



# INSPECCION FITOSANITARIA DEL BULBO DE GLADIOLO: ESTUDIO BASICO

JOSE GARCIA JIMENEZ  
AGUSTIN ALFARO GARCIA



## BOLETIN DEL SERVICIO DE DEFENSA CONTRA PLAGAS E INSPECCION FITOPATOLOGICA

*Director:* JOSE LUIS CERVIGÓN.

*Secretario de redacción:* JUAN ALONSO.

*Consejo de redacción:* DOMINGO CADAHÍA, JUAN I. CALVO, LUIS  
CORTINA, MANUEL DÁVILA, GUILLERMO MERCK, GONZALO  
MORALES, FERNANDO ROBREDO y ADOLFO RUPÉREZ.



Los trabajos que aparezcan en el Boletín reflejan únicamente el criterio de los autores de los mismos.



Cualquier mención de productos o medios fitosanitarios no constituye recomendación por el *Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica*.



Pueden reproducirse total o parcialmente los artículos que se publiquen en esta revista, siempre que la cita tenga como fines solamente los científicos y que, al mismo tiempo, se indique la procedencia. Enviando a la Biblioteca de este Servicio (Apartado 6.190, Madrid) tres ejemplares de las publicaciones que citen esta procedencia.



Cuando la finalidad sea comercial o tenga móviles parecidos, deberá pedirse la correspondiente autorización del Jefe del Servicio.



Las suscripciones al Boletín se pueden solicitar dirigiéndose al *Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica*, Juan Bravo, 3 (edificio B), 28006-Madrid, o también al Apartado 6.190, Madrid.

Deseamos expresar nuestro agradecimiento a todas las personas y entidades que han contribuido de alguna forma a la realización de este trabajo, sin las cuales no se hubiera podido llevar a cabo.

Al SERVICIO DE DEFENSA CONTRA PLAGAS E INSPECCION FITOPATOLOGICA, por su colaboración, financiación y ayuda y, en especial a D. Rafael Milán y D. Luis Cortina, Jefes del Servicio de Inspección Fitosanitaria, D. Amadeo Dalmau, D. José Antonio del Cañizo, D. Antonio Oliva y D. José María Vives por la ayuda prestada, tanto en los estudios agronómicos como en el suministro de bulbos y material enfermo.

A la FUNDACION JUAN MARCH y COMISION ASESORA DE INVESTIGACION CIENTIFICA Y TECNICA que han financiado en parte el desarrollo de este trabajo.

Al INSTITUTO PARA LA CONSERVACION DE LA NATURALEZA y en especial a D. Rafael Cal por su amabilidad facilitando las parcelas donde se han llevado a cabo las experiencias de campo.

A D. Vicente J. Piera y a todo el personal de la Cátedra de Patología Vegetal de la E.T.S.I. Agrónomos de la Universidad Politécnica de Valencia por la inestimable ayuda prestada en algunos apartados del presente trabajo.

*Los autores*

## INDICE

	Página
1. Antecedentes .....	7
1.1. Introducción al problema .....	7
1.2. Objetivos .....	9
<b>PARTE I. ELABORACION DE UN ATLAS PARA LA INSPECCION FITOSANITARIA DE BULBOS DE GLADIOLO .....</b>	<b>11</b>
2. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>gladioli</i> como problema central de la inspección fitosanitaria del gladiolo: revisión bibliográfica .....	11
2.1. Introducción .....	11
2.2. Sintomatología .....	12
2.2.1. Síntomas en bulbo .....	12
2.2.2. Síntomas en follaje .....	12
2.3. Identidad del agente patógeno .....	13
3. Análisis patológico de las importaciones de bulbo de gladiolo .....	14
3.1. Introducción .....	14
3.2. Material y métodos .....	14
3.3. Resultados .....	15
4. Estudio de la patogenicidad en gladiolo de los aislamientos realizados .....	21
4.1. Introducción .....	21
4.2. Material y métodos .....	22
4.3. Resultados y conclusiones .....	23
5. Tipificación de síntomas de bulbo de gladiolo .....	28
5.1. Introducción .....	28
5.2. <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>gladioli</i> .....	28
5.3. Otros hongos detectados en bulbo .....	29
5.3.1. <i>Penicillium gladioli</i> .....	29
5.3.2. <i>Botrytis gladiolorum</i> .....	30
5.4. Otras afecciones de bulbo .....	30
5.4.1. Trips .....	30
5.4.2. Gusanos de alambre: <i>Agriotes</i> spp. ....	30
5.4.3. Excoriaciones superficiales .....	30
5.4.4. Necrosis en zona de unión de escamas al bulbo .....	30
5.5. Otros hongos, de importancia en gladiolo, no detectados en España .....	31
5.5.1. <i>Stromatinia gladioli</i> .....	31
5.5.2. <i>Septoria gladioli</i> .....	31
5.5.3. <i>Curvularia trifolii</i> f. sp. <i>gladioli</i> .....	31
6. Atlas gráfico de afecciones del bulbo de gladiolo .....	32
<b>PARTE II. LIMITACIONES DE LA INSPECCION FITOSANITARIA DEL BULBO DE GLADIOLO .....</b>	<b>53</b>
7. Limitaciones de la inspección Fitosanitaria del bulbo de gladiolo .....	53
7.1. Introducción .....	53
7.2. Medios selectivos para la detección de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>gladioli</i> .....	54

8. Ruptura de la altencia de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>gladioli</i> e indicación de la enfermedad ...	57
8.1. Introducción .....	57
8.2. Material y métodos .....	57
8.3. Resultados y conclusiones .....	58
<b>PARTE III: CONTROL</b> .....	<b>61</b>
9. Introducción .....	61
10. Obtención de material de propagación libre de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>gladioli</i> mediante termoterapia de bulbillos .....	62
10.1. Introducción .....	62
10.2. Material y métodos .....	62
10.3. Resultados y conclusiones .....	63
<b>PARTE IV. DISCUSION Y CONCLUSIONES</b> .....	<b>67</b>
<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>70</b>



## Inspección fitosanitaria del bulbo de gladiolo: Estudio básico

J. GARCÍA JIMÉNEZ  
A. ALFARO GARCÍA

El material de propagación de gladiolo, bulbo y bulbillos constituye más de la mitad de todas las importaciones de bulbos de flor en España. Tradicionalmente, este material era producido en Holanda; sin embargo, en la actualidad no hay seguridad absoluta de que el material de propagación haya sido multiplicado en ese país. Incluso Israel ha llegado a intervenir en la producción de material de propagación de gladiolo. Ello conlleva cambios importantes, con el peligro de introducción masiva de patógenos típicos de zonas cálidas como *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*, patógeno causante de podredumbre de bulbos en almacén y marchitez y amarilleo de plantas en campo, y que una vez introducido permanece prácticamente de forma indefinida como habitante del suelo.

Ante esta situación y la carencia de una normativa adecuada de inspección en frontera, el Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica del Ministerio de Agricultura nos indicó su interés en que se desarrollase un trabajo en dicho campo, el cual se resume aquí.

Se ha prospectado la importación de bulbos y bulbillos de gladiolo durante el quinquenio 1979-1983 y se han descrito los distintos síntomas causados por enfermedades fúngicas en bulbo de gladiolo, adjuntándose láminas con fotos explicativas del ataque de los hongos más importantes encontrados en la inspección fitosanitaria.

Se ha puesto a punto un método original para el testaje de la patogenicidad de los aislamientos de *F. oxysporum* de bulbo de gladiolo, que ha permitido una separación neta entre los aislamientos patógenos y no patógenos al gladiolo dentro de esta especie, con lo que se ha tipificado con detalles originales la sintomatología del bulbo de gladiolo asociada a *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*.

La más grave limitación de la prospección por síntomas es la existencia de casos de latencia de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* en bulbos aparentemente sanos, que posteriormente desarrollan la enfermedad durante el cultivo. La importancia de este problema ha sido valorada de forma muy diversa, desde quienes la consideran una mera curiosidad, hasta quienes le dan una gran transcendencia. Se ha procedido a estudiar, tanto las técnicas microbiológicas como de estimulación de la manifestación de la enfermedad en aquellos bulbos en que el hongo esté presente sin causar síntomas, experiencias que han resultado positivas y en las que se sigue trabajando en la actualidad.

En un trabajo de esta extensión se han tenido que realizar numerosas experiencias cuya expresión no corresponde a este texto. Se mencionan de pasada algunas de ellas y se describe brevemente la puesta a punto del método de termoterapia de bulbillos, técnica universalmente aceptada como necesaria para el establecimiento de partidas libres de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*.

J. GARCÍA JIMÉNEZ. Depto. Patología Vegetal. ETS. Ing. Agrónomos. Valencia.  
A. ALFARO GARCÍA. Cátedra de Patología Vegetal. ETS. Ing. Agrónomos. Valencia.

### 1. Antecedentes

#### 1.1. INTRODUCCION AL PROBLEMA

En los últimos años el cultivo de plantas bulbosas de flor ha tenido un considerable

incremento en todo el mundo basado en la utilización de un material de siembra cuya producción está altamente especializada y tecnificada. Las variedades, con frecuencia incluyen numerosas novedades, gozan de un

elevado grado de homogeneidad y son susceptibles de sufrir procesos de preforzado y retardamiento que las hacen florecer en épocas determinadas.

Con ello, algunos países, y muy especialmente Holanda, han venido a constituir un verdadero monopolio en la producción de bulbos de flor que ha llegado en muchas especies hasta tal grado de perfección que excluye toda posibilidad de competencia inmediata.

Hay, sin embargo, un cultivo de bulbo cuyas potencialidades aún no han sido explotadas al máximo: el gladiolo, que une a su valor como planta de jardín, un interés económico muy superior como flor cortada. Este cultivo, tan poco atendido por nuestros cultivadores en lo que a producción de material de siembra se refiere, es, a diferencia de otras bulbosas, una planta muy adaptada a las condiciones mediterráneas, como lo prueba la entrada reciente de Israel en los mercados internacionales de producción de simiente.

El gladiolo ocupa, con mucho, el primer lugar en nuestro país dentro de las plantas ornamentales bulbosas, tanto en superficie cultivada como en valor de las importaciones, lo que puede apreciarse en el Cuadro 1.

Cuadro 1.—Valor de las importaciones españolas de bulbos en 1982

Concepto	Valor (en miles de ptas.)
En reposo:	
Jacinto .....	9.128
Narciso .....	2.000
Tulipán .....	20.009
Gladiolo .....	155.980
Otros .....	76.761
En vegetación .....	2.615
<b>Total .....</b>	<b>266.493</b>

Fuente: Ministerio de Economía y Hacienda.

Estas cifras son mucho menores que las reales, como se propuso por los expertos en la mesa redonda sobre inspección fitosanitaria de bulbos en frontera. (CABRILS, 1984), sin embargo, reflejan fielmente la supremacía del gladiolo frente al resto de ornamentales bulbosas.

Las razones por las que en nuestro país son pocas las empresas productoras de bulbo de gladiolo para siembra y los cultivadores prefieren importar el bulbo a producirlo ellos mismos son diversas, aunque dentro de ellas ocupa un lugar destacado la sanidad del material de siembra: de manera inmediata las dificultades patológicas son el factor previo a resolver cara a una futura expansión de este cultivo en nuestro país. De una parte existen los problemas virológicos tan típicos de todo material vegetal de reproducción vegetativa (problema de importancia para la producción de material de siembra, pero que en el caso del gladiolo no suele plantear problemas agudos en campo) y, por otra parte, está el complejo de enfermedad que provoca la podredumbre seca de los bulbos en almacén y el amarilleo y marchitez de la planta en el campo, debidas al hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* (massey) SNYDER et HANSEN, y que constituyen el gran problema de este cultivo incidiendo en todas sus fases: pérdidas de bulbo para material de siembra, fallos en la producción de flor, muerte de plantas, podredumbre en almacén, etc.

Si bien existen otros numerosos problemas cuya aparición e incidencia nunca se ha examinado concretamente en España, cualquier expansión del cultivo en nuestro país requerirá un conocimiento lo más profundo posible tanto de los problemas que aparecen en los bulbos que importamos y plantamos, como de la incidencia de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*.

Es en este punto, en el que se inserta el presente trabajo: *F. oxysporum* suele considerarse una enfermedad típica de países

cálidos y mediterráneos, por lo que no se espera una incidencia apreciable de la misma en las partidas seleccionadas y producidas en Holanda, habitual monopolizador de la producción de bulbos y bulbillos de gladiolo y creadora, de hecho, de la actual tecnología del manejo de bulbosas de flor.

No obstante, en los últimos años se ha venido percibiendo un desplazamiento de tal situación que se acabó plasmando en la aparición de Israel en el mercado de material de propagación de gladiolo. Con ello se rompe la tradicional complementariedad de las agriculturas país frío-país cálido que, como tantas veces han señalado los holandeses, estaba en el fondo de estos cultivos. La entrada de Israel como vendedor es, de todas maneras, sólo un síntoma, pues Holanda ha pasado crecientemente a controlar un material de producción que con frecuencia produce en otro lugar: Polonia, Hungría, etc., y que reexporta como propio.

*F. oxysporum* f. sp. *gladioli* no solamente destruye la planta que se obtiene del bulbo infectado, sino que queda en el terreno durante bastante tiempo, por lo que se comprende claramente el riesgo que este desplazamiento del comercio internacional puede conllevar para nuestro país en un cultivo de radicación tan estricta como éste.

## 1.2. OBJETIVOS

Los objetivos abordados en el presente trabajo se pueden resumir en los siguientes puntos:

1º Prospección sanitaria del material de multiplicación de gladiolo importado por España.

2º Estudio de la sintomatología de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* en bulbo y bulbillo de gladiolo.

3º Elaboración de un atlas gráfico de síntomas de afecciones del bulbo de gladiolo para su uso en la inspección fitosanitaria.

4º Evaluación del margen de error del sistema de inspección fitosanitaria por síntomas en bulbo de gladiolo (patógenos latentes).

Todo ello llevó al Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica a proponer a la Cátedra de Patología Vegetal de la E.T.S.I. Agrónomos de la Universidad Politécnica de Valencia el emprender un trabajo en esta dirección. El apoyo que nos han prestado en todos los aspectos, incluida la financiación de buena parte del programa, debe agradecerse aquí, así como su colaboración inmediata a todos los niveles.

Este trabajo se ha desarrollado en el quinquenio 1979-1983. En los prolegómenos del trabajo se solicitó y obtuvo por el primer autor de este trabajo una beca de la Fundación Juan March. De la investigación aquí descrita no existe otra reseña publicada que la rendición de cuentas de dicha beca, en la que se hacía un estudio preliminar de la enfermedad, editada en edición restringida entre los papeles de dicha Fundación (GARCÍA-JIMÉNEZ, 1982). Asimismo, algunos apartados de este trabajo han sido desarrollados posteriormente, siendo objeto de comunicación en distintos congresos científicos (GARCÍA-JIMÉNEZ, JORDÁ y ALFARO, 1983; GARCÍA-JIMÉNEZ, PIERA y ALFARO, 1985 a y b; GARCÍA-JIMÉNEZ y PIERA, 1985).

## PARTE I: ELABORACION DE UN ATLAS PARA LA INSPECCION FITOSANITARIA DE BULBOS DE GLADIOLO

### 2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* como problema central de la inspección fitosanitaria del gladiolo: revisión bibliográfica

#### 2.1. INTRODUCCION

Como es natural en un cultivo que desde hace tiempo obtiene su material de propagación de una producción extranjera especializada, nuestros problemas patológicos en poco se diferencian de los que aparecen en los países productores. No obstante, las evidentes diferencias entre un país frío como Holanda y nuestras zonas de producción han venido estableciendo una barrera satisfactoria para el progreso de la enfermedad del gladiolo más grave en nuestros climas, y la única que por su persistencia en el terreno puede causar un grave transtorno a una producción que suele estar muy localizada: nos referimos a la multiforme, y aún no muy bien conocida, fusariosis del gladiolo.

Puede resultar útil el reseñar aquí como recordatorio el proceso productivo del gladiolo ya que la sintomatología que esta enfermedad provoca en el bulbo del gladiolo está ligada al desarrollo del mismo, que en líneas generales es el siguiente:

El bulbo de gladiolo al ser plantado puede emitir uno o varios tallos, dependiendo de su vigor; al comienzo, la emisión de estos tallos tiene lugar a costa de las reservas nutritivas del bulbo, pero simultáneamente a la emisión de los tallos, en la zona inferior del bulbo se desarrolla la

corona de raíces que nutrirán progresivamente a la planta según se vayan agotando las reservas del bulbo. Cuando la planta está bien desarrollada se forma un bulbo hijo, pegado al bulbo madre, por engrosamiento de la parte baja del tallo de la planta. Este bulbo hijo emite, a su vez, una corona de largas raíces carnosas situadas en la zona de unión de ambos bulbos, que a veces engrosan en su extremidad y forman bulbillos de pequeño tamaño (3-10 mm. de diámetro), que tras un año o dos de cultivo pueden dar lugar a un nuevo bulbo, apto para la producción de la flor.

A la recolección, el bulbo madre está endurecido, arrugado, con raíces duras y fibrosas, quedando a veces de muy pequeño tamaño y adherido a la parte inferior del bulbo hijo; éste es más voluminoso y carnoso, y está rodeado de raíces carnosas y bulbillos. Tras la cosecha, se procede a su limpieza, clasificación y secado, proceso que de forma natural suele durar unos 3 meses aunque hay ciertas técnicas para acelerar su salida de latencia (generalmente basadas en el almacenamiento a temperaturas y humedades relativas elevadas) y otras para retrasar la brotación, basadas en meter los bulbos en cámaras frigoríficas a la salida de su latencia natural y mantenerlo allí a una temperatura de 3-4°C y buena aireación y sacarlos en el momento que se vayan a hacer las plantaciones.

## 2.2. SINTOMATOLOGIA

Hay dos momentos en el proceso productivo en el que se manifiestan importantes daños: en almacén y en campo; ambos casos pueden ser tan diferentes en apariencia que ha costado largo tiempo el comprender que son debidos al ataque del mismo hongo, sin que parezca existir incluso una especialización neta en formas del mismo. Podemos distinguir dos tipos de síntomas: primarios, sobre el bulbo, que se pueden dar en campo o almacén y secundarios, sobre el follaje y, por tanto, sólo aparentes en el campo.

### 2.2.1. Síntomas sobre bulbo

Del estudio de la literatura se desprende que la afección puede presentarse de diversas maneras:

Se pueden reseñar cuatro tipos:

a) Decoloración y oscurecimiento de los haces vasculares que, al avanzar la enfermedad y llegar la zona afectada a la superficie del bulbo hace que aparezcan al exterior pequeñas manchas de color marrón, bien delimitadas.

