

La Serie Universitaria de la Fundación Juan March presenta resúmenes, realizados por el propio autor, de algunos estudios e investigaciones llevados a cabo por los becarios de la Fundación y aprobados por los Asesores Secretarios de los distintos Departamentos.

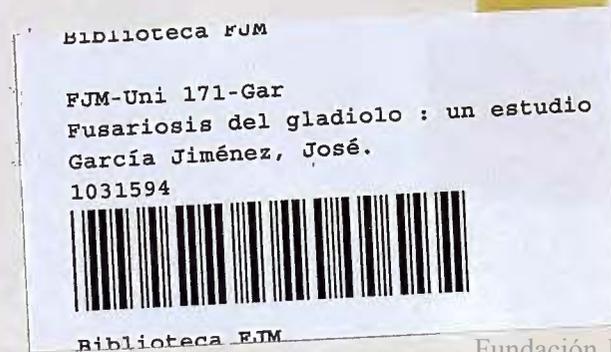
El texto íntegro de las Memorias correspondientes se encuentra en la Biblioteca de la Fundación (Castelló, 77. Madrid-6).

La lista completa de los trabajos aprobados se presenta, en forma de fichas, en los Cuadernos Bibliográficos que publica la Fundación Juan March.

Los trabajos publicados en Serie Universitaria abarcan las siguientes especialidades:
Arquitectura y Urbanismo; Artes Plásticas;
Biología; Ciencias Agrarias; Ciencias Sociales;
Comunicación Social; Derecho; Economía; Filosofía;
Física; Geología; Historia; Ingeniería;
Literatura y Filología; Matemáticas; Medicina,
Farmacia y Veterinaria; Música; Química; Teología.
A ellas corresponden los colores de la cubierta.

Edición no venal de 300 ejemplares que se reparte gratuitamente a investigadores, Bibliotecas y Centros especializados de toda España.

Fundación Juan March



Fundación Juan March (Madrid)

SERIE UNIVERSITARIA



Fundación Juan March

José García Jiménez

Fusariosis del gladiolo:
un estudio preliminar.

171 Fusariosis del gladiolo: un estudio preliminar/José García Jiménez.

FJM
Uni-
171
Gar
171

Fundación Juan March
Serie Universitaria



171

José García Jiménez

**Fusariosis del gladiolo
un estudio preliminar .**



Fundación Juan March
Castelló, 77. Teléf. 225 44 55
Madrid - 6

*Este trabajo fue realizado con una Beca de la
Convocatoria de España, 1979, individual.*

Departamento de BIOLOGIA.

*Centro de trabajo: Departamento de Patología Vegetal de la Escuela Técnica
Superior de Ingenieros Agrónomos. Valencia.*

Los textos publicados en esta Serie Universitaria son elaborados por
los propios autores e impresos por reproducción fotostática.

Depósito Legal.: M-926-1982

I.S.B.N.: 84-7075-226-x X

Impresión: Gráficas Ibérica. Tarragona, 34. Madrid-7

Deseo expresar mi 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.

A la FUNDACION JUAN MARCH, que ha financiado en buena parte el desarrollo de este trabajo por medio de una Beca.

A D. AGUSTIN ALFARO GARCIA, Catedrático de Patología Vegetal de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de Valencia por la dirección del trabajo y ayuda en la redacción de este informe y a los restantes compañeros de dicha cátedra por la ayuda prestada en algunos apartados del trabajo.

Al SERVICIO DE DEFENSA CONTRA PLAGAS E INSPECCION FITOPATOLOGICA del Ministerio de Agricultura y Pesca, por su colaboración, financiación y ayuda y en especial a D. RAFAEL MILAN DIEZ, Jefe del Servicio de Inspección Fitopatológica que apuntó el interés del presente trabajo y contribuyó a su primer planteamiento y a los Sres. D. AMADEO DALMAU TARAZONA, D. JOSE ANTONIO DEL CANIZO PERATE, D. ANTONIO OLIVA ESPAÑOL, D. JOSE MARIA VIVES DE QUADRAS y D. JOSE MARIA COLL COMIN por la ayuda prestada tanto en los estudios agronómicos como en el suministro de bulbos y material enfermo.

Asimismo a ICONA y en especial a D. RAFAEL CAL CASALS por su amabilidad facilitando las parcelas donde se llevan a cabo las experiencias de campo.

