron diariamente con 80-120 ml. de agua y una vez a la semana con 100 ml. de solución nutritiva (HOAGLAND y ARNON, 1950). Las plantas que sirvieron como testigo fueron igualmente tratadas excepto por la ausencia de inóculo y se dispusieron también testigos en suelo natural.

En el método CSI se empleó como inóculo una dilución en agua estéril de un cultivo en caldo de patata-dextrosa (CPD), donde crecieron los hongos en agitación continua a 25±3°C. durante 10 días. El CPD fue preparado según TUFFE (1969), distribuido en matraces Erlenmeyer de 250 ml. (100 ml./matraz) y esterilizado a 1 kp./cm.<sup>2</sup> durante 30 minutos. Salvo a un matraz que sirvió como testigo, al resto de los matraces se añadieron tres pequeñas porciones de agar conteniendo micelio y conidias de cultivos de 7-10 días de crecimiento en APD a 25±3°C. Los matraces conteniendo el medio sembrado con los hongos y el testigo fueron colocados en un agitador orbital en agitación continua a 150 r.p.m. y transcurridos 10 días de crecimiento, el CPD conteniendo abundantes conidias y trozos miceliarios, fue diluido al 2,5% con agua estéril y la dilución distribuida en botes estériles de vidrio (200 ml. de la disolución/bote). La concen-

tración de conidias en la dilución varió entre  $0,8-5 \times 10^6$  conidias/ml. con los diferentes aislamientos y experimentos, siendo casi exclusivamente microconidias en los aislamientos de *F. oxysporum*, y micro y macroconidias en los de *F. solani*.

Para la inoculación, plantas de garbanzo que habían crecido 7-10 días en arena estéril, se transplantaron sin herir las raíces a los botes con inóculo. Se dispusieron 4 plantas/bote (fig. 13-D), que fueron colocados en un agitador orbital en agitación continua a 110-120 r.p.m. Cada 3 días se rellenaron los botes con agua estéril. Las plantas que sirvieron como testigo fueron igualmente tratadas excepto por la ausencia de inóculo.

Todos los experimentos realizados sobre patogenicidad de *F. oxysporum* y *F. solani* tuvieron en común algunos aislamientos de cada especie, el cultivar inoculado y las condiciones ambientales y de cultivo de las plantas. El diseño experimental generalmente empleado, aunque varió ligeramente en los diferentes experimentos, fue en bloques al azar con 4 repeticiones en el método de inoculación CSI y 3 repeticiones en los restantes. La unidad experimental en el primer caso fue el bote con 4 plantas y en los restantes la maceta con 3 plantas.

Salvo dos aislamientos, uno de cada especie, que procedían de ICRISAT, el resto de los aislamientos contrastados (18 de *F. oxysporum* y 10 de *F. solani*) fueron obtenidos de plantas afectadas de la MPR en el valle del Guadalquivir.

El cultivar inoculado fue una selección local (PV-24) de semilla grande (0,56 g./semilla), de color blanco y relieve rugoso, ampliamente utilizada en la campaña del Guadalquivir.

En todos los experimentos las plantas crecieron en cámaras de ambiente parcialmente controlado bajo las siguientes condiciones generales:

— Régimen luminoso: 12.000 lx, 14 h./día.

— Temperatura día/noche:  $25 \pm 3 / 20 \pm 3^\circ\text{C}$ .

— Humedad relativa día/noche:  $70 \pm 20 / 80 \pm 20\%$ .

El desarrollo sintomatológico en plantas inoculadas se siguió mediante observaciones periódicas, realizándose aislamientos de plantas severamente afectadas. La severidad de las reacciones en la parte aérea de la planta se evaluó utilizando la escala 1-5 (1=no síntoma, 5=planta muerta). La evaluación final se efectuó en los 15 días de la inoculación en el método CSI y a los 60 días de la siembra en los restantes.

En cada caso, las plantas supervivientes tras la última evaluación se retiraron de los botes o las macetas, para observar detalladamente los síntomas en la planta completa y para realizar aislamientos a partir de trozos de raíz y tallo.

## 2. Patogenicidad de *Macrophomina phaseolina*

Catorce aislamientos de *M. phaseolina* obtenidos de plantas de garbanzo afectadas de podredumbre seca de raíz recogidas durante 1979, 1980 y 1981 en Córdoba y Sevilla, y un aislamiento obtenido de plantas de girasol afectadas de madurez precoz y podredumbre carbonosa y de patogenicidad probada sobre girasol (BLANCO, 1980), fueron seleccionados para contrastar la patogenicidad de *M. phaseolina* sobre el cultivar local de garbanzo PV-24.

La preparación del inóculo y la inoculación se efectuaron siguiendo el método descrito por CHAN (CHAN, 1968), salvo ligeras modificaciones. Como inóculo se utilizaron cultivos de los aislamientos respectivos que habían crecido durante 6 días en arena: harina de maíz, agua destilada, en proporción 1:1:1,5, y que contenían abundante micelio y esclerocios. La arena seca, tras ser tamizada y lavada, fue mezclada con la harina de maíz y el agua, y la mezcla cocida durante 30 minutos a chorro de vapor en

autoclave. Tras la decocción, la mezcla fue distribuida en matraces Erlenmeyer de 500 ml. (120 g./matraz) y esterilizada dos veces a 125 kg./cm.<sup>2</sup> durante 1,5 h. Al sustrato esterilizado se añadieron 8 discos de agar de 5 mm. de diámetro tomados de cultivos de 6 días de crecimiento en APD a 30°C. El sustrato estéril que sirvió como testigo recibió 8 discos idénticos de APD libres del hongo. Todos los matraces fueron agitados cada día para favorecer el crecimiento del hongo en el sustrato.

Plántulas de 8 días que habían crecido en macetas de arcilla con la mezcla de suelo esterilizado, fueron inoculadas depositando 4 gramos de sustrato infestado alrededor del cuello en el nudo cotiledonar previamente descubierto, y cubriéndolo a continuación con la mezcla del suelo esterilizado. Las plantas que sirvieron como testigos fueron similares tratadas excepto por la ausencia de inóculo.

Las condiciones ambientales tras la inoculación estuvieron comprendidas en el rango

de las ya citadas para los aislamientos de *Fusarium* spp.; a los 50 días de la inoculación, las plantas se sometieron a temperaturas superiores ( $32 \pm 3^\circ\text{C}$ . durante el día y  $25 \pm 3$  durante la noche) y régimen hídrico inferior (100 ml./maceta cada 2 días), en un intento de aproximación a las condiciones existentes en el campo cuando se observaron los ataques severos de esta enfermedad. El resto de las condiciones fueron similares a lo indicado en el apartado anterior.

El experimento fue diseñado en bloques al azar con 5 repeticiones, siendo la maceta con 3 plantas la unidad experimental.

## RESULTADOS

### 1. Patogenicidad de *Fusarium oxysporum*

Las reacciones a los 19 aislamientos de esta especie evaluadas con los diferentes métodos de inoculación, se pueden resumir

Cuadro 7.—Virulencia de aislamientos de *Fusarium oxysporum* (FO) sobre el cultivar de garbanzo PV-24

Aislamiento (a)	Origen	Síntoma (a)	Método de inoculación (a)	Nº de aislamientos	Severidad de las infecciones (b)	
					Rango	Media
FO f.sp. <i>ciceri</i> (salmón)	ICRISAT	Marchitez	AMA	1	—	5,0
			CSI	1	4,7-5,0	4,9
FO f.sp. <i>ciceri</i> (salmón)	Local	Marchitez	AMA	1	—	5,0
			CSI	2	4,0-5,0	4,5
FO f.sp. <i>ciceri</i> (salmón)	Local	Amarilleamiento Vascular	AMA	2	4,2-4,9	4,5
			IR	4	1,9-2,5	2,2
			VCPD	4	2,9-3,7	3,3
			CSI	4	2,3-3,9	2,7
FO-rojo	Local	Amarilleamiento no Vascular	AMA	1	—	2,0
			IR	3	1,9-2,7	2,2
			VCPD	3	2,9-3,2	3,0
			CSI	5	1,5-3,6	2,5*

(a) Por la descripción de los grupos de aislamientos, síntomas y métodos de inoculación véase páginas 99, 113 y 109, respectivamente.  
 (b) Evaluada según una escala 1-5 (1=no síntomas; 5=planta muerta). La reacción expresada es media de varios experimentos y corresponde a la evaluación realizada a los 60 días después de la inoculación en los métodos AMA, IR y VCPD, y a los 15 días en el método CSI.

(\*) Existieron diferencias significativas ( $P=0,005$ ) entre aislamientos.

en 3 tipos de síntomas que han sido denominados como:

- Marchitez.
- Amarilleamiento vascular.
- Amarilleamiento no vascular.

### 1.1. Marchitez

Tres aislamientos, dos de procedencia local y uno del ICRISAT, pertenecientes por su morfofisiología al grupo salmón de *F. oxysporum*, indujeron marchitez en las inoculaciones realizadas en el cultivar PV-24. Con estos aislamientos sólo se contrastaron los métodos de inoculación AMA y CSI (cuadro 7).

Con el método AMA los primeros síntomas se manifestaron a los 15 días después de la inoculación y consistieron en flaccidez de algunas hojas a diferentes niveles de la planta y ligera clorosis de los folíolos (fig. 13-A). La flaccidez progresó rápidamente afectando a toda la planta ocurriendo al mismo tiempo la desecación de hojas y tallos, que adquirieron un color verdigrisáceo (fig. 13-B). Todas las plantas murieron antes de los 30 días de la inoculación, presentando las hojas y tallos necrosados una coloración castaño claro (fig. 13-C).

En la parte subterránea, la mayoría de las observaciones se realizaron en plantas muertas con podredumbre de cuello y raíz. En plantas con síntomas muy severos se obser-

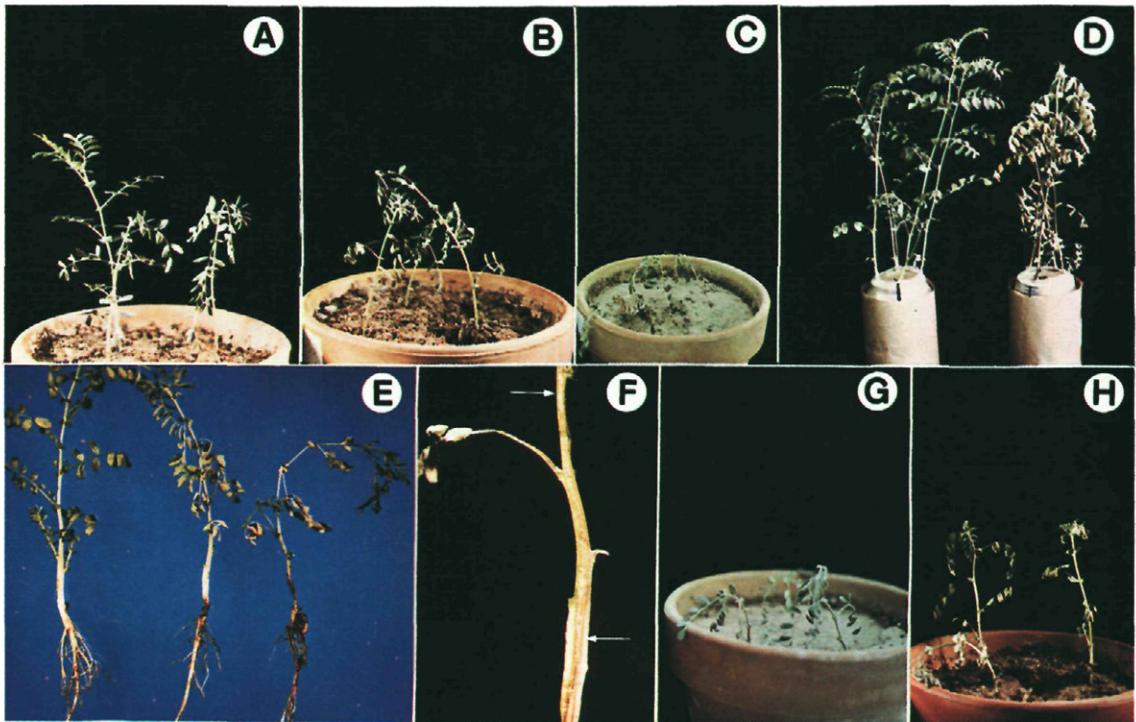


Fig. 13.—Síntomas de marchitez causados por *Fusarium oxysporum*. A, B, C) Progreso de los síntomas aéreos en el cultivar P-2245. Reacción a los 17 días (A), 19 días (B) y 26 días (C) después de la inoculación. D) Marchitez severa a los 15 días después de la inoculación por el método CSI (derecha), testigo no inoculado (izquierda). E) Progreso de los síntomas aéreos y subterráneos en plantas severamente afectadas. F) Coloración marrón del xilema (flechas). G) Marchitez en el cultivar JG-62. H) Marchitez en el cultivar PV-24.

varon también lesiones necróticas puntuales de color marrón oscuro. No obstante, cuando esta observación se efectuó en plantas con síntomas menos severos, no se detectaron lesiones en dichos órganos. Este hecho se ilustra en la figura 13-E.

En el interior de las plantas afectadas se observó una coloración marrón oscuro del xilema y, a veces, de la médula, que se extendió de forma continua desde la raíz al ápice caulinar (fig. 13-F).

Los reaslamientos efectuados de la parte superior de la raíz y del tallo a diferentes niveles resultaron en cultivos de *F. oxysporum* (grupo salmón) en el 100% de los casos.

La sintomatología observada con el método CSI, tanto en la parte aérea de la planta, como en la parte subterránea e interna, fue similar a lo indicado anteriormente, salvo que la reacción por este método de inoculación fue más severa. Los primeros síntomas se observaron a los 10 días de la inoculación y a los 15 días todas las plantas murieron (fig. 13-D).

### 1.2. Amarilleamiento vascular

Siete aislamientos, pertenecientes por su morfofisiología al grupo salmón de *F. oxysporum*, indujeron los síntomas denominados como amarilleamiento vascular en las inoculaciones realizadas en el cultivar PV-24. Con estos aislamientos se contrastaron los cuatro métodos de inoculación estudiados.

En el método AMA los primeros síntomas se manifestaron a los 15 días después de la siembra y consistieron en una clorosis de las hojas bajas que continuó con amarilleamiento y progresó acrópetamente en la planta. Posteriormente los folíolos amarillos se necrosaron y cayeron (fig. 14-A, B). Al finalizar los experimentos, 60 días después de la siembra, la severidad media de la reacción fue alta (cuadro 7), pero no ocurrió muerte de plantas. Los valores medios de

severidad a los 20 y 40 días de la inoculación fueron 1,8 y 3,4, respectivamente.

Los síntomas observados en la parte subterránea e interna, así como los resultados de los reaslamientos fueron similares a lo indicado para los aislamientos de marchitez (fig. 13-E, F).

Para los restantes métodos de inoculación, se observó idéntica sintomatología, aunque la severidad de la reacción varió marcadamente entre ellos. Con los métodos IR y VCPD la severidad fue menor que con el método AMA, ya que los primeros síntomas se observaron después de los 20 días de la siembra, y los valores medios de severidad correspondientes a los 40 y 60 días fueron 1,1 ó 1,5 y 2,2 ó 3,3, respectivamente, para uno u otro de los métodos de inoculación señalados (cuadro 7). Con el método CSI los primeros síntomas se observaron a los 10 días de la inoculación y a los 15 días (fig. 14-C) la severidad media fue intermedia a la obtenida con IR y VCPD, aunque con un rango de variación entre aislamientos relativamente amplio (cuadro 7).

Los análisis estadísticos de la severidad de la reacción en la parte aérea para los diferentes experimentos con cada método de inoculación, no revelaron diferencias significativas entre aislamientos.

### 1.3. Amarilleamiento no vascular

Nueve aislamientos pertenecientes por su morfofisiología al grupo rojo de *F. oxysporum*, indujeron los síntomas denominados como amarilleamiento no vascular en las inoculaciones realizadas en el cultivar PV-24. Con estos aislamientos se contrastaron los cuatro métodos de inoculación estudiados, pero no existieron aislamientos comunes entre ellos, lo que unido a las marcadas diferencias entre aislamientos, imposibilitó la comparación de los diferentes métodos, aunque la severidad media de las reacciones evaluadas fue similar entre ellos (cuadro 7).

