

Peligrosidad de *Botrytis cinerea* Pers. en siembras adelantadas de garbanzo en Extremadura

J. DEL MORAL, V. CHICA, M. GALLEGRO y D. CASADO

En este trabajo se denuncia la peligrosidad de *Botrytis cinerea* Pers. en siembras adelantadas de garbanzo (36 % de plantas afectadas en algunos campos durante 1991). Se comprueba que tres cultivares de garbanzo son sensibles al patógeno y se demuestra la eficacia de procimidona como preventivo de la enfermedad. La epidemiología es discutida teniendo en cuenta las características fitotécnicas del cultivo, obteniéndose de dicha discusión recomendaciones para la profilaxis de la enfermedad.

Palabras clave: *Botrytis cinerea*, procimidona, garbanzo.

J. DEL MORAL, V. CHICA, M. GALLEGRO y D. CASADO. Servicio de Investigación Agraria. Junta de Extremadura. Apdo. 22. 06080 Badajoz (España).

INTRODUCCION

El cultivo del garbanzo en nuestro país ha vuelto a interesar a los consumidores españoles y consecuentemente a los agricultores. Las razones de los primeros son de tipo gastronómico —esta semilla tiene tanta calidad proteica como la carne y bastantes más ventajas sanitarias. Pero las razones agroeconómicas de los segundos son muy poderosas, y entre ellas está la de que, para estructurar una política agropecuaria seria, hay que implantar una alternativa donde las leguminosas jueguen un papel tan importante como los cereales, el girasol, la remolacha... Estas razones, respecto a España, han sido sintetizadas por DEL MORAL (1989).

De los 10 millones de hectáreas que hay en el mundo dedicadas al garbanzo, la CEE posee 140.000 Ha, superficie que se intenta aumentar para así disminuir la importación de proteínas. Esto queda de manifiesto al conocer que la CEE subvencionó cincuenta y cinco proyectos de investigación

sobre diversos aspectos del cultivo en 1988 y 1989 (ECC AGRIMED, 1988). Gran parte de la mejora que los investigadores realizan en el vegetal está basada sobre el cultivo de siembra invernal, y ello por muchas y fundadas razones (SING, 1988). Evitar la Fusariosis del garbanzo es una de ellas, pero este adelantamiento del cultivo, respecto a sanidad, no es enteramente beneficioso, ya que por una parte induce la aparición de la Rabia y las marras de nacimiento (DEL MORAL, 1989, 1990); pudiendo también propiciar el desarrollo de la *Botrytis* sp.

En la primavera de 1989, en sembrados de garbanzos, aparecieron algunas plantas marchitas de las que se obtuvo, en laboratorio, un micelio conferible a *Botrytis cinerea*. Posteriormente, en enero de 1990, al comprobar el estado sanitario de una partida de semilla, pudimos observar que algunas de ellas presentaban el mismo incitante. Dichas razones nos indujeron a iniciar los experimentos que se exponen en este trabajo, y con el cual pretendemos, entre

otros objetivos, llamar la atención de los patólogos mediterráneos, ya que la modificación de la fitotecnia que se está consiguiendo por los agrónomos, tal y como más adelante discutiremos, parece ser propicia al desarrollo de la *Botrytis* del garbanzo.

ANTECEDENTES

Referencias a esta enfermedad en el mundo

ELLIS, en 1969, afirma que *Botrytis cinerea* vive sobre el garbanzo como parásito o saprofito, desarrollándose en numerosos agrosistemas donde la humedad es alta y las temperaturas suaves. En la Universidad de Manitoba (Canadá) se pudo observar, en campos experimentales cuya vegetación era lujurante, que después de una bajada de temperatura y ambiente húmedo, las hojas de algunas plantas comenzaban a presentar amarilleamientos y, en apenas tres semanas, más de la mitad de ellas habían muerto; el incitante de esta enfermedad era *B. cinerea*, siendo ésta la primera cita que se hizo en Norteamérica sobre garbanzo (KHARBANDA, 1979). En India esta enfermedad, conocida por el «Moho gris», está considerada como endémica en grandes áreas, siendo muy peligrosa para el cultivo del garbanzo —en enero de 1979 destruyó completamente una superficie de 20.000 Ha— (CHAUBEY, 1983; REWAL, 1989). En Pakistán y Bangladesh fue considerada como calamidad en 1980-81 (LAHA, 1983). Chile, con una superficie de cultivo creciendo significativamente, denunció la enfermedad en la temporada 1982-83; a los 60 días de la siembra había un 20 % de plantas con síntomas, siendo de un 100 % en algunas áreas (ALVAREZ, 1984; SEPÚLVEDA, 1984). En Andalucía, donde la enfermedad está registrada, por el momento carece de importancia (TRAPERO, 1986).