En nuestras observaciones en campo y bulbos procedentes del extranjero raramente hemos observado este tipo de síntomas. Sí, en cambio, hemos apreciado bastante frecuentemente los siguientes:

b) *Podredumbre marrón («Brown rot»)*.—Aparece en cualquier lugar del bulbo pero principalmente cerca de la base, en la zona central del bulbo. No se presenta la decoloración vascular típica del apartado anterior.

c) *Podredumbre basal seca («Basal dry rot»)*.—Difiere del anterior en el espesor y posición de las lesiones pues se da sólo en la base del bulbo, alrededor de la zona de las raíces y el tejido afectado es muy delgado, casi nunca penetra más de 2-4 mm., tomando una coloración marrón claro, poco visible al principio, que después evoluciona al marrón

oscuro o negro, con una textura escamosa cuando el bulbo se seca. El área afectada queda deprimida, existiendo una clara línea de separación entre las partes sana y enferma. Posteriormente las raíces se necrosan cesando la emisión de las nuevas que podrían reemplazar a aquéllas.

Este es el síntoma que con más frecuencia hemos detectado en las prospecciones realizadas en campo.

Es también bastante común encontrar bulbos que tienen síntomas intermedios entre los aquí expresados: cuando los bulbos afectados son cortados transversal o longitudinalmente se observa siempre un oscurecimiento de los tejidos afectados acompañados de un margen difuso. Cuando la enfermedad evoluciona los tejidos afectados quedan con una textura firme, dura y leñosa, con el aspecto típico de podredumbre seca.

d) *Bulbos momificados*.—Hemos encontrado con frecuencia esta sintomatología en bulbos procedentes de almacén. Suelen presentar un micelio blanco recubriéndolos y una textura esponjosa y dura, muy similar a la conocida «podredumbre seca» de la patata. Es la fase final de la evolución en almacén de los síntomas anteriores.

### 2.2.2. Síntomas en follaje

Hay dos síntomas típicos:

a) *Amarilleo*.—Suele presentarse en los bulbos afectados por podredumbre basal seca: en estos bulbos, al verse afectada la zona de las raíces, no se produce emisión de éstas, por lo que el desarrollo foliar sólo se lleva a cabo a expensas de las reservas del bulbo. Las hojas comienzan a amarillear por su extremidad, hasta acabar desecándose.

b) *Hojas en asta de toro («Cow horn»)*.—En nuestras prospecciones hemos encontrado con bastante frecuencia plantas que en los primeros estadios de su desarrollo se curvan tomando el aspecto de cuerno con que se

designa a la enfermedad. Las plantas afectadas destacan claramente del resto por su forma y su tamaño que queda raquítico; no suelen producir vara floral.

### 2.3. IDENTIDAD DEL AGENTE PATOGENO

La existencia de una sintomatología tan variada y la gran variabilidad de las especies del género *Fusarium* hace comprensible la larga confusión en torno a la etiología de la enfermedad.

MASSEY (1922), describió por primera vez, una enfermedad del bulbo de gladiolo en conservación causada por un hongo del género *Fusarium* y que posteriormente (1926) clasificó como *F. oxysporum* Schl. emend. Vr. var. *gladioli* n. var.

McCULLOCH (1944), al describir la forma vascular lo consideró diferente al anterior, clasificándolo como *F. orthoceras* App. et Wr. var *gladioli* basando la separación del anterior en los síntomas en bulbo y en las características culturales del hongo (crecimiento aéreo, pigmentación y tamaño de microconidias).

Durante los años sucesivos se mantuvo una considerable confusión de la que se encuentran abundantes ejemplos (McCLELLAN, 1947; McCLELLAN y STUART, 1947; McCLELLAN, 1948; NELSON, 1948; GOULD, 1949; MAGIE, 1950) hasta que en 1953, BALD suministró cultivos monospóricos aislados de podredumbre basal y amarillos a SNYDER para su identificación, quien los clasificó dentro de *F. oxysporum* Schl. BALD (1953), demostró luego que ambos tipos de aislamiento eran patógenos sobre bulbos de gladiolo y los clasificó como *F. oxysporum* f. *gladioli* (Massey) SNYDER et HANSEN.

Fue FORSBERG (1985), quien dio el paso final para establecer que las varias formas de

enfermedad eran producidas por el mismo agente causal. Este autor aisló de bulbos enfermos varios centenares de cepas de *Fusarium* de los que seleccionó 40 en base a su patogenicidad y caracteres fisiológicos y las comparó mediante test biológicos (reacciones a la temperatura, a las sales de cobre, cambios de pH, etc.), exámenes morfológicos (tipos de crecimiento sobre medios diferenciales, medidas de esporas, etc.) y patológicos (tendencia a reproducir la misma o diferente forma de enfermedad en bulbos y plantas), deduciendo que los aislamientos no podían ser encuadrados dentro de grupos bien definidos ya que los tests de patogenicidad demostraban que los aislamientos eran capaces de producir más de una forma de enfermedad. Por todo ello propuso que todas las formas de *Fusarium oxysporum* que causan afección a gladiolo debían ser incluidas sin matización bajo el nombre de *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* (Mas.) SNYDER et HANSEN, denominación que se ha mantenido hasta hoy en día.

Repetidos estudios han permitido establecer que el hongo puede atacar a la planta, tanto a partir de bulbos y bulbillos procedentes de plantas enfermas, como de suelo infectado.

Asimismo, se ha comprobado en múltiples ocasiones la existencia del hongo en condiciones de latencia en el material de multiplicación sin que se pueda asegurar que la enfermedad se manifieste en el ciclo de cultivo subsiguiente.

Por tanto, uno de los objetivos fundamentales del trabajo habrá de ser el fijar con claridad y de forma gráfica los distintos síntomas que permiten su inspección fitosanitaria inmediata y en segundo lugar el introducir un primer estudio sobre la eficiencia de los métodos que permiten evaluar la presencia de bulbos con *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* latente.

### 3. Análisis patológico de las importaciones de bulbos de gladiolo

#### 3.1. INTRODUCCION

Iniciado este estudio ante la carencia de unas reglas precisas de inspección fitosanitaria del bulbo de gladiolo, el análisis bibliográfico mostró bien pronto la dificultad de encontrar unos estudios de conjunto y una estimación cuantitativa de los daños esperables. Por esta razón se decidió partir de cero, centrando el estudio fundamentalmente en sistematizar los distintos síntomas que se presentaban y aislar e identificar los distintos organismos asociados a ellos. De esta manera, lo único que se obtendría es un conjunto de organismos introducido con los bulbos siendo necesario posteriormente determinar su patogenicidad, esto es, si tales introducciones fueran potencialmente peligrosas.

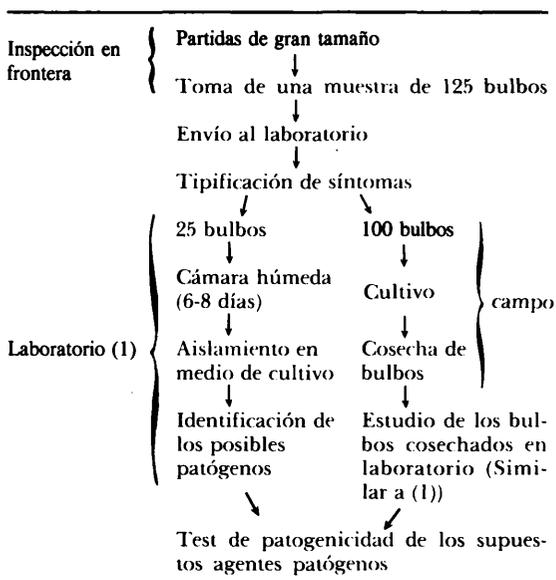
En líneas generales se puede pensar que en este tipo de análisis, la inmensa mayoría de los síntomas se podrán relacionar con los organismos que potencialmente los habrían producido y que es, en última instancia, el verdadero objetivo de la inspección fitosanitaria.

#### 3.2. MATERIAL Y METODOS

Para el análisis y estudio del material de importación, los servicios provinciales de inspección fitosanitaria del Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica han remitido a la Cátedra de Patología Vegetal de la E.T.S.I.A. de Valencia, una muestra de las partidas que sobrepasan cierto volumen de bulbos.

Las condiciones de muestreo y estudio aparecen esquematizadas en el Cuadro 2.

Cuadro 2.—Esquema del procesado de bulbos de gladiolo en laboratorio



Ante las partidas de cierto tamaño, los servicios de inspección tomaban unos 125 bulbos al azar y, junto con un impreso como el que aparece en el Cuadro 3 y del que rellenaban los epígrafes con asterisco, se quitaban las escamas externas y se estudiaban los bulbos con apariencia externa sana y sospechosa, repartiendo estos en diversos grupos atendiendo a su sintomatología externa (con zonas necrosadas, excoriaciones, etcétera); 25 de estos bulbos se procesan en laboratorio mediante incubación (cámara húmeda, 6-8 días), cultivo e identificación de

Cuadro 3.—Modelo de hoja de inspección (a remitir con la muestra de bulbos)

* Muestra:	Fecha llegada a Valencia:
* Variedad:	Nº de bulbos de la muestra:
* Calibre:	Nº de bulbos plantados:
* Nº de bulbos de envío:	Fecha plantación:
* Exportador:	Peso de 100 bulbos:
* Importador:	
* Embalaje:	
* Medio de transporte:	
* Fecha toma de muestra:	

Características de la muestra:

(\*) Epígrafes a rellenar durante la inspección de la partida en frontera.

los posibles patógenos, mientras que los 100 restantes se plantan en campo para prospectar los patógenos latentes, especialmente *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* y, secundariamente, para estimar su viabilidad y rendimiento agronómico.

Posteriormente y tras el ciclo de cultivo se procesan en laboratorio el total de los nuevos bulbos obtenidos.

Siguiendo este proceso hasta diciembre de 1983 se han estudiado un total de 108 partidas (Cuadro 4); cada una de ellas se designa con la inicial del nombre de la provincia española de entrada (B: Barcelona; V: Valencia; G: Gerona; Ma: Málaga; C: Canarias), seguido del número de orden dentro del año (1, 2, etc.), el año en el que se realizó la importación y la inicial del país exportador: H: Holanda o I: Israel.

Cuadro 4.—Total de partidas de bulbos de gladiolo analizadas

Provincia de Entrada	1979	1980	1981	1982	1983	Totales
Barcelona .	6	27	16	20	18	87
Valencia ..	3	8	2	—	—	13
Gerona ...	—	—	2	—	—	2
Málaga ...	—	—	3	—	—	3
Canarias ..	—	—	3	—	—	3
Totales ...	9	35	26	20	18	108

3.3. RESULTADOS

Los resultados del procesado de bulbos aparecen en el Cuadro 5, para el estudio a la recepción de la muestra. En dicho cuadro, en las columnas correspondientes a los organismos detectados aparecen los porcentajes de bulbos en los que se ha hallado el hongo y en la columna de observaciones aparecen los organismos que se han pasado a cultivo puro con su número de orden en la colección de referencia que se ha constituido.

Las muestras prospectadas presentan una calidad sanitaria bastante irregular: junto a partidas de excelente aspecto externo y comportamiento en campo, hay otras, sobre todo en las importaciones que se llevan a cabo en los meses posteriores a abril-mayo, en que la calidad y condición sanitaria es bastante deficiente. Como se desprende del Cuadro 5, se ha detectado *Penicillium* en prácticamente todas las partidas durante su recepción y procesado en laboratorio. El hongo generalmente se aísla del interior del bulbo asociado a zonas necrosadas de color marrón que posteriormente evolucionan a blanco, con un aspecto esponjoso y que según la bibliografía son similares a las producidas por *P. gladioli*. Así mismo se ha aislado con bastante asiduidad *Fusarium oxysporum*, aunque cabe señalar que no todas las cepas aisladas han resultado ser de la f. sp. *gladioli*, aspecto que se tratará en profundidad más adelante.

El resto de los hongos aislados tiene menor importancia aunque *F. roseum* y especialmente *Botrytis*, (en la mayor parte de los casos *B. gladiolorum* Timm.) inducen podredumbres en bulbo que pueden llegar a ser graves.

No existe una correlación clara entre los resultados obtenidos en laboratorio a la recepción de la muestra (Cuadro 5) y los obtenidos tras la cosecha de bulbos sembrados en campo, debido a que el estudio de los hongos del interior de los bulbos lleva

Cuadro 5.—Partidas de importación estudiadas y organismos detectados a la recepción de la muestra (años 1979-1983)

Variedad	Partida	Organismos detectados	Observaciones
Friendship . . . . .	B-6/79-H	P: 62,9%	Un bulbo (0,9%) momificado
	B-3/80-H	P: 8,9%	
	B-11/80-H	P: 21,4%	<i>F. oxysporum</i> n° 93 (*)
		F.O.: 2,4%	
		B: 3,2%	
	B-13/80-H	P: 33,3%	7 bulbos (5,4%) con comienzo de podredumbre
	B-16/80-H	P: 22,5%	
	B-27/80-H	F.O.: 0,8%	4 bulbos (3,1%) momificados
		F.R.: 0,8%	
		P: 10,2%	
	B-2/81-H	B: 1,6%	2 bulbos (1,7%) con podredumbre
		P: 16,7%	
		B: 0,9%	
	C-1/81-H	F.R.: 0,9%	
P: 100%			
B: 4,5%			
B-4/82-H	P: 2,7%	2 bulbos (2,7%) con podredumbre marrón	
	F.O.: 9,4%		
B-9/82-H	F.O.: 3,3%		
	P: 22,4%		
White Friendship	B-5/79-H	P: 47,1%	<i>Botrytis</i> sp. n° 71 y 72
	B-5/80-H	B: 5,8%	
	B-6/80-H	P: 21,6%	2 bulbos (1,9%) momificados
		F.O.: 0,8%	
		P: 24,8%	
	B-10/80-H	B: 2,4%	2 bulbos (1,6%) con podredumbre seca.
		P: 12,4%	
		F.O.: 0,8%	
	B-12/80-H	F.O.: 0,8%	<i>F. oxysporum</i> n° 92
		P: 24,9%	
	B-21/80-H	P: 6,9%	Por el aspecto de los bulbos, un 16% parecía atacado por <i>Botrytis</i> pero no se consiguió aislar este hongo. Además, 6 bulbos (4,4%) momificados.
		P: 53,4%	
		F.O.: 0,6%	
V-6/80-I	P: 29,3%	2 bulbos (1,5%) con comienzo de podredumbre	
B-14/81-H	P: 30,0%		
Ma-3/81-H	F.O.: 0,6%	<i>F. oxysporum</i> n° 103	
	P: 48,4%		
	F.O.: 0,3%		
V-1/81-I	P: 34,2%	<i>F. oxysporum</i> n° 133	
	F.O.: 0,9%		
	<i>Gliocladium</i>		
B-15/82-H	sp: 0,9%	3 bulbos (0,8%) con zona de unión de escamas al bulbo necrosado: no se aisló ningún hongo.	
	P: 20,1%		
	F.O.: 2,8%		
		<i>Penicillium</i> n° 141	
		<i>F. oxysporum</i> n° 138	
		<i>Gliocladium</i> n° 140	

(\*) : Corresponde al número de orden del aislamiento en cuestión en nuestra colección de cultivos.

Cuadro 5 (continuación)

Variedad	Partida	Organismos detectados	Observaciones
	B-18/82-H	P: 27,0%	
		F.O.: 3,9%	
	B-19/82-H	P: 42,3%	
		F.O.: 2,1%	
	B-20/82-H	P: 40,1%	
	B-6/83-H	P: 29,8%	
Peter pears	V-2/79-I	P: 6,4%	<i>F. roseum</i> nº 66
		B: 4,0%	<i>F. oxysporum</i> de exterior: 63, 69; de interior: 60, 61
		F.R.: 0,8%	62, 64, 65
		F.O.: 4,0%	<i>F. solani</i> nº 67
		F.S.: 0,8%	
	V-2/80-I	P: 36,8%	
		B: 2,6%	
		F.O.: 0,9%	
	B-1/80-H	P: 24,6%	<i>Penicillium</i> nº 80
			Esta partida tenía un bulbo con el síntoma de ataque de <i>Curvularia trifolii</i> pero no se consiguió aislar el hongo
	B-8/80-H	P: 8,7%	<i>F. oxysporum</i> nº 89
		F.O.: 0,8%	
		B: 0,8%	
	B-19/80-H	P: 11,8%	<i>F. oxysporum</i> nº 98
		F.O.: 5,0%	
		B: 0,8%	
	B-26/80-H	P: 16,7%	
		F.S.: 0,8%	
	B-7/81-H	P: 33,9%	
	B-12/81-H	P: 21,9%	
		F.O.: 0,9%	
	Ma-1/81-H	P: 27,6%	7 bulbos (5,7%) momificados
		B: 0,8%	
	Ma-2/81-H	P: 21,8%	3 bulbos (2,5%) momificados
	C-2/81-H	P: 41,3%	
		B: 1,8%	
	B-10/82-H	P: 1,0%	
	B-14/82-H	P: 17,4%	1 bulbo (0,8%) momificado
		F.O.: 3,3%	
	B-17/82-H	P: 17,2%	
	B-7/83-H	P: 55,3%	1 bulbo (0,9%) momificado
	B-8/83-H	P: 71,7%	
		B: 0,5%	
Víctor Borge	B-9/80-H	P: 5,5%	
	B-14/80-H	P: 10,7%	<i>F. oxysporum</i> nº 94
		F.O.: 0,8%	
	B-17/80-H	P: 15,2%	<i>F. oxysporum</i> nº 97
		F.O.: 9,5%	<i>Phoma</i> sp. nº 106
		B: 0,6%	
		<i>Phoma</i> sp.: 0,6%	
	B-23/80-H	P: 6,3%	
	B-24/80-H	P: 10,2%	4 bulbos (1,6%) con podredumbre de los que sólo se aisla <i>Penicillium</i>

Cuadro 5 (continuación)

Variedad	Partida	Organismos detectados	Observaciones
Víctor Borge	B-25/80-H	P: 16,5% B: 1,0%	
	B-6/81-H	P: 82,4% F.R.: 0,9%	
	B-8/81-H	P: 57,3%	
	B-9/81-H	P: 43,1%	
	B-10/81-H	P: 38,1% F.O.: 1,0%	1 bulbo (0,5%) podrido
	B-11/81-H B-15/81-H	P: 14,9% P: 100,0% F.O.: 1,9%	
Eurovisión	B-1/83-H B-14/83-H	P: 5,3% P: 2,3%	
	V-1/79-I	P: 3,2% F.O.: 3,2%	<i>F. oxysporum</i> n° 38, 39, 42, 68, 73 <i>Penicillium</i> n° 37
	B-4/79-H	F.S.: 1,0% P: 88,6% B: 1,0%	<i>F. solani</i> n° 83 <i>Botrytis</i> n° 46
	V-1/80-I	P: 42,9% F.O.: 5,0%	<i>F. oxysporum</i> n° 81, 82, 86, 87, 88
	B-18/80-H	P: 8,5% B: 4,2%	
	B-16/81-H B-6/82-H	P: 9,6% P: 3,7%	2 bulbos (1,7%) podridos 4 bulbos (1,3%) con podredumbre basal seca. 12 bulbos (4%) semimomificados 25 bulbos (8,3%) momificados
B-16/82-H	P: 66,4%	35 bulbos (29,4%) entre podredumbre basal seca y semimomificados. 5 bulbos (4,2%) momificados	
Traderhorn	B-10/84-H	P: 7,4% F.O.: 4,9%	6 bulbos (4,9%) con <i>F. O.</i> muestran podredumbre marrón seca
	V-3/79-I	F.O.: 8,0% P: 23,2%	<i>F. oxysporum</i> de interior de bulbo: n° 49, 50, 51, 53, 56, 70
	V-3/80-I	P: 69,2% F.O.: 2,5% B: 0,8%	<i>F. oxysporum</i> n° 85
Sans Souci	V-7/80-I	P: 89,6%	
	B-3/79-H B-20/80-H	P: 17,6% P: 15,4%	
Memorial Day	B-7/79-H	P: 56,7% B: 1,0% F.O.: 1,0%	<i>F. oxysporum</i> n° 76 <i>Penicillium</i> n° 74
President de Gaulle	B-2/80-H	P: 4,0%	
	B-5/81-H	P: 19,1% F.R.: 0,9%	
Oscar	B-4/80-H	P: 13,0%	
	Ge-2/81-H	P: 5,6%	11 bulbos (10,3%) con comienzo de momificación. 5 bulbos (4,7%) momificados
Córdula	B-7/80-H	P: 7,9%	
	B-3/83-H	F.O.: 0,9%	1 bulbo (0,9%) con <i>F. O.</i> da podredumbre blanca seca