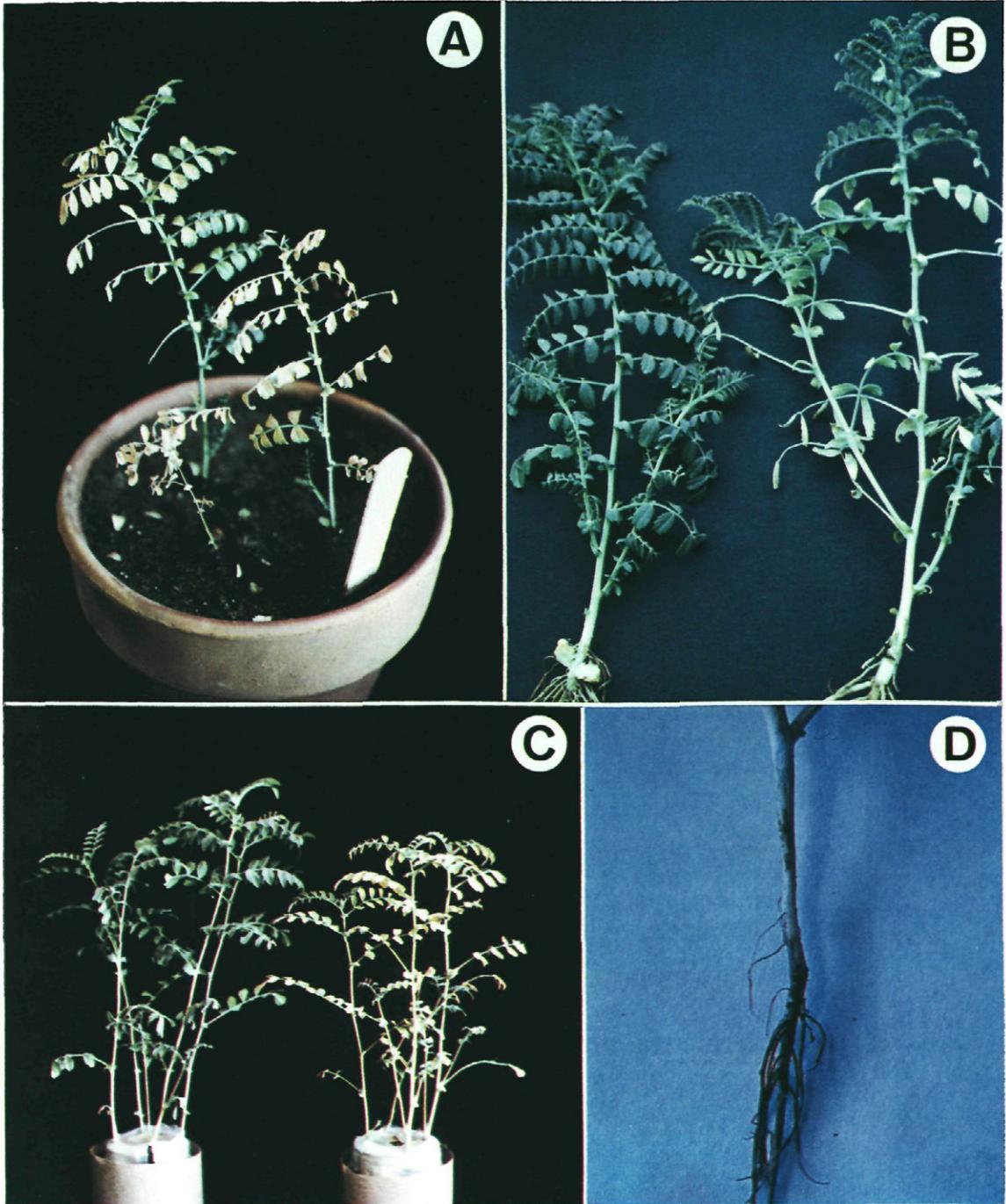


Fig. 14.—Síntomas de amarilleamiento causados por *Fusarium oxysporum*. A) Amarilleamiento vascular en el cultivar P-2245. B) Amarilleamiento vascular en el cultivar PV-24 (derecha), testigo no inoculado (izquierda). C) Amarilleamiento vascular en el cultivar PV-24 a los 15 días de la inoculación por el método CSI (derecha), testigo no inoculado (izquierda). D) Lesiones necróticas corticales en el cuello y raíz del cultivar PV-24 con síntomas de amarilleamiento no vascular.

Los síntomas aéreos externos fueron semejantes a los descritos para el amarilleamiento vascular. Sin embargo, la reacción fue menos severa para los cuatro métodos contrastados. Con el método CSI la reacción fue algo más severa y las diferencias entre aislamientos resultaron estadísticamente significativas (cuadro 7). Tres aislamientos tuvieron una reacción errática con valores medios de severidad que no difirieron significativamente del testigo, de ellos, dos fueron obtenidos de plantas con amarilleamiento ligero y uno de plantas asintomáticas.

Las lesiones en cuello y raíz, considerando la baja severidad de la sintomatología aérea observada, fueron superficiales, aunque más extensas que las causadas por los otros aislamientos de *F. oxysporum* (fig. 14-D). No obstante, el progreso de las mismas no pudo ser caracterizado, ya que no se hicieron observaciones periódicas en esta parte. En cortes longitudinales se observó la coloración marrón de los tejidos vasculares, aunque esta fue poco aparente y localizada en la parte superior de la raíz principal y parte baja del tallo.

Los reaislamientos efectuados resultaron positivos en el 100% de las plantas inoculadas, pero estuvieron restringidos a los trozos del cuello y parte baja del tallo.

## 2. Patogenicidad de *Fusarium solani*

Todos los aislamientos de *F. solani*, incluido el identificado como *F. eumartii*, indujeron una sintomatología idéntica con el cultivar PV-24, que resultó más severa con los métodos de inoculación AMA y CSI que con los IR o VCPD (cuadro 8).

Con el método AMA los síntomas fueron distintos en plántulas que en planta adulta. En el primer caso ocurrió muerte en premergencia, clorosis, amarilleamiento, flacidez y detención del crecimiento (fig. 15-A). El amarilleamiento progresó acrópetamente

Cuadro 8.—Virulencia de aislamientos de *Fusarium solani* (FS) sobre el cultivar de garbanzo PV-24.

Aislam. <sup>a</sup>	Origen	Método de inoculac. <sup>a</sup>	Nº de aislamient.	Severidad de las infecciones <sup>b</sup>	
				Rango	Media
FS	.....ICRISAT	AMA	1	4,0-5,0	4,5
		CSI	1	—	5,0
FS	.....Local	AMA	3	3,5-4,4	4,0*
		IR	2	1,9-2,6	2,2
		VCPD	2	2,9-3,9	3,4
		CSI	8	3,1-5,0	4,7*
<i>F. eumartii</i> .	Local	AMA	1	4,5-5,0	4,7
		CSI	1	4,9-5,0	5,0

<sup>a</sup> Para la descripción de los aislamientos de *F. solani* y métodos de inoculación véase páginas 103 y 109 respectivamente.

<sup>b</sup> Evaluada según una escala 1-5 (1=no síntomas; 5=planta muerta). La reacción expresada es media de varios experimentos y corresponde a la evaluación realizada en los 60 días después de la inoculación en los métodos AMA, IR y VCPD, y a los 15 días en el método CSI.

\* Existieron diferencias significativas (P=0,005) entre aislamientos.

en la planta, ocurriendo necrosis, caída de los foliolos amarillos y muerte de plantas. Cuando no ocurrió la reacción severa en plántula, los síntomas observados en planta adulta fueron un amarilleamiento de progresión acrópeta que comenzó transcurridos 20 días desde la inoculación y tuvo un progreso lento y gradual alcanzando una severidad intermedia al finalizar los experimentos, 60 días después de la inoculación.

Todas las plantas inoculadas presentaron el cuello necrosado, de color negro (fig. 15-C, D), y a veces, con un diámetro inferior al normal. En plantas severamente afectadas la necrosis se extendió por encima y por debajo del cuello afectando a la raíz y parte baja del tallo (fig. 15-C).

En el interior de las plantas no muy severamente afectadas se observó en el cuello, parte superior de la raíz principal y, a veces, en la parte baja del tallo, una ligera colora-

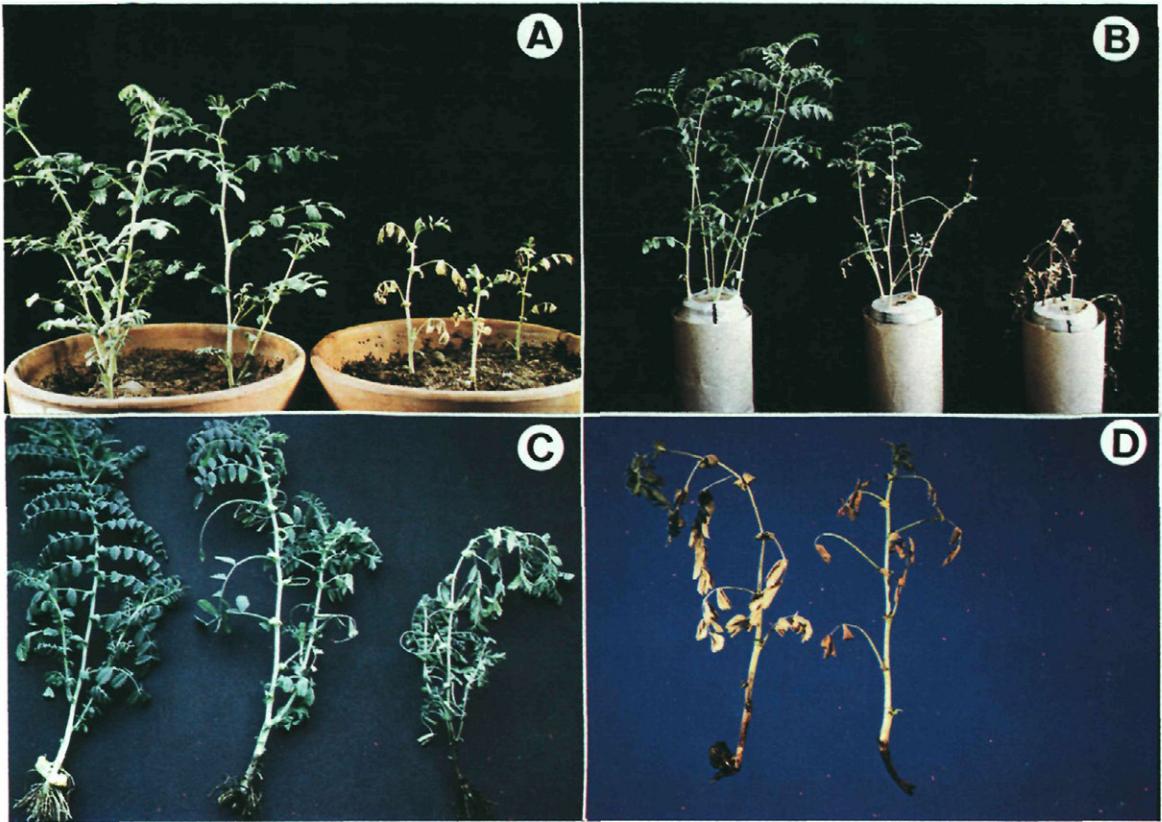


Fig. 15.—Síntomas causados por *Fusarium solani*. (Reacción del cultivar PV-24). A) Síntomas en plántula: amarilleamiento, detención del crecimiento y flacidez (derecha), testigo no inoculado (izquierda). B) Reacción a los 15 días de la inoculación por el método CSI con aislamientos de diferente capacidad patogénica (centro y derecha), testigo no inoculado (izquierda). La reacción más severa (derecha) corresponde al aislamiento clasificado como *F. eumartii*. C) Síntomas en planta adulta: amarilleamiento, necrosis cortical del cuello (centro) y podredumbre negra del cuello y raíz (derecha), testigo no inoculado (izquierda). D) Síntomas severos de podredumbre negra de raíz causados por *F. solani* (derecha), síntomas severos de marchitez causados por *F. oxysporum* (izquierda).

ción marrón oscuro en el xilema y, a veces, también en la médula. En plantas muy severamente afectadas, esta coloración no pudo distinguirse debido a la podredumbre que afectó a dicha zona.

*F. solani* se reaisló del 100% de las plantas inoculadas, si bien solo de los trozos de raíz, cuello, y a veces, de la parte baja del tallo.

Con los métodos de inoculación IR y VCPD, no ocurrió la reacción severa en plántula, resultando similar a la obtenida en planta adulta en la inoculación con el método AMA. En cambio, con el método

CSI la reacción fue extremadamente severa. Los primeros síntomas —detención del crecimiento, flacidez y clorosis de hojas bajas—, comenzaron a observarse 3 días después de la inoculación, y antes de los 15 días, la mayoría de los aislamientos causaron la muerte de las plantas (cuadro 8, fig. 15-B), resultando estadísticamente significativas las diferencias de severidad entre aislamientos (fig. 15-B). El aislamiento *F. eumartii* estuvo en el rango de los más patogénicos (cuadro 8).

En las inoculaciones por AMA, los sínto-



Fig. 16.—Reacción del cultivar PV-24 a la inoculación por el método de GSI con *Fusarium oxysporum* y *F. solani*. (De izquierda a derecha: Testigo no inoculado, plantas inoculadas con un aislamiento de *F. oxysporum* causante de amarilleamiento vascular, plantas inoculadas con un aislamiento de *F. oxysporum* causante de marchitez, plantas inoculadas con *F. solani*).

mas severos en plántula fueron muy parecidos a los de marchitez causados por *F. oxysporum* (fig. 15-D). No obstante, la acusada desecación del tallo en las plantas marchitas infectadas por *F. oxysporum* y la podredumbre negra del cuello y raíz en las infectadas por *F. solani*, permitieron distinguir a ambas externamente. Internamente la mayor intensidad de la coloración marrón y, sobre todo, su extensión a lo largo de la raíz y tallo, diferenciaba a las plantas infectadas por *F. oxysporum* de las infectadas por *F. solani*.

Un hecho a destacar sobre el método de

inoculación CSI fue la consistencia de la reacción. Todas las plantas inoculadas bien con *F. oxysporum* o *F. solani*, mostraron una respuesta muy homogénea a los 15 días después de la inoculación, como ilustra la figura 16.

### 3. Patogenicidad de *Macrophomina phaseolina*

Los quince aislamientos de *M. phaseolina* contrastados indujeron en la parte aérea del cultivar PV-24 una ligera clorosis de los folíolos de las hojas inferiores, que progresó acrópetamente en la planta y fue seguida por amarilleamiento y necrosis de los mismos.

Los primeros síntomas foliares se observaron 4 días después de la inoculación y, aunque en algunos casos progresaron rápidamente ocasionando la muerte de la planta, en general, el progreso fue muy lento y errático, pudiendo observarse en la misma combinación experimental e incluso en la misma maceta, plantas asintomáticas junto a plantas muertas. Este hecho se ilustra en la figura 17-A, aunque en ella, debido a que fue realizada a los 61 días después de la inoculación, las plantas existentes junto a la planta muerta presentan ligeros síntomas de amarilleamiento.

La severidad de las reacciones en la parte aérea se expresan en el cuadro 9. Aunque las

Cuadro 9.—Virulencia de aislamiento de *Macrophomina phaseolina* sobre el cultivar de garbanzo PV-24 (a)

Huésped del que se aislaron	Nº de aislamientos	Nº de plantas con síntomas (b)		Nº de plantas muertas		Severidad de las infecciones (c)	
		Rango	Media	Rango	Media	Rango	Media
Garbanzo .....	14	8-14	11,5	0-2	0,6	2,0-2,8	2,3
Girasol .....	1	—	11	—	0	—	1,08

(a) Evaluación realizada a los 50 días de la inoculación.

(b) Se inocularon 15 plantas con cada aislamiento.

(c) Según una escala 1-5 (1=no síntomas; 5=planta muerta).



Fig. 17.—Síntomas causados por *Macrophomina phaseolina* (Reacción de cultivar PV-24). A) Desecación general de la planta. B) Desecación de una rama de la planta y necrosis del cuello. C) Resumen de las reacciones observadas. De izquierda a derecha: Testigo no inoculado, amarilleamiento ligero amarilleamiento severo, desecación general y planta muerta. La extensión y profundidad de la necrosis del cuello y raíz estuvo directamente relacionada con la severidad de los síntomas aéreos.

evaluaciones se realizaron cada 10 días dado el lento progreso de los síntomas y lo errático de su incidencia, sólo se indican las reacciones a los 50 días después de la inoculación. Por las mismas razones, se han incluido en dicho cuadro la incidencia de plantas con síntomas y de plantas muertas. En los análisis estadísticos efectuados, las

diferencias entre aislamientos no resultaron significativas. Dada la dispersión de los valores y la escasa severidad media, dichos análisis no hubiesen podido distinguir diferencias significativas con un testigo en el que alguna planta presentase un ligero amarilleamiento en los folíolos de las hojas inferiores, como realmente ocurrió en este experimento.

Debido a ello, y a problemas en el control ambiental, después de los 50 días de la inoculación, las plantas se sometieron a temperaturas superiores y a estrés hídrico. En estas condiciones los síntomas foliares progresaron con mayor rapidez muriendo algunas plantas a los 11 días. No obstante, también las plantas testigo presentaron amarilleamiento de las hojas bajas, aunque más ligero y sin ocurrir muerte de plantas. La mortalidad media de las plantas inoculadas fue del 10%.

Un resumen de los síntomas foliares observados a los 61 días de la inoculación se ilustra en la figura 17-C.

En la parte subterránea de las plantas inoculadas, incluidas aquellas que mostraron síntomas foliares similares a los del testigo, se observaron lesiones necróticas de color negro (fig. 17-B, C). Estas lesiones fueron superficiales y restringidas al cuello en plantas con síntomas foliares poco severos; pero en plantas severamente afectadas (fig. 17-B), las lesiones se extendieron por la raíz principal y parte baja del tallo, haciéndose más profundas y dando lugar a la podredumbre seca de dichos tejidos que se deshinchaban y tronchaban con facilidad.

Los reaislamientos efectuados de trozos del cuello dieron lugar consistentemente a cultivos de *M. phaseolina*; mientras que de los trozos procedentes de la parte media del tallo no se aisló ningún organismo. De las plantas testigo con amarilleamiento en las hojas inferiores, no se aisló consistentemente ningún organismo, y en ningún caso se obtuvo *M. phaseolina*.

## REACCION EN CULTIVARES DE GARBANZO A AISLAMIENTOS DE *FUSARIUM OXYSPORUM* Y *F. SOLANI*

### MATERIAL Y METODOS

Cinco experimentos fueron realizados con el fin de determinar diferencias de patogenicidad entre aislamientos de *F. oxysporum* y *F. solani* sobre varios cultivares de garbanzo, cuya reacción diferencial era conocida, bien por ensayos anteriores realizados en una parcela naturalmente infestada por estas especies (TRAPERO, 1983), o a través de referencias de la literatura fitopatológica (HAWARE y NENE, 1980).