I N D I C E

	<u>Página</u>
1. INTRODUCCION: IMPORTANCIA DEL CULTIVO DEL GLADIOLO EN ESPAÑA Y OBJETIVOS DEL TRABAJO	5
2. FUSARIOSIS DEL GLADIOLO	8
2.1. Ciclo de cultivo del gladiolo	8
2.2. Sintomatología	8
2.2.1. Síntomas sobre bulbo	9
2.2.2. Síntomas en follaje	10
2.3. Identidad del agente patógeno	10
3. ESTUDIO PATOLOGICO DE LOS BULBOS	12
3.1. Análisis patológico de las importaciones de bulbos de gladiolo	12
3.2. Problemas patológicos presentados en explotaciones españolas	26
4. PATOGENICIDAD DE LOS AISLAMIENTOS	27
4.1. Introducción	27
4.2. Material y métodos	28
4.3. Resultados	29
5. DETECCION DE F. OXYSPORUM LATENTE EN BULBOS DE GLADIOLO	41
5.1. Estimulación de la manifestación de la enfermedad	41
5.2. Detección de F. oxysporum F. sp. gladioli latente mediante técnicas microbiológicas.	41
6. PRODUCCION DE BULBOS INFECTADOS ARTIFICIALMENTE	46
7. TERMOTERAPIA DE BULBOS	48
8. RESUMEN	51
BIBLIOGRAFIA CITADA	52

INTRODUCCION: IMPORTANCIA DEL CULTIVO DEL GLADIOLO EN ESPAÑA Y OBJETIVOS

DEL TRABAJO

El cultivo de plantas bulbosas de flor ha tenido en los últimos años un considerable incremento en todo el mundo en base a la utilización de un material de siembra seleccionado cuya producción está altamente especializada y tecnificada. Los bulbos utilizados suelen pertenecer a variedades seleccionadas que, con frecuencia, incluyen numerosas novedades, gozan de un elevado grado de homogeneidad varietal 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 construir 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 reciente entrada 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 volumen de importaciones, lo que puede apreciarse en el cuadro siguiente:

Cuadro 1: Nº DE BULBOS DE DIVERSAS ESPECIES IMPORTADOS POR NUESTRO PAIS
(1977)

<u>Nombre botánico</u>	<u>Nombre común</u>	<u>Nº de unidades</u>
<u>Crocus</u> sp.	Azafrán ornamental	177.980
<u>Freesia</u> sp.	Fresia	199.575
<u>Gladiolus</u> sp.	Gladiolo	26.075.701
<u>Hyacinthus</u> sp.	Jacinto	433.420
<u>Iris germánica</u>	Iris ó lirio	1.236.173

Nombre botánico	Nombre común	Nº de unidades
<u>Lillium</u> sp.	Azucena	64.903
<u>Narcissus</u> sp.	Narciso	432.500
<u>Tulipa gesneriana</u>	Tulipán	3.025.000

Fuente: Servicio de defensa contra plagas e inspección fitopatológica.
D.G.P.A. Ministerio de Agricultura.

En los años posteriores a 1977 estas cifras han crecido, pero observando siempre una tendencia similar manteniendo el gladiolo una primacía destacada.

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, y de manera inmediata son quizás las dificultades patológicas los factores previos a resolver cara a una futura expansión de este cultivo en nuestro país. De una parte tenemos los problemas virológicos tan típicos de todo material vegetal de reproducción vegetativa (problema de importancia para la producción de material de siembra, pero que no suele plantear problemas agudos en campo) y, por otra parte, en el complejo de enfermedad que provoca la podredumbre seca de los bulbos 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.

Cualquier expansión de este cultivo en nuestro país requerirá un conocimiento lo más profundo posible de esta enfermedad, típica de climas cálidos: sintomatología, epidemiología, terapéutica, etc. Sería absurdo pretender que todos estos apartados se estudiaran en profundidad en nuestras condiciones españolas en un solo año, límite marcado por la duración de esta beca, por lo que en un principio nos planteamos cuáles deberían ser nuestros objetivos prioritarios en el trabajo, optando por abordar el problema desde un punto de vista cronológico, comenzando el aislamiento y determinación

de los hongos implicados en este problema en España, sintomatología de su ataque, etc. sin dejar de estudiar por ello otros campos que, como el de la terapéutica (tratamiento de bulbillos con agua caliente para la erradica - ción del patógeno), a primera vista parecerían ser posteriores.

2: FUSARIOSIS DEL GLADIOLO

2.1: CICLO DE CULTIVO DEL GLADIOLO

Para una comprensión óptima de la etiología de la enfermedad y la sintomatología que desarrolla en las plantas afectadas es fundamental tener una noción somera del crecimiento de la planta y, sobre todo, de la formación del nuevo bulbo a partir del bulbo madre.

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 una corona de raíces que son las encargadas de la nutrición de la planta cuando las reservas del bulbo se van agotando. 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) y que tras un año o dos de cultivo puede dar lugar a un nuevo bulbo, apto para la producción de 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 un periodo de secado, tras el cual se puede separar fácilmente el bulbo nuevo del viejo.

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 exista incluso una especialización neta. 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.

De acuerdo con nuestras observaciones y las descripciones de la literatura 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 pequeñas manchas de color marrón, bien delimitadas.

