

Algunos hongos patógenos detectados en raíces de diferentes plantas ornamentales en viveros de la Comunidad de Madrid

M. L. TELLO MARISCAL, A. ALONSO y E. MATEO-SAGASTA AZPEITIA

Durante los años 1991, 1992 y 1993 se llevó a cabo un estudio de las enfermedades fúngicas que afectaban a las plantas ornamentales cultivadas en los viveros de la Comunidad de Madrid. Se estudiaron siete viveros de producción y quince géneros vegetales distintos. En las muestras analizadas se aislaron preferentemente hongos del suelo de la familia *Pythiaceae* (61%) donde *Pythium* fue el género más frecuente (85%). La patogenicidad de varios aislados se comprobó mediante inoculaciones artificiales en plántulas de *Cupressus arizonica* Greene. y *Pyracantha coccinea* M. J. Roemer.

M. L. TELLO MARISCAL. Subdir. Gral. de Investigación Agraria. Comunidad de Madrid. Apdo. 127. Alcalá de Henares 28800.

A. ALONSO y E. MATEO-SAGASTA AZPEITIA. Cátedra de Patología Vegetal. ETSI Agrónomos de la Universidad Politécnica. Ciudad Universitaria, s/n. Madrid 28040.

Palabras clave: Ornamentales, *Pythiaceae*, viveros, Comunidad de Madrid, *Pythium*, *Cupressus arizonica*.

INTRODUCCION

El objeto del estudio que llevamos a cabo en los años 91, 92 y 93 en los viveros de la Comunidad de Madrid (CAM) fue el conocimiento de las enfermedades más importantes en la fase de producción de planta ornamental en nuestra Comunidad.

Se estudiaron un total de siete viveros repartidos por toda la región y dedicados a la producción de árboles y arbustos de ornamento, principalmente en contenedor.

Las muestras estudiadas presentaban síntomas de enfermedad por problemas de raíz o cuello («damping-off») con elevada probabilidad de estar producidas por algún tipo de hongo del suelo (Figs. 1 y 2).

Los huéspedes vegetales que se analizaron pertenecían a quince géneros diferentes. En su mayoría se trataba de plántulas jóvenes en semillero, estaquillado o poco des-

pués del transplante, durante el primer año de cultivo.

Las pérdidas suponen normalmente un 5% de las plantas pero pueden alcanzar hasta más del 50% en los casos graves.

ANTECEDENTES

La motivación de este trabajo fue la existencia de un problema sanitario en los viveros de producción de planta ornamental, que habitualmente queda oculto por la aplicación de tratamientos fitosanitarios reiterados y sistemáticos, carentes de diagnóstico previo.

La bibliografía extranjera hace referencia a numerosos casos de enfermedades de plantas forestales y ornamentales debidas a hongos del suelo, y más concretamente a *Pititáceos*, en la fase de producción en vivero



Fig. 1.—Síntomas de enfermedad del suelo en *Pyracantha* sp. bajo plástico (Madrid).

(FARR *et al.*, 1989; HENDRIX y CAMPBELL, 1966 y 1968; JACQUIN y CHAUVEL, 1993; VEGH y LE BERRE, 1985).

Sin embargo, no hay estudios precedentes en nuestra zona sobre las enfermedades que afectan a las especies ornamentales. Existía, en la Cátedra de Patología Vegetal de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de Madrid, un conocimiento de los problemas sanitarios aparecidos a lo largo de muchos años, como fruto de las consultas efectuadas por organismos públicos, entidades privadas y particulares, pero de forma irregular, necesitado de sistematización y de un estudio más detenido.

MATERIAL Y METODOS

Aislamiento

De las plantas afectadas se tomaron muestras con tres grados de enfermedad: plantas asintomáticas, plantas con ataque medio y



Fig. 2.—Detalle de plantas de *Pyracantha* sp. afectadas por *Pythium* sp.

otras con ataque severo. De cada tipo se recogieron de tres a cinco plantas para las cultivadas en contenedor y una zona de aproximadamente 20 cm² para los semilleros o estaquillados. Cuando fue posible se controló visualmente la evolución de la enfermedad y se tomaron muestras periódicamente para su estudio en laboratorio.