Los aislamientos utilizados junto con su procedencia y el tipo de síntoma causado en las inoculaciones artificiales, se exponen a continuación:

Aislam.	Procedencia	Síntoma
FO-0	ICRISAT-India	Marchitez
FO-3	Marchena-Sevilla	Amarilleamiento vascular
FO-5	Montilla-Córdoba	Amarilleamiento vascular
FO-9	Bujalance-Córdoba	Marchitez
FO-19	Montilla-Córdoba	Amarilleamiento no vascular
FS-0	ICRISAT-India	Podredumbre negra de raíz
FS-1	Marchena-Sevilla	Podredumbre negra de raíz
FS-2	Montilla-Córdoba	Podredumbre negra de raíz

Los cultivares inoculados fueron WR-315 y JG-62, testigos resistentes y susceptibles, respectivamente, a *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* en la India; y PV-24 y P-2245, que fueron los cultivares de menor y mayor susceptibilidad, respectivamente, en ensayos de lucha en condiciones naturales en Montilla (Córdoba) (TRAPERO, 1983). Un quinto cultivar P-678, de reacción similar a WR-315 en la

India, fue también utilizado en un experimento.

Las características del cultivar PV-24 han sido citadas previamente. Los restantes cultivares mencionados procedían del ICRISAT y son de semilla pequeña (0,20 g./semilla), blanca y poco rugosa (P-2245), o de semilla pequeña (<0,15 g./semilla), rugosa y de color marrón oscuro (WR-315, JG-62 y P-678).

La inoculación se efectuó siguiendo el método AMA ya descrito.

Los cinco experimentos fueron factoriales, aislamiento×cultivar, 2×4 en los cuatro primeros y 4×4 en el quinto. En todos ellos, el diseño experimental fue en bloques al azar con 3 repeticiones, la unidad experimental fue la maceta con 3 plantas, y tuvieron como aislamientos comunes FO-0 ó FS-0.

### RESULTADOS

#### 1. Reacción a los aislamientos de *Fusarium oxysporum*

Los tres grupos de aislamientos de *F. oxysporum* definidos en apartados anteriores por sus características morfofisiológicas y patogénicas, sirvieron también para caracterizar las reacciones de patogenicidad en los cultivares inoculados.

##### 1.1. Reacción a los aislamientos causantes de marchitez

Los cultivares JG-62, P-2245 y PV-24 resultaron extremadamente susceptibles a los aislamientos causantes de marchitez (cuadro 10, fig. 13-A, G, H) y la sintomatología inducida en todos los casos fue similar a la indicada en los ensayos de patogenicidad. El cultivar local PV-24 resultó menos susceptible que los JG-62 y P-2245, pero también

**Cuadro 10.—Severidad de las reacciones en los cultivares de garbanzo WR-315, P-678, JG-62, P-2245 y PV-24 a la inoculación con aislamiento de *Fusarium oxysporum***

Experi- mento nº	Aisla- miento	Tiempo después de la inoculación (días)														
		20					40					60				
		WR-315	P-678	JG-62	P-2245	Pv-24	WR-315	P-678	JG-62	P-2245	PV-24	WR-315	P-678	JG-62	P-2245	PV-24
1	FO-0	1,0*a	—	5,0 b	5,0 b	2,3 a	1,0 a	—	5,0 c	5,0 c	5,0 c	1,1 a	—	5,0 c	5,0 c	5,0 c
	FO-3	1,0 a	—	1,0 a	1,0 a	1,4 a	1,0 a	—	1,0 a	4,9 c	2,5 b	1,0 a	—	1,0 a	5,0 c	4,2 b
2	FO-0	1,0 a	—	4,8 b	5,0 b	4,6 b	1,0 a	—	5,0 c	5,0 c	5,0 c	1,0 a	—	5,0 c	5,0 c	5,0 c
	FO-5	1,0 a	—	1,0 a	1,5 a	1,8 a	1,0 a	—	1,0 a	5,0 c	4,1 b	1,5 a	—	2,2 a	5,0 c	4,6 b
3	FO-0	—	1,0 a	3,8 b	3,8 b	3,2 b	—	1,0 a	5,0 d	5,0 d	4,5 d	—	1,0 a	5,0 d	5,0 d	5,0 d
	FO-3	—	1,0 a	1,0 a	2,4 a	1,0 a	—	1,0 a	1,0 a	5,0 d	3,5 c	—	1,0 a	1,0 a	5,0 d	4,9 d
	FO-9	—	1,0 a	3,2 b	4,4 b	4,0 b	—	1,0 a	5,0 d	5,0 d	5,0 d	—	1,0 a	5,0 d	5,0 d	5,0 d
	FO-19	—	1,0 a	1,0 a	1,0 a	1,0 a	—	1,0 a	1,0 a	2,5 b	2,0 b	—	1,0 a	1,0 a	3,6 c	2,0 b

\* Según una escala 1-5 (1=no síntomas; 5=planta muerta). Cada cifra es media de 3 repeticiones con 3 plantas/repeticion. Para cada experimento y fecha de evaluación, medias seguidas de una letra común no son significativamente diferentes (P=0,05).

presentó un 100% de mortalidad antes de los 40 días después de la inoculación (cuadro 10).

En las restantes combinaciones ensayadas, WR-315/FO-0, P-678/FO-0 ó FO-9, no se observaron síntomas aéreos externos cuando se finalizaron los experimentos, 60 días después de la inoculación. En estos cultivares, se observaron lesiones necróticas puntuales y superficiales, de color oscuro, en el cuello y

raíz de menos del 20% de las plantas inoculadas. El oscurecimiento del xilema fue fácilmente perceptible en el 91% de las plantas, aunque menos intenso y restringido, en la mayoría de ellos, a la parte superior de la raíz y parte inferior del tallo.

Como se deduce del cuadro 11, *F. oxysporum* se reaisló en el 100% de las plantas susceptibles de todos los trozos de raíz y tallo

**Cuadro 11.—Frecuencia de reaislamiento a partir de plantas de los cultivares de garbanzo WR-315, P-678, JG-62, P-2245 y PV-24 inoculadas con aislamientos de *Fusarium oxysporum***

Experi- mento nº	Aisla- miento	Frecuencia de plantas con reaislamiento positivo (Nº/Nº) (a)					Frecuencia media de trozos por planta con reaislamiento positivo (Nº/Nº) (b)				
		WR-315	P-678	JG-62	P-2245	PV-24	WR-315	P-678	JG-62	P-2245	PV-24
1	FO-0	3/9	—	6/6	6/6	7/7	3/8 (c)	—	7/7	9/10	13/13
	FO-3	9/9	—	9/9	8/8	8/8	2/11	—	2/15	16/16	15/16
2	FO-0	5/6	—	3/3	9/9	6/6	2/4	—	3/3	3/3	3/3
	FO-5	5/6	—	2/6	9/9	3/3	1/4	—	2/4	3/3	3/4
3	FO-0	—	5/9	3/3	3/3	3/3	—	1/3	3/3	3/3	3/3
	FO-3	—	3/9	6/8	3/3	3/3	—	1/3	1/3	3/3	3/3
	FO-9	—	6/9	3/3	3/3	3/3	—	1/3	3/3	3/3	3/3
	FO-19	—	9/9	7/9	7/7	6/6	—	1/3	1/3	1/3	1/3

- (a) Número de plantas en las que el reaislamiento resultó positivo/Nº de plantas utilizadas para efectuar el reaislamiento.
- (b) Promedio de trozos de raíz o tallo en los que el reaislamiento resultó positivo contados en sentido ascendente consecutivamente desde el trozo inferior/promedio de trozos por planta utilizados para efectuar el reaislamiento.
- (c) Cuando el número de trozos utilizados para efectuar el reaislamiento fue 3, éstos procedían de cuello, parte media y parte superior del tallo; si 4, de la parte superior de la raíz principal además de los tres anteriores; y si más de 4, de la parte superior de la raíz principal, cuello y tallo a diferentes niveles.

utilizados, salvo en algunos trozos del ápice caulinar. En los cultivares resistentes los reaislamientos resultaron positivos en el 58% de las plantas (cuadro 11), obteniéndose *F. oxysporum* de trozos de raíz, cuello y, a veces, de la parte inferior del tallo.

### 1.2. *Reacción a los aislamientos causantes de amarilleamiento vascular*

Los dos aislamientos utilizados de este grupo, FO-3 y FO-5, resultaron virulentos sobre los cultivares P-2245 y PV-24 y avirulentos sobre los WR-315, P-678 y JG-62. Ambos aislamientos indujeron la sintomatología descrita para el amarilleamiento vascular en los dos cultivares susceptibles.

Los primeros síntomas se observaron 10 días después de la inoculación en el cultivar P-2245 y la severidad final de las reacciones fue significativamente superior en este cultivar, que presentó el 100% de mortalidad 40 días después de la inoculación, que en el PV-24 que tuvo valores medios de severidad 2,5-4,1 en dicho tiempo y 4,2-4,9 a los 60 días después de la inoculación (cuadro 10).

Ningún síntoma morfológico se observó en el cultivar P-678 inoculado con el aislamiento FO-3, ni en los WR-315 y JG-62 inoculados con los aislamientos FO-3 y FO-5. En la parte interna del tallo y raíz principal se observó la coloración marrón característica, pero no en todas las plantas, y con intensidad tan escasa que resultaba casi imperceptible a la inspección visual rutinaria.

Los reaislamientos de *F. oxysporum* resultaron positivos en el 100% de las plantas susceptibles de todos los trozos de raíz principal y tallo utilizados, excepto de algunos del ápice caulinar (cuadro 11). En cambio en los cultivares resistentes el reaislamiento resultó positivo en el 71% de las plantas utilizadas, obteniéndose *F. oxysporum* de los trozos de raíz y cuello, exclusivamente.

El comportamiento patogénico de los aislamientos de amarilleamiento vascular varió con respecto al mostrado por los causantes de marchitez según los cultivares, puesto de manifiesto por la consistente interacción diferencial entre aislamientos y cultivares, y por el cambio en el patrón de ordenación de los aislamientos por su virulencia según los cultivares (cuadro 10). Cuarenta días después de la inoculación, alcanzado el climax del síndrome de marchitez, los aislamientos causantes de marchitez fueron virulentos sobre los cultivares JG-62, P-2245 y PV-24, y avirulentos sobre los WR-315 y P-678. Por el contrario, para el mismo tiempo, los aislamientos causantes de amarilleamiento vascular fueron avirulentos sobre los cultivares WR-315, P-678 y JG-62, similarmente virulentos que los causantes de marchitez sobre el cultivar P-2245 y menos virulentos que éstos sobre de cultivar PV-24.

### 1.3. *Reacción al aislamiento causante de amarilleamiento no vascular.*

Los cultivares P-2245 y PV-24 fueron susceptibles al aislamiento FO-19 y la sintomatología inducida en los cultivares fue la descrita como amarilleamiento no vascular. El cultivar P-2245 resultó ligeramente más susceptible que el local PV-24 (cuadro 10).

Los cultivares P-678 y JG-62 no manifestaron síntomas externos, aunque sí la coloración interna poco intensa del xilema.

Los reaislamientos efectuados confirmaron la presencia del hongo en el 100% de las plantas inoculadas de los cultivares P-678, P-2245 y PV-24, y en el 78% de JG-62 (cuadro 11), si bien los reaislamientos fueron positivos sólo de los trozos del cuello de las plantas (cuadro 11).

Un resumen de las reacciones observadas en los cinco cultivares para cada grupo de aislamientos se ilustra en la figura 18.

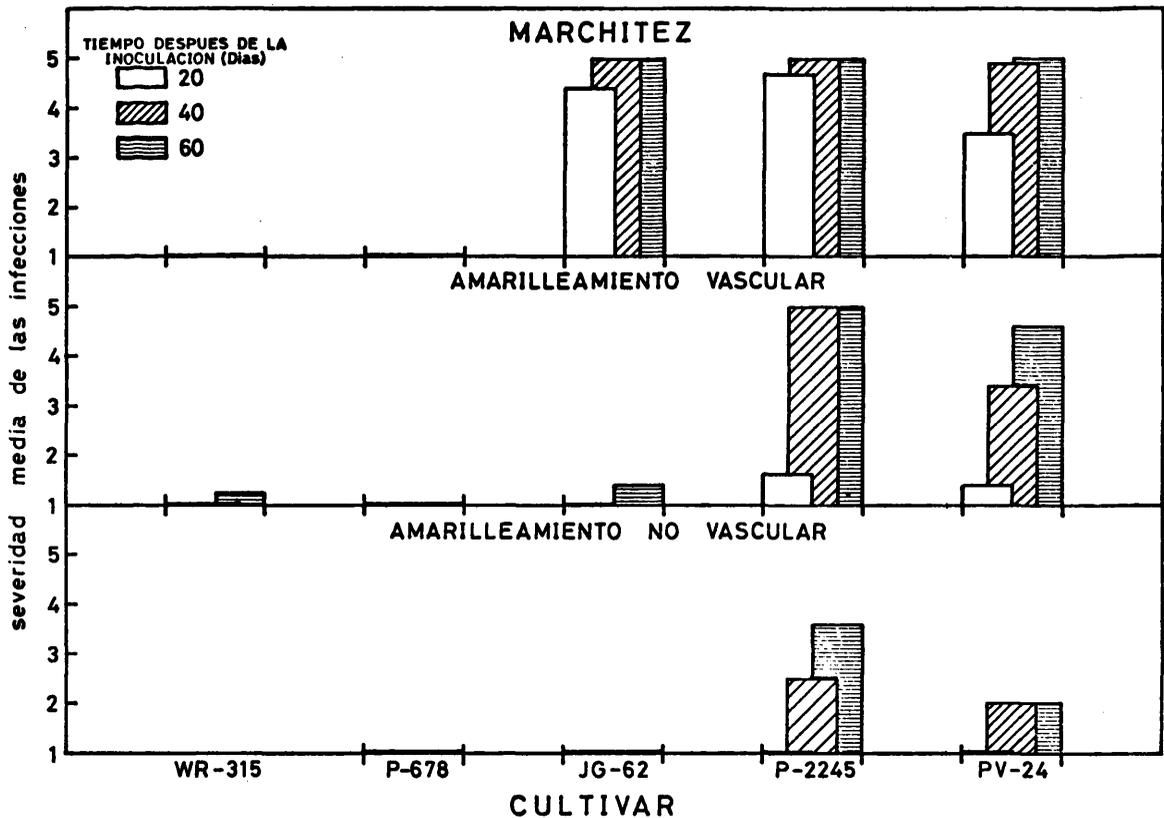


Fig. 18.—Resumen de la severidad de las reacciones en cultivares de garbanzo a la inoculación con *Fusarium oxysporum*. (La severidad indicada es media de 3 experimentos con dos aislamientos de marchitez, dos de amarilleamiento vascular y uno de amarilleamiento no vascular).

## 2. Reacción en cultivares de garbanzo a aislamiento de *Fusarium solani*

La severidad de las reacciones varió entre los dos experimentos desarrollados, posiblemente debido a diferencias ambientales ocurridas, con temperaturas y humedades relativas ligeramente superiores en el segundo experimento. Sin embargo, dicha variación fue solo cuantitativa en cuanto que afectó únicamente a la severidad de las infecciones en los cultivares susceptibles, pero no influyó en la separación de los cultivares por su susceptibilidad, por lo que los resultados han sido referidos al conjunto de los dos experimentos.

Las diferencias de patogenicidad entre los tres aislamientos ensayados (FS-0, FS-1 y FS-2) no fueron significativas (cuadro 12). El cultivar PV-24 fue el más susceptible, presentando la reacción severa temprana con una planta muerta en preemergencia y el 50% muertas antes de los 20 días después de la inoculación, y la reacción menos severa en las plantas supervivientes, con síntomas en ambas fases similares a lo indicado para la podredumbre negra de raíz en los ensayos de patogenicidad.

El segundo cultivar susceptible, P-2245, no presentó la fase severa en estado de plántula descrita para el PV-24. De las 36 plantas inoculadas con los tres aislamientos, una

Cuadro 12.—Severidad media (a) de las reacciones en los cultivares de garbanzo WR-315, JG-62, P-2245 y PV-24 a la inoculación con aislamientos de *Fusarium solani*

Experi- mento nº	Aisla- miento	Tiempo después de la inoculación (días)											
		20				40				60			
		WR-315	JG-62	P-2245	PV-24	WR-315	JG-62	P-2245	PV-24	WR-315	JG-62	P-2245	PV-24
1	FS-0	1,0 b	1,0	1,0	2,8	1,0	1,0	1,9	3,7	1,2	1,6	3,4	4,0
	FS-1	1,0	1,0	1,0	1,9	1,0	1,0	2,3	3,1	1,1	1,0	3,3	3,5
	Media	1,0 a	1,0 a	1,0 a	2,3 b	1,0 a	1,0 a	2,1 a	3,4 b	1,1 a	1,3 a	3,4 b	3,8 b
2	FS-0	1,0	1,0	2,2	5,0	1,0	1,0	2,9	5,0	1,9	2,3	3,4	5,0
	FS-2	1,0	1,0	1,0	3,6	1,0	1,0	3,0	4,0	1,6	2,7	3,3	3,0
	Media	1,0 a	1,0 a	1,6 a	4,2 b	1,0 a	1,0 a	3,0 a	4,5 c	1,8 a	2,5 ab	3,3 b	4,5 c

(a) Según una escala 1-5 (1=no síntomas; 5=planta muerta).

(b) Cada cifra es media de 3 repeticiones con 3 plantas/repetición. Para cada experimento y fecha de evaluación, medias seguidas de una letra común no son significativamente diferentes ( $P=0,05$ ), según el contraste de rango múltiple de Duncan (STEEL y TORRIE, 1960).

murió antes de la emergencia, otra antes de los 20 días después de la inoculación, y el resto presentó amarilleamiento que progresó gradualmente y sólo a los 60 días en el primer experimento (cuadro 12) y a los 40 en el segundo, difirió la reacción significativamente del testigo. La mayoría de las plantas mostraron lesiones necróticas irregulares de color negro en el cuello y raíz; y en más del 50% de ellas, las lesiones ocuparon todo el cuello y parte superior de la raíz principal. En dichas zonas, y a veces también en la parte baja del tallo aéreo, se observó el oscurecimiento de la médula y del xilema.

En los dos cultivares restantes WR-315 y JG-62, los únicos síntomas detectados fueron ligeras lesiones necróticas superficiales en cuello y raíz y la coloración interna en el cuello de algunas plantas.