Cuadro 5 (continuación)

Variedad	Partida	Organismos detectados	Observaciones
White Goddess ...	B-9/83-H	P: 19,5% B: 0,8%	Dificultades en el procesado por ser bulbillos muy pequeños
	V-5/80-H		
	B-13/81-H	P: 16,0% F.O.: 0,8%	
Beverly Ann .....	B-7/82-H		Muy buen aspecto
	B-13/82-H	B: 0,75%	
	B-13/83-H	P: 26,6% B: 2,1%	
	B-15/80-H	P: 8,7%	
Rose Supreme ....	V-8/80-I	P: 24,3%	<i>F. oxysporum</i> nº 137
	V-2/81-I	P: 97,2% F.O.: 2,8%	
	B-11/83-H	P: 4,3%	
Praha .....	B-12/83-H	P: 34,5%	
	B-8/79-H	P: 75,0%	
	B-3/81-H	P: 38,8% B: 5,8%	
Flowersong .....	B-1/81-H	P: 9,1% B: 2,3%	1 bulbo (0,8%) podrido
Life flame .....	B-4/81-H	P: 79,1%	
Spic & Span .....	Ge-1/81-H	P: 26,1%	
Huntingson .....	C-3/81-H	P: 82,8% B: 2,5%	
Tequendama ....	B-1/82-H	P: 3,0%	1 bulbo (3,0%) momificado
	B-3/82-H	P: 4,5% F.O.: 6,0%	
Mascagni .....	B-5/82-H	P: 15,5%	4 bulbos (6,9%) momificados o semimomificados
Nova Lux .....	B-8/82-H	P: 3,5% F.O.: 1,4%	
Wind Song .....	B-11/82-H	P: 37,3% F.O.: 2,2%	
Aldebarán .....	B-2/83-H	P: 6,6%	
My love .....	B-4/83-H	P: 97,6% F.O.: 2,4%	
Life Flame .....	B-5/83-H	P: 93,9% B: 6,1%	2 bulbos (2,4%) con <i>F.O.</i> muestran podredumbre seca
Morning Kiss ....	B-15/83-H	P: 16,0%	

P: *Penicillium* (posiblemente *P. gladioli*).  
 B: *Botrytis* sp.  
 F.O.: *Fusarium oxysporum*.  
 F.R.: *F. roseum*.  
 F.S.: *F. solani*.

consigno la destrucción de éstos, lo que hace que en esta fase de estudio se procesen, sobre todo, los de peor aspecto, sembrando directamente los de mejor apariencia. Además, debido al tamaño de las muestras los

resultados de campo, en buena estadística, no deben compararse con los obtenidos en laboratorio. No obstante, cabe señalar algunas respuestas muy netas que se pueden adoptar como reglas generales.

Así, la presencia de *Penicillium gladioli* en los bulbos no repercute desfavorablemente ni en la producción floral ni en el estado sanitario del nuevo bulbo: la gran mayoría de las partidas que lo mostraban a la recepción de la muestra en el laboratorio, tras el ciclo de cultivo en campo daban lugar a bulbos sin síntomas de ataque de dicho hongo. En los pocos casos en que tal hongo aparecía consistentemente en el nuevo bulbo, la muestra original estaba afectada por *F. oxysporum* y/o *Botrytis gladiolorum*.

Muchas de las partidas aparentemente sanas en el análisis de laboratorio mostraban un 8-12 por 100 de los bulbos cosechados en campo afectados de fusariosis, mientras que en aquéllas con una sintomatología clara de fusariosis en el análisis de laboratorio, los resultados en campo dan, con muy pocas excepciones, porcentajes de bulbos afectados varias veces superior al de la muestra original. Como la siembra de los bulbos en campo se realizaba a una distancia razonable entre ellos y la aparición de plantas afectadas era dispersa, sin llegar a formar rodales, ello representa un caso típico de latencia del hongo en el interior del bulbo aparentemente sin síntomas de la enfermedad. Así, la presunción de MAGIE (comunicación personal) de que el número de bulbos con *Fusarium* latente es entre 5 y 10 veces superior al de los que muestran síntomas netos, puede ser aplicable en bastantes de las muestras examinadas.

Paralelamente a este estudio de los bulbos importados se ha llevado a cabo el seguimiento de este cultivo, en las dos zonas productoras de flor cortada más importantes de nuestro país: la comarca del Maresme (Barcelona) y la provincia de Valencia con las que se ha procedido de una manera análoga a la señalada más arriba habiéndose detectado simultáneamente los síntomas que según la bibliografía son los típicos del ataque de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* en campo: plantas con hojas en asta de toro y amarilleos.

Una de las particularidades de los resultados anteriores ha sido la ausencia de casos de enfermedades típicas del gladiolo como son *Curvularia trifolii* (Kaufm.) Boedijn. f. sp. *gladioli* Parmelee et Lutrell (\*) y *Stromatinia gladioli* (Drayt.) Whetz. y la aparición de bulbos con sintomatología similar a la causada por *Pseudomonas marginata* (Mc Culloch) Stapp, pero provocada en realidad por gusanos de alambre (*Agriotes* spp.) separándose claramente ambas por las galerías que hay bajo las lesiones superficiales.

Análogamente, no hemos encontrado de momento, razones válidas para incluir un estudio tan detallado sobre la presencia de virosis, ya que estas enfermedades no presentan síntomas definidos para poder ser detectados en la inspección fitosanitaria, aunque se han estudiado diversas muestras cuyo estudio no hemos reflejado aquí.

Por todo ello, el trabajo se ha centrado en el estudio de los hongos aislados, así como de su potencial riesgo, hongos que vienen expresados en el cuadro siguiente:

Cuadro 6.—Hongos aislados de bulbos de gladiolo (años 1979-1982)

	Número de aislamientos
<i>F. oxysporum</i> .....	100
<i>F. roseum</i> .....	11
<i>F. solani</i> .....	10
<i>Penicillium</i> sp. (supuestamente <i>P. gladioli</i> ) .....	17
<i>Botrytis</i> sp. ....	4
Otros hongos .....	11
<b>Total</b> .....	<b>153</b>

(\*) Recientemente ha sido detectada la presencia de *C. trifolii* f. sp. *gladioli* en Canarias en bulbos procedentes de Brasil por HERNÁNDEZ et al. (1984), y por nosotros mismos en diciembre de 1984 (datos no publicados) en bulbos de gladiolo de la variedad Friendship cultivados en Valencia y procedentes de Holanda.

## 4. Estudio de la patogenicidad en gladiolo de los aislamientos realizados

### 4.1. INTRODUCCION

El Cuadro 6 indica que nos hallamos frente a hongos de una gran capacidad saprofítica y cuya patogenicidad, por tanto, debe ser establecida de una manera rigurosa mediante los postulados de KOCH-PASTEUR.

Por otra parte, la misma naturaleza del cultivo del gladiolo añade interés a estas pruebas, ya que para mantener una producción adecuada y rentable de flor cortada a lo largo de todo el año es necesaria una plantación escalonada y sucesiva. Ello obliga a largos períodos de mantenimiento de los bulbos en cámara, lo que facilita la aparición de podredumbres secundarias en almacén o campo.

En nuestro caso, al realizar las pruebas de patogenicidad hemos perseguido varios objetivos:

a) Determinar los hongos implicados activamente en las podredumbres de bulbo: la especie *F. oxysporum* ha sido la comúnmente asociada a dichas podredumbres y amarillos como agente causal (McCULLOCH, 1944; FORSBERG, 1955); sin embargo, WOLTZ et al. (1978), demostraron que bulbos inoculados con *F. moniliforme* Sheld var. *subglutinans* Wr. et Reinking y *F. roseum* var. *sambucinum* (Fuckel) Sn. et Hn. y mantenidos en almacenaje frío, al ser plantados posteriormente, su emergencia se reducía grandemente; asimismo la producción de bulbos y bulbillos disminuía significativamente por inoculaciones de *F. roseum* var. *culmorum* (Schwabe) Sn. et Hn., *F. roseum* var. *sambu-*

*cinum* (Fuckel) Sn. et Hn. y *F. solani* (Mart.) (Appel et Wr.) Sn. et Hn. Asimismo, BARROWS-BROADBENT y DWINELL (1980), encontraron que algunas razas de *F. moniliforme* var. *subglutinans* aisladas de pino y bulbo de gladiolo eran capaces de producir podredumbre de bulbo en test de patogenicidad de laboratorio e invernadero.

El problema se complica si se tiene en cuenta la gran profusión de cepas saprófitas de *F. oxysporum*, tanto en aislamientos de suelo como procedentes de bulbo de gladiolo.

Por ello, las pruebas de patogenicidad se han llevado a cabo no sólo con los aislamientos de *F. oxysporum* sino que se han incluido otras especies (*F. roseum*, *F. solani*, etcétera), que podrían estar implicadas en el problema.

Por idénticos motivos se han incluido las cepas de *Botrytis* (supuestamente *B. gladiolorum* Timm.) y *Penicillium* (*P. gladioli* McCull. et Thom.).

b) Intentar establecer una relación entre el aspecto externo del bulbo, o características de la zona afectada de que se ha llevado a cabo el aislamiento, y la patogenicidad de éste, aspecto de capital importancia desde el punto de vista de la inspección fitosanitaria en frontera, que es el objetivo principal de este trabajo y también de sumo interés para el propio cultivador.

Vamos a tratar de analizar a continuación ambos puntos, comenzando por la determinación de los hongos implicados en las podredumbres de bulbo de gladiolo.

#### 4.2. MATERIAL Y METODOS

Una revisión de la literatura acerca de los métodos empleados para las pruebas de patogenicidad en estos hongos muestra que la mayor parte de los procedimientos son muy largos y que no hay una ventaja clara de alguno de ellos.

Las técnicas utilizadas más frecuentes han sido: inmersión de bulbillos en una suspensión de esporas y micelio del hongo con herida previa (GROUET, 1967) o intactos (HENIS y ZILBERSTEIN, 1973), y posteriormente siembra de los mismos; inmersión de los bulbos intactos en una suspensión de las mismas características y siembra inmediata de los mismos (McCLELLAN y PRYOR, 1957) o tras el almacenaje en frío (WOLTZ et al., 1978), producción de microheridas al hacer girar los bulbos con tierra saturada con una suspensión de esporas y micelio sobre un enrejado de tela metálica (PALMER y PRYOR, 1958); deposición de unas gotas de suspensión de esporas y micelio del hongo sobre el bulbo, en los que en su zona lateral se han practicado agujeros, heridas o cortes (ASHOUR y GAMAL EL-DIN, 1964; WOLTZ, 1973; JONES y JENKINS, 1975; BARROWS-BROADBUDS y DWINELL, 1980), o se han cortado por la mitad (WILFRET y WOLTZ, 1973); siembra de bulbos en terreno infectado, con heridas previas (ASHOUR y GAMAL EL-DIN, 1964; JONES y JENKINS, 1975) o sin ellas (McCULLOCH, 1943; ASHOUR y GAMAL EL-DIN, 1964; JONES y JENKINS, 1975), etc.

Se han experimentado varias de estas técnicas (GARCÍA-JIMÉNEZ, PIERA y ALFARO, 1985 b); no dio resultado el método quizás más simple: el de la deposición de unas gotas de suspensión de esporas y micelio del hongo sobre bulbos, en los que previamente se han realizado cortes laterales, realizado con bulbos de la variedad *Friendship* vivos o tratados por calor seco (75°C durante 90 minutos). En ambos casos, la zona superficial cortada aparecía necrosada uniformemente,

con un grosor de menos de 1 mm., no penetrando en ningún caso más hacia el interior, por lo que no se podían establecer diferencias entre aislamientos patógenos y no patógenos. En este resultado, y a despecho de la literatura citada, coincidimos con la opinión del doctor BERGMAN, del Laboratorium Voor Bloembollenonderzoek de Lisse (Holanda), (comunicación personal).

El único test con el que hemos obtenido resultados bastante consistentes y que hemos puesto a punto, ha sido una modificación del método GROUET (1967), que pasamos a describir y que esquemáticamente se presenta en el Cuadro 7.

Cuadro 7.—Esquema del test de patogenicidad de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*

	2 grupos (repeticiones) de 50 bulbillos de gladiolo var. Friendship tamaño 4/6
Hongo a testar se hace crecer en PDA durante 15-21 días	↓ Pelado → Eliminación de bulbillos afectados
↓	↓
Triturado en agua destilada	4 punciones laterales con aguja
→ estéril	↓ Baño en suspensión del hongo durante 24 horas
	↓
	Siembra en 2 bandejas y posterior baño de éstas con la suspensión del hongo
	↓
	Bandejas se llevan a invernadero a temperatura 22-30°C
	↓
	Conteos a los 30, 60 y 90 días de la siembra

Cien bulbillos de tamaño 4/6 de la variedad Friendship, muy susceptible a la podredumbre causada por *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* (McCLELLAN y PRYOR, 1957; WILFRET y WOLTZ, 1973), se despojan de sus escamas externas y en cada uno de ellos se hacen 4 punciones laterales de 2-4 mm. de profundidad, con aguja, tras lo cual se mantienen

durante 24 horas a temperatura de 25-27°C, óptima para el ataque de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* (WILFRET y WOLTZ, 1973), en una suspensión de esporas y micelio obtenida al triturar en batidora cultivos de hongo crecidos durante 15-21 días en agar glucosado de patata (PDA). Al cabo de este tiempo se siembran en bandejas de tierra (esterilizada dos veces a 1,5 atmósferas de presión durante 45 minutos) y posteriormente, la bandeja se riega con la suspensión anterior. Las bandejas se llevan a invernadero donde se realizan conteos a los 30 y 60 días y los definitivos a los 90 días de la siembra.

Los testigos se tratan de una manera análoga, utilizando placas Petri de PDA no sembradas.

En todos los casos los aislamientos utilizados son masales. Hemos comparado la patogenicidad de estos aislamientos masales con la de cultivos monospóricos procedentes de aquéllos (\*) y no hemos encontrado diferencias significativas, por lo que hemos optado por seguir haciendo las pruebas de patogenicidad con dichos aislamientos masales por ser más cómodo y, por otra parte, se ajustan más a lo que ocurre en la realidad, aún contando con la artificiosidad del método.

#### 4.3. RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los resultados de los test de patogenicidad aparecen expresados en el Cuadro 8 para los aislamientos de *F. oxysporum* (48 aislamientos), *F. roseum* (6 aislamientos), *F. solani* (4 aislamientos), *Penicillium* sp. (9 aislamientos) y *Botrytis* sp. (2 aislamientos).

El problema que se presenta es caracterís-

(\*) Aislamiento de *F. oxysporum* nº 16 (masal) con números 145, 146 y 148 (monospóricos); el nº 87 con los 152, 153 y 154; el nº 113, con los 155, 156 y 157; el número 22 con los 158, 159 y 160; el nº 130 con los 161, 162 y 163.

Aislamientos de *F. roseum* nº 24 con los 149, 150 y 151; nº 27 con los 171, 172, 173; nº 34 con los 174, 175 y 176.

tico de este tipo de situaciones, en que el hongo está implicado en dos formas de ataque bien distintas: podredumbre de almacén y marchitez en campo. En la realización del test se obtienen, como expresión de la enfermedad, plantas no emergidas y plantas más o menos desarrolladas, que se marchitan; ambas situaciones no son obviamente equivalentes a las arriba citadas pues en la mayor parte de los tests se encuentran, junto a casos bastante netos, muchos otros intermedios de mortalidad de bulbillos recién germinados y de plántulas. Por todo ello, se ha buscado una evaluación de resultados que incluyera a la vez la eficiencia en ambos aspectos, estandarizada de alguna manera respecto al testigo. Se ha intentado describir el comportamiento del aislamiento estudiado por 2 índices: a partir de las plantas no emergidas y emergidas marchitas se define un *primer índice*, «capacidad patogénica» (Cp), que viene dado por la fórmula:

$$C_p = \frac{(\text{Plantas no emergidas} + \text{plantas marchitas}) \text{ aislamiento} - (\text{Idem}) \text{ testigo}}{100 - (\text{Idem}) \text{ testigo}} \times 100$$

que no es sino una corrección del índice de «plantas no emergidas + plantas marchitas» del aislamiento teniendo en cuenta el valor de este índice en el testigo.

Este índice, Cp permite una separación clara de los aislamientos de los *F. oxysporum* como puede verse en el Cuadro 8. Excepto los aislamientos de *F. oxysporum* número 22, 28, 82 y 88 con Cp de 29,17, 21,88, 20,00 y 41,27, respectivamente, y que deben ser objeto de un estudio posterior, en el resto hay una separación neta entre los que hemos considerado patógenos (Cp mayor de 50) y no patógenos (Cp menor de 6), valor éste último que cae dentro de los niveles de variabilidad del testigo por fallos de germinación.

Es curioso hacer notar que de los 22 aislamientos de *Fusarium* spp. testados y

Cuadro 8.—Resultados de los tests de patogenicidad

A) Aislamientos de *F. oxysporum*.