Las raíces de las plantas se limpiaron cuidadosamente con agua corriente hasta eliminar los restos de sustrato adherido a ellas. En las plantas adultas, con un desarrollo radicular grande, se seleccionó según una distribución homogénea en el espacio, un tercio del mismo para su estudio en laboratorio. Una vez limpiadas, las raíces se sumergieron en etanol al 70% durante 60 segundos y en hipoclorito sódico al 2% durante 30 s. Se aclararon con dos lavados en agua destilada estéril y se secaron sobre papel de filtro estéril. Finalmente, segmentos de 1 cm de longitud se dispusieron en placas Petri de 9 cm de diámetro con los medios agarizados semi-selectivos que se especifican en el párrafo siguiente; o bien se colocaron en cámara húmeda y lámina de agua.

Los medios semi-selectivos utilizados para el aislamiento de los hongos fueron dos. Para el aislamiento de los Pitiáceos se empleó el medio de KANNWISCHER y MITCHELL (1978) con modificaciones realizadas en el laboratorio de Patología Vegetal de la ETSIA por C. GÓMEZ-LIMÓN. Dicho medio se compone de: 7 g/l de agar harina de maíz (Difco), 14 g/l de agar bacteriológico, 5 mg/l de pimaricina, 250 mg/l de ampicilina, 10 mg/l de rifampicina, 100 mg/l de PCNB y 12 mg/l de benomilo. Para el caso de los Fusaria se preparó un medio agarizado con patata-dextrosa (Difco) y estreptomycinina (0,5 g/l).

Tanto los cultivos en medio sintético como las muestras en cámara húmeda y lámina de agua se incubaron a 22-24 °C en oscuridad y se observaron regularmente al microscopio estereoscópico (50x aumentos) para detectar el crecimiento de hongos potencialmente patógenos. Cuando dichos hongos fueron detectados se procedió a su

aislamiento mediante siembras, en los medios semi-selectivos antes indicados, de pequeños trozos de tejido o de agar, en su caso, que portaban alguna estructura fúngica. Se continuó con el cultivo sucesivo en dichos medios semi-selectivos de extremos de hifas en crecimiento activo tomadas del frente de crecimiento a los dos o tres días de la siembra. Una vez aislados se cultivaron en medio base sin antibióticos para su posterior identificación y su conservación *in vitro* a 3-4 °C.

Los géneros se identificaron principalmente por sus características morfológicas. Para la clasificación de *Pythium* se empleó la clave de VAN DER PLAATS-NITERINK (1981). Para *Phytophthora* se usaron las de WATERHOUSE (1970) y STAMPS, WATERHOUSE, NEWHOOK y HALL (1990). Para favorecer la formación de sus estructuras sexuales y asexuales se incubaron entre 20 y 22 °C en lámina de agua a la que se añadieron como cebo, en el caso de *Pythium*, trozos de hoja de gramínea previamente esterilizados. De este modo, en un tiempo variable según especies, los *Pythium* desarrollan primero los esporangios en el agua y, posteriormente, oogonios y anteridios colonizan las hojas de gramínea.

Veinticinco de los aislados se enviaron al International Mycological Institute (IMI), en el Reino Unido, para su completa clasificación.

Conservación

Los hongos de la familia *Pythiaceae* se conservaron *in vitro* en tubos de ensayo con medio de harina de maíz (CMA) o de harina de avena (OMA) y cubiertos con una lámina de aceite de vaselina líquida esterilizada de 1 cm de espesor (SMITH, 1993). Los tubos se guardaron en cámara frigorífica a 3-4 °C y se transfirieron a medio fresco una vez al año.

Además, los aislados utilizados en trabajos posteriores se mantuvieron activos en planta viva de semillero inoculada artificial-

mente en las primeras semanas después de la emergencia. Para ello se utilizaron dos especies: *Cupressus arizonica* Greene. y *Pyracantha coccinea* M. J. Roemer. Las plántulas que mostraron síntomas de enfermedad se limpiaron, secaron y guardaron envueltas en papel en cámara frigorífica a 3-4 °C hasta el momento del reaislamiento.

Fusarium se conservó en tubos de ensayo con arena esterilizada a la que se añadió una suspensión de esporas del hongo. Los tubos se conservaron también en cámara frigorífica a 3-4 °C y se repicaron periódicamente cada 6 meses.