En nuestras observaciones en campo y en bulbos procedentes del extranjero raramente hemos observado este tipo de síntomas. Si 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: Se da sólo en la base del bulbo alrededor de la zona de las raíces; el tejido afectado es muy delgado, casi nunca penetra más de 2-4 mm., toma una coloración marrón claro, poco visible al principio, que después evoluciona a 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 y cesa la emisión de ellas.

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

Es también bastante común el 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 completamente 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 raquíptico; 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 Schlecht. emend. Wr. var. gladioli n. var.

Mc CULLOCH (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, pigmento y tamaño de microconidias).

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

Fue FORSBERG (1955) quien dió 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, medida 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, cuanto más que los test de patogenicidad demostraban que los aislamientos monospóricos eran capaces de producir más de una forma de enfermedad. Por todo ello propuso que todas las formas de Fusarium que causan afección a gladiolo debían ser incluidas sin matización bajo el nombre de Fusarium oxysporum f. gladioli (Mas.) Sny. et Hn., 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.

: ESTUDIO PATOLOGICO DE LOS BULBOS

Al plantearnos los trabajos a realizar nos fijamos dos objetivos primarios:

- a) Análisis patológico de las importaciones de bulbo de gladiolo que se llevan a cabo en nuestro país.
- b) Seguimiento del cultivo y problemas patológicos presentados en diversas explotaciones españolas, principalmente de las zonas de del Maresma (Barcelona) y provincia de Valencia.

3.1: ANALISIS PATOLOGICO DE LAS IMPORTACIONES DE BULBOS DE GLADIOLO

La casi totalidad del material de propagación de gladiolo, bulbos y bulbillos, procede del extranjero principalmente de Holanda, aunque ultimamente las importaciones de Israel van adquiriendo cada vez mayor importancia.

Para el análisis y estudio de este material de importación hemos contado con la colaboración del Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fito patológica del Ministerio de Agricultura que nos ha remitido una muestra de todas las partidas de cierto volumen entradas en nuestro país por los puertos de Barcelona y Valencia, que constituyen un porcentaje muy elevado del total de las importaciones.

Las condiciones de muestreo y estudio eran las siguientes:

Por los servicios de inspección se tomaban 125 bulbos al azar de las partidas de cierto tamaño y, tras su recepción en el laboratorio, se quitaban las escamas externas y se estudiaban los bulbos con apariencia externa sana y sospechosa, repartiendo éstos en diversos grupos atendiendo a su sintomatología externa (con zonas necrosadas, excoriaciones, etc.); 25 de estos bulbos se procesan en laboratorio mediante incubación (cámara húmeda 6-8 días), cultivo e identificación de los posibles patógenos, mientras que los 100 restantes se plantan en campo para prospeccionar 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 el total de los nuevos bulbos obtenidos.

Siguiendo este proceso se han estudiado un total de 43 partidas; cada una de ellas se designa con la inicial del nombre de la provincia española

de entrada (B: Barcelona; V: Valencia), seguido del número de orden dentro del año (1, 2, etc.), el año en el que se realizó la importación (79-80) y la inicial del país exportador; H : Holanda ó I : Israel.

Los resultados del procesado de bulbos aparecen en el cuadro 2 para el estudio a la recepción de la muestra y en el cuadro 3 tras la cosecha en campo. En ambos cuadros, 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 han pasado a cultivo puro con su número de orden de 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 de comportamiento en campo, hay otras, sobre todo en las importaciones que se llevan a cabo en los meses posteriores a abril-mayo, cuya condición sanitaria es bastante deficiente. Como se desprende del cuadro 2, en la mayor parte de las partidas (72.1%), a su recepción en laboratorio se ha detectado Penicillium sp. en el interior del bulbo generalmente asociado a zonas necrosadas de color blanco en que la pulpa toma una textura esponjosa. Así mismo se ha aislado F. oxysporum en el 39.5% de las partidas. El resto de los hongos aislados tiene menor importancia: F. roseum (4.7% de las partidas). F. solani (7.0%) y Botrytis sp. (34.9%) aunque este último hongo en la mayor parte de los casos, el aislamiento se realizó del exterior.

En lo que respecta al estudio de las partidas tras la cosecha de bulbos (cuadro 3), la mayor parte de las partidas presentan bulbos semimomificados (smf) y momificados (mf) de los que en la mayor parte de los casos se ha aislado F. oxysporum.

La momificación comienza con un pardeamiento de la pulpa (podredumbre marrón del apartado 2.2.1) acompañada de una textura gomosa, correosa de la zona afectada que suele evolucionar hasta adquirir una consistencia pétreo y de color oscuro.

Con menor frecuencia aparecen bulbos con el aspecto típico de podredumbre basal seca que al evolucionar, en nuestras condiciones de conservación, a la temperatura ambiente, quedan invadidas por ácaros que acaban por destruir toda la zona afectada.

