

Podredumbre de los frutos del peral causada por *Phytophthora cactorum* en el área mediterránea española

J. J. TUSET, C. HINAREJOS, J. L. MIRA

Desde el año 1992 y afectando a los frutos del peral (*P. comunis*), tanto en el campo como en el almacén, se viene detectando esporádicamente al hongo *Phytophthora cactorum* en la Comunidad Valenciana. Las tormentas de final de verano y los riegos copiosos son los factores que favorecen la infección de los frutos por este hongo del suelo. Los cvs "Blanca de Aranjuez" y "Roma", han resultado ser los más afectados con daños, a veces, considerables. Las peras son bastante sensibles a la inoculación con micelio y zoosporas y la "podredumbre marrón" producida es rápida, alcanzando a todo el fruto en unos 6-9 días a 24-25 °C. El control químico de este hongo con fungicidas endoterápicos sólo ha resultado eficaz con el metalaxil. Este fungicida, impide poderosamente el crecimiento del micelio en la piel y capas externas del mesocarpo de la pera a partir de 800 ppm de producto activo, no dejando desarrollar la "podredumbre marrón".

J. J. TUSET, C. HINAREJOS, J. L. MIRA. Departamento de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Moncada, Valencia.

Palabras clave: *Phytophthora cactorum*, "podredumbre marrón", pera, patogenicidad, control químico, fungicidas endoterápicos.

INTRODUCCIÓN

Phytophthora cactorum (Lebert & Cohn) Schroeter causa la podredumbre de los frutos de las pomáceas, tanto en las últimas etapas de su desarrollo como en el transcurso de su comercialización (SNOWDON, 1990; HARRIS, 1991). Áreas de la corteza de los frutos de color marrón, de variable amplitud y de consistencia dura, así como una anormal caída de estos al suelo, son los síntomas más llamativos en el campo (Fig. 1a) que tienen una continuación durante el acondicionado y venta en el mercado de los mismos. Esta sintomatología ha sido comprobada estos últimos años, en los meses de septiembre y octubre, en los frutos próximos a la madurez de plantaciones de perales (*Pyrus communis* L.) del cv. "Blanca de Aranjuez" y, en

frutos ya maduros, en diversos almacenes de confección de la fruta, todos ellos situados en la Comunidad Valenciana. Causando chancro basal en árboles jóvenes de manzano, Tuset (1977) ya indicó la actividad de este hongo en el área mediterránea española.

La podredumbre de los frutos con síntomas similares a los indicados y debida a *P. cactorum* fue señalada por primera vez en manzanas en Suiza (OSTERWALDER, 1906) y, posteriormente, tanto en peras como en manzanas, en Bélgica (MARCHAL, 1908), Francia (ARNAUD y BARTHELET, 1930), Holanda (ROOSJE, 1957), Italia (CANOVA, 1955), Inglaterra (COLHOUN, 1938), Estados Unidos (ROSE y LINDEGREN, 1925). No todas estas citas implican una significación económica de la afección fúngica y, aunque las peras son más sensibles a este patógeno que las

manzanas (McINTOSH, 1964), son muy pocas las que mencionan a las primeras.

En nuestro país, la podredumbre de las peras provocada por *P. cactorum* la observamos por primera vez en el año 1983 en una plantación del cv "Roma" situada en la provincia de Gerona y, posteriormente en 1985 también en la misma variedad en la provincia de Zaragoza, pero nunca había sido detectado este hongo en los frutos de este cultivo en el litoral mediterráneo, lo que ha sucedido, si bien de forma discontinua, a partir de 1992 hasta la actualidad.

El control químico de *P. cactorum* en el peral hasta la fecha es poco concluyente. Los derivados del cobre, así como los ditiocarbamatos y ftalimidicos, en tratamientos efectuados en el campo resultan ser de muy variable efectividad (McINTOSH, 1971). Entre los fungicidas sistémicos, metalaxil es el que mejor resultados ofrece, especialmente en postcosecha (UTKHEDE y GUPTA, 1988). Fosetyl-Al, con una actividad fungistática reconocida, posibilita un control discutible en aplicaciones foliares (HARRIS, 1991).