Se mantiene una colección de más de 50 aislados.

Pruebas de Patogenicidad

Ocho aislamientos de *Pythium*, uno de *Phytophthora* y cuatro de *Fusarium* fueron

evaluados en pruebas de patogenicidad en laboratorio (Figs. 3 y 4).

Se utilizaron plántulas de un mes de edad desde la emergencia de *Cupressus arizonica* Greene. y *Pyracantha coccinea* M. J. Roemer. procedentes de semilla desinfectada con hipoclorito sódico al 2% y sembradas en bandejas con un sustrato mezcla de turba y vermiculita (1:1 v/v), previamente desinfectado con vapor de agua (1 hora a 100 °C). Las bandejas se dispusieron en cámara de cultivo a una temperatura de 22 °C durante el día y 18 °C durante la noche, con un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 h de oscuridad.

Las infecciones se realizaron con una suspensión de oosporas (caso de *P. irregulare* y *Phytophthora* spp.), cuerpos reproductores o «hyphal swellings» (caso de *P. intermedium*) o macro y microconidias (caso de *Fusarium* spp.). Se inoculó con 1 ml de dicha suspensión por planta, un total de 16 plantas por inóculo.

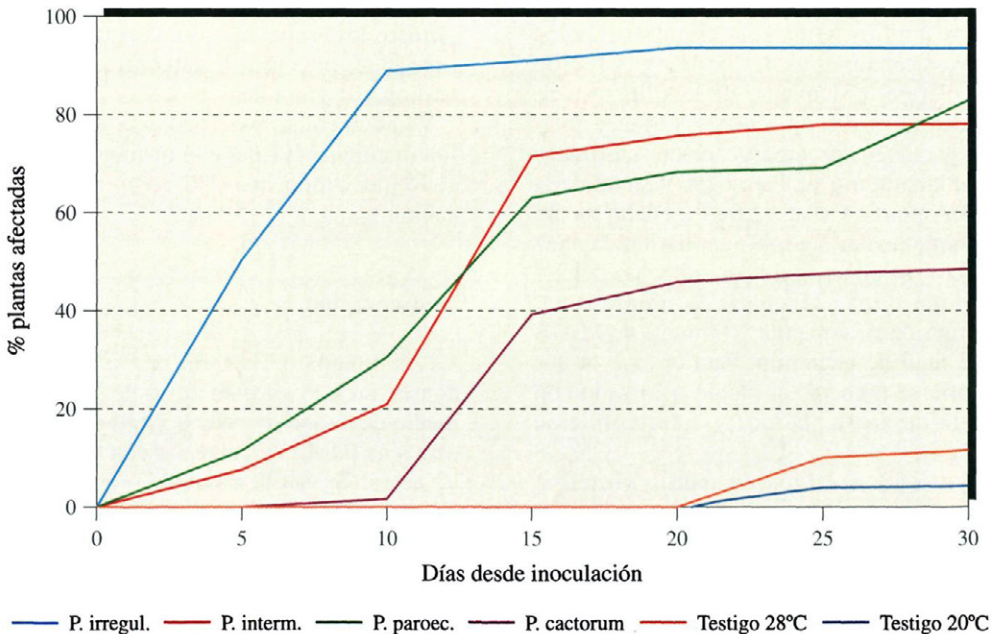


Fig. 3.—Patogenicidad de *Pythium irregulare*, *Pythium intermedium*, *Pythium paroecandrum* y *Phytophthora cactorum* sobre *Cupressus*.