*F. solani* se reaisló del 100% de las plantas inoculadas, tanto de los cultivares susceptibles como resistentes, si bien sólo de los trozos del cuello y raíz y a veces, más frecuentemente en los cultivares resistentes (16%), de la parte baja del tallo aéreo. Del resto de los trozos de tallo muestreados para efectuar el reaislamiento no se recuperó esta especie,

excepto en los cultivares WR-315, JG-62 y P-2245, en los que el aislamiento de la parte media del tallo resultó positivo en 4, 5 y 1 planta, respectivamente, de las 36 plantas de cada uno de ellos utilizadas en el reaislamiento.

## ESPECIALIZACION FISIOLÓGICA DE *FUSARIUM OXYSPORUM* Y *F. SOLANI*

### MATERIAL Y METODOS

Dos experimentos se han llevado a cabo para determinar la especialización fisiológica de aislamientos de *F. oxysporum* y *F. solani*. Ambos experimentos, uno con aislamientos de *F. oxysporum* y otro con aislamientos de *F. solani*, fueron similares respecto a la inoculación, condiciones de cultivo, especies vegetales, cultivares empleados y diseño experimental, por lo que se abordarán conjuntamente en este apartado.

Prácticamente interminable resultaría una investigación que tratase de determinar todos los posibles huéspedes de estas dos espe-

cies fúngicas y muy extenso también si este trabajo se restringiese «sólo» a las especies vegetales susceptibles a las diferentes formas especiales conocidas de *F. oxysporum* o *F. solani*; ya que en 1971 habían sido citadas 76 formas especiales de *F. oxysporum* y 18 de *F. solani* (BOOTH, 1971), algunas de ellas patógenos en varias especies vegetales, y este número continúa en incremento (ARMSTRONG y ARMSTRONG, 1981).

Debido a ello, en las investigaciones que abordan este tema, se utiliza siempre algún criterio de simplificación. Generalmente se eligen la(s) especie(s) vegetal(s) susceptible(s) a la forma especial estudiada más algunas botánicamente próximas para las cuales se conocen formas especializadas del patógeno, y a veces, las especies cultivadas y malas hierbas más frecuentes en el entorno donde se desarrolla la planta estudiada.

En estos experimentos se seleccionaron 11 leguminosas, cuyas características generales aparecen descritas en el cuadro 13, que fueron inoculadas con los aislamientos FO-0, FO-3 y FO-0 de *F. oxysporum* y FS-0 y FS-1, FS-3 (procedente de Marchena, Sevilla) y FS-9 (procedente de Bujalance, Córdoba y clasificado como *F. eumartii*) de *F. solani*.

La inoculación se realizó según el método

AMA. Tres semillas germinadas de cada cultivar se dispusieron por cada maceta, salvo en el caso de la alfalfa en que utilizaron 3 golpes de 3 semillas por maceta.

Los dos experimentos factoriales tuvieron un diseño experimental común en bloques al azar con 3 repeticiones y de cada especie vegetal se dispusieron los testigos correspondientes.

El resto de las condiciones experimentales fue similar a lo ya indicado, excepto la cantidad de agua utilizada en el riego diario. Haba, alfalfa y lentaja recibieron una cantidad diaria de agua similar al garbanzo (80-120 ml./maceta), mientras que judía, guisante, altramuz andino y soja, recibieron mayor cantidad (100-150 ml./maceta) y los altramuces blanco, azul y amarillo algo menos (50-100 ml./maceta).

Las plantas se observaron semanalmente por la presencia de síntomas, y a los 60 días de la siembra, se retiraron de las macetas efectuándose una observación detallada en todos sus órganos y realizando aislamientos de raíz principal (2 trozos) y tallo (1 trozo de parte subterránea). Para evaluar la severidad de las reacciones en la parte subterránea se utilizó una escala 1-5 cuyos valores enteros representaban, respectivamente, el 0, 5, 50,

Cuadro 13.—Leguminosas utilizadas para estudiar la especialización fisiológica de *Fusarium oxysporum* y *F. solani* aislados de plantas de garbanzo afectadas de la marchitez y podredumbre de raíz

Nombre botánico	Nombre común	Cultivar	Procedencia
<i>Cicer arietinum</i> L. ....	Garbanzo	P-2245	ICRISAT (a) (India)
<i>Glycine max</i> (L.) Merr. ....	Soja	Amsoy	INSPV (b) (Madrid)
<i>Lens esculenta</i> Moench. var. <i>vulgaris</i> Bar.	Lenteja	Desconocido	Muñoz García, S. A. (Albacete)
<i>Lupinus albus</i> L. ....	Altramuz blanco	Multulupa	Chile
<i>Lupinus angustifolius</i> L. ....	Altramuz azul	Unicrop	Australia
<i>Lupinus luteus</i> L. ....	Altramuz amarillo	Tremosilla	Portugal
<i>Lupinus mutabilis</i> Sweet. ....	Altramuz andino	Potosí	Perú
<i>Medicago sativa</i> ....	Alfalfa	Aragón	INSPV (Madrid)
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. ....	Judía	Contender	INSPV (Madrid)
<i>Pisum sativum</i> L. ....	Guisante	Lancet	INSPV (Madrid)
<i>Vicia faba</i> L. ....	Haba	Alameda	Semillas Pacífico, S.A. (Sevilla)

(a) International Crop Research Institute for the Semi-Arid Tropics.

(b) Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero.

75 y 100% de la superficie muestreada necrosada.

La patogenicidad de los cultivos obtenidos se contrastó sobre el cultivar de garbanzo PV-24 mediante el método de inoculación CSI.

## RESULTADOS

### 1. Especialización fisiológica de *Fusarium oxysporum*

De las once especies leguminosas que crecieron en suelo esterilizado infestado con los aislamientos FO-0, FO-3 y FO-9 de *F. oxysporum*, sólo garbanzo mostró síntomas foliares cuando se concluyó el experimento. Dicho cultivo mostró marchitez y 100% de

mortalidad a los 20 días con los aislamientos FO-0 y FO-9 y amarilleamiento vascular y 100% de mortalidad a los 40 días con el aislamiento FO-3. Estas reacciones en garbanzo fueron similares a las obtenidas con la misma combinación cultivar/aislamiento en experimentos anteriores.

A partir de los 60 días después de la siembra se hicieron las observaciones en los tejidos subterráneos e internos de las diez leguminosas restantes, no distinguiéndose síntoma alguno.

Los resultados correspondientes a los reaislamientos efectuados de cada especie inoculada, se presentan en el cuadro 14. En general, *F. oxysporum* fue reaislado de los trozos de la base del tallo y de la parte superior de la raíz con una frecuencia ligeramente superior que del trozo inferior de la raíz. Por lo

Cuadro 14.—Frecuencia de reaislamiento a partir de raíz y tallo de once especies leguminosas inoculadas con aislamiento de *Fusarium oxysporum*

Aislamiento (a)	Trozo vegetal (b)	Especie leguminosa										
		Alfalfa	Garbanzo	Guisante	Haba	Judía	Lenteja	<i>Lupinus albus</i>	<i>L. angustifolius</i>	<i>L. luteus</i>	<i>L. mutabilis</i>	Soja
FO-0	R-1	0/9 (c)	9/9	3/9	1/9	4/6	0/9	3/6	0/9	0/9	0/9	0/9
	R-2	0/9	9/9	6/9	1/9	4/6	0/9	5/6	0/9	0/9	0/9	0/9
	T	1/9	9/9	4/8	2/9	6/6	1/9	6/6	0/9	0/9	2/9	0/9
Total		1/9	9/9	8/9	3/9	6/6	1/9	6/6	0/9	0/9	2/9	0/9
FO-3	R-1	0/9	9/9	1/8	1/9	1/3	0/9	3/6	1/7	0/9	0/8	0/9
	R-2	0/9	9/9	3/8	1/9	1/3	0/9	3/6	1/7	0/9	0/8	0/9
	T	1/9	9/9	7/8	2/9	3/3	0/9	4/6	1/7	0/9	0/8	0/9
Total		1/9	9/9	7/8	2/9	3/3	0/9	4/6	1/7	0/9	0/8	0/9
FO-9	R-1	1/9	9/9	5/8	0/9	2/3	1/9	5/5	2/9	0/9	3/9	0/9
	R-2	1/9	9/9	6/8	0/9	3/3	1/9	5/5	3/9	0/9	4/9	0/9
	T	1/9	9/9	3/6	0/9	3/3	3/9	5/5	4/9	0/9	0/9	0/9
Total		1/9	9/9	7/8	0/9	3/3	3/9	5/5	4/9	0/9	4/9	0/9
TOTAL		3/27	27/27	22/24	5/27	12/12	4/27	15/17	5/25	0/27	6/26	0/27

(a) FO-0 y FO-9 causantes de marchitez y FO-3 causantes de amarilleamiento en cultivares susceptibles de garbanzo.

(b) Los aislamientos se efectuaron de 2 trozos de raíz principal, uno próximo al cuello de la raíz (R-2) y el otro algo más bajo (R-1), y un trozo del cuello (T).

(c) Número de plantas en las que el reaislamiento resultó positivo/nº de plantas muestreadas.

que, se refiere a la proporción de plantas, en las que el reaislamiento resultó positivo en cualquiera de los trozos utilizados (Total), cabe señalar que no existieron diferencias marcadas en tres los aislamientos, por lo que nos referiremos al total de plantas de cada especie para los tres aislamientos (TOTAL). Considerando las especies leguminosas, *F. oxysporum* se reaisló del 100% de los trozos de garbanzo muestreados y del 100%, 92% y 80% de las plantas de judía, guisante y *L. albus* muestreadas. Sólo de dos especies, *L. luteus* y soja, fueron negativos todos los intentos de reaislamiento, mientras que del resto de las especies se obtuvo *F. oxysporum* en una proporción igual o inferior al 20% de las plantas muestreadas. Todos los reaislamientos de *F. oxysporum* resultaron patogénicos, causando amarilleamiento vascular los obtenidos de las especies leguminosas inoculadas con el aislamiento FO-3, y marchitez los correspondientes a las inoculadas con los aislamientos FO-0 y FO-9.

## 2. Especialización fisiológica de *Fusarium solani*

Excepto alfalfa y soja, todas las especies leguminosas inoculadas mostraron algún tipo de síntoma, cuya severidad varió marcadamente entre especies y entre aislamiento de *F. solani*.

En garbanzo la reacción en el cultivar PV-24 fue similar a la ya conocida de experimentos anteriores aunque ligeramente más severa. Los aislamientos FS-0 y FS-9, causaron mortalidad del 100% de las plantas antes o poco después de la emergencia, mientras que los FS-1 y FS-3 la causaron en el 44 y 78% de las plantas, respectivamente, a los 20 días después de la siembra. Las plantas supervivientes mostraron un amarilleamiento de progreso acrópeto gradual, según el patrón ya conocido, cuya severidad media a

los 50 días después de la siembra fue 3,4 y 4,8, respectivamente. En la parte subterránea todas las plantas muertas estuvieron afectadas de prodredumbre de cuello y raíz; mientras que las plantas supervivientes presentaron lesiones necróticas superficiales de color negro a los 50 días después de la siembra. La severidad media de estas lesiones está expresada en el cuadro 16.

Haba fue la segunda especie en orden decreciente de susceptibilidad. Los aislamientos FS-0 y FS-9 indujeron una sintomatología severa en plántulas, causando retraso en la emergencia, enanismo y necrosis generalizada de color negro en la base del tallo y raíz principal, que progresó acrópetamente en el tallo, alcanzando el ápice caulinar y finalizando con muerte de la plántula (fig. 19 A). De 18 plantas inoculadas con los citados aislamientos, 8 murieron en estado de plántula (5 inoculadas con el aislamiento FS-9 y 3 con FS-0). Las plantas supervivientes mostraron clorosis y lesiones necróticas de color negro, en las hojas inferiores que comenzaron por los márgenes y, en los casos más severos, detención del crecimiento y flaccidez generalizada (fig. 19 B). También, algunas de las plantas supervivientes presentaron necrosis en el ápice caulinar en el estado de plántula, si bien, posteriormente desarrollaron varias ramas secundarias. Estas ramas, aunque no presentaron síntomas severos, al estar algo menos desarrolladas confirieron a la planta un porte característico.

Dado que aparentemente el crecimiento de un número elevado de plantas inoculadas fue inferior al de las plantas testigo no inoculadas, se midió su altura a los 28 días después de la siembra, para contrastar la significación de las sugeridas diferencias de crecimiento. Los resultados indican que la infección por los aislamientos FS-0 y FS-9 redujo, significativamente el crecimiento de las plantas (cuadro 15).

Cuadro 15.—Altura media a los 28 días de la siembra de plantas de haba (cultivar Alameda) y guisante (cultivar Lancet) inoculadas con aislamiento de *Fusarium solani*

Aislamiento	Altura cm	
	Haba	Guisante
FS-0 .....	15*a	23
FS-1 .....	24 b	18
FS-3 .....	26 b	23
Fs-9 .....	9 a	20
Testigo .....	29 b	24

\* Cada cifra es media de 3 repeticiones con 3 plantas/repeticion. Para cada especie, medias seguidas de una letra común no son diferentes significativamente ( $P=0,05$ ), según el contraste de DUNNETT.

Todas las plantas inoculadas presentaron lesiones necróticas de color negro en la raíz y base del tallo, cuando se retiraron de las macetas 50 días después de la siembra. La severidad de estas lesiones estuvo directamente relacionada con la de la sintomatología foliar (fig. 19 C); esto es, las plantas que tuvieron un crecimiento normal, con ligeras lesiones necróticas en las hojas bajas, presentaron el sistema radicular bien desarrollado similar al de las plantas no inoculadas y las lesiones subterráneas estuvieron restringidas a la base del tallo y parte superior de la raíz principal. En plantas con síntomas foliares más severos e inferior desarrollo, el sistema radicular estuvo también menos desarrollado y la necrosis afectó más severamente a la raíz y base del tallo. En plantas muy severamente afectadas, la necrosis progresó hacia arriba en el tallo ocurriendo la podredumbre del cuello y raíz, que quedaron de color negro.

La severidad de la reacción con los aislamientos FS-1 y FS-2 fue menor. Ninguno de ellos indujo la sintomatología severa en plántula, ni causó muerte de plantas. En la parte aérea los síntomas observados fueron clorosis y necrosis ligeras que comenzaron por los márgenes de las hojas. En 2 plantas ocurrió necrosis en el ápice caulinar, des-

arrollándose posteriormente, nuevas ramas secundarias. Los síntomas que afectaron la parte subterránea fueron similares a los descritos para los aislamientos FS-0 y FS-9, aunque de inferior severidad (cuadro 16).

Además de garbanzo y haba, también guisante presentó síntomas en la parte aérea. Como para las otras dos especies leguminosas. FS-0 y FS-9 fueron más virulentos que FS-1 y FS-3, si bien las diferencias entre los dos grupos de aislamiento fueron menos acusadas que en el caso de haba y garbanzo. Los primeros síntomas foliares se observaron a los 20 días de la siembra en 2 de las plantas inoculadas con cada uno de los aislamientos FS-0 y FS-9, y consistieron en clorosis de las hojas inferiores y retraso del crecimiento. Dado que algunas plantas presentaron un crecimiento inferior, se midió su altura a los 28 días de la siembra. Los resultados (cuadro 15) indican que, en promedio, las diferencias de crecimiento entre plantas inoculadas con los diferentes aislamientos, o no inoculadas, no fueron significativas.

Transcurridos 40 días desde la siembra comenzó a desarrollarse una nueva clorosis y desecación en las hojas bajas, que adquirieron un color verde-grisáceo. Diez días más tarde, al finalizar el experimento, 5, 3, 4 y 3 de las plantas inoculadas con cada uno de los aislamientos FS-0, 1, 3 y 9, presentaron síntomas foliares, cuya severidad media en una escala 1-5 fue 3,4, 2,8, 2,1 y 2,8, respectivamente.

La severidad de los síntomas en la parte subterránea varió marcadamente entre aislamientos (cuadro 16). Las plantas inoculadas con los aislamientos FS-1 ó FS-3 presentaron lesiones puntuales de color marrón a negro en el cuello y raíz, mientras que en las inoculadas con los aislamientos FS-0 ó FS-9, se desarrollaron lesiones necróticas superficiales de color negro que cubrieron toda la superficie del cuello y raíz principal (fig. 20), y puntuaciones necróticas de color

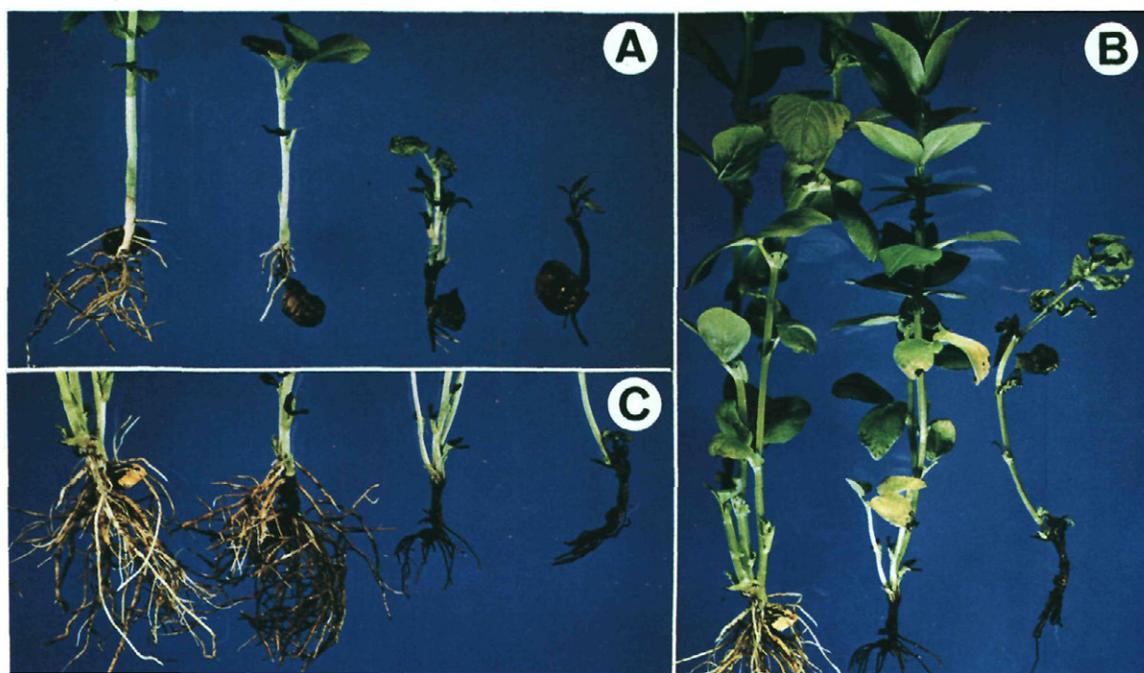


Fig. 19.—Síntomas en haba causadas por *Fusarium solani*. A) Reacción en plántula. (Izquierda: testigo no inoculado). B) Reacción en planta adulta. (Izquierda: testigo no inoculado). C) Resumen de la reacción en la parte subterránea (Izquierda: testigo no inoculado).

marrón en la parte baja del tallo. Dichas necrosis se acentuaron en extensión y profundidad en los tejidos de plantas severamente afectadas (fig. 20).