En el trabajo presentamos diversas observaciones sobre la morfología y patogenicidad de *P. cactorum* en frutos de peral, así como las posibilidades de su control con fungicidas endoterápicos.

MATERIALES Y METODOS

Aislamiento del hongo

P. cactorum fue aislado a partir de frutos de peral de los cvs "Blanca de Aranjuez" y "Roma" con síntomas de podredumbre marrón. Los aislamientos se hicieron del tejido de separación entre la parte afectada y la sana del mesocarpo. El tejido de esta zona fue cortado en pequeños cubos de 3-5 mm de lado. A continuación estos fueron agitados durante 2-3 minutos en una solución de hipoclorito sódico (ClONa) al 0,8%, lavados en agua destilada estéril y colocados en medio PDA (patata-dextrosa-agar). Las placas de Petri así preparadas se incubaron a 22-24 °C en la obscuridad.

Obtención de zoosporas

Las zoosporas de *P. cactorum* se obtuvieron a partir de micelio cultivado en un medio agarizado de verduras (jugo de tomate, apio, zanahoria, perejil, espinacas, lechuga, remolacha, cebolla, albahaca, zumo de manzana y zumo de limón 200 gr.; carbonato cálcico 3 gr.; agar 17 gr., agua destilada 800 ml.) e incubado durante 6-8 días a 24-25 °C bajo una iluminación blanca de 1200 luxes. Una vez crecido el micelio, el medio de cultivo agarizado fue cortado en tiras, de aproximadamente 10 mm. de anchura, y la mitad de las tiras de cada placa de Petri se transfirieron a otras placas estériles. A continuación a cada placa se le añadió 20 ml de una solución 0,1 M de NO_3K en agua destilada y se incubaron a 24-25 °C y 1200 luxes durante 48-72 h. A partir de aquí, y una vez formados los esporangios, la solución nitrogenada de cada placa fue decantada y reemplazada por 20 ml. de agua destilada estéril. Para inducir la producción de zoosporas, las placas eran situadas en un refrigerador a 8 °C durante 45 minutos y, a continuación se depositaban en la bancada del laboratorio. A las 2 h., una gran cantidad de zoosporas estaban presentes en las distintas placas.

Patogenicidad

Frutos próximos a la madurez de los cvs. "Blanca de Aranjuez" y "Roma" obtenidos directamente del campo, fueron empleados para los tests de inoculación. En el laboratorio, los frutos se desinfectaron con una solución de hipoclorito sódico al 8% durante 10 minutos, posteriormente lavados con agua destilada estéril y, una vez secos, inoculados con *P. cactorum* mediante:

- a) incisión en la piel del fruto e introduciendo en la misma una pequeña porción o greña de micelio joven en crecimiento del hongo o una gota de una suspensión de zoosporas conteniendo 1×10^5 zoosporas por ml.

b) por contacto. En este caso, frutos previamente infectados en el laboratorio con aislados autóctonos del hongo y con micelio externo desarrollado fueron utilizados como fuente de inóculo.

Después de la inoculación los frutos se almacenaron a 24-25 °C (temperatura óptima para el hongo) y 90% de H.R. durante 7 días.

Fungicidas

Los siguientes compuestos fueron evaluados *in vivo* sobre *P. cactorum*: propamocarb

70% formulado como líquido soluble (l.s); dimetomorf 15% formulado como suspensión concentrada (l.s), fosetil-Al 80% formulado como polvo mojable (p.m.), metalaxil 20% formulado como polvo mojable (p.m.) y oxadixil 20% formulado como polvo mojable (p.m.).