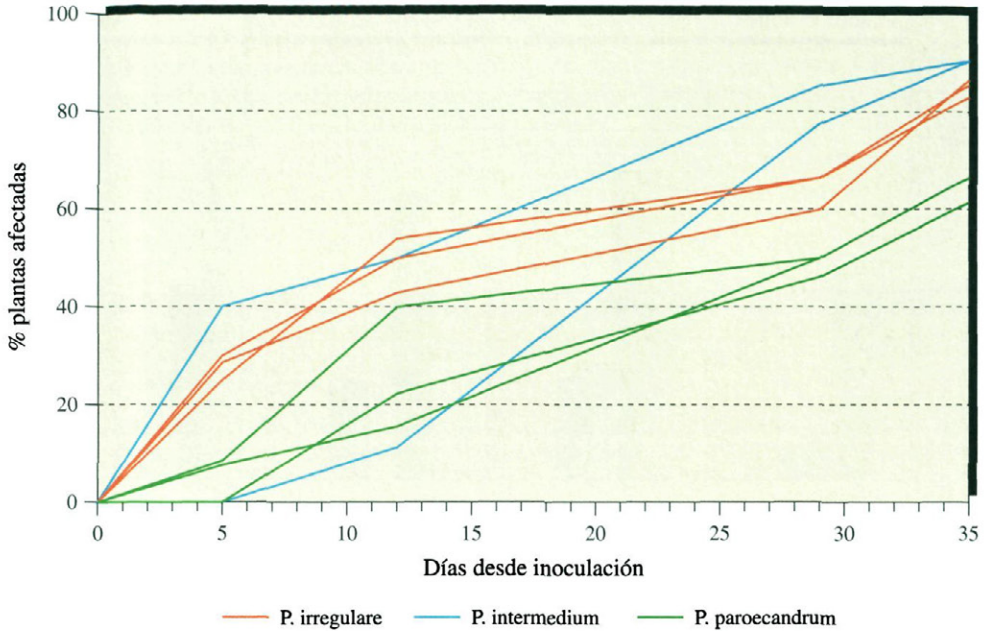


Fig. 4.-Patogenicidad de ocho aislados de *Pythium* sp. sobre *Cupressus*.

RESULTADOS Y DISCUSION

Con elevada frecuencia la causa de la alteración fue de origen fúngico y más concretamente de los conocidos como hongos del suelo. El número de aislamientos de hongos de la familia *Pythiaceae* (61%) fue muy superior al de cualquier otro hongo fitopatógeno, incluido *Fusarium*, con claro predominio de especies del género *Pythium* que aparecieron en el 85% de las debidas a pitiáceos.

Los problemas sanitarios se presentaron preferentemente en noviembre-diciembre y febrero-marzo, períodos de temperaturas ambientales bajas en Madrid pero que permiten alcanzar en el suelo valores cercanos al óptimo para el desarrollo de la enfermedad, más aún en el caso de semilleros protegidos o planta bajo cubierta de plástico. El cuadro 1 y la figura 5 recogen los valores medios de las temperaturas máximas, mínimas y medias del aire registradas durante los años 91, 92 y 93, tanto en el exte-

Cuadro 1.-Medias de Temperaturas máximas, mínimas y medias del aire dentro y fuera del invernadero (en grados Celsius) registradas en Alcalá de Henares (Madrid)

Meses	Media de máximas		Media de mínimas		Media de medias	
	Interior	Exterior	Interior	Exterior	Interior	Exterior
Febrero	15,5	12,0	2,2	1,4	8,8	6,7
Marzo	22,7	17,6	6,4	5,5	14,6	11,5
Noviembre		16,3		5,4		10,9
Diciembre	19,2	10,9	2,6	3,0	10,9	7,0