El resto de las especies leguminosas inoculadas (judía, lenteja, *L. albus*, *L. angusti-*

*folius*, *L. luteus* y *L. mutabilis*) no mostraron síntoma alguno en la parte aérea. Sin embargo, en los tejidos subterráneos se observaron lesiones necróticas superficiales, irregulares, de color marrón oscuro a negro (fig. 21), cuya severidad media se presenta en

Cuadro 16.—Severidad media (a) de las lesiones en la parte subterránea (b) de once especies leguminosas inoculadas con aislamientos de *Fusarium solani*

Aislamiento	Especie leguminosa										
	Alfalfa	Garbanzo	Guisante	Haba	Judía	Lenteja	<i>Lupinus albus</i>	<i>L. angustifolius</i>	<i>L. luteus</i>	<i>L. mutabilis</i>	Soja
FS-0	1,0 (c)	5,0	5,0 a	4,3 a	2,5 a	3,8 a	2,7 a	3,2 a	3,0 a	2,5 a	1,0
FS-1	1,0	4,0	2,7 b	2,4 b	2,1 b	2,1 b	2,2 b	2,3 b	1,8 b	1,9 b	1,0
FS-3	1,0	4,8	2,1 c	2,4 b	1,3 b	1,3 b	2,1 b	1,6 b	3,3 a	1,6 b	1,0
FS-9	1,0	5,0	5,0 a	4,6 a	3,2 a	4,4 a	3,0 a	3,3 a	3,2 a	3,1 a	1,0

(a) Según una escala 1-5 (1=no síntomas; 5=100% de la superficie evaluada recrosada).

(b) La observación se efectuó en la base del tallo y parte superior de la raíz principal (≈5 cm. bajo la superficie del suelo).

(c) Cada cifra es media de 3 repeticiones con 3 plantas/repeticion. Para cada especie leguminosa, medias seguidas de una letra común no son diferentes significativamente (P=0,05).

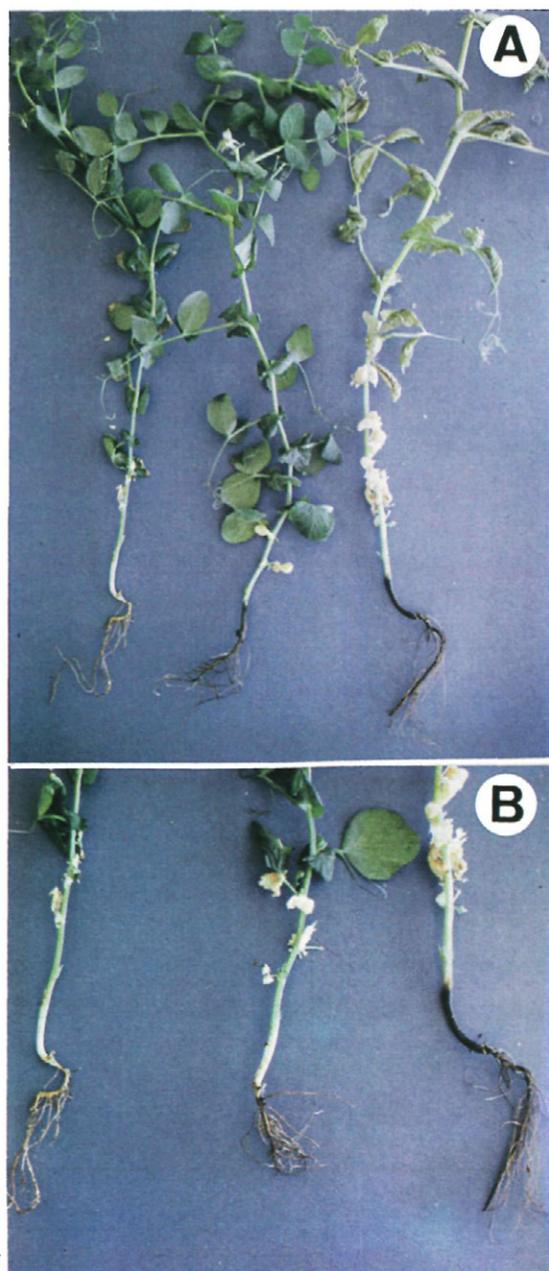


Fig. 20.—Síntomas en guisante causados por *Fusarium solani*. A) Reacción a los aislamientos más virulentos (centro y derecha), a testigo no inoculado (izquierda). B) Reacción en la parte subterránea a la inoculación con aislamientos de diferente capacidad patogénica (centro y derecha), testigo no inoculado (izquierda). La reacción más severa corresponde al aislamiento clasificado como *F. eumartii* (derecha).

el cuadro 16. El análisis estadístico de la reacción en la parte subterránea en este grupo de especies leguminosas confirmó las diferencias de patogenicidad entre los grupos de aislamiento FS-0 y FS-9 y los FS-1 y FS-3, y la similitud dentro de cada grupo; excepto para *L. luteus* en el que la reacción al aislamiento FS-3 difirió de la del FS-1 y fue similar a la de los FS-0 y FS-9.

Los resultados de los aislamientos efectuados de trozos de tallo y raíz de las plantas inoculadas, pusieron asimismo, de manifiesto las diferencias ya observadas entre especies leguminosas y aislamientos. Salvo de alfalfa y lenteja, todos los reaislamientos de plantas inoculadas con cualquiera de los cuatro aislamientos resultaron en cultivos de *F. solani*, y los reaislamientos fueron algo más consistentes de los trozos de la base del tallo y parte superior de la raíz principal. En alfalfa el reaislamiento resultó positivo en 7, 0, 1 y 8 plantas de las 9 inoculadas con cada uno de los aislamientos FS-0, FS-1, FS-3 y FS-9. Y en lenteja, también para 9 plantas, el reaislamiento resultó positivo en 9, 5, 7 y 9 plantas, respectivamente.

Todos los reaislamientos de *F. solani* resultaron patogénicos induciendo los síntomas característicos de podredumbre negra de raíz causados por esta especie en el cultivar PV-24 con el método de inoculación CSI.

## DISCUSION

En España, desde que Benlloch (BLANCO, 1980), citara por primera vez una especie de *Fusarium* asociada con las raíces de plantas de garbanzo afectadas de una marchitez severa, se ha venido catalogando tradicionalmente bajo la denominación de Fusariosis cualquier planta muerta o afectada por una desecación general o parcial pero sin síntomas de Rabia, y ha sido conocida popularmente como Seca, Quema, Afoga-



Figs. 21.—Síntomas en judía, lenteja y *Lupinus* spp. causados por *Fusarium solani*. A) Síntomas en lenteja (derecha), testigo no inoculado (izquierda). B) Síntomas en *Lupinus albus* (derecha), testigo no inoculado (izquierda). La reacción fue similar para las otras especies de *Lupinus* inoculadas: *L. angustifolius*, *L. luteus* y *L. mutabilis*. C) Síntomas en judía (derecha), testigo no inoculado (izquierda).

rado o con cualquier otro sinónimo igualmente simbólico.

Nuestras observaciones sobre el desarrollo de la denominada Fusariosis o Seca del garbanzo, han permitido diagnosticar cinco complejos sintomatológicos asociados con dicha «enfermedad». Dichos complejos, claramente diferenciables entre sí en las primeras fases del desarrollo sintomatológico, resultaron casi indistinguibles entre sí en plantas severamente afectadas, por lo que los hemos incluido, en base a los síntomas más sobresalientes, bajo la denominación común de Marchitez y Podredumbre de Raíz (MPR).

La denominación que hemos asignado a cada uno de los complejos sintomatológicos ha atendido a los síntomas caracterizados y a las referencias existentes sobre los mismos en la literatura (NENE *et al.*, 1978; WETERLUND *et al.*, 1974), incluyendo amarilleamiento,

marchitez, podredumbre seca de raíz, enanismo amarillento y clorosis. Por la sintomatología observada, marchitez, podredumbre seca de raíz y clorosis se corresponden estrechamente con los síntomas característicos de tres enfermedades del garbanzo (NENE, 1980; NENE *et al.*, 1978). También, en lo esencial, los síntomas del complejo enanismo amarillento se corresponden con los descritos para una virosis del garbanzo conocida como «Stunt» (KAISER y DANESH, 1971; NENE *et al.*, 1978; NENE y REDDY, 1976), aunque algunos de los síntomas distinguidos en nuestras observaciones como el enanismo parcial, estriado ligero del tallo, crecimiento en zig-zag y necrosis del ápice caulinar, no han sido citados como características de esta enfermedad. El calificativo de «Amarillento» ha sido añadido a enanismo o «stunt» para resaltar el amarilleamiento de

las hojas como el síntoma más conspicuo en campo. NENE *et al.*, 1978, señalaron el amarilleamiento como una característica de los síntomas de «stunt» en los cultivares tipo «kabuli», dentro de los cuales se incluyen todos los observados por nosotros, frente a la coloración pardo-rojiza en los de tipo «desi».

En el complejo sintomatológico amarilleamiento de situación fue más confusa, principalmente debido a la escasa especificidad de los síntomas aéreos externos, cuya diferencia con la reacción normal de senescencia de la planta es sólo cuantitativa y fenológica. Dentro de este complejo sintomatológico se han distinguido con coloración marrón de xilema en el tallo (amarilleamiento vascular) o sin esta coloración y con podredumbre del cuello y raíz o sin ella; y frecuentemente estuvo asociado con otros complejos sintomatológicos en la misma planta. Unida a la escasa especificidad de los síntomas de este complejo, su asociación con diferentes factores del suelo o culturales sugiere la naturaleza multifactorial de su etiología, donde diferentes patógenos o factores abióticos podrían estar implicados aisladamente o interrelacionados (WALLACE, 1978).

Frecuentemente varios complejos fueron observados en el mismo campo (fig. 7) y a menudo en la misma planta, circunstancias ambas que junto con la sintomatología común en plantas severamente afectadas, hicieron dificultoso el diagnóstico y posiblemente han contribuido a la consideración de enfermedad única asignada anteriormente al conjunto de complejos.

Esta imagen de complejidad y confusión está particularmente resaltada en las muestras de plantas enfermas que nos fueron enviadas para su diagnóstico (cuadro 6). Aunque el número de plantas por muestra fue muy reducido, se diagnosticaron distintos complejos sintomatológicos en algunas

muestras e incluso varios complejos en la misma planta.

Aunque con diferencias entre ellos, los diferentes complejos integrados en la MPR del garbanzo estuvieron regular y ampliamente distribuidos en la Campiña de Córdoba y Sevilla y por las muestras enviadas de otros lugares existe también evidencia de que al menos alguno de ellos esté presente en la Sierra de Córdoba y en la Campiña de Jaén. Amarilleamiento y marchitez fueron los complejos más frecuentemente observados y su importancia fue mayor en 1980, que en 1979, años que difirieron por una temperatura más elevada durante el período de cultivo y una pluviometría anual inferior en 1980. Los tres complejos restantes tuvieron una incidencia baja y similar durante ambos años. En 1981, los muestreos no fueron sistemáticos y la mayor parte de ellos se realizaron en las últimas fases de cultivo, después de un período de temperaturas excepcionalmente altas en un año además extremadamente seco. La alta mortalidad de plantas observadas en este año, atribuida por los agricultores a las condiciones desfavorables mencionadas, estuvo asociada en el 81% de los casos con síntomas de podredumbre seca de raíz. En 1981, pues, la alta mortalidad referida y la tardía realización de los muestreos, pudo enmascarar la ocurrencia del resto de los complejos sintomatológicos que tuvieron una incidencia ligeramente inferior a la registrada en 1979 y 1980 (cuadro 1).

Durante los 3 años de prospecciones se observó una marcada correlación entre la incidencia del complejo amarilleamiento y marchitez severos y el cultivo de garbanzo en la misma parcela en años anteriores; y entre el complejo enanismo amarillento y el tamaño reducido y localización de las parcelas próximas a las poblaciones. Para el resto de los complejos no fue apreciada correlación alguna con características geográficas o culturales.

Aunque en nuestras observaciones no hemos evaluado la influencia de la MPR sobre el rendimiento del cultivo, una estimación media aproximada para 1979-80, los 2 años de prospección sistemática, basada, principalmente, en la incidencia de plantas severamente afectadas o muertas, podría ser 3-5% para el complejo amarilleamiento, 6-10% para amarilleamiento y marchitez severos, menos del 1% para podredumbre seca de raíz, 1-3% para enanismo amarillento, y menos del 1% para clorosis; que totalizado daría una pérdida media anual aproximada del 15%. Esto exceptuando el año 1981, en el que por las condiciones excepcionalmente adversas, las pérdidas asociadas con este grupo de enfermedades pudieron superar el 50%.

No obstante, conviene resaltar que esta estimación se ha realizado para unos años excepcionalmente secos y que en años climatológicamente normales estos valores podrían ser inferiores como parecen indicar los datos de 1979, año muy seco durante el período de cultivo pero normal en cuanto a la pluviometría media.

Otras enfermedades no englobadas en el complejo MPR y diagnosticadas en el período 1979-81, en base a la sintomatología observada durante las prospecciones, como rabia, roya y jopo tuvieron una incidencia inferior al 1% en los 4, 2 y 5 campos, respectivamente, en los que fueron observadas durante los 3 años de muestreo.

Los datos señalados anteriormente, permiten destacar a la MPR como la enfermedad más importante del garbanzo, responsable de pérdidas severas de cosecha en la campiña de Córdoba y Sevilla durante 1979-81. Datos que además, concuerdan con la importancia que tiene este complejo de enfermedades en la mayoría de los países donde se cultiva esta leguminosa (ECHANDI, 1970; HAWTIN y CHANCELLOR, 1978; ICRISAT, 1975; ICRISAT, 1979; MORALES *et al.*, 1982; REDDY *et al.*, 1980; WETERLUND, 1974).

Respecto a los agentes asociados con la MPR, aparte del trabajo citado de BENLLOCH, 1941, no se conocía nada en España cuando iniciamos estas investigaciones. Los resultados que hemos obtenido en ellas indican la asociación consistente de tres especies fúngicas *Fusarium oxysporum*, *F. solani* y *Macrophomina phaseolina* con los complejos sintomatológicos descritos. Las características morfofisiológicas de cada una de ellas fueron similares a las descripciones publicadas de las respectivas especies (BOOTH, 1971; DHINGRA y SINCLAIR, 1978; GOIDANICH, 1964; GOIDANICH y CAMICI, 1946; GOIDANICH y CAMICI, 1947; HOLLIDAY y PUNITHALINGAM, 1970; REICHERT y HELLINGER, 1947), salvo para un grupo de aislamientos de *F. oxysporum* que hemos denominado como grupo rojo para facilitar su referencia y un aislamiento de *F. solani*, que fueron identificados por Booth como *F. oxysporum* y *F. eumartii*, respectivamente. No obstante, hemos mantenido la denominación de *F. solani* para todos los aislamientos de *F. solani* y *F. eumartii* ya que esta última especie es todavía considerada como *F. solani* en el sistema taxonómico del propio Booth seguido por nosotros (BOOTH, 1971; BOOTH, 1977).

Otros organismos como diversos géneros de hongos, bacterias y nematodos no fueron consistentemente aislados con ningún síntoma concreto, aunque estuvieron presentes principalmente en el cuello y sistema radicular de plantas afectadas de necrosis extensas en dichas zonas.

El cuello de la planta fue la zona de donde con mayor frecuencia se aislaron los diferentes hongos asociados con la MPR. La frecuencia de aislamiento de dichos hongos mostró correlación muy estrechas con los síntomas característicos de los complejos incluidos en ella, lo que sugiere el papel causativo entre *F. oxysporum*-salmón y amarilleamiento y/o marchitez vasculares; *F. oxysporum*-rojo y amarilleamiento no vascu-

lar con lesiones marrón-negro en el cuello y raíz; *F. solani* y amarilleamiento no vascular con lesiones extensas de color negro en cuello y raíz, y también frecuentemente, menor desarrollo y marchitez de algunas ramas de la planta; así como *M. phaseolina* y podredumbre seca de raíz. Pero los límites entre dichas combinaciones no fueron netos y frecuentemente se aislaron varios de los hongos referidos de la misma planta (cuadro 3, 4, 5).

La situación aunque compleja también, es menos confusa en la primera y última de las combinaciones señaladas. *F. oxysporum*-salmón se aisló casi exclusivamente de plantas con amarilleamiento y/o marchitez vasculares (coloración marrón oscuro del xilema-médula), y el tipo de crecimiento de la colonia a partir del trozo (fig. 8) sugieren una infección sistémica por aquel organismo. Con ligeras diferencias sintomatológicas dicha asociación se corresponde con la descrita para la marchitez causada por *F. oxysporum* (CHAUNAN, 1962; ERWIN, 1958 a; ERWIN y SNYDER, 1958; GREWAL *et al.*, 1974 b; WETERLUND *et al.*, 1974).