Síntomas

Aunque todas las partes del vegetal son susceptibles a la enfermedad, las alteracio-

nes morfológicas y fisiológicas de las plantas afectadas son muy distintas según el inicio de los síntomas. Cuando un tallo, a nivel de cuello (Fig. 1), presenta un chancro, la totalidad de la parte aérea pierde su color verde y turgencia, presentando un murtiamiento y aspecto general amarillento (Fig. 2), siendo la evolución de los síntomas muy rápida; por el contrario, cuando los órganos aéreos son invadidos individualmente, aparecen manchas cloróticas definidas que van evolucionando más lentamente a tonos oscuros (KHARBANDA, 1979; SEPÚLVEDA, 1984). Si la infección afecta a las semillas en el proceso de la germinación éstas se pudren (NEERGAARD, 1988).

Etiología y epidemiología

El hongo aislado de las lesiones observadas en las plantas enfermas es el deuteroomiceto *Botrytis cinerea* Pers. (Fig. 3). Las conidias, producidas por conidióforos libres, en cabezuela, son elipsoidales u ovoides, y con un tamaño de $6-18 \times 4-11 \mu\text{m}$. *Botrytis cinerea* es el estado conidial de *Sclerotinia fuckeliana* (De Bary) FKL, teniendo gran facilidad para la formación de esclerocios de color negro (ELLIS, 1974, 1980; SEPÚLVEDA, 1984) (Fig. 4).

Los órganos afectados, en condiciones húmedas y frescas, producen abundantes fructificaciones del patógeno que son dispersadas eficazmente por el viento. El micelio sobrevive en las semillas y así es transportado a grandes distancias, permaneciendo en forma de esclerosis, por largo tiempo, en los suelos que han tenido un cultivo enfermo (ELLIS, 1974).

El porcentaje de semillas afectadas provenientes de un campo enfermo es grande, pero la peligrosidad real varía con el tiempo y la forma de almacenamiento. Después de un año de almacenadas las semillas infectadas, el micobionte pierde casi toda su viabilidad, mucho más cuando éstas han sido guardadas en sacos de tela que cuando lo han sido en sacos de polietileno (LAHA, 1983; NEEGAARD, 1988).



Fig. 1.—Planta sana y enferma por impregnación con *Botrytis cinerea*. En la enferma se aprecia un chancro a nivel de cuello y la pudrición del garbanzo.
(Healthy plant and diseased plant by impregnation with *Botrytis cinerea*. The diseased plant has a necrosis next to the neck and the rotten seed).

Fig. 2.—Planta muy enferma mostrando fructificaciones de *Botrytis cinerea* como resultado de impregnar la semilla en una suspensión de esporas del hongo.
(A very damaged plant with fructifications of *Botrytis cinerea*. The seed was impregnated with spores from fungus).