Evaluación de la actividad fungitóxica "in vivo"

Frutos del cv. "Blanca de Aranjuez" se trataron por inmersión durante 2-3 minutos en las suspensiones de los fungicidas y un



Fig. 1.—a) Plantación de perales del cv. "Blanca de Aranjuez" muy afectada por la "podredumbre marrón" de los frutos; b) síntomas en pera cv. "Roma"; c) síntomas en pera cv. "Blanca de Aranjuez".

día después fueron inoculados con micelio joven y zoosporas de *P. cactorum*, siguiendo la metodología indicada en el apartado de patogenicidad. Como control, en todos los experimentos, frutos inoculados se trataron únicamente con agua. En la infección por contacto, entre cada 5 frutos sanos se colocaba un fruto contaminado. Después de las inoculaciones los frutos fueron conservados a 24-25 °C y 90% H.R durante 11 días. Se evaluó el número de frutos contaminados, así como el área de los mismos afectada por la podredumbre.

En estos experimentos fue empleado un análisis estadístico (Test de Duncan).

RESULTADOS

Síntomas

La piel de los frutos del peral afectados por *P. cactorum* cambia de color en los primeros estadios de la podredumbre y gradualmente se hace marrón. Entonces, si la humedad ambiental es elevada, los frutos se cubren con un desarrollo miceliar blanquecino de variable intensidad formado por mechones de hifas que salen al exterior a través de las lenticelas (Fig. 1b y 1c). La podredumbre se expande a través del mesocarpo (carne) del fruto, causando la desorganización de los tejidos y, normalmente, una pérdida de líquidos. Por contacto, el podrido se trasmite de un fruto a otro du-

rante la conservación frigorífica en el almacén de acondicionado.

Agente patógeno

P. cactorum es una especie homotática. La producción de oosporas es abundante en medio agar+vegetales y un poco menor en PDA (Fig. 2c). En medios agarizados sólidos produce esporangios en cantidad variable. Estos son abundantes en extracto de suelo o en solución de NO_3K a los 4-6 días de sumergir el micelio en estos líquidos. La liberación de las zoosporas es rápida por encima de los 18 °C y estas permanecen móviles durante más de 17 días en el extracto de suelo.

La temperatura de crecimiento esta comprendida entre 2-4 °C y 30-32 °C con un optimo de 24-26 °C. Aunque algunos aislados han permanecido vivos a 0 °C y 34 °C durante 20 y 10 días respectivamente.

El micelio, con un crecimiento finamente radiado, esta constituido por hifas que portan pequeñas protuberancias y distorsiones (micelio toruloso o verrucoso) (Fig. 2a). Los esporangios son caedizos en el agua, papilados, esféricos, ovoides y limoniformes (Fig. 2b). El anteridio es paragino y monoclino, o sea situado en el pie ó pedicelo del oogonio (Fig. 2c).

En los aislados estudiados del hongo, la producción de clamidosporas ha sido variable. Algunos de ellos han producido muy

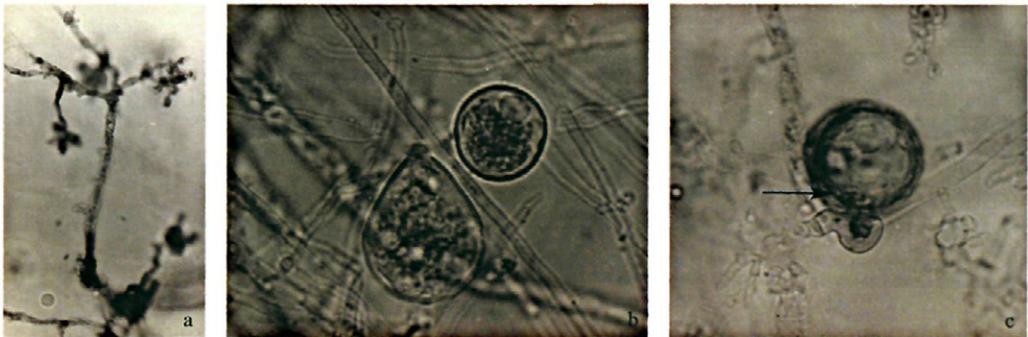


Fig. 2.—*Phytophthora cactorum*. a) Hifa con protuberancias (torulosa); b) esporangio papilado; c) oogonio fertilizado por un anteridio paraxinal monoclino (véase la flecha).

pocas y, en otros, se ha constatado un número considerable. Mayoritariamente, éstas son intercalares.