Igualmente conclusiva es la asociación *M. phaseolina*/Podredumbre Seca de Raíz. Esta asociación se corresponde estrechamente con la enfermedad conocida como podredumbre seca de raíz (NENE, 1980; NENE *et al.*, 1978), la cual está estrechamente relacionada con temperaturas altas (NENE, 1980), principalmente en las últimas etapas del cultivo (DASTUR, 1935; NENE, 1980).

En el caso de *F. solani* y *F. oxysporum*-rojo la situación es menos clara. Aunque ambos organismos fueron aislados a veces en solitario, asociados con los síntomas señalados anteriormente, más frecuentemente se obtuvieron de plantas con lesiones necróticas más o menos extensas, afectadas además de cualquiera de los otros complejos sintomatológicos y con frecuencia asociados entre sí (cuadro 5, 6). Este hecho sugiere la existencia de infecciones múltiples (GROGAN, 1981; KRAFT *et al.*, 1981; WALLACE, 1978). cuya

secuencia sólo puede ser demostrada experimentalmente.

La causa multifactorial indicada para el complejo amarillento en base a la escasa especificidad de los síntomas, fue apoyada con los resultados de los aislamientos (cuadro 4). Salvo por los aislamientos de *F. solani* y *F. oxysporum*-rojo ya citados, con frecuencia ningún organismo creció en los intentos de aislamientos de plantas afectadas de amarilleamiento no vascular. En tales casos, el amarilleamiento estuvo asociado con situaciones irregulares en los campos, como daños por insectos, densidades de plantas muy altas, o factores ligados al suelo (cuadro 4), cuya influencia sobre este complejo ha sido también considerada por diversos autores (WETERLUND *et al.*, 1974), y que aparte de dificultar el diagnóstico de problemas fitopatológicos más definidos podrían interaccionar con los agentes primarios comunicando complejidad a la causa (GROGAN, 1981; WALLACE, 1978).

Los aislamientos de plantas afectadas de enanismo amarillento y clorosis, resultaron consistentemente en ausencia de crecimiento de microorganismos, siempre que el tejido muestreado procediera de plantas en los primeros estados sintomatológicos del complejo correspondiente. Ello, unido a la similitud de los síntomas observados con los descritos por otros autores (NENE, 1980; NENE *et al.*, 1978) y a la confirmación de dicha similitud hecha por J. B. Smithson (Comunicación personal), sugiere que el enanismo amarillento y la clorosis observadas por nosotros pueda corresponder al «Stunt» causado por PLRV, y a una deficiencia férrica, respectivamente. Aunque, en el caso del enanismo amarillento, podrían estar implicados otros virus ya que síntomas similares han sido descritos para otras virosis de garbanzo (ERWIN y SNYDER, 1958; KAISER y DANESH, 1971 b; KAISER y NENE, 1975; SNYDER *et al.*, 1956), y en nuestras observaciones hemos distinguido también algunos

síntomas ligeramente diferentes a los característicos del «stunt». En este trabajo no se ha realizado ningún esfuerzo adicional sobre la naturaleza etiológica de los dos complejos sintomatológicos referidos, salvo por la remisión de síntomas obtenida en plantas cloróticas cuando se corrigió la carencia férrica con un quelato de hierro.

*Fusarium oxysporum*, *F. solani* y *Macrophomina phaseolina*, resultaron patogénicas para garbanzo en inoculaciones artificiales, induciendo síntomas similares a los que dichas especies estuvieron consistentemente asociadas en las observaciones en campo. Aunque BENLLOCH, 1941, citó a *Fusarium* sp. en garbanzos afectados de Fusariosis, esta es la primera vez que se describe a *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. eumartii* y *M. phaseolina* como causantes de infecciones en cultivos de garbanzo en nuestro país.

*F. oxysporum* fue la especie que tuvo un rango de patogenicidad más amplio. Los grupos salmón y rojo de aislamiento que se distinguieron durante las prospecciones en base a su morfología, localización en la planta y tipo de crecimiento a partir del tejido vegetal utilizado para el aislamiento, difirieron también marcadamente en su patogenicidad para garbanzo.

Todos los aislamientos del grupo salmón indujeron infecciones vasculares, pero en la parte aérea de la planta unos causaron amarilleamiento vascular y otros marchitez. Esta situación es conocida en otras marchiteces vasculares causadas por *F. oxysporum* (BOOTH, 1971; BOUMOT, 1981; BUXTON, 1955; COLHOM, 1981; LOUVET y TOUTAIN, 1981; NELSON *et al.*, 1981), y con garbanzo WESTERLUND *et al.*, mencionan un amarilleamiento como único síntoma inducido por aislamiento de *F. oxysporum* en inoculaciones artificiales. Sin embargo, esta es la primera vez que se menciona la existencia de biotipos distintos de *F. oxysporum* causantes de amarilleamiento y de marchitez vasculares

en garbanzo. Los primeros estuvieron más ampliamente distribuidos, ya que de nueve aislamientos contrastados siete fueron causantes de amarilleamiento vascular, una situación similar a la descrita para la marchitez del melón en Francia (MAS *et al.*, 1981). Exceptuando la naturaleza vascular de las infecciones, no existió una correlación estrecha entre el síndrome observado en las prospecciones y el inducido en inoculaciones artificiales, lo que sugiere que otros factores presentes en el campo deben actuar como modificadores en el síndrome de la enfermedad. Entre estos factores se pueden citar: infecciones por otros patógenos como *F. solani* y *F. oxysporum*-rojo, ya que estos hongos fueron frecuentemente aislados de plantas con amarilleamiento y marchitez vasculares, y evidencia sobre este aspecto ha sido demostrada para la interacción *F. oxysporum* + *F. solani* en otros huéspedes (CHAUHAN, 1960; JONES y WOLTZ, 1981; KRAFT *et al.*, 1981; STOVER, 1981); el genotipo de la planta (NELSON *et al.*, 1981; NENE *et al.*, 1978); o factores ambientes (NELSON *et al.*, 1981). Las diferencias de patogenicidad intra-grupo entre los aislamientos causantes de amarilleamiento o de marchitez vasculares, no fueron significativas (cuadro 7), pero sí existieron diferencias marcadas entre los cuatro métodos de inoculación contrastados: AMA, IR, VCPD y CSI. Los valores medios de severidad alcanzados a los 40 días de la inoculación con los tres primeros métodos y a los 15 días de la inoculación con el 4º, para un aislamientos de amarilleamiento vascular y el cultivar PV-24, fueron 3.0, 1.1, 1.3 y 3.1, respectivamente, lo que pone de manifiesto el papel decisivo que tiene el potencial de inóculo en el desarrollo de las infecciones y la no necesidad de heridas para que ocurra la infección, circunstancia ésta puesta de manifiesto desde los primeros trabajos sobre la marchitez de garbanzo (MARASIMHAN, 1929), aunque en algunos casos (ECHANDI, 1970; ERWIN, 1958 a; WESTERLUND *et*

al., 1974) se haya destacado un efecto favorable.

Respecto a la especialización fisiológica de los aislamientos de amarilleamiento y marchitez vasculares, los resultados de la inoculación de once especies leguminosas con un aislamiento de *F. oxysporum* de cada tipo, así como con un cultivo procedente del ICRISAT, India, posiblemente de la raza 1 (HAWARE y NENE, 1982), indican que ambos aislamientos al igual que el del ICRISAT muestran especialización patogénica para garbanzo, por lo que pueden ser considerados como *F. oxysporum* f. sp. *ciceri*. No obstante, es aconsejable realizar posteriores inoculaciones utilizando otros cultivares de éstas y de otras especies, para ampliar el rango de validez de esta conclusión. Aunque no se efectuaron observaciones microscópicas para confirmar la existencia de infección, los resultados de los aislamientos efectuados a partir de trozos de raíz y de la parte baja del tallo (cuadro 14), señalan que guisante, judía y *Lupinus albus* presentaron infecciones asintomáticas, y que *Lupinus luteus* y soja no fueron infectadas. Los resultados obtenidos del resto de las especies no permiten extraer conclusiones en este sentido, ya que los aislamientos resultaron negativos en más del 80% de las plantas, pero no en el 100% de las mismas. De las especies inoculadas guisante y lenteja han sido citadas como huéspedes asintomáticos de *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* (HAWARE y NENE, 1982 a; WETERLUND *et al.*, 1974), pero judía no resultó infectada en dichas investigaciones y *L. albus* no ha sido nunca contrastado como posible huésped. Las conclusiones sobre las implicaciones epidemiológicas de estos resultados requieren de posteriores inoculaciones en plantas de gran cultivo en el Valle del Guadalquivir y en malas hierbas, principalmente leguminosas.

Dos aislamientos causantes de amarilleamiento vascular, uno de marchitez y el anteriormente señalado procedente de ICRISAT,

fueron también inoculados sobre diferentes cultivares de garbanzo de reacción diferencial previamente conocida. Los resultados de estas inoculaciones pusieron de manifiesto una marcada diferencia entre el aislamiento local causante de marchitez, que tuvo un comportamiento patogénico similar al aislamiento del ICRISAT (raza 1), y los aislamientos causantes de amarilleamiento vascular, por lo que ambos pueden ser considerados como razas diferentes, si bien su exacta denominación requerirá de posteriores inoculaciones de la gama de cultivares diferenciadores raciales desarrollados por el ICRISAT (HAWARE y NENE, 1982 b). Aunque nuestros resultados indican una mayor adaptación de los aislamientos de amarilleamiento vascular para cultivares del tipo «kabuli», esta conclusión no puede generalizarse, ya que observaciones de campo en una parcela infestada naturalmente en Montilla, donde no se ha detectado hasta ahora la existencia de biotipos causantes de marchitez, señalan que algunos cultivares de tipo «desi» son también extremadamente susceptibles.

Entre los cultivares susceptibles a los aislamientos causantes de amarilleamiento vascular existieron también diferencias significativas de susceptibilidad, caracterizadas por un progreso más rápido del amarilleamiento asociado con ligeros síntomas de marchitez en el cultivar más susceptible, lo que confirma que el genotipo de la planta puede influir también decisivamente en la expresión sintomatológica.

Los aislamientos de *F. oxysporum*-rojo, resultaron escasamente patogénicos (cuadro 7), aunque existió infección en todas las plantas inoculadas. En la parte aérea los síntomas inducidos fueron amarilleamiento, pero esta reacción resultó muy errática, siendo más consistente la reacción en el cuello de las mismas plantas que presentaron lesiones necróticas corticales de color pardonegro. También se observó una coloración

marrón del xilema, pero ésta estuvo restringida al cuello y parte baja del tallo.

En garbanzo se han citado aislamientos de *F. oxysporum* que difieren en morfología y patogenicidad. ERWIN, 1958, obtuvo ocasionalmente de plantas con marchitez aislamientos de *F. oxysporum* caracterizadas por una pigmentación lavanda del micelio, pero que resultaron no patogénicos en inoculaciones artificiales. Varios autores (CHATTOPADHYAY y SEN, 1967; CHAUHAN, 1962 b; SNYDER y SMITH, 1981) también señalan la existencia de variantes culturales de *F. oxysporum* aislados de garbanzo con marchitez pero no observaron correlación con la patogenicidad. De otra parte, aunque *F. oxysporum* causa principalmente marchiteces vasculares en numerosos huéspedes, también ha sido frecuentemente citada esta especie asociada con necrosis corticales en las partes subterráneas (BOOTH, 1971; CHI, 1965; LINDERMAN, 1981; NELSON *et al.*, 1981) y en varias especies vegetales se han citado además de la forma especializada causante de marchitez, biotipos causantes de necrosis radiculares (BOOTH, 1971; JARVIS y SHOEMAKER, 1978; JONES y WOLTZ, 1981; NELSON *et al.*, 1981; ROWE, 1980).

Aunque no hemos estudiado la especialización fisiológica de los aislamientos del grupo rojo, la escasa especificidad y severidad de los síntomas que inducen, junto con las observaciones de campo, sugieren que su rango de huéspedes pueden ser amplio como se ha demostrado en otras enfermedades similares (CHI, 1965; ROWE, 1980), y que en garbanzo las plantas infectadas muestren síntomas conspicuos sólo bajo condiciones subóptimas de crecimiento como ha sido postulado o demostrado en diferentes cultivos (CHI, 1965; KOMMEDAHL y WINDELS, 1981; MARIC, 1981; ROWE, 1980; SALT, 1979; ZERLIK, 1979).

El comportamiento patogénico de los aislamientos de *F. oxysporum*-rojo sobre diferentes cultivares de garbanzo resultó similar

a lo indicado para los *F. oxysporum*-salmón causantes de amarilleamiento, con las diferencias ya señaladas del tipo de síntoma y severidad de las infecciones. Idéntico comportamiento sobre los diferentes cultivares mostraron los aislamientos de *F. solani*, pero su capacidad patogénica fue más acusada para los cultivares susceptibles, y particularmente para el cultivar local en el que indujeron además de los síntomas característicos similares a lo señalado para *F. oxysporum*-rojo, flacidez, detención del crecimiento, podredumbre de cuello y raíz de color negro y muerte en pre y post-emergencia. Esta reacción resultó extremadamente severa con el método de inoculación por cultivo en agua (cuadro 8). Diferencias de patogenicidad entre aislamientos de *F. solani* también fueron puestas de manifiesto en diferentes experimentos, estando entre los más patogénicos el aislamiento posteriormente caracterizado como *F. eumartii*.

Respecto a la especialización fisiológica de *F. solani*, aunque se citan 18 formas especializadas de este patógeno (BOOTH, 1971), cuatro de ellas asociadas con leguminosas: *fabae*, *lupini*, *phaseoli* y *pisi*, los límites entre ellas, al menos patogénicamente, no son tan precisos como el propio nombre denota (MESSIAEN y CASSINI, 1981; YANG y HAGEDORN, 1965), aunque existen diferencias incluso morfológicas y de compatibilidad sexual entre algunas de ellas, que han sido utilizadas para su clasificación (MATUO y SNYDER, 1973). KRAFT, 1969, al identificar al agente causante de la podredumbre de raíz del garbanzo como *F. solani* f. sp. *pisi*, sugirió también que el sistema radicular del garbanzo podía ser susceptible a otros biotipos de *F. solani* además de *F. solani*, f. sp. *pisi*. WESTERLUND *et al.*, 1974, inocularon garbanzo con varios aislamientos de *F. solani* f. sp. *phaseoli* pero ninguno de ellos resultó patógeno de garbanzo, por lo que denominaron también a sus aislamientos patogénicos sobre garbanzo y guisante como

*F. solani* f. sp. *pisi*. Además de garbanzo y guisante son también susceptibles a *F. solani* f. sp. *pisi* la morera y el «ginseg» (*Panax ginseng*) (MATUD y SNYDER, 1972), y se conocen diversos huéspedes (VAN ETTEN, 1978).

Asimismo, YU y FANG, 1948, al identificar al agente causante de la podredumbre de raíz del haba inocularon también otras especies vegetales como caupí, guisante, judía, avena, maíz y trigo, resultando patogénico sólo sobre haba, por lo que fue considerado como una nueva forma especializada (*fabae*) distinta de las conocidas en guisante (*pisi*) y judía (*phaseoli*), y así es aceptada en el sistema de BOOTH, 1971, como *F. solani* f. sp. *fabae* YU et FANG.

Según lo expuesto, los resultados de nuestras inoculaciones realizadas con cuatro aislamientos de *F. solani* patógenos de garbanzo sobre 11 especies leguminosas, no indican una especialización que permitan asignarlos a alguna de las formas especializadas conocidas; ya que garbanzo, haba y guisante, por este orden de susceptibilidad, resultaron severamente afectadas, y el resto de las leguminosas inoculadas, salvo alfalfa y soja, presentaron lesiones necróticas superficiales en la base del tallo y parte superior de la raíz principal sin síntomas foliares. Un hecho que resalta, particularmente, la menor especialización fisiológica de esta especie, es que los aislamientos más virulentos sobre garbanzo lo fueron también sobre todas las leguminosas susceptibles (cuadro 16).

Tanto *F. oxysporum*-rojo como *F. solani* se aislaron más consistentemente a partir de trozos del cuello de los diferentes cultivares inoculados, lo que sugiere una mayor susceptibilidad de esta zona, como ha sido indicado para otros huéspedes (KRAFT *et al.*, 1981; ZERLINK, 1979). Asimismo su frecuente asociación con plantas con síntomas severos atribuidos a otra causa primaria (*F. oxysporum*-salmón, virus, deficiencia de hierro, factores ligados al suelo) sugiere un incremento de

susceptibilidad de estas plantas a los citados organismos como ha sido demostrado en infecciones víricas en guisantes (BEUTE y LOCKWOOD, 1968; FARLEY y LOCKWOOD, 1964).

La correlación entre las altas temperaturas y/o estrés hídrico y la incidencia de la podredumbre seca de raíz observada durante las prospecciones, tuvo un marcado paralelismo en las inoculaciones artificiales realizadas con el organismo consistentemente aislado de plantas con podredumbre seca de raíz. Aunque en dichas inoculaciones *M. phaseolina* causó mortalidad de algunas plantas, que presentaron el cuello y raíz con podredumbre seca de color negro, la reacción fue muy errática, y sólo después de someter las plantas a altas temperaturas ( $\bar{X}=32$  C) y estrés hídrico, se hizo la reacción homogénea y severa. En estas condiciones las plantas testigo presentaron un amarilleamiento de las hojas bajas que confirmó la escasa especialidad de esta reacción y su relación con condiciones de estrés en la planta.