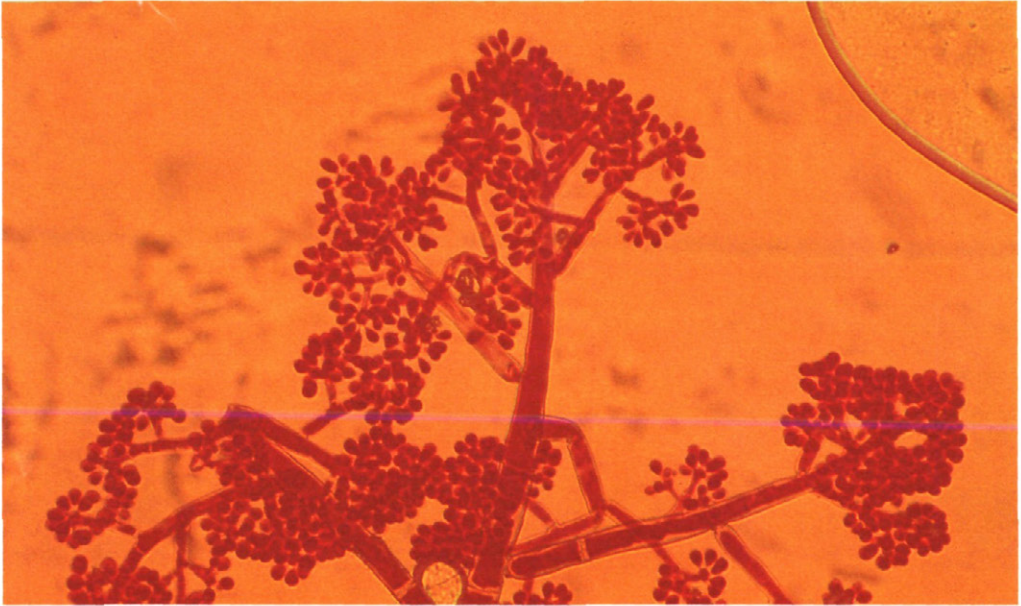


Fig. 3.—Fructificaciones de *Botrytis cinerea* aisladas de garbanzos enfermos.
(Conidiophore and conidium from *Botrytis cinerea* isolated from diseased chickpea).

Fig. 4.—Esclerocios formados en plantas afectadas con *Botrytis cinerea*.
(Sclerotium developed on diseased plants affected by *Botrytis cinerea*).





Fig. 5.—Campo de garbanzos con un rodal de plantas muertas y enfermas de las que se aisló *Botrytis cinerea*. (Chicpea's field with dead and diseased plants affected by *Botrytis cinerea*).

Los sembrados de vegetación cerrada, sin pasillos de ventilación, son extraordinariamente favorecedores de la enfermedad (Fig. 5). Al principio del cultivo, de forma inapreciable, se pueden producir esporas que sobreviven e inician una segunda infección, en primavera, cuando el vegetal presenta un gran desarrollo (LAHA, 1983; NEEGAARD, 1988).

Medios de cultivo y técnicas de inoculación

El hongo, mantenido a 24 °C, crece sobre PDA al 2 %. Al cabo de 5 días aparecen colonias grises con abundantes fructificaciones; a los 20 días se producen esclerocios globosos y negros de 2 a 6 mm (SEPÚLVEDA, 1984). La oscuridad total induce exclusivamente la producción de esclerocios, mientras que bajo UV se obtiene gran cantidad de conidias (KHARBANDA, 1979).

Las inoculaciones realizadas sobre plan-

tas con 12 días de edad, y mediante concentraciones de 9×10^5 conidias/cc, muestran los primeros síntomas de la enfermedad a los 15 días; a los 30 días todas las plantas inoculadas presentan los síntomas (SEPÚLVEDA, 1984). En otras condiciones parecidas también se consiguen realizar los exámenes de patogenicidad, así LAHA, en 1983, utiliza plantas con 21 días de edad y una concentración de inóculo de 5×10^4 esporas/cc.

Sanidad del cultivo respecto a la enfermedad

Como fungicidas se han aplicado con éxito captan, TMTD, diclofluanida y benomilo (ELLIS, 1974); pero recientemente se han denunciado resistencias a sistémicos, tales como benomilo, metiltiofanato y tiazendazol (NEERGAARD, 1988).

El empleo de variedades resistentes se

presenta esperanzador después de que CHAUBEY, en 1984, y REWAL, en 1989, hayan encontrado dos líneas de garbanzos resistentes (lcc1069 y lcc6250).

MATERIAL Y METODOS

Determinación específica de un aislado de *Botrytis* sp. afectando a un lote de semillas de garbanzo y comprobación de su poder patógeno

Los pasos dados han sido los siguientes:

1. Cultivo, en PDA, de micelios de *Botrytis* sp. producidos en semillas de garbanzo colocadas en cámara húmeda. Los cultivos se sitúan en el alféizar de una ventana con orientación a la umbría.