Nº de colección patogénica (Cp)	Capacidad	Plantas no emergidas	Plantas emergidas marchitas	Velocidad del proceso de marchitez (Vm)
1	No patógeno en prueba preliminar			
2	No patógeno en prueba preliminar			
4	-7,61	1	0	0,00
12	-1,09	7	0	0,00
15	-7,61	1	0	0,00
16	100,00	13	87	3,37
19	0,00	4	0	0,00
21	4,17	8	0	0,00
22	29,17	24	8	3,00
25	75,00	49	27	3,19
28	21,88	12	13	3,15
29	100,00	25	75	3,88
38	-22,50	0	2	3,00
39	-12,50	0	10	2,20
42	-15,00	0	8	1,50
49	58,73	60	14	3,71
51	68,25	63	17	3,41
53	100,00	75	25	4,00
56	63,49	50	27	3,19
60	74,60	76	8	3,25
65	63,49	60	17	3,47
70	100,00	58	42	3,86
73	100,00	48	52	4,00
76	100,00	4	96	3,04
78	100,00	8	92	2,96
79	100,00	11	89	3,39
82	20,00	2	34	2,71
85	-17,50	0	6	1,33
87	100,00	66	34	4,00
88	41,27	50	13	3,54
92	68,25	65	15	2,87
98	-20,00	0	4	1,50
99	-23,53	4	12	2,67
101	100,00	18	82	3,93
102	100,00	56	44	4,00
112	100,00	60	40	4,00
113	100,00	68	32	3,88
116	100,00	54	46	3,91
121	73,17	14	78	2,10
122	100,00	66	34	3,88
123	87,80	20	70	1,77
124	-17,07	0	4	1,00
125	100,00	38	62	3,90
126	-12,20	4	4	2,00
127	-12,20	4	4	2,00
128	100,00	58	42	4,00
129	100,00	52	48	4,00
130	100,00	62	38	4,00

B) Aislamientos de *F. roseum*

Nº de colección patogénica (Cp)	Capacidad	Plantas no emergidas	Plantas emergidas marchitas	Velocidad del proceso de marchitez (Vm)
24	81,25	67	15	3,20
27	100,00	36	64	3,47
34	100,00	4	96	3,48
66	-14,71	4	18	2,89
83	62,50	36	34	2,76
84	5,88	2	34	3,00

C) Aislamientos de *F. solani*

Nº de colección patogénica (Cp)	Capacidad	Plantas no emergidas	Plantas emergidas marchitas	Velocidad del proceso de marchitez (Vm)
6	-17,50	6	0	0,00
7	-5,43	3	0	0,00
8	-2,17	3	3	4,00
11	-4,35	4	0	0,00

D) Aislamientos de *Penicillium* sp.

Nº de colección patogénica (Cp)	Capacidad	Plantas no emergidas	Plantas emergidas marchitas	Velocidad del proceso de marchitez (Vm)
3	-2,17	1	5	3,20
37	20,59	4	42	3,38
74	38,24	38	20	3,60
80	5,88	10	26	3,08
107	79,41	26	60	3,57
108	50,00	12	54	3,00
109	35,29	8	48	3,33
115	58,82	12	60	3,77
117	-17,65	2	20	3,50

E) Aislamiento de *Botrytis* sp.

Nº de colección patogénica (Cp)	Capacidad	Plantas no emergidas	Plantas emergidas marchitas	Velocidad del proceso de marchitez (Vm)
71	0,00	2	32	3,63
105	29,41	0	52	3,31

$$Cp = \frac{(\text{Plantas no emergidas} + \text{plantas marchitas})}{\text{aislamiento} - (\text{Idem}) \text{ testigo}} \times 100$$

$$Vm = \frac{(\text{Plantas marchitas de 0-7 cm.}) \times 4 + (\text{Idem 7-15 cm.}) \times 3 + (\text{Idem 15-25 cm.}) \times 2 + (\text{Idem } > 25 \text{ cm.}) \times 1}{\text{Total de plantas marchitas}}$$

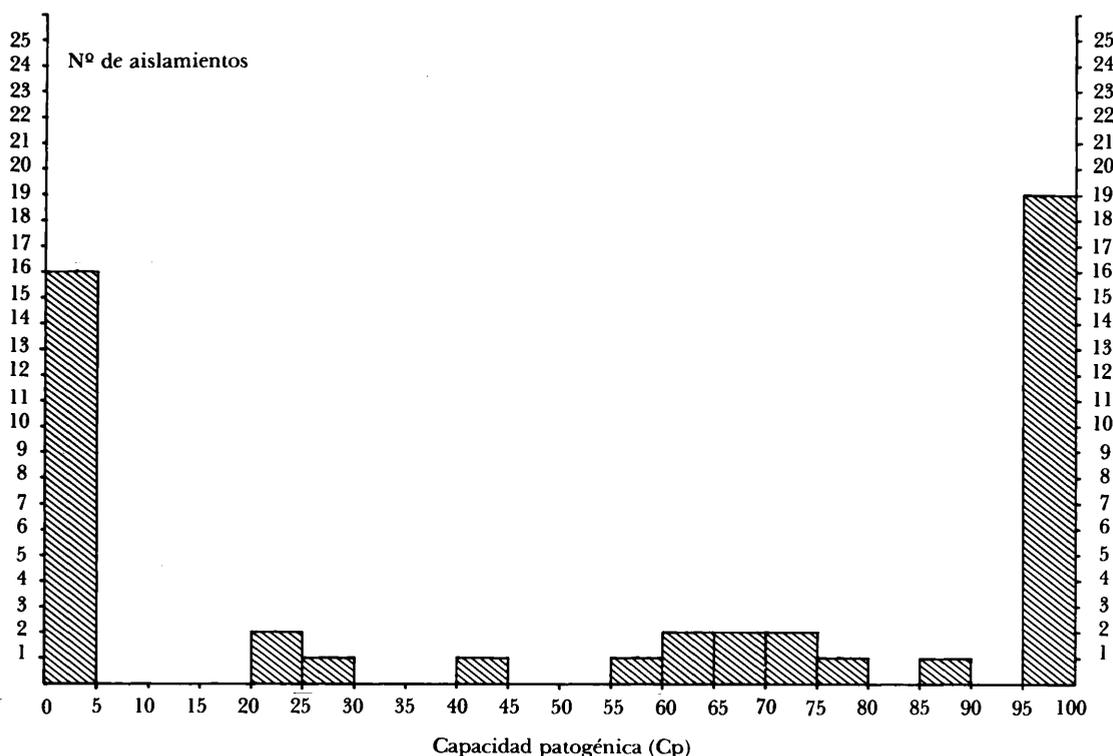


Fig. 1.—Distribución de los 48 aislamientos de *F. oxysporum* testados atendiendo al valor de Cp

que han resultado no patógenos, sólo dos de ellos *F. oxysporum* n° 21 y *F. roseum* n° 84 tienen una Cp positiva (4,17 y 5,88, respectivamente); en los otros 20 casos la Cp negativa indica que el número de plantas no emergidas más emergidas marchitas ha sido menor que en el testigo respectivo. Es arriesgado emitir una hipótesis satisfactoria sobre dicho fenómeno; puede ser debido a que la inoculación con un hongo no patógeno pueda inhibir el crecimiento de saprófitos de baja capacidad patogénica (*Penicillium*, etc.), que en los testigos, al emplear tierra esterilizada, crecen rápidamente pudiendo afectar a los bulbillos.

Otra conclusión que se desprende del Cuadro 8 y que ya ha sido descrita en la literatura (ASHOUR y GAMAL-EL-DIN, 1964) es la

distinta virulencia de los aislamientos patógenos de *F. oxysporum* (*F. oxysporum* f. sp. *gladioli*): junto a aislamientos con Cp=100 (n° 16, 29, 53, 70, 76, 78, etc.), hay otros de Cp menor: n° 25 (Cp=75,0), 49 (58, 73), 51 (68, 25), 56 (63, 49), 60 (74, 60), etc.

En otro orden de cosas, los resultados obtenidos con los aislamientos de *F. roseum* vienen a confirmar los resultados de WOLTZ et al. (1978) acerca de que en el problema de la podredumbre de bulbo pueden estar implicados otros hongos distintos de *F. oxysporum*. Como puede apreciarse en el Cuadro 8 los aislamientos n° 24, 27, 34 y 83 de *F. roseum* son claramente patógenos frente a los no patógenos 66 y 84. Los testados de *F. solani* muestran claramente que no son patógenos.



Figs. 2 y 3.—Aspecto de los ensayos de tests de patogenicidad. Nótese la clara respuesta de los aislamientos patógenos, que hacen que las plántulas o se marchiten en el momento de emerger (fig. 2) o muestran amarillos y acaban marchitándose (fig. 3), y los testigos y aislamientos no patógenos que dan una respuesta claramente negativa.



El *segundo índice, velocidad del proceso de marchitez* (Vm) se ha definido:

$$Vm = \frac{(\text{Plantas marchitas de 0-7 cm.}) \times 4 + (\text{Idem 7-15}) \times 3 + (\text{Idem 15-25}) \times 2 + (\text{Idem} > 25) \times 1}{\text{Total de plantas marchitas}}$$

y es un indicador convencional de la velocidad del hongo induciendo el síntoma de marchitez en las plantas.

El Cuadro 7 muestra la correlación existente entre la capacidad patógena del hongo y la velocidad para producir marchitez de plantas: así, todos los aislamientos patógenos (Cp mayor de 50) tienen una Vm elevada, comprendida entre 3 y 4 que pone de manifiesto que la marchitez ha tenido lugar poco después de la emergencia aunque no se puede generalizar la recíproca pues hay alguna excepción clara.

En las fotos puede apreciarse la diferente respuesta de los aislamientos patógenos, que hacen que las plántulas se marchiten en el momento de emerger (fig. 2) o muestran amarillos y acaban marchitándose (fig. 3), y los testigos y aislamientos no patógenos, que dan una respuesta claramente negativa.

Un caso distinto al de los aislamientos de *Fusarium* es el de *Penicillium* sp. y *Botrytis* sp. debido a que aquí los resultados no son tan claros como en aquéllos, mostrando la mayor parte de los aislamientos (37, 74, 108, 109, 105) una Cp intermedia que hace pensar en estos organismos como patógenos de debilidad. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por ASHOUR y GAM-EL-DIN (1964), que encontraron que *Penicillium gladioli* no causa daños serios en tests de patogenicidad.

## 5. Tipificación de síntomas de bulbo de gladiolo

### 5.1. INTRODUCCION

El examen previo por síntomas siempre será el punto capital de la inspección en frontera, aunque ciertos problemas pudieran requerir alguna prueba complementaria posterior. Por ello, el objetivo primario que nos planteamos al abordar el trabajo fue el de intentar establecer una relación entre síntoma en bulbo y los agentes asociados a ella, con el objetivo final de evitar la introducción de agentes patógenos en nuestro país.

Con tal fin, durante los cinco últimos años (1979-1983) se ha venido realizando un proceso de diagnóstico comparativo de los bulbos tal como aparecen en la inspección en frontera. De los síntomas localizados se aislaron diversos hongos que se cultivaron y se averiguó su patogenicidad de acuerdo con los métodos y técnicas de muestreo ya descritos.

Con el conjunto de los resultados se ha elaborado una lista de descripciones y un atlas gráfico que aparece en el punto siguiente (6). Asimismo, y por estar estrechamente relacionado con el problema, se incluye en este atlas las afecciones de etiología distinta a la fúngica (insectos, afecciones fisiológicas, etc.) y la apariencia en campo de algunas de estas afecciones (principalmente fusariosis), acabando con una somera descripción de aquellas otras enfermedades fúngicas que, aún no habiendo sido detectadas hasta el momento en nuestro país, son de gran importancia en los países productores.

No se han localizado otros síntomas en

bulbos o bulbillos atribuibles a virus, bacterias o nematodos.

### 5.2. *F. OXYSPORUM* F. SP. *GLADIOLI*

En el apartado 2, se describió la sintomatología que, según la literatura, suele llevar asociada el ataque de este hongo. Nuestro objetivo inmediato fue el estudiar si en nuestras condiciones españolas, el hongo mostraba también esa variada sintomatología y si era capaz de inducir otros síntomas distintos a los ya descritos.

Para ello se intentó establecer una relación entre origen (características de la zona afectada, de la cual se llevó a cabo el aislamiento) y patogenicidad de dicho aislamiento. Ello aparece reflejado en el Cuadro 9, en la que se aprecia claramente la correlación existente entre la sintomatología típica de los ataques de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* según la bibliografía consultada (podredumbre seca interna, comienzo de momificación del bulbo, podredumbre basal seca) y patogenicidad de los aislamientos llevados a cabo de estas zonas.

Hay, sin embargo, una sintomatología no descrita en la bibliografía como asociada a *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* y de la que se han aislado cepas patógenas de *F. oxysporum*. Ha sido la de zonas necrosadas superficiales que penetran al interior en una pequeña extensión dando podredumbre marrón seca (ver atlas). A lo largo del trabajo se ha intentado en múltiples ocasiones realizar aislamientos de estas zonas. De todas ellas sólo se ha obtenido *F. oxysporum* en

los 8 casos testados. Cabe emitir dos hipótesis acerca de la naturaleza de estas lesiones y los aislamientos que de ella se han hecho:

a) Podría haber dos tipos de lesiones de idéntica sintomatología: unas ocasionadas por *Penicillium gladioli* que han dado lugar a dicha podredumbre a partir de una pequeña herida de entrada y otras, en mucha menor proporción que son los estadios iniciales de la podredumbre seca causada por *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* que son de las que hemos llevado a cabo dichos aislamientos.

b) Los aislamientos realizados podrían ser de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* latente en bulbo con lo que, con la misma probabilidad, podríamos haber obtenido el mismo hongo de otras partes del bulbo aparentemente sanas. Esta segunda hipótesis parece la más cercana a la realidad de acuerdo con las características del ataque de este hongo, aunque no es descartable la posibilidad de que ambas opciones sean ciertas.

Otras de las conclusiones que se deducen del Cuadro 9, es que por regla general, en las sintomatologías típicas de fusariosis, los aislamientos realizados de interior de bulbo, en la zona límite de la afección han resultado patógenos mientras que los de exterior de dichas zonas no lo han sido; cabe emitir la hipótesis de que la especialización de *F. oxysporum* reduce su capacidad para competir en condiciones saprofitas, por lo que en el exterior de estas afecciones, donde ya el tejido está muerto, tienen una ventaja las cepas saprofitas de este hongo que se encuentran en el suelo y en la superficie del bulbo.

En las Láminas 1 y 2 aparecen claramente especificadas las diversas sintomatologías de las que se ha aislado *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*. Es muy importante resaltar que esta lista de síntomas no debe considerarse totalmente cerrada, sino que debe ser utilizada durante cierto tiempo, a título de prueba, en la inspección fitosanita-

**Cuadro 9.—Relación entre origen y patogenicidad de los aislamientos de *F. oxysporum* de bulbo de gladiolo**

Origen del aislamiento	Nº de aislamientos patógenos	Nº de aislamientos no patógenos
De interior de bulbo semimodificado, con pulpa correosa .	3	1
De exterior de bulbo momificado . . . . .	0	2
De interior de zonas necrosadas superficiales que penetran en pequeña extensión dando podredumbre seca de color blanco o marrón . . . . .	6	2
De interior de podredumbre basal seca . . . . .	4	0
De exterior de podredumbre basal seca . . . . .	0	2
De podredumbre marrón seca interna . . . . .	11	3
Cepas procedentes de la A.T.C.C.	2	0

ria, con lo que, lógicamente, surgirán dudas en su manejo o sintomatologías semejantes (pero no idénticas a las aquí descritas), que serán el punto de partida para una elaboración de un completo atlas gráfico de todos los síntomas de fusariosis en bulbo de gladiolo.

### 5.3. OTROS HONGOS DETECTADOS EN BULBO

#### 5.3.1. *Penicillium gladioli* Mc Cull. et Thom.

Ha sido detectado con mucha frecuencia en las partidas estudiadas.

Los bulbos afectados presentan focos de infección de color pardo, hundidos y claramente delimitados exteriormente. El tejido del interior del bulbo por debajo de esta zona adquiere una coloración parda que posteriormente evoluciona a blanca, con textura esponjosa, como muestran las fotos correspondientes (Lámina 4).

Parece que existe cierta relación entre incidencia de la enfermedad y daños en el manejo del bulbo durante la cosecha, cuando la epidermis todavía no se ha endurecido.

### 5.3.2. *Botrytis gladiolorum* Timm.

Sobre los bulbos aparecen focos de podredumbre parda que penetran profundamente al interior generalmente formando una especie de rayos. El tejido afectado es esponjoso y blando. Con mucha frecuencia, la podredumbre comienza en los alrededores de la yema apical y penetra hacia abajo por la parte central del bulbo, con lo que se pudre su base y no se forma ninguna raíz. En ambiente húmedo la zona afectada toma el aspecto gris pulverulento típico de la fructificaciones de este hongo, así como pequeños esclerocios irregulares de color negro (Lámina 3).

## 5.4. OTRAS AFECCIONES DEL BULBO

### 5.4.1. Trips

El insecto inverna bajo las túnicas de los bulbos almacenados; cuando la temperatura es elevada, tanto las larvas como los adultos atacan la epidermis del bulbo produciendo un pardeamiento y rugosidad de la misma. Los daños son más graves cuando el ataque se produce en la zona de emisión de raicillas ya que obliga al bulbo a una nueva emisión de éstas con el consiguiente debilitamiento de la planta obtenida aunque el mayor problema suele ser el ataque de estos insectos a las flores procedentes de estos bulbos afectados, lo que las hace prácticamente inservibles (figuras 5.1, 8.1 y 8.2).

### 5.4.2. Gusanos de alambre: *Agriotes* spp.

Los daños causados por las larvas de estos coleópteros son muy variables pudiendo ir

desde la destrucción total del bulbo hasta daños relativamente superficiales. Desde el punto de vista de la inspección fitosanitaria, que es lo que más nos interesa, es muy frecuente encontrar bulbos en los que el ataque de estas larvas se manifiesta por la presencia de depresiones necrosadas de 3-6 mm. de diámetro que una inspección rutinaria podría confundir con las causadas por *Pseudomonas marginata*, de la que, no obstante, se diferencia por la presencia de galerías que penetran al interior del bulbo (figura 5.2).

Los daños en la producción de vara floral no suelen ser apreciables, excepto en el caso de que el ataque sea muy intenso o se haya reducido grandemente la zona de emisión de raíces.

### 5.4.3. Excoriaciones superficiales

En nuestras observaciones hemos encontrado gran cantidad de bulbos que presentan pequeñas excoriaciones de la epidermis que generalmente no profundizan al exterior y de las que al intentar hacer aislamientos sólo se obtienen hongos saprofitos (principalmente *Penicillium* sp.).

Este tipo de lesiones se produce por daños a la superficie del bulbo en el momento de la cosecha, cuando la epidermis aún no se ha endurecido y no parece tener ninguna relevancia posterior, en lo que a producción floral se refiere; sólo en aquellos casos en que el daño causado sea muy intenso y las condiciones de conservación inadecuadas pueden aparecer necrosis que penetran en mayor o menor medida en el interior del bulbo, aunque nuestra experiencia demuestra que tampoco influyen significativamente en el cultivo (figura 6.1).

### 5.4.4. Necrosis en zona de unión de escamas al bulbo

En muy contadas ocasiones hemos encontrado bulbos con dicha sintomatología. Estos

bulbos, que por lo demás aparecen sanos, muestran al despojarlos de sus túnicas o escamas una necrosis en la zona de unión de estas al bulbo que a veces va acompañada por una necrosis superficial (no llega a 1 mm.) de la epidermis del bulbo en esa zona. En opinión del Dr. Muller del Laboratorio Voor Bloembollenonderzoek de Lisse (Holanda), (comunicación personal), estos bulbos podrían proceder de plantas muertas prematuramente en campo por ataque de *Botrytis* o *Stromatinia* pero los repetidos intentos de aislar estos hongos de dichas zonas han dado hasta ahora resultados negativos (figura 6.2).