CUADRO 2: PARTIDAS DE IMPORTACION ESTUDIADAS Y ORGANISMO DETECTADOS A LA RECEPCION DE LA MUESTRA (explicación en el texto).

Variedad	Partida	Organismos detectados	Observaciones
FRIENDSHIP	B-6/79-H	<u>P</u> : 4.76 %	Un bulbo (0.95%) momificado.
	B-3/80-H		Bulbos con muy buen aspecto.
	B-11/80-H	<u>F.O</u> : 2.38 % <u>B</u> : 3.17 %	<u>F. oxysporum</u> nº 93
	B-13/80-H	<u>P</u> : 4.00%	
	B-16/80-H	<u>P</u> : 2.33 % <u>F.O</u> : 0.78 % <u>F.R</u> : 0.78 %	<u>Penicillium</u> sp. nº 95 <u>F. oxysporum</u> nº 96
	B-27/80-H	<u>P</u> : 4.69 % <u>B</u> : 1.56 %	
WHITE FRIENDSHIP	B-5/79-H	<u>P</u> : 5.77 % <u>B</u> : 5.77 %	<u>Botrytis</u> sp. nº 71 y 72
	B-5/80-H	<u>F.O</u> : 0.8 %	
	B-6/80-H	<u>P</u> : 6.40 % <u>B</u> : 2.40 %	
	B-10/80-H	<u>P</u> : 3.10 % <u>F.O</u> : 0.78 % <u>B</u> : 0.78 %	<u>F. oxysporum</u> nº 92
	B-12/80-H	<u>P</u> : 2.88 %	Por el aspecto de los bulbos parecían atacados por <u>Botrytis</u> pero no se pudo aislar este hongo.

P: Penicillium sp.(de interior de bulbos) F.R:F. roseum

B: Botrytis sp.

F.S:F. solani

F.O: Fusarium oxysporum

Variedad	Partida	Organismos detectados	Observaciones
WHITE FRIENDSHIP	B-21/80-H	<u>P</u> : 1.53%	Bulbos con muy buen aspecto
	B-22/80-H	<u>P</u> : 1.70% <u>F.O</u> : 0.57%	<u>F. oxysporum</u> nº 103
	V-6/80-I	<u>P</u> : 1.72%	
PETER PEARS	V-2/79-I	<u>B</u> : 4.00% <u>F.R</u> : 0.80% <u>F.O</u> : 4.00% <u>F.S</u> : 0.80%	<u>F. roserum</u> nº 66 <u>F. oxysporum</u> : de exterior: nº 63-69 de interior: nº 60-61-62-64-65 <u>F. solani</u> : nº 67
	V-2/80-I	<u>B</u> : 2.56% <u>P</u> : 1.71% <u>F.O</u> : 0.85%	
	B-1/80-H	<u>P</u> : 0.77%	<u>Penicillium</u> sp. nº 80 La partida tenía un bulbo con el síntoma de ataque de <u>Curvularia trifolii</u> pero no se consiguió detectar este hongo.
	B-8/80-H	<u>F.O</u> : 0.79% <u>P</u> : 6.35% <u>B</u> : 0.79%	<u>F. oxysporum</u> nº 89

P: Penicillium sp. (de interior de bulbo) F.R: F. roseum
B: Botrytis sp F.S: F. solani
F.O: F. oxysporum

Variedad	Partida	Organismos detectados	Observaciones
PETER PEARS	B-19/80-H	<u>F.O</u> : 5.04% <u>P</u> : 1.68% <u>B</u> : 0.84%	<u>F. oxysporum</u> nº 98
	B-26/80-H	<u>F.S</u> : 0.76% <u>P</u> : 2.27%	
VICTOR BORGE	B-9/80-H	<u>P</u> : 3.15%	
	B-14/80-H	<u>F.O</u> : 0.81%	<u>F. oxysporum</u> : nº 94 (de exterior de bulbo momificado).
	B-17/80-H	<u>F.O</u> : 0.63% <u>B</u> : 0.63% <u>P</u> : 0.63% <u>Phoma</u> sp 0.63%	<u>F. oxysporum</u> nº 97 <u>Phoma</u> sp. nº 106
	B-23/80-H		Bulbos con muy buen aspecto.
	B-24/80-H	<u>F.O</u> : 0.39% <u>P</u> : 0.39%	
	B-25/80-H	<u>B</u> : 0.52%	
EUROVISION	V-1/79-I	<u>F.O</u> : 3.23% <u>P</u> : 3.23%	<u>F. oxysporum</u> : de exterior de bulbos: nº 40-41-43-44. de interior: nº 38-39-42-68-73 <u>Penicillium</u> sp. nº 37

P: Penicillium sp. (de interior de bulbo)