Para las dimensiones de estos órganos y ampliación de los caracteres a tener en cuenta para una correcta identificación de los aislados, ver Tuset (1977).

Patogenicidad

La capacidad de infección de los aislados de *P. cactorum* obtenidos de frutos afectados en plantaciones de la Comunidad Valenciana, ha sido muy elevada. La inoculación con micelio joven produjo el 100% de podrido en el cv. "Blanca de Aranjuez" y el 98% en el cv "Roma", mientras que con las zoosporas los porcentajes de podrido fueron el 88% y 87% respectivamente. El podrido se desarrolló con rapidez. A los 7-8 días de la inoculación más del 50% de la superficie de los frutos estaba colonizada y a los 10-11 días los frutos estaban completamente podridos. También por contacto, la infección se transmite, en porcentajes muy elevados, en pocos días.

Fungitoxicidad "in vivo"

De los cinco fungicidas ensayados solo el metalaxil fue capaz de defender los frutos del peral artificialmente infectado con micelio (Tabla 1) y con zoosporas (Tabla 2) de *P. cactorum*. Este fungicida proporcionó un importante control de este hongo, entre 12 y 14% de podrido, cuando fue aplicado a los frutos un día antes de la inoculación (acción preventiva). Oxadixil mostró un efecto medio, entre el 37 y 48% de podrido, mientras que el fosetil-AI, dimetomorf y propamocarb no fueron capaces de controlar la podredumbre. En la infección por contacto (Tabla 3), se mantuvo el mismo orden en la actividad de los fungicidas, si bien la acción fungitóxica desarrollada por todos fue un poco más elevada.

Tabla 1.—Efecto de 5 fungicidas en suspensión acuosa sobre la incidencia de *P. cactorum* en peras cv "Blanca de Aranjuez"

Tratamiento ^a	% Podrido ^a	Área podrida media (cm ²)
Testigo	100 a	50,24
Propamocarb 2.000 ppm	100 a	26,40
Dimetomorf 1.000 ppm	100 a	26,86
Fosetil-AI 2.000 ppm	90 a	12,10
Metalaxil 750 ppm	14 c	3,67
Oxadixil 750 ppm	48 b	18,46

^aFrutos previamente heridos e inoculados con micelio joven del hongo un día después del tratamiento fungicida por inmersión durante 3'.

^bCada tratamiento estaba compuesto por 50 frutos.

^cValores tomados 7 días después de ser conservados a 24°C y 90% H.R.

Datos seguidos por la misma letra no difieren significativamente.

Tabla 2.—Efecto de 5 fungicidas en suspensión acuosa sobre la incidencia de *P. cactorum* en peras cv "Blanca de Aranjuez"

Tratamiento ^a	% Podrido ^a	Área podrida media (cm ²)
Testigo	88 a	47,32
Propamocarb 2.000 ppm	86 a	28,12
Dimetomorf 1.000 ppm	85 a	25,60
Fosetil-AI 2.000 ppm	80 a	10,20
Metalaxil 750 ppm	12 c	2,82
Oxadixil 750 ppm	37 b	20,42

^aFrutos previamente heridos e inoculados con suspensión de zoosporas (1 x 10³ zoosporas por ml.) un día después del tratamiento fungicida por inmersión durante 3'.

^bCada tratamiento se componía de 50 frutos.

^cValores tomados 7 días después de ser conservados a 24 °C y 90% H.R.

Datos seguidos por la misma letra no difieren significativamente.

Tabla 3.—Podrido obtenido por infección por contacto en peras cv. "Blanca de Aranjuez" debido a *P. cactorum*

Tratamiento ^a	% Podrido ^a
Propamocarb 2.000 ppm	70 a
Dimetomorf 1.500 ppm	38 b
Fosetil-AI 2.000 ppm	41 b
Metalaxil 1.000 ppm	8 c
Oxadixil 1.000 ppm	24 b

^aFuente de contaminación: 1 fruto podrido entre 5 frutos sanos.