## 5.5. OTROS HONGOS, DE IMPORTANCIA EN GLADILO, NO DETECTADOS EN ESPAÑA

### 5.5.1. *Stromatinia gladioli* (Drayt.) Whetz (\*)

Sobre los bulbos aparecen manchas hundidas de color marrón rojizo al principio que después evolucionan a negro, sobre todo, en la zona de inserción de las escamas. Sobre estas manchas pueden verse los microesclerocios del hongo, de color negro. La zona afectada parece limitada a la epidermis, aunque con ataques intensos el bulbo se momifica (figura 10.3).

---

(\*) En la primavera de 1985 hemos detectado esta enfermedad en bulbos de gladiolo de diversas variedades procedentes de Holanda e introducidos en nuestro país por Guipúzcoa, así como en planta adulta en variedades comerciales de gladiolo de la provincia de Murcia y en plantas de *Gladiolus italicus* espontáneas de la provincia de Valencia (datos no publicados).

### 5.5.2. *Septoria gladioli* Pass

Sobre los bulbos, y especialmente en su mitad inferior aparecen una manchas húmedas, de color marrón-rojizo que conforme aumentan de tamaño se hunden y oscurecen quedando perfectamente delimitadas las zonas sanas y enfermas. Con ataques muy fuertes, el bulbo se momifica y deforma pudiendo apreciarse sobre las zonas afectadas, picnidios de color negro, visibles a simple vista.

### 5.5.3. *Curvularia trifolii* (Kauffm.) Boedijn f. sp. *gladioli* Parmelee et Lutrell (\*\*)

Sobre las escamas del bulbo se ven manchas y rayas alargadas cuyo color va del marrón claro al oscuro, manchas que se corresponden con lesiones de forma irregular y de color negruzco en la superficie del bulbo que, a veces penetran al interior. Las yemas, sobre todo las de la parte baja del bulbo, suelen aparecer bordeadas por una mancha de color oscuro. Durante el almacenaje, estas manchas continúan desarrollándose y los tejidos enfermos se endurecen con la característica de que suelen llegar a separarse de los tejidos sanos, lo que hace que sólo en muy raras ocasiones, los bulbos se necrosen totalmente.

---

(\*\*) Recientemente ha sido detectada la presencia de *C. trifolii* f. sp. *gladioli* en Canarias, en bulbos procedentes de Brasil, por HERNÁNDEZ et al. (1984), y por nosotros mismos en diciembre de 1984 (datos no publicados), en bulbos de gladiolo de la variedad Friendship cultivados en Valencia y procedentes de Holanda.

## 6. Atlas gráfico de afecciones del bulbo de gladiolo

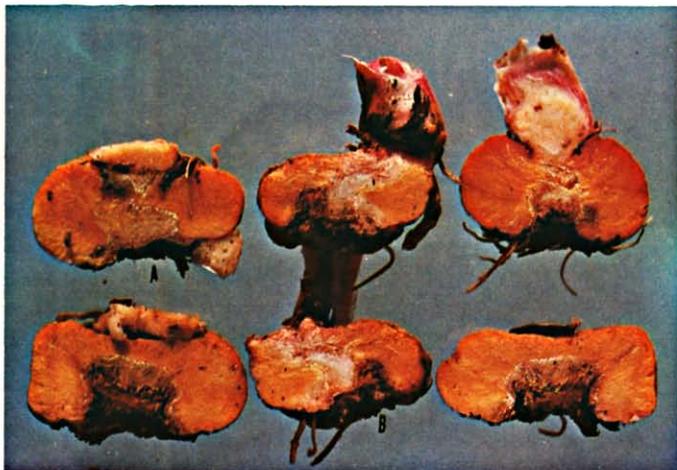
Como conclusión de todo lo anterior se ha llegado a elaborar un atlas gráfico (Láminas 1 a 6) de afecciones del bulbo de gladiolo para su uso en la inspección fitosanitaria que, en opinión de los técnicos consultados del Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica, parece bastante explícito. Finalmente, y aunque parezca salirse de los límites del presente trabajo, se presentan por su valor complementario, el aspecto en campo de plantas con diversas afecciones: fusariosis, roya, *Curvularia*, trips, etc., sin lo

cual este atlas no quedaría completo (Láminas 7 a 10).

De todas maneras esta propuesta de trabajo debe tomarse —naturalmente— como una propuesta abierta susceptible de ser ampliada y mejorada según vaya aumentando la experiencia de su utilización en frontera y el necesario contraste con los datos de campo posteriores. En la actual versión no se incluyen más que fotografías obtenidas por nosotros en material español de campo o inspeccionado en frontera.

Lámina 1.— <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>gladioli</i> en bulbo (I) .....	33
Lámina 2.— <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>gladioli</i> en bulbo (II) .....	35
Lámina 3.— <i>Botrytis gladiolorum</i> en bulbo .....	37
Lámina 4.— <i>Penicillium gladioli</i> en bulbo .....	39
Lámina 5.—Daños causados por insectos en bulbo .....	41
Lámina 6.—Afecciones de tipo fisiológico en bulbo .....	43
Lámina 7.—Aspectos típicos del ataque en campo de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>gladioli</i> .....	45
Lámina 8.—Otras afecciones de campo (I) .....	47
Lámina 9.—Otras afecciones de campo (II) .....	49
Lámina 10.—Otras enfermedades .....	51

LAMINA 1.—*F. OXYSPORUM* F. SP. *GLADIOLI* BULBO



Figs. 1.1 y 1.2.—Podredumbre basal seca de bulbos de gladiolo producida por *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*. La parte basal del bulbo, y principalmente la zona de las raíces, se necrosa tomando una coloración marrón claro que posteriormente evoluciona a marrón oscuro o negro. La zona afectada se deprime algo y toma una textura escamosa; la lesión suele ser extensa y poco profunda (A) o en cuña (B), con una neta separación entre las zonas sana y enferma. Posteriormente las raíces se necrosan y cesa su emisión, con lo que la planta en campo acaba marchitándose.



Fig. 1.3.—Podredumbre marrón causada por *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*. Suele aparecer en cualquier lugar del bulbo, pero principalmente cerca de la base y zona central debido a que la afección pasa del bulbo madre al hijo. A diferencia de la anterior no muestra una delimitación clara entre las zonas sana y afectada, apareciendo una zona decolorada intermedia. Es una enfermedad más frecuente en campo en la última fase de formación del nuevo bulbo.





LAMINA 2.—*F. OXYSPORUM* F. SP. *GLADIOLI* EN BULBO



Fig. 2.1.—Comienzo de momificación en bulbos afectados por *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*. El aspecto es similar al observado en la podredumbre marrón pero aquí la zona afectada, aparte de aparecer en cualquier zona del bulbo, evoluciona pronto y toma un aspecto pétreo, momificado, y va acompañada de una ligera depresión o arrugamiento fácilmente observable desde el exterior.

Fig. 2.2.—Bulbos completamente momificados por ataque de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*. Es el estadio final de lo descrito en la foto anterior. Los bulbos pueden tomar una textura pétreo, como ya se indicó anteriormente, o esponjosa, cuando sobre dicho material momificado y muerto proliferan ácaros saprófitos. Cuando la humedad relativa ambiental es adecuada es muy frecuente observar un micelio blanco recubriendo exteriormente a estos bulbos que, por otra parte, son muy ligeros de peso. El aspecto de los bulbos momificados y esponjosos tienen grandes similitudes con el de patatas afectadas por podredumbre seca.



Fig. 2.3.—Bulbo con necrosis vascular. Los haces vasculares se decoloran y necrosan y, al ir avanzando la enfermedad y llegar la zona afectada a la superficie del bulbo, aparecen pequeñas manchas de color marrón, bien delimitadas.



LAMINA 3.—*BOTRYTIS GLADIOLORUM* EN BULBO DE GLADIOLO



Fig. 3.1.—Diversos grados de ataque de *B. gladiolorum* a bulbo de gladiolo. En los primeros estadios de la enfermedad, los bulbos toman una tonalidad verdosa irregular, como muestran algunos bulbos de la derecha de la foto (D), aunque a veces aparece directamente una podredumbre parda que va avanzando hasta afectar a todo el bulbo.

Figs. 3.2. y 3.3.—Con gran frecuencia, la podredumbre comienza en los alrededores de una yema, generalmente la apical y a partir de ahí penetra al interior del bulbo formando una especie de rayos (E). La podredumbre avanza hasta su base, con lo que dejan de emitirse raíces. El tejido afectado es esponjoso y blando. En los últimos estadios de la enfermedad, cuando el bulbo está completamente podrido, se pueden apreciar pequeñas pústulas irregulares de color negro, frecuentemente poco oscurecidas por su cara interna y que son los esclerocios del hongo (F).





LAMINA 4.—*PENICILLIUM GLADIOLI* EN BULBO DE GLADIOLO



Fig. 4.1.—Los bulbos afectados presentan necrosis superficiales de color pardo, deprimidas y claramente delimitadas exteriormente.



Fig. 4.2.—Por debajo de estas zonas, el tejido del interior del bulbo adquiere una coloración parda esponjosa. En algunos casos también aparecen estas zonas pardas en otros lugares del interior del bulbo y de las cuales se aísla el hongo.

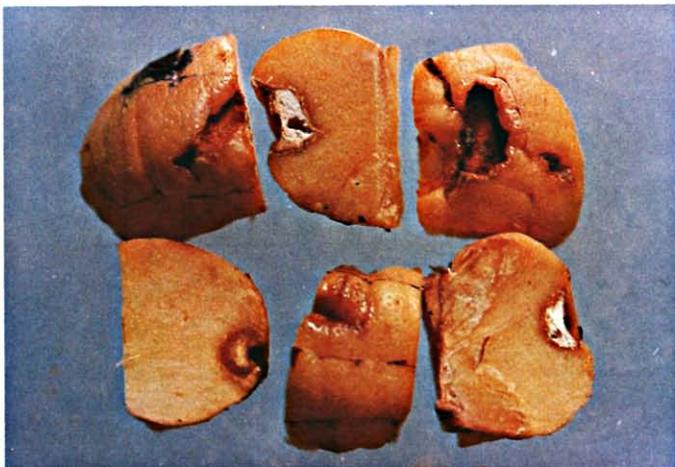


Fig. 4.3.—Posteriormente, las zonas afectadas toman un color blanco, esponjoso, permaneciendo parda clara la banda límite del tejido sano. Parece que existe cierta relación entre incidencia de la enfermedad y daños en el manejo del bulbo durante la cosecha, cuando la epidermis aún no se ha endurecido.



LAMINA 5.—DAÑOS CAUSADOS POR INSECTOS EN BULBO DE GLADIOLO



Fig. 5.1.—Pardeamiento y rugosidades superficiales en bulbo de gladiolo causadas por ataque de trips en almacén. Los mayores daños se dan cuando el ataque se produce en la zona de emisión de raicillas, ya que obliga al bulbo a una nueva emisión de éstas con el consiguiente debilitamiento de la planta.

Fig. 5.2.—Depresiones necrosadas. Se aprecian depresiones necrosadas de 3-6 mm. de diámetro que, al ser cortados se ve que se corresponden con galerías que penetran al interior en mayor o menor medida. Se atribuye a daños causados por *Agriotes* spp. (gusanos de alambre). La presencia de estas galerías sirve para separar netamente esta sintomatología de la causada por *Pseudomonas marginata*, no detectada en campo en España, que produce en la superficie del bulbo unas lesiones similares. Los daños de *Agriotes* spp. en la producción floral no suelen ser apreciables, salvo en el caso de que el ataque sea muy intenso, en que se puede llegar a pudrir el bulbo o se haya reducido grandemente la zona de emisión de raíces.





LAMINA 6.—AFECCIONES DE TIPO FISIOLÓGICO EN BULBO DE GLADIOLO



Fig. 6.1.—Excoriaciones superficiales producidas por un manejo descuidado del bulbo en el momento de la cosecha, cuando la epidermis aún no está endurecida. No tiene ninguna relevancia posterior, en lo que a producción floral se refiere.

Fig. 6.2.—Necrosis en zona de unión de escamas al bulbo. A veces va acompañada de una necrosis superficial (no llega a 1 mm.) de la epidermis del bulbo en esa zona. Estos bulbos podrían proceder de plantas muertas prematuramente en campo por ataque de *Botrytis* o *Stromatinia*, en los aislamientos solo se obtienen agentes saprófitos.





LAMINA 7.—ASPECTOS TIPICOS DEL ATAQUE EN CAMPO DE *F. OXYSPORUM* F. SP. *GLADIOLI*

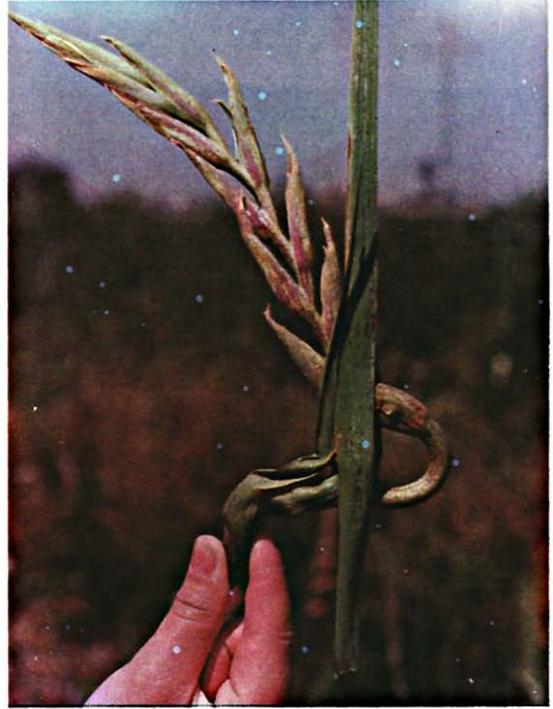
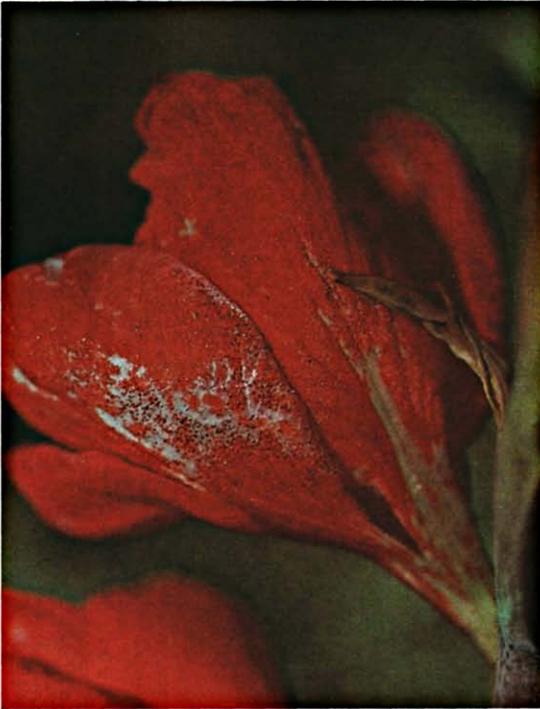
Fig. 7.1.—Plantas con hojas en asta de toro. En el centro, planta sana. Las plantas, en los primeros estadios de su desarrollo se curvan tomando el aspecto de cuerno con que se designa a la enfermedad, destacando claramente del resto por su forma y tamaño, que queda raquítico y en las contadas ocasiones que llegan a producir vara floral, ésta no alcanza tamaño comercial.



Fig. 7.2.—Plantas con amarillos debidos al ataque de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* (las 3 de la izquierda) y clorosis férrica (derecha). El amarilleo suele darse en plantas cuyos bulbos están afectados por podredumbre basal seca: al verse afectada la zona de las raíces, no se produce emisión de éstas, por lo que el desarrollo foliar sólo se lleva a cabo a expensas de las reservas del bulbo. Las hojas comienzan a amarillear por su extremidad hasta acabar desecándose, diferenciándose de la clorosis férrica (G) principalmente en que ésta afecta principalmente a las hojas más jóvenes de la planta.



LAMINA 8.—OTRAS AFECCIONES DE CAMPO (I)



Figs. 8.1. y 8.2.—Daños causados por trips en flor y vara floral, respectivamente. Las flores atacadas muestran pétalos deformados y decolorados, siendo más aparentes los daños en flores de color rojo. En el caso de vara floral, las picaduras de los insectos conducen con bastante frecuencia a deformaciones como señala la foto.

Fig. 8.3.—Ataque de roya (*Uromyces transversalis* (Thum.) Winter), en planta de gladiolo. El hongo produce pústulas (soros) de color amarillento en haz y envés durante el verano y de color marrón en otoño. Los ataques son muy intensos en condiciones de humedad relativa alta y temperaturas elevadas. Se ha observado que las distintas variedades reaccionan de modo diverso a la enfermedad. Entre las más cultivadas es muy sensible la variedad Peter Pears.



LAMINA 9.—OTRAS AFECCIONES DE CAMPO (II)



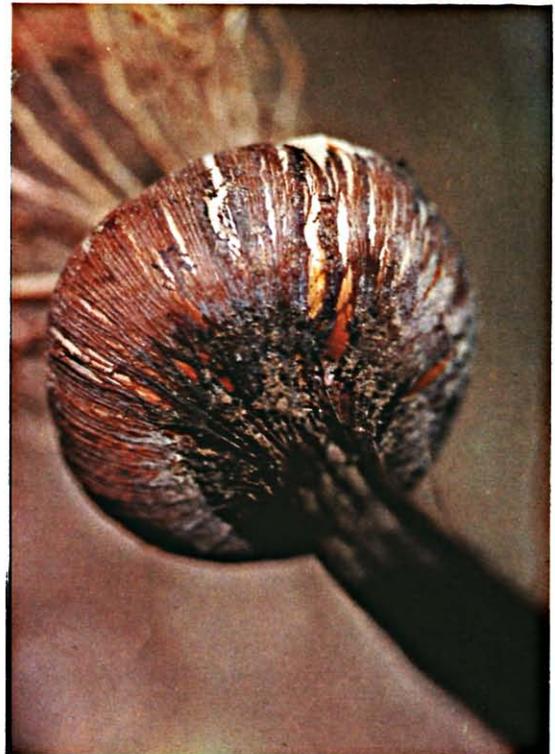
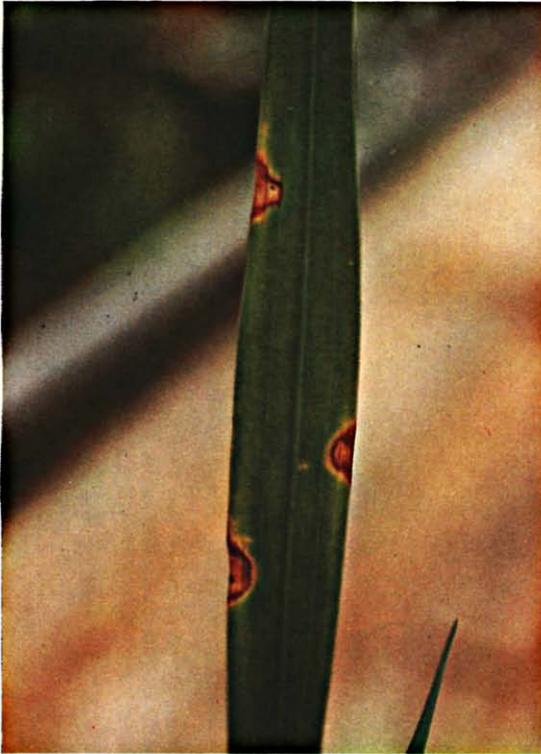
Fig. 9.1.—Excrecencias en forma de cono en pétalos de la variedad Friendship, también frecuentes en la variedad Spic and Span, atribuido en la literatura a una raza del virus del mosaico del pepino (CMV) y en otras ocasiones se ha encontrado asociado con estructuras tipo micoplasma.