B: Botrytis sp

F.O: F. oxysporum

F.R: F. roseum

F.S: F. solani

Variedad	Partida	Organismos detectados	Observaciones
EUROVISION	B-4/79-H	<u>F.S:</u> 2.85% <u>P:</u> 0.95% <u>B:</u> 0.95%	<u>F. solani</u> nº 83 <u>Botrytis</u> sp nº 46
	V-1/80-I	<u>F.O:</u> 5.04%	<u>F. oxysporum</u> nº 81-82-86-87-88
	B-18/80-H	<u>B:</u> 3.39% <u>P:</u> 3.39%	
TRADERHORN	V-3/79-I	<u>F.O:</u> 8.00% <u>P:</u> 1.60%	<u>F. oxysporum</u> : de exterior de bulbos: nº 48-52-54-55-57 de interior: nº 49-50-51-53-56-70
	V-3/80-I	<u>F.O:</u> 2.55% <u>B:</u> 0.85%	<u>F. oxysporum</u> nº 85
	V-7/80-I	<u>P:</u> 4.35%	
SANS	B-3/79-H		Bulbos con muy buen aspecto.
SOUICI	B-20/80-H	<u>P:</u> 3.97%	
MEMORIAL DAY	B-7/79-H	<u>F.O:</u> 0.96% <u>B:</u> 0.96% <u>P:</u> 2.88%	<u>F. oxysporum</u> nº 76(interior de bulbo) nº 77(exterior de bulbo) <u>Penicillium</u> sp. nº 74
PR. DE GAULLE	B-2/80-H	<u>P:</u> 1.61%	Bulbos con muy buen aspecto.

P: Penicillium sp.

B: Botrytis sp.

F.O: F. oxysporum.

F.R: F. roseum.

F.S: F. solani.

Variedad	Partida	Organismos detectados	Observaciones
OSCAR	B-4/80-H	<u>P</u> : 0.81%	
CORDULA	B-7/80-H	<u>P</u> : 4.72%	
WHITE GODDESS	V-5/80-H		Dificultades en el procesado por ser bulbillos muy pequeños
BEVERLY ANN	B-15/80-H	<u>P</u> : 3.05%	
ROSE SUPREME	V-8/80-I		
PRAHA	B-8/79-H	<u>P</u> : 3.85%	

P: Penicillium sp.

F.R: F. roseum.

B: Botrytis sp.

F.S: F. solani.

F.O: F. oxysporum.

CUADRO 3: ESTUDIO DE LAS PARTIDAS IMPORTADAS TRAS LA COSECHA DE BULBOS.

Variedad	Partida	Aspecto de los bulbos cosechados	Observaciones
FRIENDSHIP	B-6/79-H	Todos sanos	
	B-3/80-H	Todos sanos	
	B-11/80-H	95.4% sanos 3.1% s 1.5% i	<u>Penicillium</u> sp. nº 143 <u>Penicillium</u> sp. y <u>F.solani</u> nº 166
	B-13/80-H	75.5% sanos 9.4% s 11.3% m 3.8% b	<u>F. oxysporum</u>
	B-16/80-H	85.7% sanos 12.4% s 1.9% m	
	B-27/80-H	87.8% sanos 10.2% b 2.0% m	

b: Podredumbre basal seca.

c: Podredumbre seca en zona central del bulbo.

i: Zonas internas con necrosis blancas.

m: Momificados.

n: Zona necrosada superficial que penetra profundamente.

s: Semimomificados, con pulpa dura o correosa.

u: Zona de unión de escamas al bulbo, necrosada.

z: Zona central con pequeñas necrosis

Variedad	Partida	Aspecto de los bulbos cosechados	Observaciones
WHITE FRIENDSHIP	B-5/79-H	98.6% sanos 1.4% m	
	B-5/80-H	82.0% sanos 2.2% s 3.4% m 12.4% b	<u>F. oxysporum</u> nº 135.
	B-6/80-H	88.6% sanos 3.8% b 3.8% s 3.8% m	<u>Macrophomina phaseolina</u> nº139 <u>F. oxysporum</u>
	B-10/80-H	96.8% sanos 1.6% m 1.6% b	
	B-12/80-H	89.0% sanos 8.2% s 2.8% m	<u>F. roseum</u> var. <u>gibbosum</u> nº169
	B-21/80-H	38.9% sanos 48.1% s 13.0% m	<u>Penicillium</u> sp.
	B-22/80-H	60.8% sanos 32.9% s 6.3% m	<u>Penicillium</u> sp.
	V-6/80-I	96.8% sanos 1.6% s 1.6% m	<u>F. oxysporum</u> nº 127

b: Podredumbre basal seca.

m: Momificados.

s: Semimomificados, con pulpa dura o correosa.