Con frecuencia las inoculaciones de garbanzo con esta especie en condiciones artificiales han dado resultados negativos (DASTUR, 1935; REICHERT y HELLINGER, 1947; WETERLUND *et al.*, 1974), y sólo después de someter las plantas a un régimen de estrés de agua (WETERLUND *et al.*, 1974), o a altas temperaturas (DASTUR, 1935), se indujeron síntomas en las plantas inoculadas; pero en ningún caso se reprodujeron los síntomas típicos de plantas infectadas naturalmente, lo que demuestra la alta dependencia de las infecciones de garbanzo por *M. phaseolina*, con las altas temperaturas y estrés hídrico, situación ésta común para la mayoría de las enfermedades causadas por este hongo (DHINGRA y SICLAIR, 1978).

## AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento a todos los agricultores que desinteresadamente han puesto a nuestra disposición sus

medios, conocimientos e ilusión para que esta investigación se desarrolle.

A los técnicos del Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica, Servicio de Extensión Agraria, Trifera y a don Francisco Javier Ruiz Naranjo por la ayuda prestada en la realización de de las prospecciones.

Al Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero y a Semillas Pacífico S. A., por habernos suministrado material para nuestras investigaciones.

Al International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT, India) por su colaboración.

## APENDICE

### CLAVE SIMTOMATOLOGICA DE LAS ENFERMEDADES DIAGNOSTICAS ASOCIADAS CON LA SECA DEL GARBANZO\*

1. Marchitez generalizada de la planta con hojas y tallo de color verde-grisáceo. No síntomas externos en cuello y raíz. Coloración marrón del xilema y/o de la médula en tallo y raíz ..... *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri* (Marchitez)
2. Amarilleamiento de progresión acrópeta en la planta.
  - 2.1. Coloración marrón del xilema y/o de la médula en tallo y en raíz ..... *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri* (Amarilleamiento vascular)
  - 2.2. No síntomas internos (amarilleamiento no vascular).
    - 2.2.1. No síntomas en la parte subterránea ..... (Agentes abióticos). (Amarilleamiento fisiológico)
    - 2.2.2. Lesiones necróticas corticales en cuello y raíz ..... *F. oxysporum*, *F. solani* o *Macrophomina phaseolina* (podredumbres radiculares)
    - 2.2.3. Menor desarrollo, marchitez parcial y podredumbre negra de cuello y raíz ..... *F. solani* o *F. eumartii* (podredumbre negra de raíz)
3. Necrosis generalizada y rápida de la planta en los últimos estados fenológicos (~maduración precoz). Podredumbre seca de cuello y raíz. Esclerocios subepidérmicos y/o en la médula en cuello y raíz. *M. phaseolina* (podredumbre seca de raíz)
4. Amarilleamiento de progresión basípeta en la planta, ocurriendo a veces necrosis de ápices caulinares. Frecuentemente se observan plantas enanas. No síntomas externos en cuellos y raíz.
  - 4.1. Coloración amarillo dorado de los folíolos más acentuada en los ápices y márgenes. Coloración castaño oscuro del floema en tallo y raíz pero más acentuada en el cuello de la planta, observable mediante raspado superficial de esta zona ..... (Virus del enrollado de la hoja del guisante, PLRV)\*\*. (Enanismo amarillento)
  - 4.2. Coloración amarillo claro de los folíolos con las nerviaciones marcadas de color verde. No síntomas internos ..... Deficiencia férrica (clorosis)

\* Los principales síntomas caracterizados en esta clave para las diferentes enfermedades están referidos a plantas enfermas en los primeros estados del desarrollo sintomatológico. En plantas severamente afectadas la distinción entre una u otra enfermedad resulta difícil y frecuentemente se pueden observar síntomas de varias enfermedades en la misma planta.

\*\* Otros virus han sido citados en garbanzo asociados con síntomas similares (ERWIN y SNYDER, 1958; KAISER y DANESH, 1971; SNYDER *et al.*, 1956).

## ABSTRACT

TRAPERO CASAS, A. y JIMÉNEZ DIAZ, R. M.: Etiología, importancia y distribución de la seca del garbanzo en el valle del Guadalquivir. *Bol. Serv. Plagas*, 11: 69-145.

Several authors have considered the «Seca or fusariosis» disease as the most important disease that causes severe losses of seed yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Andalucía. Nevertheless, there is little knowledge of the etiology, epidemiology and control of that disease, except for some preliminary research which indicated that «Seca» might include a disease complex hereafter named Wilt and Root Rot (WRR). The objectives of the present study were to determine the etiology, symptomatology, importance and distribution of WRR of chickpeas in the Guadalquivir Valley (Southern Spain).

Systematic disease surveys were carried out in the Cordoba and Sevilla provinces of Andalucía, including 108 chickpea fields and 1.300 ha. Observations were made on symptomatology, incidence and severity of WRR attacks. Samples of affected plants were used for further observations and isolations.

Pathogenicity of the fungi which were isolated was investigated in artificially infested soil or by dipping the roots or growing plants in a inoculum suspension. Differential pathogenicity to chickpea cultivars and pathogenicity to eleven legume species were investigated in soil artificially infested with isolates of *Fusarium oxysporum* and *F. solani*.

Five symptom complexes were found associated with WRR attacks: Wilt, Yellowing, Dry Root Rot, Yellow Stunt and Chlorosis. All symptom complexes were widely and uniformly distributed in Cordoba and Sevilla provinces, but Wilt and Yellowing occurred with higher prevalence, incidence and severity.

*F. oxysporum*, *F. solani* and *Macrophomina phaseolina*, were consistently isolated from plants affected by the various symptom complexes. Isolates of those fungi were found to be pathogenic to chickpea in artificial inoculation experiments. Three groups of *F. oxysporum* isolates were distinguished according to morphological and pathogenic characteristics. Isolates of the different groups caused either vascular wilt, vascular yellowing, or nonvascular yellowing along with cortical necrotic lesions of collar and root. Isolates inducing vascular wilt or yellowing showed pathogenic specialization to chickpea and may be considered as *F. oxysporum* f. sp. *ciceri*. Those isolates also showed differential pathogenicity to chickpea cultivars, indicating that they belong to different pathogenic races. Isolates of *F. solani* induced foliar yellowing and black collar and root rot, but differed in morpho-physiological characteristics and virulence. One of the most virulent isolates of *F. solani* induced foliar yellowing and black collar and root rot, but differed in morpho-physiological characteristics and virulence. One of the most virulent isolates of *F. solani* was further identified as *F. eumartii*. Isolates of *F. solani* and *F. eumartii* were pathogenic to chickpea, faba bean (*Vicia faba* L.), pea (*Pisum sativum* L.), lentil (*Lens esculenta* Moench), *Lupinus albus* L., *L. angustifolius* L., *L. luteus* L. and *L. mutabilis* Sweet., and therefore cannot be considered as belonging to any of the known *formae speciales* of *F. solani*. Nevertheless, as indicated by the severity of disease reactions observed, those isolates seem to be more adapted to chickpea, faba bean and pea than to any of the other species. *M. phaseolina* induced yellowing and dry collar and root rot. Infections by this pathogen in artificial inoculations were most severe at high temperatures and low soil water content, thus confirming field observations on incidence and severity of the disease.

Our results indicate that *F. oxysporum*, *F. solani* and *M. phaseolina* are, respectively, the agents of Vascular Wilt and Yellowing, Non-Vascular Yellowing and Black Collar and Root Rot, and Dry Root Rot. However, those three species as well as abiotic factors were involved in the etiology of the Yellowing symptom complex in the field. Also, our observations in the field indicate that the Chlorosis complex is due to an iron deficiency, and that the Yellow Stunt symptom complex might be induced by pea leaf roll virus, although other plants viruses could be involved as well.

## REFERENCIAS

- AINSWORTH, G. C. 1973: The Fungi en Advanced Treatise. Vol. 4A. Academic Press. USA. 621 pp.
- ANÓNIMO, 1974: Problems of wilt and breeding for wilt resistance in Bengal grams. *Indian J. Genet. & Planta Breeding*, 34: 236-270.
- , 1981: Boletín mensual de estadística agraria nº 10. Ministerio de Agricultura.
- ARMSTRONG, G. M. and ARMSTRONG, J. K., 1981: Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. Páginas 391-399 en P. E. Nelson, T. A. Toussoun and R. J. Cook, eds. *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, USA.
- ARX, J. A. von 1984: The genera of fungi sporulating in pure culture. J. Cramer, Leutershausen, Germany. 315 pp.
- BARNETT, H. L. and HUNTER, B. B., 1972: Illustrated Genera of Imperfec Fungi. Burges Publishing Company, Minneapolis, 241 pp.
- BARRON, G. L., 1972: The Genera of Hyphomycetes from soil. Robert E. Krieger Publishing Company, New York, 364 pp.
- BENILOCH, M., 1941: Algunas características fitopatológicas del año 1941. *Bol. Pat. Veg. Ent. Agr.*, 10: 1-14.
- , 1949: Observaciones fitopatológicas en el año 1948. *Bol. Pat. Veg. Ent. Agr.*, 16: 203-242.
- BEUTE, M. K. and LOCKWOOD, J. L. 1968: Mechanism of increased rot in virus infected peas. *Phytopathology*, 58: 1643-1651.
- BLANCO LÓPEZ, M. A., 1980: Etiología y epidemiología de la madurez precoz del girasol en España. Tesis Doctoral. E.T.S.I.A., Universidad de Córdoba, 265 pp.
- BOOTH, C., 1971: The genus *Fusarium*. *Comm. Mycol. Inst. Kew. Surrey England*, 237 pp.
- , 1977: *Fusarium*. Laboratory guide to the identification of the major species. *Comm. Mycol. Inst. Kew. Surrey, England*, 58 pp.
- BOUHOT, D. 1981: Some aspects of the pathogenic potential in formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* on cucurbitaceae. Páginas 318-326 en P. E. Nelson, T. A. Toussoun and R. J. Cook, eds. *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, USA.
- BOUHOT, D. et ROUXEL, F. 1970: Deux techniques de détermination du pouvoir pathogène des *Fusarium oxysporum*. *Ann. Phytopathol.*, 2: 591-594.
- BOUSLAMA, M., 1980: Chickpea improvement in Tunisia. Páginas 277-280 en ICRISAT. Proceeding of the International Workshop on Chickpea Improvement. Hyderabad, India.
- BUXTON, E. W., 1955: Fusarium diseases of peas. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 38: 309-316.
- CARRERA, C. J. M., 1975: Las especies de *Fusarium* causales de enfermedades en plantas de la República Argentina. Páginas 163-181 en A. A. Sarasola y M. A. Rocca de Sarasola. *Fitopatología. Curso moderno. Tomo II: Micosis*. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- COLHOUM, J., 1981: Vascular wilt diseases of oil palmes. Páginas 21-28 en P. E. Nelson, T. A. Toussoun and R. J. Cook, eds. *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press. USA.
- COTTER, E. J., 1977: Identification and control of root-rot fungi in *Cicer arietinum* (chickpea). *Plant Dis. Repr.*, 61: 736-740.
- CUBERO, J. I., 1975: The research on the chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Spain. Páginas 117-122 en ICRISAT. Proceeding of the International Workshop on Grain Legumes. Hyderabad, India.
- CHAN, J. Y., 1968: Mechanisms of pathogenesis in *Sclerotium bataticola* on sunflowers. Ph. D. Thesis. McGill University, Montreal. 152 pp.
- CHANDRA, S., TOMER, Y. S. and MALIK, B. P. S., 1974: Aspects of wilt disease in gram with special reference to Haryana state. *Indian J. Genet. & Plant Breeding*, 34: 257-262.
- CHATTOPADHYAY, S. B., and SEN GUPTA, P. K., 1967: Studies on wilt diseases of pulses. I. Variation and taxonomy of *Fusarium* species associated with wilt disease of pulses. *Indian J. Mycol. Res.*, 5: 45-53.
- CHAUHAN, S. K., 1960: A technique for disease appraisal and loss estimations in *Fusarium* wilt of gram. *Agra Univ. J. Res.*, 9: 253-260.
- , 1962 a: Physiologic variations in *Fusarium orthoceras*. App. & Wr. var. *ciceri* Padwick causing wilt of gram (*Cicer arietinum* L.) *Proc. Nat. Acad. Sci. India. Sect. B*, 32: 78-84.
- , 1962 b: Observations on certain symptoms in *Fusarium* wilt of gram (*Cicer arietinum* L.). *Agr. Univ. J. Res.*, 11: 285-294.
- CHI, C. C., 1965: Pathogenicity of *Fusarium* species from red clover. *Can. Plant Dis. Surv.*, 45: 3-7.
- DASTUR, J. F., 1935: Gram wilts in the Central Provinces. *Agr. Live-Stk. India*, 5: 615-627.
- DHINGRA, O. D. and SINCLAIR, J. B., 1978: Biology and pathology of *Macrophomina phaseolina*. Universidade Federale de Vicosa, Vicosa, Minas Gerais, Brasil, 166 pp.
- DOMSCH, K. H., GAMS, W. and ANDERSON, T. H., 1980: Compendium of soil fungi. Vol. 1; 2. Academic Press, London. 859 pp; 405 pp.
- ECHANDI, E., 1970: Wilt of chickpeas or garbanzo beans (*Cicer arietinum*) incited by *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 60: 1539 (abstr.).
- ERWIN, D. C., 1957: *Fusarium* and *Verticillium* wilt diseases of *Cicer arietinum*. *Phytopathology*, 47: 10 (abstr.).
- , 1958 a: *Fusarium lateritium* f. *ciceri*, incitant of *Fusarium* wilt of *Cicer arietinum*. *Phytopathology*, 48: 498-501.
- , 1958 b: *Verticillium* wilt of *Cicer arietinum* in southern California. *Plant Dis. Repr.*, 42: 1111.
- ERWIN, D. C. and SNYDER, W. C., 1958: Yellowing of garbanzo Beans. *Calif. Ag.*, 11: 6-16.
- FARLEY, J. D. and LOCKWOOD, J. L., 1964: Increased susceptibility to root rots in virus-infected peas. *Phytopathology*, 54: 1279-1280.
- FRENCH, E. R. and HERBERT, T. T., 1980: Métodos de Investigación Fitopatológica. Ed: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (IICA). San José, Costa Rica, 289 pp.
- GERLACH, W., 1970: Suggestions to an acceptable modern *Fusarium* system. *Ann. Acad. Sci. Fenn. A, IV Biológica*, 168: 37-49.
- , 1977: *Fusarium* species inciting plant diseases in the tropics. Páginas 210-217 en J. Kranz, H. Schmutterer.

- and W. Koch, eds. Diseases, pest and weeds in tropical crops. Verlag Paul Perey, Berlin.
- , 1981: The present concept of *Fusarium* classification. Páginas 413-426 en P. E. Nelson, T. A. Toussoun and R. J. Cook, eds. *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, USA.
- GOIDANICH, G., 1964: Manuale di Patologia Vegetale. Vol. 2. Edizioni Agricole Bologna. 1283 pp.
- GOIDANICH, G. and CAMICI, L., 1946: A microsclerotial parasite resembling *Sclerotium (Rhizoctonia) bataticola* Taub. present in Italy. (Astr.). Página 73 en O. D. Dhingra and J. B. Sinclair. 1977. An annotated bibliography of *Macrophomina phaseolina* 1905-1975. Univ. Vicosa-Illinois, 244 pp.
- , 1947: The prevalence and injuriousness of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. existing as a polyphagous parasite in Italy. (Abstr.). Página 74 en O. D. Dhingra and J. B. Sinclair. 1977. An annotated bibliography of *Macrophomina phaseolina* 1905-1975. Univ. Vicosa-Illinois, 144 pp.
- GOWDA, C. L. L. and SMITHSON, J. B., 1980: Iron chlorosis in chickpea. *International Chickpea Newsletter*, 3: 10.
- GREWAL, J. S., PAL, M. and KULSHRESTHA, D. D., 1974 a: A new record of wilt of gram caused by *Fusarium solani*. *Curr. Sci.*, 43: 767.
- , 1974 b: Fungi associated with gram wilt. *Indian J. Genet. & Plant Breeding*, 34: 242-246.
- GROGAN, R. G., 1981: The science and art of plant-disease diagnosis. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 19: 333-351.
- GURHA, S. N. and MISHRA, D. P., 1980: A new silt disease of gram caused by *Fusarium moniliforme* Sheld. *Curr. Sci.*, 49: 402.
- HAWARE, M. P. and NENE, Y. L., 1976: Some uncommon but potentially serious diseases of chickpea. *Tropical Grain Legume Bull.*, 5: 26-30.
- , 1980: Sources of resistance to wilt and root rots of chickpea. *International Chickpea Newsletter*, 3: 11-12.
- , 1982 a: Symptomless carriers of the chickpea wilt *Fusarium*. *Plant Disease*, 66: 250-251.
- , 1982 b: Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. *Plant Disease*, 66: 809-810.
- HAWTHIN, G. C. and CHANCELLOR, G. J. (eds.), 1978: Food legume improvement and development. Proceedings of a workshop held at the University of Aleppo, Syria, 2-7 May 1978. ICARDA and IDRC, 216 pp.
- HOAGLAND, D. R. and ARNON, D. I., 1950: The water culture method for growing plants without soil. *Calif. Agr. Exp. St. Circ.*, 347, 32 pp.
- HOLLIDAY, P. and PUNITHALINGAM, E., 1970: *Macrophomina phaseolina*. C.M.I. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria No. 275.
- HUITRON, M. M. E. y CAMPOS, T. A., 1966: Prueba de resistencia de líneas de garbanzo a enfermedades de raíz. *Agrociencia No.*, 1: 67-76.
- ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics), 1975: Proceedings of the International Workshop in Grain Legumes. January 13-16. Hyderabad, India, 350 pp.
- , 1979: Proceedings the International Workshop on chickpea Improvement. 28 Feb. - 2 Mar. 1979. Hyderabad, India, 298 pp.
- , 1981: Chickpea. Páginas 71-95 en ICRISAT Annual Report 1979/80. Patancheru, A. P., India.
- JAIN, H. K. and BAHU, P. N., 1974: Recommendations of symposium on gram wilt. *Indian J. Genet. and Plant Breeding*, 34: 236-238.
- JARVIS, W. R. and SHOEMAKER, R. A., 1978: Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root rot of tomato. *Phytopathology*, 68: 1979-1680.
- JHA, D. K. and DUTTA, A. K., 1982: *Cuscuta hyalina* on chickpea at Chotanagpur in Bihar. *International Chickpea Newsletter*, 7: 11-12.
- JIMÉNEZ DÍAZ, R. M. y MONTES AGUSTI, F., 1974: *Sclerotium bataticola* Taub., patógeno de la soja (*Glycine max*) en España. *Ann. INIA Ser. Prot. Veg.*, 4: 19-25.
- JIMÉNEZ DÍAZ, R. M. y VARES, F., 1983: Información preliminar para un inventario de las enfermedades de leguminosas de grano en España. Páginas 175-195 en J. I. Cubero y M. T. Moreno, eds. *Leguminosas de grano*. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.
- JONES, J. P. and WOLITZ, S. S., 1981: *Fusarium*-incited diseases of tomato and potato and their control. Páginas 157-168 en P. E. Nelson, R. A. Toussoun and R. J. Cook, eds. *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, USA.
- KAISER, W. J. and DANESH, D., 1971 a: Biology of four viruses affecting *Cicer arietinum* in Iran. *Phytopathology*, 61: 372-375.
- , 1971 b: Etiology of virus-induced wilt of *Cicer arietinum*. *Phytopathology*, 61: 453-457.
- KAISER, W. J. and NENE, Y. L., 1975: Report of pest and disease resistance. Breeding Discussion Group. Páginas 314-315; 330-331; 341-342 en ICRISAT. Proceedings of the International Workshop on Grain Legumes. Hyderabad, India.
- KANNAIYAN, J., 1981: Diseases of chickpea in Malawi. *International Chickpea Newsletter*, 4: 16.
- KOMMEDAHL, T. and WINDELS, C. E., 1981: Root-, stalk-, and ear-infecting *Fusarium* species on corn in the USA. Páginas 94-103 en P. E. Nelson, T. A. Toussoun and R. J. Cook, eds. *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, USA.
- KRAFT, J. M., 1969: Chickpea, a new host of *Fusarium solani* f. sp. *lisi*. *Plant Dis. Repr.*, 53: 110-111.
- KRAFT, J. M., BURKE, D. W. and HAGLUND, W. A., 1981: *Fusarium* diseases of beans, peas, and lentils. Páginas 142-156 en P. E. Nelson, T. A. Toussoun, and R. J. Cook eds. *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, USA.
- LINDERMAN, R. G., 1981: *Fusarium* diseases of flowering bulb crops. Páginas 129-141 en P. E. Nelson, T. A. Toussoun and R. J. Cook eds. *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, USA.
- LOUVET, J. and TOUFAIN, G., 1981: Bayoud, *Fusarium* wilt of date palm. Páginas 13-20 en P. E. Nelson, T. A. Toussoun and R. J. Cook eds. *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, USA.
- MALEWAR, G. U., JADHAV, D. K. and GHONSIKAR, C. P., 1982: Absorption and transport of 59 Fe in genotypes of chickpea. *International Chickpea Newsletter*, 6: 13-14.