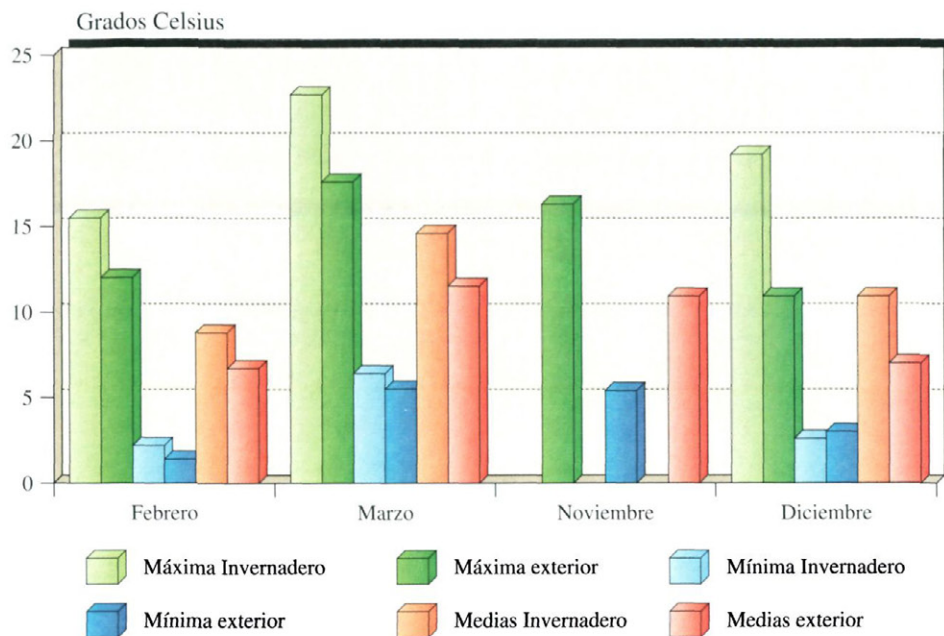


Fig. 5.—Comparación de medias de temperaturas máximas, mínimas y medias mensuales del aire en el interior y en el exterior del invernadero en La Canaleja y El Encín (Alcalá de Henares-Madrid).

rior como en el interior de un invernadero de cristal abierto por los extremos y por las aberturas cenitales. Son datos recogidos por la Dra. A. González en las fincas El Encín y La Canaleja, en Alcalá de Henares (Madrid).

Son favorables a la enfermedad las temperaturas frescas, humedad elevada (ya sea debido a lluvia o a riego intenso) y estado de debilidad de la planta sometida a estrés (trasplante, estaquillado) o en las primeras etapas de su desarrollo (semillero). Las temperaturas óptimas para la infección oscilan entre los 15 y 22 °C para *Pythium irregulare* Buisman y los 28 °C para *Pythium parocandrum* Drechsler (RONCADORI y MCCARTER, 1972; KEIM *et al.*, 1978; VAN DER PLAATS-NITERINK, 1981).

En algunos casos *Pythium* sp. apareció acompañado de *Fusarium* sp. Las inoculaciones artificiales con *Fusarium* en planta sana no consiguieron reproducir la enfermedad. Por el contrario, se comprobó la pato-

genicidad de varios aislados de tres especies de *Pythium* y una de *Phytophthora* en post-emergencia de plántulas de *Cupressus arizonica* Greene. (Figs.3 y 4).

Las especies vegetales afectadas en vivero de producción fueron las pertenecientes a los géneros siguientes: *Cupressus*, *Cupressocyparis*, *Crataegus*, *Pyracantha*, *Rosmarinus*, *Thymus*, *Lavandula*, *Ligustrum*, *Hedera*, *Thuja*, *Taxus*, *Petunia*, *Deutzia*, *Escallonia* y *Pinus*.

Los viveros en los que se detectaron los pitiáceos se encuentran repartidos por toda la Comunidad Autónoma sin preferencia por ningún área en concreto; se trata de parásitos muy polífagos y ubicuos.

La sintomatología de las plántulas de semillero enfermas consistía fundamentalmente en podredumbres y necrosis en raíces y cuello, estrangulamiento a nivel del cuello y muerte (Figs. 6, 7, 8 y 9). En plantas de más edad los síntomas son muy variados, dependiendo de la gravedad de la enfermedad y

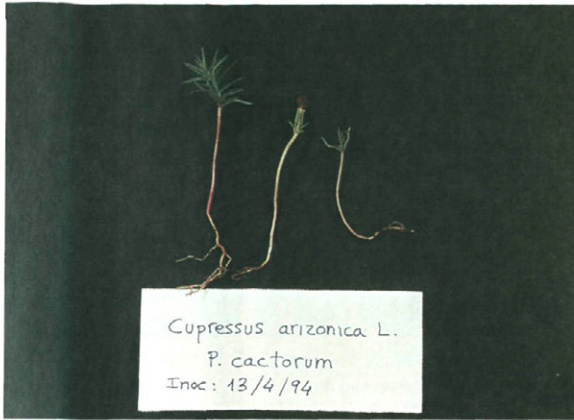


Fig. 6.—Daños en raíz provocados por *Phytophthora cactorum* sobre *Cupressus arizonica*.