Variedad	Partida	Aspecto de los bulbos cosechados	Observaciones
PETERS PEARS	V-2/79-I	66.7% sanos 20.8% m 12.5% c	<u>F. oxysporum</u> nº 124
	V-2/80-I	95.6% sanos 1.1% c 1.1% b 1.1% n 1.1% m	<u>F. oxysporum</u> <u>F. oxysporum</u> nº 123
	B-1/80-H	Todos sanos	
	B-8/80-H	96.0% sanos 2.0% s 2.0% c	<u>Penicillium</u> sp y <u>Aspergillus</u> sp
	B-19/80-H	67.1% sanos 2.9% b 17.1% s 10.0% m 2.9% i	<u>Penicillium</u> sp.
	B-26/80-H	86.7% sanos 11.8% s 1.5% z	<u>Penicillium</u> sp. <u>Penicillium</u> sp.

b: Podredumbre basal seca.

c: Podredumbre seca en zona central del bulbo.

i: Zonas internas con necrosis blancas.

m: Momificados.

n: Zona necrosada superficial que penetra profundamente.

s: Semimomificados, con pulpa dura o correosa.

Variedad	Partida	Aspecto de los bulbos cosechados	Observaciones
VICTOR BORGE	B-9/80-H	75.0% sanos 21.9% i 3.1% s	<u>Penicillium</u> sp y <u>F. oxysporum</u> nº14 <u>Penicillium</u> sp y <u>F. oxysporum</u>
	B-14/80-H	98.9% sanos 1.1% con podredum bre seca en la zona en que ha sufrido un corte.	<u>F. oxysporum</u>
	B-17/80-H	32.4% sanos 31.0% s 28.2% m 8.4% b	<u>F. oxysporum</u>
	B-23/80-H	87.0% sanos 6.5% s 6.5% m	
	B-24/80-H	66.0% sanos 8.0% s 26.0% m	
	B-25/80-H	44.4% sanos 48.6% s 5.6% m 1.4% b	<u>F. oxysporum</u> <u>Penicillium</u> sp.

b: Podredumbre basal seca.

i: Zonas internas con necrosis blancas.

m: Momificados.

s: Semimomificados, con pulpa dura o correosa.

Variedad	Partida	Aspecto de los bulbos cosechados	Observaciones
EUROVISION	V-1/79-I	32.1% sanos 6.0% s 61.9% m	<u>F. oxysporum</u> nº 125
	B-4/79-H	90.1% sanos 9.9% c	<u>F. oxysporum</u> nº 110-111
	V-1/80-I	37.5% sanos 60.7% m 1.8% s	<u>F. oxysporum</u> nº 129
	B-18/80-H	75.3% sanos 7.4% b 6.2% s 11.1% m	<u>F. oxysporum</u>
TRADER HORN	V-3/79-I	23.3% sanos 1.4% s 75.3% m	<u>Penicillium</u> sp y <u>Aspergillus</u> sp
	V-3/80-I	89.4% sanos 1.2% s 9.4% m	<u>F. oxysporum</u> nº 122
	V-7/80-I	87.2% sanos 7.1% s 5.7% m	<u>F. oxysporum</u> nº 128

b: Podredumbre basal seca.

c: Podredumbre seca en zona central del bulbo.

m: Momificados.

s: Semimomificados, con pulpa dura o correosa.

Variedad	Partida	Aspecto de los bulbos cosechados	Observaciones
SANS SOUCI	B-3/79-H	99.0% sanos 1.0% c	<u>F. oxysporum</u> nº 104 El terreno en que se plantó esta parcela se encharcó con frecuencia. Al cosechar, algunos de los bulbos aparentemente sanos mostraban necrosis de raíces de las que se aisló <u>F.oxysporum</u> nº 99 y 100.
	B-20/80-H	88.5% sanos 6.5% i 2.5% s 2.5% n	<u>Penicillium</u> sp. <u>F. oxysporum</u> .
MEMORIAL DAY	B-7/79-H	94.9% sanos 0.9% s 4.2% u	<u>F. oxysporum</u> nº 130 <u>F. oxysporum</u> nº 126
PR. DE GAULLE	B-2/80-H	97.0% sanos 3.0% s	
OSCAR	B-4/80-H	98.7% sanos 1.3% m	
CORDULA	B-7/80-H	99.2% sanos 0.8% m	

b: Podredumbre basal seca.

c: Podredumbre seca en zona central del bulbo.

i: Zonas internas con necrosis blancas.

m: Momificados.

n: Zona necrosada superficial que penetra profundamente.

s: Semimomificados, con pulpa dura o correosa.

u: Zona de unión de escamas al bulbo, necrosada.