2. Esporulado el micelio realizamos un estudio morfométrico de 100 esporas. Para ello empleamos una cámara clara y un objetivo 100 x.

3. Mediante agua estéril, y conidias del hongo, formamos suspensiones de las siguientes concentraciones:

- a: 1×10^5 esporas cl^{-1}
- b: 7×10^5 esporas cl^{-1}
- c: 4×10^6 esporas cl^{-1}
- d: Testigo. Agua estéril

4. Inmersión de 100 semillas de garbanzo del cv. Castellano en las suspensiones a, b, c y d.

5. Todos y cada uno de los lotes de semilla son sembrados en turba estéril y cultivados bajo cubierta de plástico.

6. La sanidad de los lotes de siembra se valora a partir de los 15 días de realizada ésta.

Estudio de la sensibilidad de tres cultivares de garbanzo a un aislado de *Botrytis* sp.

El procedimiento, partiendo del cultivo en PDA anteriormente descrito, ha sido el siguiente:

1. Formamos una suspensión de esporas, en agua estéril, con una concentración de:

- a: 7×10^5 esporas cl^{-1}
- b: Agua estéril. Testigo

2. Inmersión de 100 semillas de garbanzo de los cv. Castellano, Blanco Lechoso y Pedrosillano en las suspensiones de esporas a y b.

3. Siembra en turba estéril de las variables del experimento (6 lotes de 100 semillas cada uno).

4. La comprobación de los resultados se realiza a partir de los 15 días de siembra.

Análisis del poder fungicida de procimidona respecto al desarrollo de la enfermedad en garbanzos impregnados con *Botrytis* sp.

El desarrollo de este experimento, con el aislado de *Botrytis* sp., ha sido de la siguiente forma:

1. Suspensión en agua estéril de esporas del hongo con una concentración de:

- a: 7×10^5 esporas cl^{-1}
- b: Agua estéril. Testigo

2. Inmersión de 100 semillas de garbanzo Blanco L. en las suspensiones a y b.

3. Colocación de los lotes de semillas entre papel de filtro humedecido durante 24 horas, con objeto de que los promicelios del hongo se introduzcan en el interior de los tejidos seminales.

4. Impregnación o no de los garbanzos con procimidona (3 g/kg de semilla) formando las siguientes combinaciones con a y b.

Variables:

- Garbanzo impregnado con a + procimidona.
- Garbanzo impregnado con a (Testigo).
- Garbanzo impregnado con b + procimidona.
- Garbanzo impregnado con b (Testigo).