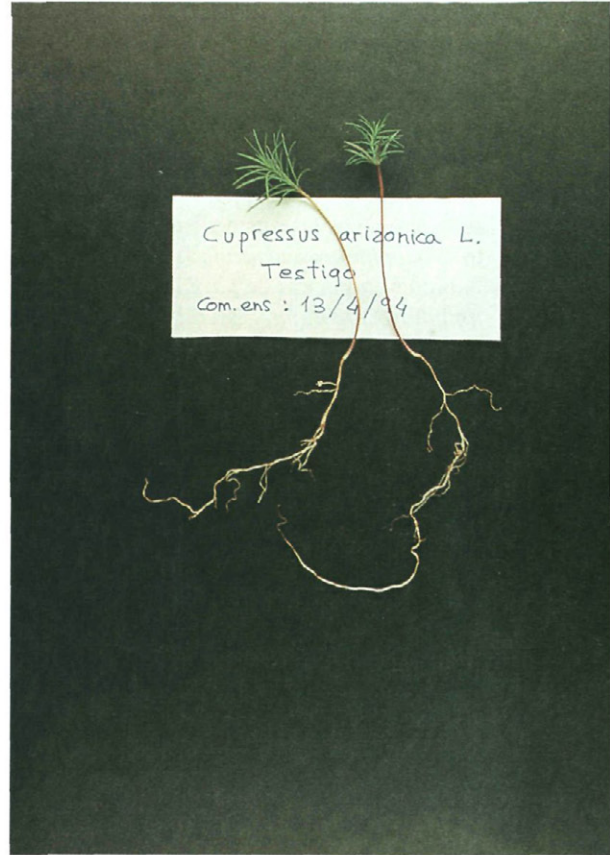


Fig. 7.—Raíces sanas de *C. arizonica*. Comparación con la anterior.



Fig. 8.—Zona estrangulada y necrosada en raíz de *C. arizonica* provocada por *Pythium* sp.

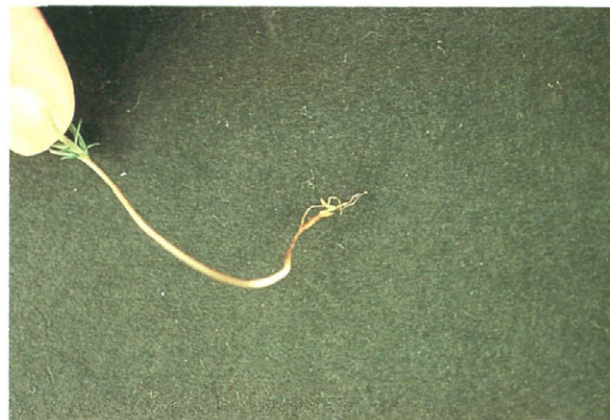


Fig. 9.—Necrosis radicular en *C. arizonica* provocada por *Pythium* sp.

van desde marchitez, falta de vigor, clorosis progresiva, retraso en el crecimiento, defoliación, muerte de brotes y hojas hasta el colapso total.

Tres fueron las especies de *Pythium* identificadas con mayor frecuencia: *P. irregulare* Buisman, *P. intermedium* de Bary y *P. paroecandrum* Drechsler. También se detectó *Phytophthora cactorum* (Lebert & Conh) Schroter en plantas de *Crataegus* sp. y *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan sobre *Lavandula* sp. (Figs. 10, 11, 12, 13 y 14).

Varios aislados no pudieron ser identificados a nivel de especie. El International Mycological Institute clasificó uno de estos como *Pythium* sp. grupo G. Como señalan HENDRIX y CAMPBELL (1968) posiblemente

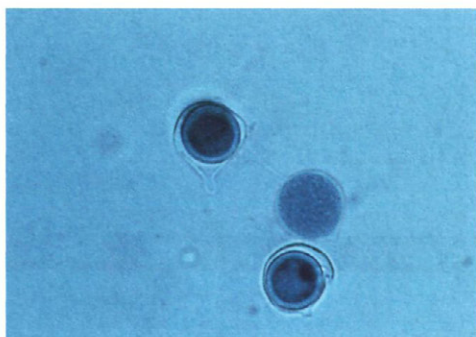


Fig. 10.—Oosporas y esporangios de *P. irregulare* al microscopio óptico (500x).