Variedad	Partida	Aspecto de los bulbos cosechados	Observaciones
WHITE GODDESS	V-5/80-H	Todos sanos	
BEVERLY ANN	B-15/80-H	91.0% sanos 8.3% m 0.7% b	
ROSE SUPREME	V-8/80-I	95.9% sanos 2.7% c 1.4% s	<u>F. oxysporum</u> nº 136
PRAHA	B-8/79-H	89.3% sanos 4.7% m 6.0% c	<u>F. oxysporum</u> nº 121

b: Podredumbre basal seca.

c: Podredumbre seca en zona central del bulbo.

i: Zonas internas con necrosis blancas.

m: Momificados.

n: Zona necrosada superficial que penetra profundamente.

s: Semimomificados, con pulpa dura o correosa.

u: Zona de unión de escamas al bulbo, necrosada.

z: Zona central con pequeñas necrosis.

De la comparación de los cuadros 2 y 3 se aprecia que no existe una correlación clara entre los resultados obtenidos antes de la siembra y después de la cosecha. Ello puede deberse a que a la recepción de la muestra, debido a que el estudio de los hongos del interior de los bulbos lleva consigo la destrucción de éstos, hace que en esta fase de estudio se procesen sobre todo los de peor aspecto, sembrando directamente los de mejor apariencia pero que podrían estar afectados de F. oxysporum latente que provocaría daños en ellos durante el cultivo.

3.2: PROBLEMAS PATOLOGICOS PRESENTADOS EN EXPLOTACIONES ESPAÑOLAS

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 de Maresme (Barcelona) y provincia de Valencia con las que se ha procedido de una manera análoga a la señalada más arriba habiéndose detectado simultaneamente 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.

Todos estos trabajos han permitido realizar una colección de hongos asociados a bulbos de gladiolo que actualmente se están comercializando en España. Estos aislamientos aparecen en el cuadro 4.

Cuadro 4: HONGOS AISLADOS DE BULBOS DE GLADIOLO (AÑOS 1979 - 1980)

<u>F. oxysporum</u> Schlecht. ex Fries. emend. Sny. et Hn	91
<u>F. roseum</u> (Link) Sny et Hn.	9
<u>F. solani</u> (Mart.) Sacc. emend. Sny. et Hn	10
<u>Penicillium</u> sp.	17
<u>Botrytis</u> sp.	4
Otros hongos	8

4: PATOGENICIDAD DE LOS AISLAMIENTOS

4.1: INTRODUCCION

El cuadro 4 sugiere de inmediato que nos hallamos frente a hongos de una gran capacidad saprofitica 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 periodos 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 amarilleos como agente causal (Mc CULLOCH, 1944; FORSBERG, 1955); sin embargo WOLTZ et al. (1978) demostraron que bulbos inoculados con F. moniliforme Sheld var. subglutinans Wr. et Reink. 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. sambucinum (Freckel) Sn. et Hn. y F. solani (Mart.) (Appel et Wr.) Sn. et Hn. Asimismo, BARROWS-BROADDUS 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.

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, etc) que podrían estar implicadas en el problema.

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 debe ser

uno de los objetivos de este trabajo y también de interés para el propio cultivador.

En otro orden de cosas, una revisión de la literatura acerca de los métodos empleados para las pruebas de patogenicidad muestra que la mayor parte de los procedimientos son muy largos y que no hay un predominio claro de alguno de ellos; este simple hecho indica que a ninguno de ellos se le ha encontrado una ventaja neta sobre los demás.

Las técnicas utilizadas más frecuentemente 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 posterior siembra de los mismos; inmersión de los bulbos intactos en una suspensión de las mismas características y siembra inmediata de los mismos (Mc CLELLAN 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, 1974; JONES y JENKINS, 1975; BARROWS-BROADDUS 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 (Mc CULLOCH, 1943; ASHOUR y GAMAL-EL-DIN, 1964; JONES y JENKINS 1975), etc.

4.2: MATERIAL Y METODOS

Se han experimentado varias de estas técnicas; no dió 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 aparecería necrosada uniformemente, con un grosor de menos de 1 mm. , no penetrando en ningún caso más hacia el interior, por lo que no se podía establecer diferencias entre aislamientos patógenos y no patógenos. En este resultado, y a despecho de la literatura citada, coincidimos con la opinión del Dr. BERGMAN, del Laboratorium Voor Bloembollenonder-

zoek 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:

100 bulbillos de tamaño 4/6 de la variedad Friendship, muy susceptible a la podredumbre causada por F. oxysporum f. sp. gladioli (Mc CLELLAN 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. En la actualidad estamos comparando la patogenicidad de dichos aislamientos con cultivos monospóricos procedentes de aquellos.