Figs. 9.2. y 9.3.—Ataque de *Botrytis gladiolorum* a cuello de la planta (10.2) y hojas (10.3). Este hongo en condiciones de humedad relativa alta y temperaturas suaves (generalmente por debajo de los 20°C) causa lesiones en hojas y cuello: en las hojas aparecen pequeñas manchas de color marrón que conforme evoluciona el ataque, se van oscureciendo. En el caso de ataque al cuello los daños pueden llegar a ser mayores por rotura de la planta en esa zona.



LAMINA 10.—OTRAS ENFERMEDADES



Figs. 10.1. y 10.2.—Daños en hojas de gladiolo de la variedad Friendship producidos por *Curvularia trifolii* f. sp. *gladioli*. Sobre las hojas se observan manchas de forma irregular, pero generalmente alargada y de color castaño que, en condiciones de humedad relativa alta, toman un color más oscuro, debido a la esporulación del hongo. Enfermedad detectada en España recientemente (1984) en Canarias y Valencia.

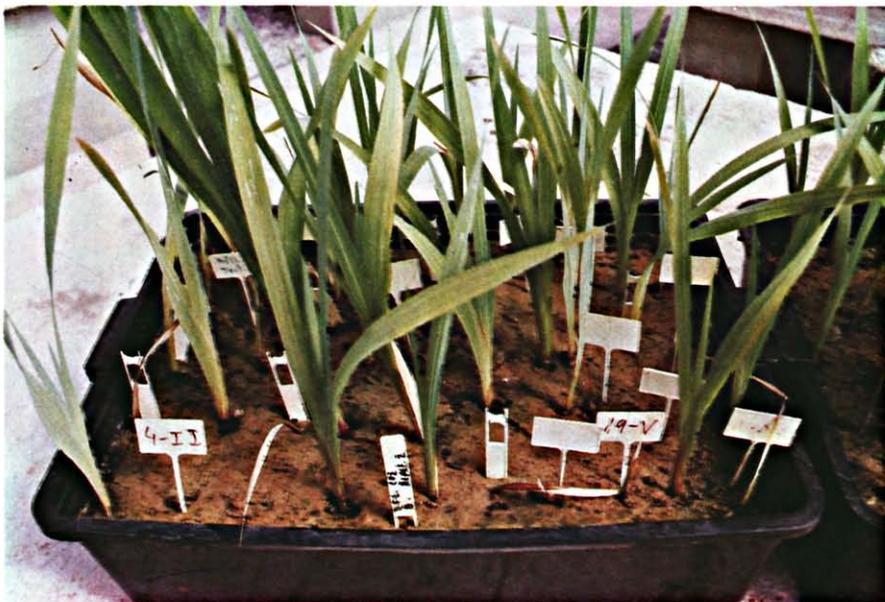


Fig. 10.3.—Ataque incipiente de *Stromatinia gladioli* a bulbo. Nótese los microesclerocios, presentes en el cuello de la planta. (Enfermedad todavía no detectada en España).



## PARTE II: LIMITACIONES DE LA INSPECCION FITOSANITARIA DEL BULBO DE GLADIOLO

### 7. Limitaciones de la inspección fitosanitaria del bulbo de gladiolo

#### 7.1. INTRODUCCION

La inspección fitosanitaria del bulbo de gladiolo, realizada sistemáticamente de acuerdo con unas reglas establecidas de forma clara, debe librarnos de la mayor parte del peor material que actualmente se importa, simplemente con establecerlas claramente y garantizar un cumplimiento mínimo. De hecho, para algunos de los principales exportadores, nuestro país pasa por ser un mercado bien poco exigente y de tamaño menor como puede apreciarse en el cuadro 10. aunque el volumen de exportación de bulbos holandeses a nuestro país es de 1,62 por 100 del total de las exportaciones holandesas de bulbos, su importe es sólo un 0,72 por 100 del valor total, lo que da idea de la peor calidad del material exportado a nuestro país.

A este efecto, una inspección persistente y cuidadosa puede ser un factor importante en la consideración de los exportadores sobre las condiciones u orígenes geográficos de las partidas que nos envíen, eligiéndolas de entre aquéllas que presumiblemente no presentan los patógenos más peligrosos, para nosotros.

Hay, sin embargo, varias limitaciones que se deben mencionar: la primera de ellas es la inspección de bulbillos, material en que es difícil apreciar claramente los síntomas. Esta situación podría ser obviada con una visita complementaria posterior al campo, dado el

Cuadro 10.—Exportación de bulbos holandeses para horticultura ornamental (año 1981)

País de destino	Volumen de la exportación		Valor de la exportación	
	En millones de unidades	% del total	En millones de florines	% del total
Alemania Occ. ..	1.105	24,13	160	23,19
Francia .....	699	15,27	93	13,48
E.E.U.U. ....	516	11,27	93	13,48
Italia .....	563	12,30	76	11,01
Gran Bretaña ....	538	11,75	61	8,84
Suecia .....	227	4,96	50	7,25
Suiza .....	102	2,23	25	3,62
España .....	74	1,62	5	0,72
Otros países .....	755	16,49	127	18,41
Totales .....	4.579	100,00	690	100,00

Fuente: Centro Internacional de Bulbos Florales. Hillegom. Holanda.

número relativamente bajo de multiplicadores en nuestro país.

Otra limitación de índole estructural es la distribución del comercio de los bulbos de gladiolo: éste se organiza en dos niveles muy netos: grandes partidas de unas cuantas variedades tipo bien conocidas y numerosas partidas pequeñas de variedades experimentales o muy poco conocidas. Este tipo de partidas siempre será de difícil inspección por la dispersión de sus envíos que no permiten una supervisión muestral, unido a la dificultad de retirar una muestra de tamaño

adecuado para su comprobación en laboratorio. Se debe pensar que comprobaciones como las que se han descrito y se describirán más tarde no deben hacerse con muestras inferiores a unos 100 bulbos, lo que representa un volumen relativo apreciable para muchas de las pequeñas partidas que hoy se reciben. De hecho, a lo largo de este trabajo sólo se muestrearon para su posterior análisis partidas varietales de diámetro homogéneo de más de 10.000 bulbos.

Finalmente, existe un problema que es de la particular competencia de este trabajo, que es el riesgo de la introducción de enfermedades con el material de propagación sin síntomas aparentes en el bulbo. Este podría ser el caso de las virosis del gladiolo, enfermedades muy frecuentes, pero que no suelen tener trascendencia económica grande y que, por otra parte, suelen corresponder a virus ubicuos, muy frecuentes en España en otros cultivos, como es el virus del mosaico del pepino (CMV) y el del mosaico amarillo de la judía (BYMV).

El resto de las enfermedades más conocidas del gladiolo, si está presente, suele mostrarse con síntomas claros en bulbo, permitiendo una adecuada inspección por síntomas. La única excepción clara puede ser el propio *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*, que puede presentar un período de latencia en bulbos sin mostrar síntomas. Este problema es, según la bibliografía, uno de los más misteriosos y peor estudiados dentro de la especie *F. oxysporum* (HALEVY et al., 1970; SIMCHOM et als., 1972): este hongo, en determinadas circunstancias, que de hecho no se conocen, es capaz de infectar al bulbo de gladiolo sin mostrar exteriormente ningún tipo de síntomas, pudiendo pasar la infección del bulbo madre al hijo por algunas generaciones hasta que se llega a manifestar la enfermedad.

En las experiencias que se mencionan a continuación hemos tratado de plantear un estudio preliminar cuyo objetivo inmediato

ha sido el poner a punto y evaluar los diversos métodos que se han venido publicando para cuantificar el problema de la latencia. El objetivo final de estos trabajos será el contestar, sobre todo, a las dos preguntas muy concretas que realizaría un Servicio de inspección fitosanitaria y que hasta hoy no tienen respuesta:

—¿Hasta qué punto la latencia de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* es un hecho económicamente perceptible o es una pura curiosidad científica?

—¿Hasta qué punto la fusariosis latente en bulbo de gladiolo está acoplada a partidas de mala calidad sanitaria, con un alto porcentaje de síntomas?

En el momento actual, no queda más recurso que remitirnos a una serie de estudios que distan de estar acabados, pero que parecen demostrar que actualmente nos encontramos en condiciones de abordar el trabajo de forma muy completa. El que el resultado final vaya a concretarse en unas normas simples de inspección en frontera, como apunta la segunda pregunta de las formuladas, o vaya a quedar en métodos y reglas aparentemente viables, pero lo bastantes engorrosas como para que no resulten aplicables, es cosa que no se conoce de momento.

Hay dos aproximaciones bien distintas para acometer este tipo de trabajo:

- Obtener, por medios microbiológicos, una estimación del hongo implantado en el interior de los tejidos.
- Provocar la aparición acelerada de la enfermedad.

Ambos aspectos serán tratados en los apartados siguientes.

## 7.2. MEDIOS SELECTIVOS PARA LA DETECCION DE *F. OXYSPORUM* F. SP. *GLADIOLI*

El cultivo de *F. oxysporum* suele ser fácil con diversos medios de cultivo y, si bien

siempre será dudoso hasta qué punto cualquier método de cultivo adecuado para un hongo viene a revelar con seguridad un caso de latencia, hemos orientado el trabajo a obtener una técnica de aislamiento y cultivo que permita una temprana identificación de *F. oxysporum* y que además evite el que se vea superado por saprofitos habituales del material vegetal: *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp., *Botrytis* spp., bacterias, etc., de crecimiento frecuentemente más rápido.

Se han utilizado diversos medios habituales de cultivo: agar glucosado de patata (PDA), agar malta (MA), agar Czapeck, agar harina de avena, etc., con diversos aditivos y condiciones de incubación, así como medios específicos de *Fusarium* (NASH-SNYDER, 1962; BOUHOT-ROUXEL, 1971; KOMADA, 1975). Igualmente se han testado los supuestos medios selectivos para *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* y formas próximas descritas en la literatura, como el de HENIS y ZILBERSTEIN (1973), medio sintético al que se le adiciona cloranfenicol y PCNB, y de PAPAIVIZAS (1967) modificado a base de agar jugo de gladiolo, PCNB, estreptomycin y clorotetraciclina, así como diversas variantes que nos ha sugerido la experiencia.

Los resultados en conjunto han sido bastante limitados pues ninguno de ellos da una ventaja a *F. oxysporum* sobre los citados saprofitos y, en el caso del medio de PAPAIVIZAS modificado, el micelio de las diversas especies testadas (*F. oxysporum*, *F. solani*, *Penicillium* sp., *Botrytis* sp., etc.), aparece blanco en las primeras fases de su desarrollo, por lo que no permite un temprano reconocimiento de las colonias de *Fusarium* sp. con el consiguiente riesgo de contaminación de las colonias de este hongo con las de los otros saprofitos, de crecimiento y esporulación más rápidos.

Asimismo, se han testado diversos medios de los utilizados habitualmente para aislamientos del suelo: PDA con dos concentra-

ciones de tergitol, con colorante rosa de Bengala, con novobiocina, etc. Todos ellos se orientan a obtener una tasa de crecimiento reducido de los saprofitos de rápido desarrollo, que permite un mejor aislamiento de las especies de crecimiento lento. En nuestro caso no hemos conseguido ninguno que retrase ni el crecimiento ni el comienzo de la esporulación de *Penicillium* sp. del gladiolo en relación con las especies del género *Fusarium*, por lo que se ha abandonado esta línea de trabajo.

Los mejores resultados se han obtenido con un medio tan simple como el agar glucosado de patata (PDA) a pH: 5,6 al que tras esterilización se le adiciona sulfato de estreptomycin filtrado por Millipore hasta alcanzar una concentración de 500 ppm. (PDAS). Este medio permite un temprano reconocimiento de las colonias de *Fusarium* sp., con lo que disminuye el riesgo de contaminaciones secundarias por saprofitos y además produce una inhibición casi total de bacterias.

Es evidente que en su conjunto se trata de un mediocre resultado, aunque pese al circunstancial optimismo de alguna literatura no se debía esperar algo mucho mejor.

Ultimamente se han obtenido resultados esperanzadores utilizando el medio anterior (PDAS) al que se han adicionado cantidades variables de ácido fusárico.

El ácido fusárico, 5-butiril picolínico, fue descrito por YABUTA et al. (1934), sobre *F. heterosporum* Nees ex Fr. y en 1952 fue descrito como una toxina de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Sn. et Hn., *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Atk) Sn. et Hn. y *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Wt. (GAUMANN, NAEF-ROTH y KOBEL, 1952). Actualmente se le considera como un producto bastante común del metabolismo de los *Fusarium* spp. El ácido fusárico, a determinadas concentraciones, es tóxico a un amplio rango de plantas, algas, bacterias y hongos; así, a concentraciones de 17,9 a 179 ppm. inhibe el

crecimiento de bacterias y a 26,8 ppm. inhibe la germinación de esporas de *Ustilago maydis* (DC) Cda. (Wood, 1976). Su modo de acción principal parece ser por la quelación de metales bivalentes como hierro o cobre con lo que interfiere en los procesos enzimáticos en que estos iones actúan como cofactores (GAUMANN, 1958).

En el Cuadro 11 aparecen los resultados obtenidos al hacer crecer los diversos aislamientos de gladiolo en medio PDAS al que se le han adicionado cantidades variables de ácido fusárico (320, 640, 960 y 1.280 ppm), e incubar en estufa, en oscuridad a 25-27°C. En dicha tabla se aprecia que a concentraciones altas de ácido fusárico el crecimiento se reduce grandemente en todos los aisla-

Cuadro 11.—Crecimiento radial de diversos hongos procedentes de aislamiento de bulbos de gladiolo en medios con distintas concentraciones de ácido fusárico (en mm./día)

Aislamiento	Testigo (PDAS)	PDAS+	PDAS+	PDAS+	PDAS+
		320 ppm.á.f	640 ppm.á.f	960 ppm.á.f	1.280 ppm.á.f
<i>F. oxysporum</i> -16 ...	1,35	1,30	1,20	1,10	1,00
<i>F. oxysporum</i> -29 ...	4,20	1,80	1,20	1,00	0,00
<i>F. oxysporum</i> -79 ...	1,75	1,40	0,00	0,85	0,65
<i>F. solani</i> -5 .....	1,75	0,35	0,75	0,15	0,00
<i>F. solani</i> -8 .....	1,63	0,10	1,15	0,00	0,00
<i>F. roseum</i> -27 .....	5,40	0,55	0,00	0,00	0,00
<i>F. roseum</i> -33 .....	8,25	1,05	0,00	0,00	0,00
<i>Botrytis</i> sp-33G ....	4,20	2,50	0,00	0,50	1,30
<i>Botrytis</i> sp-71 .....	1,75	0,00	0,00	0,00	0,15
<i>Penicillium</i> sp-3 ...	1,73	1,40	1,20	0,00	0,00
<i>Penicillium</i> sp-26 ..	1,20	0,35	0,50	0,00	0,00
<i>Penicillium</i> sp-37 ..	1,90	1,50	1,50	0,00	0,00
<i>Aspergillus</i> sp-58 ..	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>A. niger</i> -13G .....	4,25	2,00	2,50	1,30	1,00
<i>Geotrichum</i> sp-30 ..	3,44	0,00	0,00	0,00	0,00

Condiciones de la experiencia: 2 placas Petri en cada experiencia, sometidas a ciclos alternantes luz negra-oscuridad de 12 horas, a 25-27°C. Observaciones a los 4, 8 y 12 días de la siembra de hongo.

mientos testados. A concentraciones de 640 ppm. e inferiores el crecimiento de la mayor parte de los saprofitos (*Botrytis* sp. 33G; *Botrytis* sp. 71, *Penicillium* sp. 26, *Aspergillus* sp. 58, *Geotrichum* sp. 30, etc.), se ve fuertemente inhibido. Pero hay una ventaja fundamental que no aparece en dicha tabla y que se estudió en una prueba paralela a ésta y es que la presencia de ácido fusárico en el medio hace que la esporulación de los *Penicillium* spp. no comience hasta pasados los 5-6 días de la siembra cuando en los testigos, la esporulación era simultánea con el crecimiento. Creemos que ésta es una ventaja fundamental ya que, como ya ha quedado indicado más arriba, reduce el peligro de contaminación secundaria durante la técnica de aislamiento.

En la experiencia descrita aparecen ciertas irregularidades del crecimiento de algunos hongos: así *F. oxysporum* 79 no crece a 640 ppm. y sí lo hace a 960 y 1.280 ppm. Ello lo atribuimos a una irregular distribución del ácido fusárico en el medio, característica ésta que, por otra parte, se observó durante la resuspensión de los cristales puros de este ácido, en los que se apreciaba la poca solubilidad del producto y la formación de grumos.

Los resultados muestran que la concentración idónea de ácido fusárico debería estar alrededor de 500 ppm. y aunque se necesita alguna mayor experiencia en su manejo, esta línea parece ser lo suficientemente prometedora como para ser citada aquí.

Los dos procedimientos citados se están aplicando actualmente a la evaluación de *F. oxysporum* interno de bulbos con y sin síntomas, como método de estudio, acoplado con otros procedimientos de más fácil aplicación inmediata.

## 8. Ruptura de la latencia de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* e inducción de la enfermedad

### 8.1. INTRODUCCION

Se han descrito varios métodos para favorecer la estimulación de la enfermedad en bulbos aparentemente sanos pero, de hecho, infectados con *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*: se ha preconizado la utilización de tratamientos hormonales, principalmente del 2-cloroetil fosfónico (HALEVY, SHILO y SIMCHON, 1970; SIMCHON et al., 1972) y de la etilén clohidrina (JENKINS, 1967); la incubación de los bulbos en una atmósfera de anhídrido carbónico (MAGIE, 1971); la utilización de fungicidas a dosis débiles, etc. Las experiencias que se describen a continuación son una primera prospección acerca de las posibilidades de utilización de estas técnicas ya que no hay constancia evidente de que la mayor parte de estos métodos se haya usado de manera sistemática en la práctica.

### 8.2. MATERIAL Y METODOS

Cuando inicialmente se realizaron experiencias mediante estos métodos para evaluar la cantidad de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* latente en las partidas importadas, tropezamos con el problema de que para poner a punto el método se necesita trabajar con una muestra de bulbos homogéneamente infectada con el hongo. Ello fue posible merced a la amabilidad del Icona, que nos cedió una parcela en el vivero forestal del término de Quart de Poblet (Valencia). Esta parcela se inoculó con el aislamiento número 16 de *F.*

*oxysporum*, procedente de interior de bulbo de la variedad Peter Pears con podredumbre marrón y que había resultado altamente patógeno en los tests de patogenicidad: se plantaron bulbos inoculados artificialmente con el hongo y, paralelamente, en los surcos se distribuía salvado inoculado con el hongo. La parcela se mantuvo así durante un ciclo de cultivo, y en el ciclo siguiente se plantaron bulbos holandeses sanos de la variedad Friendship, cosechándose al final del ciclo de cultivo los nuevos bulbos y bulbillos (ya infectados con el hongo) y con ellos se procedió a los siguientes tratamientos:

- Baño en solución de etephon a 2.500 p.p.m. durante 30 minutos.
- Baño en solución de sulfato neutro de oxiquinoleína al 0,02 por 100 durante 1 hora.
- Baño en benomilo al 0,07 por 100 durante 1 hora.
- Colocación de los bulbos en una atmósfera de anhídrido carbónico a temperatura ambiente durante 7 días.
- Diversas combinaciones de estos métodos.