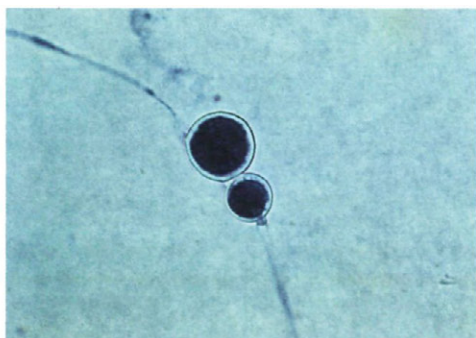


Fig. 11.—Cuerpos reproductores («hyphal swellings») de *P. intermedium* al microscopio óptico (500x).

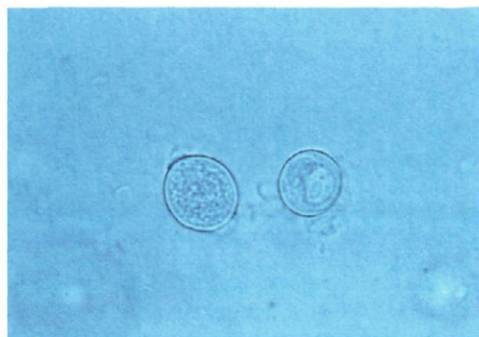


Fig. 12.—Esporangios de *P. paroecandrum* al microscopio óptico (500x).

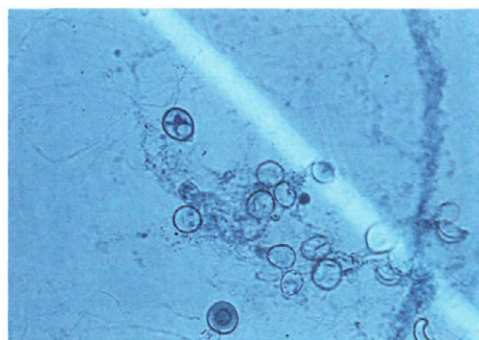


Fig. 13.—Esporangios y oosporas de *Phytophthora cactorum* al microscopio óptico (125x).

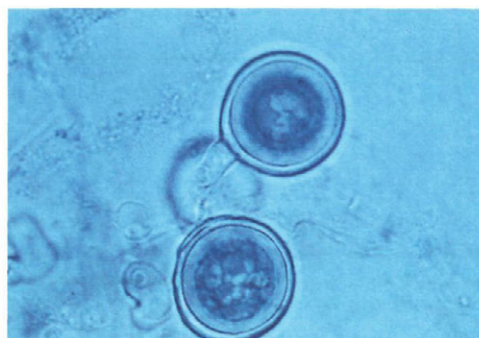


Fig. 14.—Detalle de oosporas de *P. cactorum* al microscopio óptico (500x).

se trate de individuos aberrantes de especies conocidas o nuevas especies aún sin clasificar.

Nuestros resultados confirman los obtenidos por otros autores que califican a *Pythium irregulare* como muy virulento (HENDRIX y CAMPBELL, 1968). Las plantas de *Cupressus* inoculadas artificialmente en post-emergencia rápidamente mostraron síntomas de «damping-off», con muerte de gran número de plántulas en un corto espacio de tiempo desde la inoculación (Figs. 3 y 4).

Los resultados de la inoculación sobre *Pyracantha* no fueron positivos; las plantas no mostraron síntomas de enfermedad aunque el hongo pudo recuperarse de las raíces. El inóculo obtenido a partir de plantas infectadas artificialmente pero asintomáticas sí resultó virulento en inoculaciones posteriores sobre plántulas de *Cupressus*.

CONCLUSIONES

Parece clara la importancia, durante el período considerado, de los hongos del género *Pythium* como productores de enfermedad en las fases de producción en vivero de planta ornamental en la CAM, con claro predominio frente a otros géneros de hongos del suelo.

El estudio realizado es insuficiente para llevar a cabo una cuantificación sobre la distribución de las enfermedades de suelo en planta ornamental en la CAM.

La influencia de las condiciones ambientales es tal que puede modificar el predominio que durante el período de estudio parecen ostentar los hongos de la familia *Pythiaceae* como principales productores de enfermedad en los viveros de planta ornamental de la Comunidad de Madrid, razón por la cual sería conveniente continuar y ampliar la prospección tanto en el espacio como en el tiempo en orden a controlar su evolución.