- MARIC, A., 1981: Fusarium diseases of wheat and corn in Eastern Europe and the Soviet Union. Páginas 77-93 en P. E. Nelson, T. A. Toussoun and R. J. Cook eds. *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, USA.
- MARÍN SÁNCHEZ, J. P., 1979: Micosis del Arroz en las marismas del Guadalquivir. Tesis Doctoral. Univ. Córdoba, E.T.S.I.A., 554 pp.
- MAS, P., MOLOT, P. M. and RISSER, G., 1981: Fusarium wilt of muskmelon. Páginas 169-177 en P. E. Nelson, T. A. Toussoun and R. J. Cook eds. *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, USA.
- MATHEWS, R. E. F., 1981: Clasificación y nomenclatura de los virus. Tercer informe del Comité Internacional de Taxonomía de Virus. Ed. Grupo de Virología de la S.E.M., Madrid, 194 pp.
- MATUO, T. and SATO, K., 1962: On two new forms of *Fusarium lateritium* (en japonés, resumen en inglés). *Trans. Mycol. Soc. Jap.*, 3: 120-126.
- MATUO, T. and SNYDER, W. C., 1972: Host virulence and the Hypomyces stage of *Fusarium solani* f. sp. *pisi*. *Phytopathology*, 62: 731-735.
- , 1973: Use of morphology and mating populations in the identification of formae speciales in *Fusarium solani*. *Phytopathology*, 63: 562-565.
- McKERRAL, A., 1923: A norte on Fusarium wilt of gram in Burma and measures taken to combat it. *Agr. J. India*, 28: 608-613.
- McRAE, W., 1924: Report of the Imperial Mycologist. (Abstr.) página 23 en Y. L. Nene, A. Mengistu, J. B. Sinclair and D. J. Royse. 1978. An annotated bibliography of chickpea diseases 1915-1976. ICRISAT. Information Bull. 1, 43 pp.
- , 1926: Report of the Imperial Mycologist. (Abstr.) página 23 en Y. L. Nene, A. Mengistu, J. B. Sinclair and D. J. Royse. 1978. An annotated bibliography of chickpea diseases 1915-1916. ICRISAT. Information Bull. 1, 43 pp.
- MENGISTU, A., 1979: Food Legume diseases in Ethiopia. Páginas 106-108 en G. C. Hawtin and G. J. Chancellor, eds. Proceeding of a Workshop held at the University of Aleppo, Syria, 2-7 May 1978. ICARDA and IDRC.
- MESSIAEN, C. M. and CASSINI, R., 1968. Recherches sur les fusariosis IV. La systematique des *Fusarium*. *Annls. Epiphyt.*, 19: 398-454.
- , 1981: Taxonomy of *Fusarium*. Páginas 426-445 en P. E. Nelson, T. A. Toussoun, and T. J. Cook eds. *Fusarium. Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, USA.
- MORALES GÓMEZ, J. A., DURÓN NORIAGA, L. J., HERRERA GONZÁLEZ, R. J., BERNAL VELÁZQUEZ, J. A., GONZÁLEZ VÁZQUEZ, F. J., GUERRERO RUIZ, J. C. y JIMÉNEZ LEÓN, M., 1982: Guía para producir garbanzo en la Costa de Hermosillo. SARM, folleto para productores No. 2, 20 pp.
- NARASIMHAN, R., 1929: A preliminary note on a *Fusarium* parasitic on Bengal gram (*Cicer arietinum*). *Madras Agr. Dep. Year Book*, 1928: 5-11.
- NASH, S. M. and SNYDER, W. C., 1962: Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean root rot *Fusarium* in field soils. *Phytopathology*, 52: 567-572.
- NELSON, P. E., HORST, R. K. and WOLITZ, S. S., 1981: Fusarium diseases of ornamental plants. Páginas 121-128 en P. E. Nelson, T. A. Toussoun and R. J. Cook, eds. *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, USA.
- NEMA, K. G. and KHARE, M. N., 1973: A conspectus of wilt of Bengal gram in Madhya Pradesh. (Abstr.) página 25 en Y. L. Nene, A. Mengistu, J. B. Sinclair and D. J. Royse. 1978. An annotated bibliography of chickpea diseases 1915-1976. ICRISAT. Information Bull. 1, 43 pp.
- NENE, Y. L., 1980: Diseases of chickpea. Páginas 171-187 en ICRISAT Proceedings of the International Workshop on Chickpea Improvements. Hyderabad, India.
- NENE, Y. L. and HAWARE, M. P., 1980: Screening chickpea for resistance to wilt. *Plant Disease*, 64: 379-380.
- NENE, Y. L., HAWARE, M. P. and REDDY, M. V., 1978: Diagnosis of some wilt like disorders of chickpea (*Cicer arietinum* L.) ICRISAT Information Bull. No. 3, 44 pp.
- NENE, Y. L., MENGISTU, A., SINCLAIR, J. B. and ROYSE, D. J., 1978: An annotated bibliography of chickpea disease 1915-1976. ICRISAT. Information Bull. No. 1, 43 pp.
- NENE, J. L. and REDDY, V., 1976: Preliminary information on chickpea stunt. *Tropical Grain Legume Bull.* No. 5: 31-32.
- PADWICK, G. W., 1940 a: The genus *Fusarium* III. A critical study of the fungus causing wilt of gram (*Cicer arietinum* L.) and of the related species of the subsection *Orthocera*, with special relation to the variability of key characteristics. *Indian J. Agr. Sci.*, 10: 241-284.
- , 1940 b: Report of the Imperial Mycologist. *Sci. Rep. agr. Res. Inst.*, New Delhi, 1938-39: 103-115.
- PAPAVIZAS, G. G., 1967: Evaluation of various media and anti microbial agents for isolation of *Fusarium* from soil. *Phytopathology*, 57: 848-852.
- PRASAD, N. and PADWICK, G. W., 1939: The genus *Fusarium* II. A species of *Fusarium* as a cause of wilt of gram (*Cicer arietinum* L.). *Indian J. Agr. Sci.*, 9: 371-380.
- PUERTA ROMERO, J., 1964: La «rabia» del garbanzo: Aislamiento del hongo *Phyllosticta rabiei* (Pass.) Trotter e investigación de posibles variedades de garbanzo resistentes. *Bol. Pat. Veg. Ent. Agr.*, 27: 15-52.
- PURKAYASTHA, R. P. and CHAKRABORTY, B. N., 1981: Acrophialophora wilt of gram in India. *Plant Disease*, 65: 362.
- RAHEJA, P. C. and DAS, G. P., 1957: Development studies in crop plants II. Effect of cultural treatments on the incidence of gram wilt Indian. *J. Agr. Sci.*, 27: 237-250.
- RAPILLY, F., 1968: Les techniques de mycologie en pathologie vegetale. *Ann. Epiphyt.*, 19 No. Hors-série, 102 pp.
- REDDY, M. V., GRIDLEY, H. E. and KAACK, H. J., 1980: Major disease problems of chickpea in North Africa. *International Chickpea Newsletter*, 3: 13-14.
- REDDY, M. V., NENE, Y. L. and VERMA, J. P., 1979: Pea leaf roll virus causes chickpea stunt. *International Chickpea Newsletter*, 1: 8.
- REICHERT, I. and HELLINGER, E., 1947: On the occu-

- rence, morphology and parasitism of *Sclerotium bataticola*. *Palest. J. Bot. R. Ser.*, 6: 107-147.
- RHIND, D., 1926: Annual Report of the Mycologist, Burma, for the year ended the 30 June, 1925, Rangoon. (Abstr.) página 29 en Y. L. Nene, A. Mengistu, J. B. Sinclair and D. J. Royse. 1978. An annotated bibliography of chickpea diseases 1915-1976. ICRISAT. Information Bull. 1: 43 pp.
- ROWE R. C., 1980: Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of green house and field-grown tomatoes in North America and Japan. *Phytopathology*, 70: 1143-1148.
- SAH, R. P., 1980: Chickpea research and production in Nepal. Páginas 249-256 en ICRISAT. Proceedings of the International Workshop on Chickpea Improvement. Hyderabad, India.
- SALJI, G. A., 1979: The increasing interest in «minor pathogens». Páginas 289-312 en B. Schippers and W. Gams, eds. Soil-borne plant pathogens. Academic Press Inc., London.
- SARAF, C. S., 1974: Agronomic management technology to reduce gram wilt incidence. *Indian J. Genet. & Plant Breeding*, 34: 263-266.
- SATTAR, A., ARIEF, A. G. and MOHY-UD-DIN, M., 1953: Effect of soil temperature and moisture on the incidence of gram wilt. *Pakistan J. Scientific Res.*, 5: 16-21.
- SINGH, D. V., MISRA, A. N. and SINGH, S. N., 1974: Sources of resistance to gram wilt and breeding for wilt resistance in Bengal gram in U. P. *Indian J. Genet. & Plant Breeding*, 34: 239-241.
- SINGH, I. and CHOHAN, J. S., 1977: Fungi associated with seeds of gram (*Cicer arietinum*) and control of pathogenic ones. *Indian J. Mycol. and Plant Pathol.*, 6: 71-72.
- SINGH, K. B. and DAHIYA, B. S., 1973: Breeding for wilt resistance in Chickpea. (Abstr.) Página 33 en Y. L. Nene, A. Mengistu, J. B. Sinclair and D. J. Royse. 1978. An annotated bibliography of chickpea diseases 1915-1976. ICRISAT Information Bull. 1, 43 pp.
- SINGH, K. B. and VAN DER MAESEN, L. J. G., 1977: Chickpea bibliography 1930 to 1974. ICRISAT, Hyderabad, India 223 pp.
- SINGH, P. J. and MEHROTRA, R. S., 1980 a: The influence of cultivar and temperature on carbohydrate and amino acid exudation from gram seeds and on pre-emergence damping-off by *Rhizoctonia bataticola*. (Abstr.). *International Chickpea Newsletter*, 5: 22.
- , 1980 b: Relation between seed exudate and host susceptibility in gram (*Cicer arietinum* L.) to *Rhizoctonia bataticola*. (Abstr.). *International Chickpea Newsletter*, 5: 22.
- SINHA, S., 1973: Some factors of the soil in relation to *Fusarium* wilt of Bengal gram (*Cicer arietinum* L.). (Abstr.) Página 34 en Y. L. Nene, A. Mengistu, J. B. Sinclair and D. J. Royse. 1978. An annotated bibliography of chickpea diseases 1915-1976. ICRISAT. Information Bull. 1, 43 pp.
- SNYDER, W. C. and HANSEN, H. N., 1940: The species concept in *Fusarium*. *American J. Botany*, 27: 64-66.
- , 1941: The species concept in *Fusarium* with reference to section Martiella. *American J. Botany*, 28: 738-742.
- SNYDER, W. C., PAULUS, A. O. and GOLD, A. J., 1956: Virus yellows of garbanzo. *Phytopathology*, 46: 27 (Abstr.).
- SNYDER, W. C. and SMITH, S. N., 1981: Current status. Páginas 25-50 en F. Mace, A. A. Bell and C. H. Beckman. Fungal wilt diseases of plantas. Academic Press, INC. London.
- SORAN, H., 1977: The gungis disease situation of edible legumes in Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology*, 6: 1-7.
- STEELE, R. G. D. and TORRIE, J. H., 1960: Principles and procedures of statistics. *McGraw-Hill Book Co. Inc.*, New York, 481 pp.
- STOVER, R. H., 1981: *Fusarium* diseases in the tropics. Páginas 114-120 en P. E. Nelson, T. A. Toussoun and R. J. Cook, eds. *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. The Pennsylvania state University Press, USA.
- TINSLEY, T. W., 1959: Pea leaf roll, a new virus disease of legumes in England. *Plant Pathology*, 8: 17-18; Plate I.
- TOUSSOUN, T. A. and NELSON, P. E., 1968: A pictorial guide to the identification of *Fusarium* species according to the Taxonomic system of Snyder and Hansen. Penn. State University press. University Park and London, 51 pp.
- TRAPERO CASAS, A., 1983: La Marchitez y Podredumbre de Raíz del garbanzo en el valle del Guadalquivir: Importancia, distribución, etiología, epidemiología y medios de lucha. Tesis Doctoral, E.T.S.I.A., Universidad de Córdoba, 295 pp.
- TRAPERO CASAS, A. y JIMÉNEZ DÍAZ, R. M., 1981: Occurrence and etiology of chickpea «wilt complex» in Southern Spain. *International Chickpea Newsletter*, 5: 10-11.
- TUITE, J., 1969: Plant pathological methods, fungi and bacteria. Burgess Pub. Co., Minneapolis Minn. 239 pp.
- VAN DER MAESEN, L. J. G., 1972: *Cicer* L., a monograph of the genus, with special reference to the chickpea (*Cicer arietinum* L.), its ecology and cultivation. *Commun. Agric. Univ. Wageningen*, 72: 342 pp.
- VAN ETTEN, H. D., 1978: Identification of additional habitats of *Nectria haematococca* mating population VI. *Phytopathology*, 68: 1552-1556.
- VIDHYASEKARAN, P., ARJUNAN, G., MARIAPPAN, V., RANGANATHAN, K. and KOLANDAISAMY, S., 1978: Field tolerance of some Bengal gram types to wilt and root rot. *Indian Phytopath.*, 537-538.
- VISWAKARMA, S. N. and CHAUDHARY, K. C. B., 1981: Variation in *Fusarium solani* inciting wilt of gram. *International Chickpea Newsletter*, 6: 33 (abstr.).
- VYAS, S. C. and JOSHI, L. K., 1975: A new record of parasitic dodder on chickpea (*Cicer arietinum* L.). (Abstr.) Página 38 en Y. L. Nene, A. Mengistu, J. B. Sinclair and D. J. Royse. 1978. An annotated bibliography of chickpea diseases 1915-1976. ICRISAT. Information Bull. 1, 43 pp.
- WALLACE, H. R., 1978: The diagnosis of plant diseases of complex etiology. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 16: 379-402.
- WETERLUND, F. V., CAMPBELL, R. N. Jr. and KIMBLE, K. A., 1974: Fungal root rots and wilt of chickpea in California. *Phytopathology*, 64: 432-436.

- YANG, S. M. and HAGEDORN, D. J., 1965: Pathogenicity studies with *Fusarium solani* form beans and peas. *Phytopathology*, 55: 1085 (abstr.).
- YU, T. F. and FANG, C. T., 1948: *Fusarium* diseases of broad bean. III. Root-rot and wilt of broad beans caused by two new forms of *Fusarium*. *Phytopathology*, 38: 587-594.
- ZERLIK, G. M., 1979: A late yellowing and foot rot of peas. Páginas 337-342 en V. Schippers and W. Gams, eds. Soil-borne plant pathogens. Academic Press Inc., London.