Posteriormente los bulbos y bulbillos se dejaron a temperatura ambiente hasta que comenzaba la brotación, procediendo a plantarlos a continuación en terreno sano (1 repetición de 40 unidades en el caso de bulbos y 2 repeticiones de 50 unidades en bulbillos). Durante su ciclo de cultivo se contabiliza el número de bulbos no emergidos y periódicamente el número de plantas marchitas y en asta de toro.

### 8.3. RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los resultados aparecen reflejados en los dos Cuadros 12 y 13 para el caso de bulbos y bulbillos, respectivamente.

**Cuadro 12.—Inducción de la enfermedad en bulbos crecidos en el ciclo de cultivo anterior en terreno infectado con *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*.**

Tratamiento	Número de plantas afectadas				% de plantas afectadas
	No emer- gidos	Asta de toro	Marchi- tas o semi- marchitas	Total de plantas afectadas	
Testigo	1	2	0	3	7,5
Etephon	0	3	0	3	7,5
Oxiquinoleína	2	1	0	3	7,5
Etephon+oxiquinoleína	1	1	0	2	5,0
Benomilo	2	4	0	6	15
Benomilo+etephon	2	1	1	4	10
CO <sub>2</sub>	2	8	1	11	27,5
Oxiquinoleína+CO <sub>2</sub>	1	5	2	8	20

**Cuadro 13.—Inducción de la enfermedad en bulbos crecidos en el ciclo de cultivo anterior en terreno infectado con *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*.**

Tratamiento	Repe- tición	Número de plantas afectadas				% de plantas afectadas
		No emer- gidos	Asta de toro	Marchi- tas o semi- marchitas	Total de plantas afectadas	
Testigo	R-1	4	8	6	18	45
	R-2	3	5	7	15	37,5
Etephon	R-1	0	3	2	5	12,5
	R-2	0	2	3	5	12,5
Oxiquino- leína	R-1	2	1	2	5	12,5
	R-2	2	2	0	4	10
Oxiquinoleí- na+etephon	R-1	1	5	5	11	27,5
	R-2	1	4	2	7	17,5
Benomilo	R-1	0	2	2	5	12,5
	R-2	0	3	1	4	10
Benomilo +	R-1	0	2	0	2	5
Etephon	R-2	0	1	0	1	2,5
Oxiquinoleí- na + CO <sub>2</sub>	R-1	0	4	1	5	12,5
	R-2	2	3	3	8	20
CO <sub>2</sub>	R-1	1	5	1	7	17,5
	R-2	0	0	5	5	12,5

Refiriéndose al caso de bulbos, los resultados muestran unas diferencias significativas claramente apreciables entre el tanto por ciento de plantas afectadas en el testigo y las obtenidas con el tratamiento de CO<sub>2</sub> solo o en combinación con el sulfato neutro de oxiquinoleína. Las figuras 4 y 5 muestran claramente los efectos del tratamiento (las etiquetas corresponden a plantas marchitas o en asta de toro que han ido arrancándose conforme iban mostrando los síntomas).

Estos resultados hacen de estos dos tratamientos unos métodos prometedores a utilizar en el futuro. De hecho, esta experiencia, realizada en 1982, se ha llevado a cabo con mayor número de repeticiones en años posteriores, viniendo a coincidir los resultados con los aquí descritos.

Por el contrario, en las experiencias llevadas a cabo en bulbillos, los resultados han sido discrepantes, dando el testigo un mayor porcentaje de enfermedad que el resto. La explicación de tal fenómeno sólo puede quedar a nivel de hipótesis: se podría pensar en que, al formarse los bulbillos en los últimos estadios del desarrollo de la planta, su infección por *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* resultaría poco uniforme, pero ello no explicaría las diferencias tan netas existentes entre el testigo y el resto de los tratamientos. Más bien nos inclinamos a pensar que estas técnicas son realmente efectivas solamente en el caso de bulbos, la puesta a punto de la técnica para el caso de bulbillos requeriría una cuidadosa elección de la concentración del producto teniendo en cuenta la latencia del bulbillito.

Como resumen, podemos señalar que la metodología parece prometedora para el caso de detección de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* latente en bulbos de gladiolo y podría ser de aplicación como estudio complementario de las partidas que en la inspección fitosanitaria en frontera presentan un aspecto sospe-



Fig. 4.—Aspecto de bandeja cuyos bulbos fueron tratados antes de la siembra con  $\text{CO}_2$ .



Fig. 5.—Aspecto comparativo de plantas tratadas con  $\text{CO}_2$  (izquierda) y benomilo + etephon (derecha) que demuestra la efectividad del tratamiento con anhídrido carbónico.

choso: una determinada cantidad de bulbos se sometería a este proceso mientras que el resto de la partida se conservaría en cámara frigorífica (práctica ésta, habitual entre los

importadores) y ello daría una estimación de la calidad fitosanitaria de la partida. El desarrollo de esta metodología podría resultar de gran importancia práctica.

## PARTE III: CONTROL

### 9. Introducción

Hasta aquí se ha venido abordando el problema técnico de la inspección fitosanitaria del bulbo de gladiolo, a la búsqueda de normas gráficas y claves de fácil manejo. El estudio, evidentemente, nos ha llevado a frecuentes prospecciones de campo en Cataluña y Levante. La segunda parte del trabajo, al tratar de estudiar el margen de error que la latencia de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* introduce en la inspección, nos ha obligado tanto a infectar de manera natural plantas durante su cultivo, como a obtener partidas de bulbos rigurosamente sanos. Esta última operación es, de hecho, la técnica que permite el establecimiento de cabezas de serie de propagación absolutamente libres de *Fusarium*. Todo el proceso tiene gran importancia comercial y se usa de manera consistente en algunos países. En nuestro caso se han usado las pautas norteamericanas. El procedimiento es engorroso, pero hoy en día inevitable en algunos momentos de la producción de variedades. El tema se desarrolla en el capítulo siguiente.

Junto a ésta, se han realizado otras experiencias de lucha contra la enfermedad que, por su carácter de experiencias previas, no tienen la suficiente relevancia para ser tratadas a fondo aquí, aunque se puedan citar de pasada las conclusiones extraídas de ellas:

En experiencias de lucha química se ha comprobado la efectividad del tratamiento con benomilo (baño en suspensión del 0,07 por 100 m.a. durante 1 hora), en dos momentos (a la cosecha de los bulbos e

inmediatamente antes de la plantación) para el control de la enfermedad, así como la poca consistencia de la afirmación de muchos cultivadores de esta planta que indican que dos tratamientos con benomilo al bulbo resultan fitotóxicos: nuestra experiencia señala que el tratamiento en dos momentos (a la cosecha de bulbos y antes de la plantación no produce ningún efecto fitotóxico, si bien, la sanidad de las plantas obtenidas no difiere significativamente de aquéllas cuyos bulbos han sido sometidos a un único tratamiento.

Otras experiencias que se han abordado han estado dirigidas a buscar una posible lucha biológica, lo que no sería una novedad para *F. oxysporum*, en el que los suelos resistentes constituyen una importante posibilidad. En este caso se ha tratado de recurrir al poder antagonista o competitivo de diversos hongos para dar una protección al bulbo sano frente a las formas patógenas de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*.

Las experiencias llevadas a cabo hasta el momento han dado resultado negativo: los bulbillos infectados inoculados con una cepa de *Trichoderma viride* Pers. ex Fr. (que en pruebas realizadas «in vitro» inhibía fuertemente el desarrollo de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*) o un aislamiento de *F. oxysporum* de bulbo de gladiolo (que en pruebas de patogenicidad dio una Cp altamente negativa), dieron lugar a plantas cuya sanidad no difería significativamente de los testigos.

## 10. Obtención de material de propagación libre de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* mediante termoterapia de bulbillos

### 10.1. INTRODUCCION

Idénticos motivos a los planteados para la obtención de un material uniformemente infectado con *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*, nos llevaron a intentar conseguir un material base absolutamente libre de este hongo y que pudiese servir de testigo en las pruebas planteadas.

La obtención de bulbos de gladiolo libres de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* puede conseguirse de varias maneras: cultivos de ápices «in vitro» conservando sólo aquellos que no presenten crecimiento de ningún tipo de micelio (TRAMIER, 1965); selección masal mediante eliminación muy severa de bulbos enfermos que pueden dar lugar a lotes de bulbos en que el número de enfermos sea débil o inexistente y tratamiento de bulbillos con agua caliente.

El primer método tiene el inconveniente de su laboriosidad. El segundo método, de selección masal, que es más o menos el seguido por los cultivadores, tiene el peligro de las infecciones latentes que, como ya se ha dicho varias veces a lo largo del presente trabajo, pudieran ser de capital importancia en el caso que nos ocupa: así, MAGIE (citado en GROUET, 1967), parece estimar que en algunos casos éstas llegarían a alcanzar hasta el 90 por 100 de los bulbos.

La técnica más utilizada para la obtención de material de propagación exento de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* es el tratamiento por agua caliente, método descrito por primera vez por ROISTACHER (1951). El principal problema que plantea el método es,

como en otros órganos, la determinación de la temperatura de tratamiento más adecuada: dado que el punto térmico letal de los bulbillos está entre 57,2° y 60° y el de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* entre 53,3° y 57,2°C (ROISTACHER, BAKER y BALD, 1957), queda un margen muy estrecho para efectuar el tratamiento adecuadamente, margen que se trata de ampliar mediante la manipulación de diversos factores: remojo previo en agua, utilización de bulbillos en latencia, utilización de bulbillos procedentes de zonas cálidas en que la latencia es más profunda, etc. (ROISTACHER, BAKER y BALD, 1957). Este último punto, puede ser de capital importancia para la implantación de esta técnica en nuestro país, ya que las temperaturas que se alcanzan durante el cultivo son bastante superiores a las de otros países productores —como Holanda— con lo que al ser la latencia más profunda parece que de forma común se podrán alcanzar temperaturas de tratamiento algo más altas con menor peligro para la viabilidad de los bulbillos.

### 10.2. MATERIAL Y METODOS

El tratamiento se debe efectuar en el mes de enero, cuando los bulbillos están empujando a salir de la latencia, aunque por dificultades en su suministro la experiencia concreta que se presenta hubo de realizarse en el mes de febrero, los días 1 y 22, por lo que la mortalidad de bulbillos fue mayor de lo que cabe esperar normalmente.

El proceso seguido fue el siguiente:

Para cada tratamiento se utilizaron 2 repeticiones de 50 bulbillos de tamaño 4/6 de la variedad Friendship que se introdujeron en bolsas grandes de malla para que no estuvieran muy apretados y el agua pudiese circular entre ellos. Se hicieron experiencias con material de dos orígenes: una partida de bulbillos procedían de terreno infectado uniformemente en la parcela de Cuart de Poblet (Valencia) y, otro se importó directamente de Holanda.

Antes de proceder al tratamiento con agua caliente los bulbillos se mantuvieron en remojo en una solución de sulfato neutro de oxiquinoleína al 0,02 por 100 a 18-20°C durante 48 horas, lo que refuerza la efectividad del tratamiento (GROUET, 1967). A continuación de dicho remojo e inmediatamente antes del tratamiento, los bulbillos se mantuvieron durante 3 minutos en estufa a 60°C para evitar el enfriamiento brusco del agua al introducir los bulbillos fríos. Se utilizaron 5 temperaturas de tratamiento: 52,5, 54, 55,5, 57, 58,5°C y 2 testigos: uno bañado en agua a temperatura ambiente y el otro sin bañar. El tiempo de tratamiento fue de 30 minutos al cabo de las cuales los bulbillos se sacan rápidamente y se enfrían en agua del grifo durante 10-15 minutos; después se dejan sacar en corriente de aire y se conservan

hasta la siembra en bandejas que se realizó el 1 de marzo.

### 10.3. RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos tanto en plantas emergidas como en emergidas sanas aparecen en el Cuadro 14. A partir de éste se pueden extraer las siguientes consecuencias:

1. Los efectos del tratamiento son muy drásticos y claros en el material infectado de Cuart, donde el porcentaje de plantas sanas en los testigos es muy inferior al de plantas emergidas mientras que en el material tratado con agua caliente las proporciones son muy similares a las de plantas emergidas. En el caso de material importado de Holanda los efectos son menos claros: al no ser una muestra infectada artificialmente, la proporción de plantas sanas dentro de los testigos es muy elevada.

2. La mejor época de tratamiento es la 1.<sup>a</sup> (1 de febrero), en los bulbillos de Cuart; mientras que los procedentes de Holanda muestran resultados contradictorios. Ello está en la línea de lo apuntado anteriormente acerca de la latencia de bulbillos y su resistencia a altas temperaturas; cabe pensar que se obtengan mejores resultados efectuando el

Cuadro 14.—Efecto de la termoterapia de bulbillos sobre el número de plantas emergidas y plantas sanas en material de distintas procedencias

Fecha de tratamiento	Origen del material	Repetición	52,5°C		54°C		55,5°C		57°C		58,5°C		Testigo-1 (Bañado en agua)		Testigo-2 (sin bañar en agua)	
			(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
1-2-1982	Cuart de Poblet	R <sub>1</sub>	46	44	47	41	41	41	31	31	3	3	46	38	49	30
		R <sub>2</sub>	47	47	46	43	41	39	25	25	2	2	49	47	43	31
	Holanda	R <sub>1</sub>	42	42	37	31	13	11	18	13	9	8	50	47	48	46
		R <sub>2</sub>	47	47	37	34	31	25	25	14	1	1	50	50	49	48
22-2-1982	Cuart de Poblet	R <sub>1</sub>	43	36	44	43	41	35	18	17	0	0	47	35	49	30
		R <sub>2</sub>	45	42	46	45	40	37	17	16	1	1	47	24	43	31
	Holanda	R <sub>1</sub>	49	47	43	41	34	33	13	10	2	2	49	49	48	46
		R <sub>2</sub>	49	45	43	42	30	26	3	3	3	3	49	49	49	48

(1) Plantas emergidas.  
(2) Plantas sanas.



Fig. 6.—Aspecto general de la experiencia de tratamiento con agua caliente de bulbillos producidos en Cuart de Poblet (dos filas de bandeja superiores, A) y Holanda (dos filas de bandejas inferiores, B) llevada a cabo en dos momentos: 1 de febrero (bandejas de la derecha, C), y 22 de febrero (bandejas de la izquierda, D).

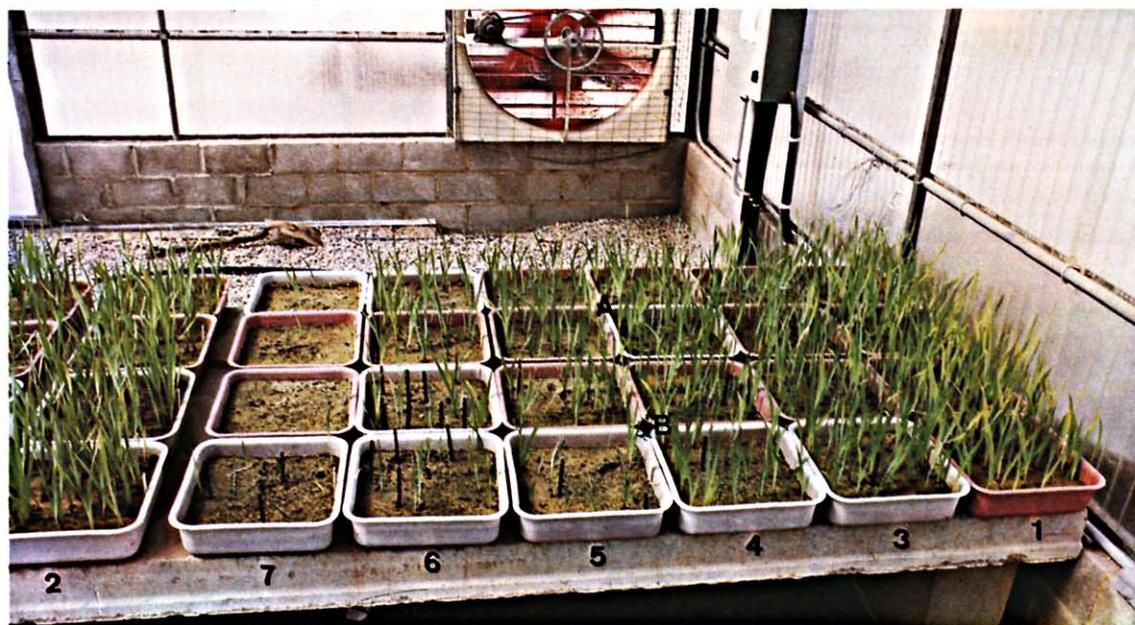


Fig. 7.—Aspecto detallado de la experiencia de tratamiento por termoterapia de bulbillos realizada el 1 de febrero. Nótese el efecto de la temperatura de tratamiento sobre la germinación: 1. Testigo-1: bulbillos bañados en agua.—2. Testigo-2: bulbillos no bañados.—3. Bulbillos tratados a 52,5°C.—4. Bulbillos tratados a 54°C.—5. Bulbillos tratados a 55,5°C.—6. Bulbillos tratados a 57°C.—7. Bulbillos tratados a 58,5°C.

tratamiento a comienzos o mediados de enero en que la latencia es todavía más profunda (figs. 6 y 7).

3. Como también quedó apuntado anteriormente los bulbillos de Holanda son más sensibles a las altas temperaturas por tener menos latencia al haberse producido en condiciones más frías. Ello repercute en una ventaja de los bulbillos producidos en nuestro país por poderse tratar a temperaturas más altas; de hecho la emergencia de bulbillos de Cuart tratados a 55,5°C es similar a la de los holandeses a 54°C. Esta diferencia, que parece mínima es, sin embargo, muy importante ya que nos estamos moviendo en un margen de temperaturas letales para el bulbillo y el hongo muy estrecho.

De los resultados obtenidos se desprende que la temperatura idónea de tratamiento de los bulbillos producidos en Cuart fue en este caso, entre los 53 y 55°C mientras que los procedentes de Holanda, las temperaturas no letales para el bulbillo están por debajo de 54°C. Cabe pensar que estas temperaturas pueden aumentarse en 1-1,5°C, solamente haciendo el tratamiento 15-20 días antes, garantizando un excelente resultado.

Repetidas pruebas de tipo rutinario seguidas de ciclos de cultivo en campo abonan la eficiencia y seguridad del proceso descrito. Creemos que el proceso se puede aplicar a trabajos prácticos de mayor amplitud sin dificultad.