En la práctica normal en vivero los efectos de dichos hongos se enmascaran con tratamientos fungicidas sistemáticos y reiterados. Debería cuidarse más el estado sanitario del suelo o sustrato antes de la siembra o plantación y reducir o modificar las técnicas de cultivo relacionadas con el manejo de riegos y drenajes y las que provoquen situaciones de estrés a la planta.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración del sector viverista de la CAM, por facilitarnos el acceso a sus instalaciones y la toma de muestras y a la Dra. Agueda Gonzalez por permitirnos el uso de sus datos de temperaturas.

ABSTRACT

TELLO MARISCAL, M. L.; ALONSO, A. y MATEO-SAGASTA AZPEITIA, E., 1995: Algunos hongos patógenos detectados en raíces de diferentes plantas ornamentales en viveros de la Comunidad de Madrid. *Bol. San. Veg. Plagas*, 21(4): 517-526.

During 1991, 1992 and 1993 a search for fungal diseases in ornamental plants was carried out among production nurseries in Madrid. Seven nurseries and fifteen plant genera were surveyed. Soil-borne Pythiaceae fungi were most frequently isolated (61%), being *Pythium* the most abundant genus (85%). The pathogenicity of several isolates was assessed in seedlings of *Cupressus arizonica* Greene. and *Pyracantha coccinea* M. J. Roemer. under controlled conditions.

Key words: Ornamentals, *Pythiaceae*, nursery, Comunidad de Madrid, *Pythium*, *Cupressus arizonica*.

REFERENCIAS

- FARR, D. F.; BILLS, G. F.; CHAMURIS, G. P. y ROSSMAN, A. Y., 1989: *Fungi on plants and plant products in the United States*. Am. Phytopathol. Soc., St. Paul, MN.: 34.
- HENDRIX, F. F. y CAMPBELL, W. A., 1966: Root rot organisms isolated from ornamental plants in Georgia. *Plant Dis.*, **50**(6): 393-395.
- HENDRIX, F. F. y CAMPBELL, W. A., 1968: Pythiaceus fungi isolated from forest nursery soils and their pathogenicity to pine seedlings. *Forest Science*, **14**: 292-297.
- JACQUIN, D. y CHAUVEL, G., 1993: Etat sanitaire des végétaux forestiers et d'ornement. *Phytoma*, **450**: 37-41.
- KANNWISCHER, M. E. y MITCHELL, D. J., 1978: The influence of a fungicide on the epidemiology of black shank of tobacco. *Phytopathology*, **68**: 1760-1765.
- KEIM, R.; MOCK, T.; ENDO, R. M. y KRAUSMAN, E. M., 1978: Pathogenicity, characteristics and host range of the fungus *Pythium irregulare* Buis. in a container nursery in southern California. *HortScience*, **13**(3): 295-296.
- PLAATS-NITERINK, S. J. VAN DER, 1981: Monograph of the genus *Pythium*. *Studies in Mycology*, n.º 21. Centraalbureau Voor Schimmcultures. Inst. R. Neth. Acad. Sci. Lett. Baarn-Netherlands: 242 pp.
- RONCADORI, R. W. y McCARTER, S. M., 1972: Effect of soil treatment, soil temperature and plant age on *Pythium* root rot of cotton. *Phytopathology*, **62**: 373-376.
- SMITH, D., 1993: Notes on the preservation of fungi. En: *Identification of Pythium & Phytophthora species course*. IMI. UK:37pp.
- STAMPS, D. J.; WATERHOUSE, G. M.; NEWHOOK, F. J. y HALL, G. S., 1990: Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. *Mycological Papers* n.º 169. CAB. 28pp.
- VEGH, I. y LE BERRE, A., 1985: Quelques maladies nouvelles a *Phytophthora* des arbustes d'ornement en France. En: P.H.M. *Rev. Hortic.*, **258**: 35-39.
- WATERHOUSE, G. M., 1970: The genus *Phytophthora* de Bary. *Mycological Papers* n.º 122. CAB. 59 pp.

(Aceptado para su publicación: 19 diciembre 1994)