5. Control de la sanidad de plántulas a partir de los 15 días.

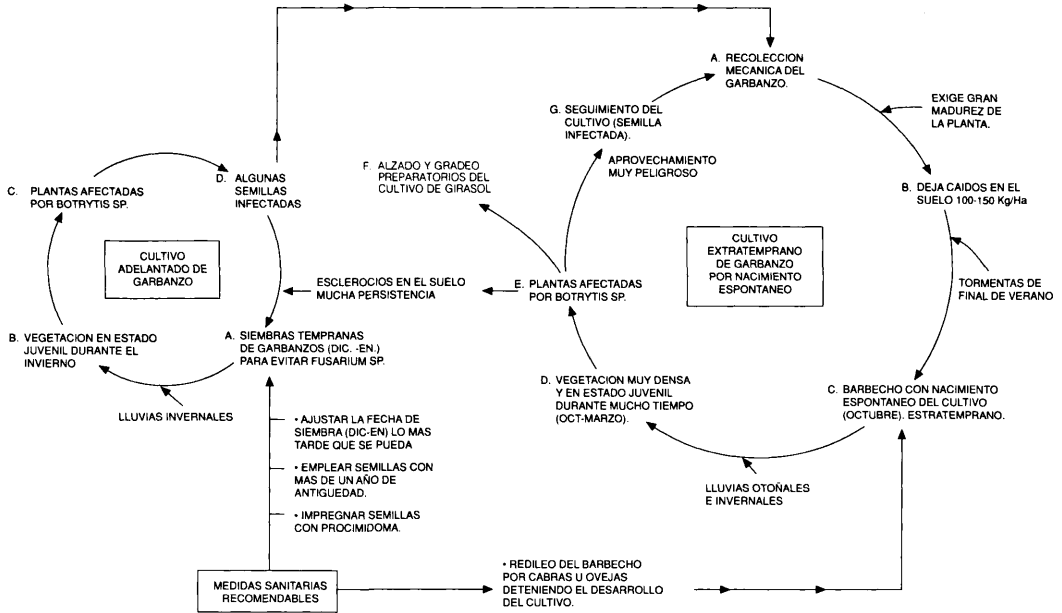


Fig. 6.—Potencialidad parasitaria del agrosistema extremeño en el que se cultiva el garbanzo y recomendaciones sanitarias. (Parasitic potential of chickpea cultivation in the Extremadure agrosystem. Some sanitary recommendations).

Incidencia en campo de la enfermedad relacionada con la fecha de siembra

Aprovechando la existencia de dos campos de garbanzo contiguos, con unas características de cultivo muy definidas y con diferentes intensidades de síntomas de la enfermedad, decidimos hacer una valoración objetiva de los mismos. Las características de las parcelas y el muestreo realizado son las siguientes:

- Cultivar: Pedrosillano.
- Superficie de cultivo: 10 Ha.
- Comarca: Maguilla (Campiña Sur Extremeña).
- Campo A: Siembra el 10 de noviembre de 1990.
- Campo B: Nacimiento espontáneo, primera semana de octubre, como consecuencia de los restos de recolección de la cosecha anterior y mantenidos en cultivo durante la primavera-verano de 1991.

Valoración 2.ª: Quincena de abril de 1991. Determinación de la sanidad de las plantas en 15 estaciones al azar/campo. Las plantas se clasifican como completamente sanas o con algún tallo muerto.

RESULTADOS

Los estudios morfológicos realizados sobre el aislado de *Botrytis* sp. nos permiten conocer que sus esporas tienen unas dimensiones extremas de 10,56 – 16,98 × 6,68 – 9,76 μm y unos valores medios de 13,37 × 8,52 μm.

El poder patógeno del micobionte sobre Cv. de garbanzo se evidencia en el Cuadro 1.

Tanto en el campo, sobre plantas enfermas, como en los cultivos de laboratorio, hemos obtenido abundantes esclerosis.

El análisis de la sensibilidad de tres Cv.

Cuadro 1.—Poder patógeno del micobionte sobre el Cv. de garbanzo Castellano

Concentración de esporas de <i>Botrytis</i> sp. (Concentration of spores of <i>Botrytis</i> sp.)	Plantas sanas (Healthy plants)	Plantas severamente afectadas o muertas (Few disease or dead plants)	Hongo aislado de las plantas afectadas (Mould isolated from diseased plants)
1×10^5 esporas cl^{-1}	29	71	<i>Botrytis</i> sp.
7×10^5 esporas cl^{-1}	18	82	<i>Botrytis</i> sp.
4×10^6 esporas cl^{-1}	8	92	<i>Botrytis</i> sp.
Testigo. Agua estéril	98	2	—

Resultados de impregnar semillas de garbanzos Castellano, previamente a su siembra, con distintas concentraciones de *Botrytis* sp.

Results of impregnated chickpea seed previously to be sown, with several concentration of *Botrytis* sp.

Cuadro 2.—Análisis de la sensibilidad de tres Cv. de garbanzo al aislado de *Botrytis* sp.

Variables	Plantas severamente afectadas o muertas (Few disease or dead plants)	Plantas sanas (Healthy plants)	Hongo aislado de las semillas afectadas (Mould isolated from diseased plants)
1. Garbanzo Castellano. Impregnación (a)	100	0	<i>Botrytis</i> sp.
Garbanzo Castellano. Impregnación (b)	2	98	—
2. Garbanzo Blanco L. Impregnación (a)	97	3	<i>Botrytis</i> sp.
Garbanzo Blanco L. Impregnación (b)	4	96	—
3. Garbanzo Pedrosillano. Impregnación (a)	96	4	<i>Botrytis</i> sp.
Garbanzo Pedrosillano. Impregnación (b)	2	98	—

(a) = 7×10^5 esporas cl^{-1} de *Botrytis* sp.