## PARTE IV. DISCUSION Y CONCLUSIONES

En este trabajo se aborda el estudio de los problemas que se plantean en la inspección fitosaniaria del bulbo del gladiolo, que constituye por sí mismo más del 50 por 100 de las importaciones de bulbos de flor de nuestro país. En la actualidad no existe una normativa adecuada para la inspección de este bulbo y de otra parte tampoco sabemos de ningún estudio extranjero que la aborde.

1. El estudio se inició con una prospección de las partidas de mayor tamaño. En el quinquenio 1979-83 se ha analizado un total de 108 partidas siguiendo una metodología sistemática. Cabe destacar el hecho de la abundante presencia de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* en las partidas procedentes de Israel y la menor incidencia de este hongo en las

Cuadro 15.—Presencia de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* atendiendo al origen de la partida

Origen	Exportador	Nº de partidas estudiadas	Nº de partidas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>gladioli</i>
Holanda	A	5	0
	B	3	0
	C	2	2
	D	3	0
	E	5	0
	F	3	1 (dudosa)
	G	8	0
	H	2	0
	I	2	0
	J	1	0
	Total	34	2+1 (dudosa)
Israel	K	6	6
	L	3	1
	Total	9	7

Cuadro 16.—Muestreo comparativo de la patogenicidad de los aislamientos de *F. oxysporum* según su origen

Procedencia	Total testados	Patógenos	No patógenos	Patogenicidad dudosa
Directamente de Holanda . . . . .	6	3	3	
Holanda→Maresme (Barcelona)* . . .	4	1	1	2
Holanda→Valencia*	12	5	7	
Total de Holanda	22	9	11	2
Directamente de Israel . . . . .	15	9	4	2
Israel?→Picasent (Valencia)* . . . .	3	3		
Israel→Valencia* . .	6	5	1	
Total Israel . . . . .	24	17	5	2
A.T.C.C. . . . . .	2	2		

\* Aislamientos del origen que se menciona tras un ciclo de cultivo en campo en la comarca española.

que tienen su origen en Holanda (Cuadros 15 y 16), lo que era de esperar por ser éste un hongo cuyo crecimiento se ve favorecido por las altas temperaturas.

Este hecho confirma el riesgo que representan las partidas israelíes, pero sin olvidar las de otras procedencias, ya que hay motivos para sospechar que está siendo una práctica cada vez más común entre los grandes productores el etiquetar como propios unos bulbos cuyo proceso productivo no se ha cumplido necesariamente en el país presuntamente exportador.

2. El estudio ha tenido que fijar la sintomatología atribuible a los distintos patógenos y confirmarla estableciendo que realmente causan la enfermedad. Este estudio,

profundamente laborioso, podría haberse restringido a no ser por la presencia de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*, patógeno multiforme que causa dos enfermedades bien diferenciadas entre sí, marchitez en campo y podredumbre en almacén, pero que en el material de propagación se manifiesta con una sintomatología muy variada. Como además *F. oxysporum* es un hongo absolutamente ubicuo tanto en tejidos vegetales como en el suelo y dado que la f. sp. *gladioli* sólo expresa su capacidad patogénica en gladiolo y alguna otra iridácea sin que quepa otro método de reconocimiento, ha sido necesario poner a punto un método eficaz de evaluación de la patogenicidad. Comprobados los diversos métodos publicados en la literatura fue preciso poner a punto uno nuevo que ha demostrado consistentemente su repetibilidad a lo largo de diversas condiciones de experimentación (apartado 4).

La resultante ha sido una clara tipificación de los síntomas de fusariosis en material de propagación de gladiolo.

3. Como conclusión de todo este trabajo se ha elaborado un atlas gráfico de afecciones del bulbo de gladiolo para su uso en la inspección fitosanitaria, tanto las causadas por hongos como las debidas a insectos o afecciones fisiológicas (Láminas 1-6), atlas que, aunque es bastante explícito según los técnicos consultados, requiere ahora un cierto tiempo de utilización por los servicios de inspección. Junto a éstos y a título complementario se presenta el aspecto en campo de plantas con diversas afecciones (fusariosis, roya, *Botrytis*, trips, *Curvularia*, *Stromatinia*, etcétera). (Láminas 7-10).

Cabe resaltar aquí la ausencia, en todas las prospecciones realizadas, de casos claros de enfermedades muy comunes y graves en campo en otros países (*Stromatinia*, *Septoria*), lo que hace que el citado atlas, se deba considerar una propuesta abierta.

4. La inspección fitosanitaria de los bulbos como se describe en este trabajo tiene una limitación potencial y es el ambiguo y mal conocido tema de la latencia del hongo en el bulbo de gladiolo. Con contadas excepciones es un tema que no se ha tenido en cuenta a efectos prácticos, probablemente más por olvidar un tema molesto que por elección razonada. En el actual trabajo se incluyen algunos resultados preliminares en una aproximación indirecta, de alcance comprobatorio consistente, en poner a punto técnicas de aislamiento selectivas y eficaces que permitan la detección del hongo con gran rapidez y en función de un trabajo de laboratorio simple. Un mayor interés práctico inmediato presenta la utilización de tratamientos físicos y químicos que rompen la latencia del hongo, permitiendo que la enfermedad se revele con rapidez en el bulbo plantado. Los resultados descritos son limitados, dada la necesidad de producir previamente partidas homogéneas infectadas. No obstante, tanto los resultados aquí descritos como los correspondientes a experiencias más recientes y que no han podido incluirse aquí, indican que alguno de los procedimientos empleados se muestran eficaces. Se espera con ello poder evaluar la amplitud de un problema cuya inclusión en una normativa práctica de cuarentena dependerá en primer lugar de aclarar hasta que punto es, como parece, una amenaza grave o un tema de discusión ociosa.

5. En un estudio de tal amplitud hay diversos aspectos experimentales de interés. En esta monografía, únicamente se han recogido por su interés inmediato (y por constituir el material de iniciación o testigo de algunas de las experiencias que se mencionan) la obtención de bulbillos libres de *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* por termoterapia. Esta técnica es, por otra parte, obligada en el establecimiento de cabezas de serie sanas para obtener la multiplicación de

variedades propias o ajenas, única posibilidad de escapar a un mercado de importación de bulbos con unos condicionamientos bien desfavorables (Cuadro 10).

### **PERSPECTIVAS ACTUALES DE LA INSPECCION FITOSANITARIA EN GLADIOLO**

El desarrollo de un atlas que auxilie a los inspectores en frontera constituye en realidad sólo el primer paso en la elaboración de una normativa de inspección fitopatológica. Junto a éste, se requiere además una normativa de muestreo y una fijación de umbrales de aceptación y rechazo de las partidas.

Para establecer una normativa de inspección para este trabajo se estudió el mercado de los cinco últimos años. Hay dos tipos de importaciones netamente diferenciadas: por un lado, partidas de gran tamaño, varietalmente homogéneas y de un calibre fijado, y junto a ellas, numerosas partidas de muy pequeño tamaño, destinadas a ensayos de nuevas variedades y cuya irregularidad obliga a dejar su admisión a la discreción de la inspección. Respecto a la inspección ordinaria no creemos que el tamaño de la muestra deba superar el aquí adoptado (100-125 bulbos por partida superior a 10.000 unidades), dado que un muestreo con niveles superiores sería excesivamente lesivo para el importador.

Como es sabido, la fijación de umbrales de aceptación y rechazo es el punto clave del proceso de inspección fitosanitaria. No contando con ninguna normativa extranjera, ésta debe ser elaborada totalmente; a este respecto, nuestros resultados, al comparar síntomas de bulbo y resultados de laboratorio podrían establecer unas indicaciones. Sin embargo, estimamos que en este momento no pueden ser fijadas por dos razones: la

primera es que no se puede asegurar que el muestreo de las primeras partidas que examinamos se realizase al azar, habiéndose enviado en algunos casos los bulbos más defectuosos. De otra parte, está el problema de la latencia de *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* en el bulbo. Este hecho, a simple vista, parece limitar cualquier perspectiva de inspección fitosanitaria en frontera, salvo que se adopte la solución maniquea de atribuir un valor no detectable suplementario a todas las partidas que superan un nivel determinado de bulbos con síntomas claros de afección. Esta es la opinión de reputados especialistas en el tema (MAGIE, comunicación personal); no obstante, como se ve por los resultados del capítulo 3, esto no tiene por que ser así.

Aunque existen procedimientos microbiológicos de estudio, en la práctica se debe esperar la evaluación de este problema en base a técnicas que rompan la latencia del hongo provocando una rápida podredumbre de los bulbos infectados; como muchas de las grandes importaciones se realizan para conservar los bulbos en cámara por períodos de 3 meses o más, podría quedar un margen suficiente para la obtención de resultados antes de la plantación en masa del material.

Es evidente que esas técnicas, cuyo desarrollo parece bastante factible, son necesarias para un control de la calidad fitosanitaria realmente eficaz. Ello requeriría la creación de una asociación de productores de bulbos de flor que complementasen la inspección en frontera con el cultivo controlado de muestras de las partidas de cierto volumen, verificando un control «a posteriori» que repercutiría favorablemente en la calidad de nuestras importaciones de bulbos. Mientras ello no tenga lugar, la inspección fitosanitaria en frontera, con mejores o peores métodos seguirá siendo la única presión real para defender un sistema productivo tan desorganizado como el de los bulbos de flor.

## ABSTRACT

GARCÍA JIMÉNEZ, J. y ALFARO GARCÍA, A. 1985: Inspección fitosanitaria del Bulbo de Gladiolo. Estudio básico. *Bol. Serv. Plagas*. Fuera de serie, 3.

The gladiolous propagation material in Spain is mostly imported and covers more than half of all the flower corm imports. Traditionally the almost only producer was Holland. Nevertheless, today although this country regulates the marketing of the product, it is common knowledge that their final multiplication implies frequently other warmer countries as well. Even Israel has become introduced into the gladiolous propagation material market. So the risk of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* massive introduction increased along the last years. This pathogen is the causal agent of storage corm and yellowing and wilting plants and when introduced on the field it remains there as soil inhabitant.

The Spanish Plant Protection and Quarantine Service (Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica) called our interest on the sanity of gladiolous propagation material imports: a prospection of the corm and cormel imports during a five years period (1979-1983) was developed, covering the shipments bigger than a determined amount, specially for the Valencia and Barcelona ports.

As a consequence of this study, the symptomatology of fungal problems was described and a graphic atlas was devised.

A method for testing the pathogenicity of *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* isolates was developed. This method provides a simple and reasonable quick test to separate the pathogenic and non pathogenic strains of *F. oxysporum* with a small number of intermediate results. With this technique it has been possible to establish relationships between *F. oxysporum* pathogenicity and the symptomatology of the areas that were isolated.

The prospection by symptoms of the corms does not permit to evaluate the full presence of *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* because a number of corms does not show external or internal symptoms and this fungus remain in dormancy to reproduce the disease along the next crop cycles. The importance of this issue is difficult to evaluate although some of the leading researchers think that their frequency on a sample usually exceed the corms that show symptoms. Microbiological methods to get an efficient fungal growth have been studied and stimulation attempts to cause a quick development of the disease in latent fungus corm have been tried. The results are encouraging and new works are under way.

In a research plan so wide as this, many other experiments have been carried out and they can not be recollected here. Briefly, the cormel thermotherapy is described, procedure that we used to prepare our experimental fungus-free material because it gives an scope of their use under mediterranean conditions.

## REFERENCIAS

- ASHOUR, W. A. and GAMAL-EL-DIN, I. F., 1964: Corm diseases of gladiolus in U.A.R. (Egypt). *Annals of Agric. Sct.*, Fac. of Agric., Ain Sham Univ., Cairo 9 (2): 205-223.
- BALD, J. G., 1953: Control of diseases by heat-curing and dipping gladiolus corms. II: Incidence of lesions. *Phytopathology*, 43 (3): 146-150.
- BARROWS-BROADBENT, J. and DWINELL, L. D., 1980: Decay and colonization of gladiolus corms by the pine pitch canker fungus. *Phytopathology*, 70: 847-850.
- BOUHOT, D. et ROUXEL, F., 1981: Technique sélective et quantitative d'analyse des *Fusarium oxysporum* et *F. solani* dans le sol. *Ann. Phytopathol.*, 3 (2): 251-254.
- MCCLELLAN, W. D., 1947: Symptoms of the *Fusarium* diseases of gladiolus. *Gladiolus Mag.*, 11 (1): 26-32.
- MCCLELLAN, W. D., 1948: Effect of *Fusarium* isolates on two gladiolus varieties. *Phytopathology*, 38 (7): 576 (Abstract).
- MCCLELLAN, W. D. and PRIOR, R. L., 1957: Susceptibility of gladiolus varieties to *Fusarium*, *Botrytis* and *Curvularia*. *Plant Dis. Repr.*, 41 (1): 47-50.
- MCCLELLAN, W. D. and STUART, N. W., 1947: The influence of nutrition on *Fusarium* basal rot of narcissus and on *Fusarium* yellows of gladiolus. *Am. Jour. Bot.*, 34 (2): 88-93.
- MCCULLOCH, L., 1944: A vascular disease of gladiolus caused by *Fusarium*. *Phytopathology*, 34 (3): 263-287.
- FORSBERG, J. L., 1955: *Fusarium* disease of gladiolus: Its causal agent. *Bull. Ill. Nat. Hist. Surv.*, 26: 447-503.

- GARCÍA-JIMÉNEZ, J., 1982: Fusariosis del gladiolo: un estudio preliminar. Fundación Juan March. Serie Universitaria nº 171.
- GARCÍA-JIMÉNEZ, J., JORDA, M.<sup>a</sup> C. y ALFARO, A., 1983: Elaboración de un atlas gráfico de afecciones del gladiolo: estudio particular de las enfermedades del bulbo. *Actas del I Congreso Nacional de Soc. Esp. de Ciencias Hortícolas*, 347-353.
- GARCÍA-JIMÉNEZ, J. y PIERA, V. J., 1985: Posibilidades de control de la fusariosis del gladiolo mediante tratamiento con agua caliente. IV. Congreso Nac. de Fitopatología. Vitoria, octubre 1985, 3 págs. (en prensa).
- GARCÍA-JIMÉNEZ, J., PIERA, V. J. and ALFARO, A., 1985 a: Mycological prospection of the gladiolus corm imports on Spain. 4th Int. Symp. on Flower Bulbs. Lisse (Holanda). Junio 1985, 6 págs. (en prensa).
- GARCÍA-JIMÉNEZ, J., PIERA, V. J. and ALFARO, A., 1985 b: An improved method to evaluate *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* pathogenicity. 4th Int. Symp. on Flower Bulbs. Lisse (Holanda). Junio 1985, 9 págs. (en prensa).
- GAUMANN, E., NAEF-ROTH, S. T., and KOBEL, H., 1952: Ueber Fusarinsäure, einzweites Welktoxin des *Fusarium lycopersici*. *Sacc. Phytopathol. Z.*, 20: 1-38.
- GAUMANN, E., 1958: The mechanisms of fusaric acid injury. *Phytopathology*, 48: 670-686.
- GOULD, C. J., 1949: Influence of climate on incidence of *Fusarium* rot and dry rot in gladiolus corms. *Phytopathology*, 39 (1): 8 (Abstract).
- GROUET, D., 1957: Recherches sur les fusarioses. III. Mise au point du traitement a l'eau chaude de la fusariose du glaïeul. *Ann. Epiphyties*, 18 (3): 285-304.
- HALEVY, A. H., SHILO, R. and SIMCHON, S., 1970: Effect of 2-chloroetane phosphonic acid (Ethrel) on health, dormancy and flower and corm yield of gladioli. *J. Hort. Sci.*, 45: 427-434.
- HENIS, Y. and ZILBERSTEIN, Y., 1973: Detection of latent *Fusarium* in gladiolus corms. *J. Hort. Sci.*, 48: 189-194.
- HERNÁNDEZ, J., MORALES, A. y GALLO, L., 1984: Fusariosis latente y patogenicidad de cepas en gladiolos de importación. Comunicación presentada al III Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología. Resúmenes: 52.
- JENKINS, J. M., 1967: Breaking dormancy and controlling corm-borne diseases in a gladiolus breeding program. *North Am. Gladiolus Council Bull.*, 91: 52-56.
- JONES, R. K. and JENKINS, Jr. J. M., 1975: Evaluation of resistance in *Gladiolus* sp. to *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*. *Phytopathology*, 65: 481-484.
- KOMADA, H., 1975: Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Rev. Plant. Protec. Res.*, 8: 114-125.
- MAGIE, R. O., 1950: Materials and methods for controlling *Fusarium* on gladioli. *Florists Rev.*, 106: 28-30.
- MAGIE, R. O., 1971: Carbon dioxide treatment of gladiolus corms reveals latent *Fusarium* infections. *Plant Dis. Repr.*, 55 (4): 340-341.
- MASSEY, L. M., 1922: *Fusarium* rot of gladiolus. *Phytopathology*, 12 (1): 53 (Abstract).
- MASSEY, L. M., 1926: *Fusarium* rot of gladiolus corms. *Phytopathology*, 16 (8): 509-523.
- 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, R., 1948: Diseases of gladiolus. *Mich. Agr. Exp. Sta. Spec. Bull.*, 350.
- PALMER, J. G. and PRYOR, R. L., 1958: Evaluation of 160 varieties of gladiolus for resistance to *Fusarium* yellows. *Plant Dis. Repr.*, 42: 1405-1407.
- PAPAVIZAS, G. C., 1967: Evaluation of various media and antimicrobial agents for isolation of *Fusarium* from soil. *Phytopathology*, 57: 848-852.
- ROISTACHER, C. N., 1951: Hot-water treatment of gladiolus corms. *Phytopathology*, 41: 943 (Abstract).
- ROISTACHER, C. N., BAKER, K. F. and BALD, J. G., 1957: Hot-water treatment of gladiolus corms for the eradication of *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*. *Hilgardia*, 26 (17): 659-684.
- SIMCHON, S., SILBERSTEIN, Y., HALEVY, A. H. and HENIS, Y., 1972: The mode of action of ethephon in increasing health of gladiolus corms. *J. Hort. Sci.*, 47: 369-374.
- TRAMIER, R., 1965: Méthode de sélection sanitaire du glaïeul à partir de cultures «in vitro». *C. R. Acad. Agric. Fr.*, 51: 918-922.
- WILFRET, G. J. and WOLTZ, S. S., 1973: Susceptibility of corms of gladiolus cultivars to *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* at different temperatures. *Flo. Sta. Hort. Soc.*, 376-378.
- WOLTZ, S. S., 1974: Gladiolus *Fusarium* disease: assay of soilborne inoculum potential and cultivar susceptibility. *Plant Dis. Repr.*, 58: 184-187.
- WOLTZ, S. S., MAGIE, R. O., SWITKIN, C., NELSON, P. E. and TOUSSOUN, T. A., 1978: Gladiolus disease response to prestorage corm inoculation with *Fusarium* species. *Plant Dis. Repr.*, 62: 134-137.
- WOOD, R. K. S., 1967: *Physiological Plant Pathology*. Blackwell Scientific Publications. Oxford and Edinburgh. (570 pags.).
- YABUTA, T., KAMBE, K. and HAYASHI, T., 1934: Biochemistry of the bakanaefungus. I. Fusarinic acid, a new product of the bakanaefungus. *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, 10: 1059-1068.