^bFungicidas aplicadas inmersión durante 3'.

^cValores tomados 11 días después de ser conservados a 24 °C y 90% H.R.

Datos seguidos por la misma letra no difieren significativamente.

DISCUSIÓN

P. cactorum, junto con *P. syringae* Kleb, esta considerado como uno de los principales hongos de las peras durante la conservación (Harris, 1991), aunque con tiempo húmedo, en las proximidades de la recolección, la "podredumbre marrón" puede presentarse con variable intensidad en el propio huerto (Bompeix y Mourichon, 1977). Tiempo húmedo por lluvias (como consecuencia de tormentas durante la segunda quincena de agosto e inicio de septiembre), así como riegos frecuentes (a veces semanales) y copiosos para engordar la fruta, han sido los factores que han propiciado la incidencia de este hongo en las plantaciones valencianas de perales. El cv. "Blanca de Aranjuez" se ha comportado como muy sensible, tanto en el campo como en el almacén. En este último caso, por utilizar tratamientos fungicidas poco eficaces para los hongos Phytophthora-ceos. La supervivencia del hongo en el suelo y las salpicaduras de tierra y agua durante el tiempo lluvioso, favorecen que las zoosporas entren en contacto con los frutos, causando la infección. La temperatura del ambiente será el factor que adelante o frene el desarrollo de la podredumbre.

El aislamiento de *P. cactorum* a lo largo de estos años en frutos con "podredumbre marrón" en diversas plantaciones de perales bastante distanciadas entre sí, si bien todas ellas de la misma zona mediterránea, confirma lo ya obtenido por Tuset (1977) del tejido de la corteza de árboles de manzano con chancros basales, lo que permite considerar que la distribución de este hongo en la península Ibérica es más amplia de lo que en un principio se consideraba (zonas húmedas del noreste y sur) y que el factor humedad

(lluvia, niebla y riego) es el principal desencadenante de la "podredumbre marrón".

Los aislados obtenidos de *P. cactorum*, tanto del campo como de frutos almacenados, han mostrado una elevada patogenicidad en los ensayos de inoculación con micelio y zoosporas. También por contacto, los frutos sanos no heridos son infectados en pocos días a partir de frutos con podredumbre activa. El desarrollo de la "podredumbre marrón" es rápida a 24-25°C y, entre 6 y 9 días, todo el fruto queda afectado.

La elevada sensibilidad a este patógeno mostrada por las peras confirma lo indicado por McIntosh (1964) y, en parte, explicaría su presencia en la zona mediterránea española de forma mayoritaria en este frutal y no en el manzano (en este caso, solo causando daño a las plantas).

El control químico de *P. cactorum* con fungicidas endoterápicos, queda prácticamente centrado en el metalaxil. Esto, que viene a corroborar lo obtenido por Edney y Chambers (1981) en *P. syringae*, ha sido bien comprobado en nuestra experimentación. Su efecto tóxico contra *P. cactorum* en la piel y capa externa del mesocarpo de la pera, es muy elevada. Prácticamente impide su crecimiento a partir de los 800-1000 ppm de materia activa. El oxadixil, compuesto cercano al anterior, ha exhibido una débil eficacia, no del todo satisfactoria. Fosetyl-Al, propamocarb y dimetomorf, no han manifestado ninguna actividad fungitóxica en los tejidos epidérmicos de la pera contra este hongo.

Esta es la primera mención en España de la presencia de *P. cactorum* produciendo importante daño económico a los frutos del peral, tanto en el campo como en el almacén de acondicionado de éstos.

ABSTRACT

TUSET J. J., C. HINAREJOS, J. L. MIRA: Phytophthora fruit rot of pear caused by *Phytophthora cactorum* in the Spanish Mediterranean area. *Bol. San. Veg. Plagas*, 28: 639-645.