(b) = agua estéril.

Comportamiento de tres Cv. de garbanzo frente a un aislado de *Botrytis* sp.

Behaviour of three Cv. Chickpeas whit respecto to *Botrytis* sp. cultivation.

de garbanzo al aislado de *Botrytis* sp., queda reflejado en el Cuadro 2.

La comprobación del poder fungicida de la procimidona, como profiláctico del patosistema, se expresa en el Cuadro 3.

La valoración de la incidencia en campo de la enfermedad, tal y como se ha descrito en el apartado correspondiente de material y métodos, ha sido muy neta: Un 16 % de las plantas analizadas, y correspondientes a la siembra del 10 de noviembre de 1990, manifestaban síntomas de *Botrytis* sp., mientras que los garbanzos nacidos espontáneamente, en la primera semana de octubre, tenían un 38 % de plantas enfermas.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

- El aislado de *Botrytis* sp., que ha servido para todos los experimentos de este

trabajo, tiene unas esporas, con tales dimensiones, que se puede conferir con rotundidad a la especie *Botrytis cinerea* Pers.

- Del cuadro 1 se puede concluir que probablemente *Botrytis cinerea* es el incitante del patosistema aparecido en la Campaña Sur de Extremadura.

Una suspensión de al menos 10.000 esporas/cc del hongo es capaz de provocar la muerte de plantas, cuando las semillas de garbanzo son sumergidas en dicha suspensión.

- Los cultivares de garbanzo Castellano, Blanco Lechoso y Pedrosillano son susceptibles a *Botrytis cinerea*, sin que manifiesten diferencias entre sí respecto al hongo.

- El fungicida procimidona ha evidenciado su eficacia impidiendo el desarrollo de *Botrytis cinerea* sobre semillas de garbanzo.

Cuadro 3.—Comprobación del poder fungicida de la procimidona, como profiláctico del patosistema

Variables	Plantas severamente afectadas o muertas (Few disease or dead plants)	Plantas sanas (Healthy plants)
Semillas impregnadas con (a) + Procimidona Seed impregnated with (a) + Procimidona	—	100
Semillas impregnadas con (a) Seed impregnated with (a)	51	49
Semillas impregnadas con (b) + Procimidona Seed impregnated with (b) + Procimidona	1	99
Semillas impregnadas con (b) Seed impregnated with (b)	3	97

(a) = 7×10^5 esporas cl^{-1} de *Botrytis* sp.

(b) = agua estéril.

Valoración del poder fungicida de la procimidona para impedir el desarrollo de *Botrytis cinerea* en semillas de garbanzo.
Valuation of fungicide power Procimidona to prevent the develop of *Botrytis cinerea* in Chickpea's seed.

• La susceptibilidad de las siembras tempranas al desarrollo de la enfermedad parece aumentar con el adelanto de aquéllas.

La recolección mecanizada de garbanzos deja en el suelo gran cantidad de semilla (100-150 kg/Ha). Las lluvias de otoño provocan la germinación de éstas, constituyéndose sembrados de garbanzo extratempranos y de gran densidad. Estas plantas van a permanecer en el terreno, ya desarrolladas, durante mucho tiempo, justo en el momento en que las condiciones bioclimáticas son favorables al desarrollo del micobionte. Abundantes focos de plantas parasitadas por *Botrytis cinerea* pueden, con este supuesto, constituirse en depósitos importantes de vehiculación del patógeno en cultivos sucesivos, teniendo en cuenta que las semillas afectadas, y con menos de un año de antigüedad, son focos primarios de la enfermedad en el cultivo siguiente.

La consideración anterior, y el hecho de que este hongo forme con facilidad esclerocios, obliga a los agricultores a diseñar la alternativa considerando las características bioclimáticas y técnicas del agrosistema, de tal forma que no se provoque el desarrollo de este patosistema. La figura 6 recoge es-

tos planteamientos y sugiere, como medidas profilácticas, las siguientes recomendaciones:

— Ajustar la fecha de las siembras adelantadas de garbanzo en Extremadura a partir de enero.

— No cultivar garbanzos nacidos espontáneamente por los restos de la recolección del cultivo anterior, eliminándolos preferentemente mediante el redileo de ganado.

— Emplear para la siembra semillas sanas y con más de un año.

— En aquellos campos donde se haya detectado la presencia de la enfermedad será conveniente, en siembras adelantadas, impregnar la semilla con procimidona o algún otro específico de probada eficacia.

AGRADECIMIENTOS

A la Ayudante de Laboratorio Milagros Arenas por colaborar en los diversos experimentos del trabajo y por el mecanografiado del texto. Al empresario Lorenzo Barragán que ha puesto a nuestra disposición toda su infraestructura agropecuaria.

ABSTRACT

DEL MORAL, J.; CHICA, V.; GALLEGU, M.; CASADO, D. (1992): Peligrosidad de *Botrytis cinerea* Pers. en siembras adelantadas de garbanzo en Extremadura. *Bol. San. Veg. Plagas*, **18** (4): 725-734.

This article reports the dangerous of *Botrytis cinerea* Pers. on early sown chickpea's (36 % of disease planta during 1991 in some fields of Extremadura). Three Spanish cv. proved to be sensitive to pathogen. Procimidona, impregnating the seed, prevents the disease. Several aspects about the epidemiology are discussed and recommendation are given for healthy crops.

Key words: *Botrytis cinerea*, procimidona, chickpea.

REFERENCIAS

- ALVAREZ, M.; MORENO, A., 1984: Identificación de hongos causantes de pudrición radicular en garbanzo (*Cicer arietinum*). *Agricultura Técnica*, **3**: 253-258.
- CHAUBEY, H. ; BENIWAL, S. P.; TRIPATHI, H. S.; NENE, Y. L., 1983: Field screening for resistance to *Botrytis* Gray mold. *International Chickpea Newsletter*, **8**: 20-21.
- DEL MORAL, J.; CHICA, V.; GALLEGU, M.; LÓPEZ, M., 1990: Estudio y determinación de diversas técnicas para luchar contra la Rabia del garbanzo en siembras tempranas. *Cuadernos de Fitopatología*, **23**: 79-83.
- DEL MORAL, J.; ROL, V.; LÓPEZ, M.; CHICA, V., 1989: Ensayo para valorar la utilidad de la desinfección de semillas con un fungicida en siembras de garbanzo. *Cuadernos de Fitopatología*, **19**: 62-65.
- ECC AGRIMED, 1988: *Selection et multiplication de semences. Present status and Future Prospects of Chickpea Crop Production*. IAMZ. Zaragoza.
- ELLIS, M. B.; WALLER, J. M., 1974: *Description of Plant Pathogenic Fungi and Bacteria*: **431**. CAB.
- ELLIS, M. B., 1980: *Dematiaceous Hyphomycetes*. CAB.
- KHARBANDA, P. D.; BERNIER, C. C., 1979: *Botrytis* Gray Mould of Cheackpea in Manitoba. *Plant Disease Reporter*, (8): 662-663.
- LAHA, S. K.; GREWAL, J. S., 1983: *Botrytis* Blight of Cheackpea and its perpetuation through seed. *Indian Phytopathology*, **36**(4): 630-634.
- NEEGAARD, P., 1988: *Seed Pathology*, vol. I, II. MacMilla Press.
- REWAL, N.; GREWAL, J. S., 1989: Inheritance of resistance to *Botrytis cinerea* Pers. in *Cicer arietinum* L. *Euphytica*, **44**: 61-63.
- SEPÚLVEDA, P.; ALVAREZ, M., 1984: Identificación de *Botrytis cinerea* Pers. causando «atizonamiento» en garbanzo (*Cicer arietinum*). *Agricultura Técnica* (Chile), **44**(1): 79-80.
- SING, K. B., 1988: *Winter chickpea: Problems and potential in the mediterranean region. Present status and Future Prospects of Chickpea Crop Production*. IAMZ. Zaragoza.
- TRAPERO CASAS, A., 1986: Estrategias de lucha contra enfermedades de las leguminosas grano en Andalucía, con especial referencia a los garbanzos. 2.º *Symposium Nacional de Agroquímicos*. Sevilla.

(Aceptado para su publicación: 30 enero 1992)