Since the year 1992 in damaged pear fruits (*P. communis*) both in the field and in the packinghouse, we come sporadically detecting *Phytophthora cactorum* in the Co-

unidad Valenciana. The storms of the end of the summer and the abundant flooding irrigations are the factors that more favour the fruit infection by this soil borne fungus. The cvs. "Blanca de Aranjuez" and "Roma", have been the more damaged and, at time, with considerable fruit losses. The pear fruits are very sensibles to the inoculation with mycelium and zoospores. The produced "brown rot" is quick and the whole fruits is rotten in 6-9 days at 24-25°C. The chemical control of this fungus with endoterapic fungicides only has been obtained with the metalaxyl. This fungicide strongly stops the growth of mycelium in the pear fruits (specially in the peel and in the upper layers of the mesocarp) from 800 ppm of active ingredient and no developing the "brown rot".

Key words: *Phytophthora cactorum*, brown rot, pear fruit, pathogenicity, chemical control, endoterapic fungicides.

REFERENCIAS

- ARNAUD, G. y BARTHELET, J. 1930. Le mildiou des poires en France (*Phytophthora* sp.). *Revue de Pathologie Végétale et d'Entomologie Agricole de France*, 16: 303-308.
- BOMPEIX, G. y MOURICHON, X. 1977. *Phytophthora cactorum* (L. et C.) Schroet., *P. syringae* Kleb., *Phytophthora* spp. parasites des pommes y poires. *Comptes Rendues des Séances de l'Academie d'Agriculture de France*, 63: 493-501.
- CANOVA, A. 1955. *Phytophthora cactorum* (Leb. et Cohn) Schröt., agente di marciume delle pere. *Annali della sperimentazione Agraria*, 9: 667-681.
- COLHOUN, J. 1938. Fungi causing rots of apple fruits in storage in Northern Ireland. *Annals of Applied Biology*, 25: 88-99.
- EDNEY, K. L. y CHAMBERS, D. A. 1981. The use of metalaxyl to control *Phytophthora syringae* rot of apple fruits. *Plant Pathology*, 30: 167-170.
- HARRIS, D. C. 1991. The *Phytophthora* diseases of apple. *Journal of Horticultural Science*, 66: 513-544.
- MARCHAL, E. 1908. Sur une maladie nouvelle du Poirier. *Bull. de Société Royal de Botanique de Belgique*, 14: 343-344.
- MCINTOSH, D. L. 1964. *Phytophthora* spp. in soils of the Okangan and Similkameen Valleys of British Columbia. *Canadian Journal of Botany*, 42: 1411-1415.
- MCINTOSH, D. L. 1971. Dilution plates used to evaluate initial and residual toxicity of fungicides in soil to zoospores of *Phytophthora cactorum*, the cause of crown rot of apple trees. *Plant Disease Reporter*, 55: 213-216.
- OSTERWALDER, H. 1906. Die *Phytophthora*fäule beim Kernobst. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, 15: 435-440.
- ROSE, D. H. y LINDEGREN, C. C. 1925. *Phytophthora* rot of pears an apples. *Journal of Agricultural Research*, 30: 463-468.
- ROOSJE, G. S. 1957. Het mycologisch onderzoek. Stam-basisrot. *Jaarverslag 1956 Proefstation voor de Fruitteelt in der volle grond*, 46-47.
- SNOWDON, A. L. 1990. *A colour atlas of post-harvest diseases and disorders of fruits and vegetables*. Volume 1. Wolfe Scientific Ltd., pp. 194-195.
- TUSET, J. J. 1977. Contribución al conocimiento del género *Phytophthora* De Bary en España. *An. INIA/Ser. Prot. Veg.*, 7: 11-106.
- UTKEDE, R. S. y GUPTA, V. K. 1988. *In vitro* selection of strains of *Phytophthora cactorum* resistant to metalaxyl. *Journal of Phytopathology*, 122: 35-44.

(Recepción: 15 abril 2002)

(Aceptación: 17 abril 2002)