4.3: RESULTADOS

Los resultados de los test de patogenicidad aparecen expresados en la tabla 5 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 característico 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 mas o menos desarrolladas que se marchitan; ambas situaciones no son obviamente equivalentes a las arriba citadas pues en la mayor parte de los test 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 de su eficiencia en ambos aspectos, estandarizada en 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:

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

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 Fusarium spp. que viene expresada en la tabla 5. Excepto los aislamientos de F. oxysporum nº 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 Fusarium spp. testados y que han resultado no patógenos, sólo dos de ellos, F. oxysporum nº 21 y F. roseum nº 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 saprofitos 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 de la tabla 5 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 $C_p = 100$ (nº 16,29,53, 70, 73, 76, 78, etc.) hay otros de C_p menor: nº 25 ($C_p = 75.0$), 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 o tros hongos distintos de F. oxysporum como puede apreciarse en la tabla 3: Los aislamientos nº 24, 27, 34 y 83 de F. roseum son claramente patógenos frente a los 66 y 84, de C_p negativa. Los resultados obtenidos con los 4 aislamientos testados de F. solani muestran claramente su no patogenicidad.

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

$$V_m = \frac{(\text{plantas marchitas de } 0-7\text{cm.}) \times 4 + (\text{idem } 7-15) \times 3 + (\text{idem } 15-25) \times 2 + (\text{idem } >25) \times 1}{\text{total de plantas marchitas}}$$

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

La tabla 5 muestra la correlación existente entre la capacidad patógena del hongo y la velocidad para producir marchitez de plantas: así, todos los aislamientos patógenos (C_p mayor de 50) tienen una V_m elevada, comprendida entre 3 y 4 que pone de manifiesto que la marchitez ha tenido lugar poco después de la emergencia mientras que los no patógenos (C_p menor de 5) tienen una V_m pequeña casi siempre inferior a 3 que hace pensar que la marchitez de las plantas inoculadas con estos aislamientos pueda ser debida a podredumbres secundarias, quizás debidas a saprofitos, de efectos menos drásticos que los Fusarium spp. patógenos.

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 aquellos mostrando la mayor parte de los aislamientos (37, 74, 108, 109, 105) una C_p intermedia que hace pensar en estos organismos como patógenos de debilidad. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por ASHOUR y GAMAL-EL-DIN (1964) que encontraron que Penicillium gladioli Mc Culloch et Thom no causaba daños serios en test de patogenicidad.

El otro objetivo que nos planteábamos en el apartado 4.1, intentar establecer una relación entre aspecto externo del bulbo o características de la zona de que se llevó a cabo el aislamiento de Fusarium sp y la patogenicidad de éste viene expresado en la tabla 6.

En dicha tabla, en el caso de F. oxysporum, se aprecia claramente la correlación existente entre la sintomatología típica de los ataques de F. oxysporum f. sp. gladioli según la bibliografía (podredumbre seca interna, comienzo de momificación del bulbo, podredumbre basal seca) y patogenicidad de los aislamientos llevados a cabo en 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; a lo largo del trabajo se ha intentado en múltiples ocasiones realizar aislamientos de estas zonas y prácticamente las únicas veces en que del aislamiento se ha obtenido F. oxysporum ha sido los 7 casos que hemos testado. 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 saprofitos de baja capacidad patogénica (Penicillium, etc.) 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 podría 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.

Ambas hipótesis serán sujeto de una posterior experimentación.

CUADRO 5: RESULTADOS DE LOS TEST DE PATOGENICIDAD.

A) Aislamientos de F. oxysporum.

Nº de colección	Capacidad patogénica (Cp)	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

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

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

Nº de colección	Capacidad patogénica (Cp)	Plantas no emergidas	Plantas emergidas marchitas	Velocidad del proceso de marchitez (Vm)
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

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

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

Nº de colección	Capacidad patogénica (Cp)	Plantas no emergidas	Plantas emergidas marchitas	Velocidad del proceso de marchitez (Vm)
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

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

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

Total de plantas marchitas

Nº de colección	Capacidad patogénica (Cp)	Plantas no emergidas	Plantas emergidas marchitas	Velocidad del proceso de marchitez (Vm)
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

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

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

B) Aislamientos de F. roseum

Nº de colección	Capacidad patogénica (Cp)	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

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

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

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

D) Aislamientos de Penicillium sp.

Nº de colección	Capacidad patogénica (Cp)	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) Aislamientos de Botrytis sp.

71	0.00	2	32	3.63
105	29.41	0	52	3.31

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

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

CUADRO 6: ORIGEN Y PATOGENICIDAD DE LOS AISLAMIENTOS DE FUSARIUM SPP.

Origen del aislamiento	Aislamientos patógenos.	Aislamientos no patógenos	Aislamientos de patogenicidad dudosa
A) <u>F. oxysporum</u>			
Micelio de exterior de bulbo	25	4-21	22
De exterior de bulbo momificado		1-2	
De interior de bulbo semimomificado, con pulpa correosa	122-128 -129	127	
De pústulas negras superficiales			28
De puntitos rojos de interior de bulbo		19	
Zona de unión de escamas al bulbo necrosada (de parte interna de estas necrosis)		126	
De grietas internas necrosadas y profundas	76	42	88
De raíces necrosadas de bulbo que durante el cultivo ha sufrido encharcamientos prolongados		99	
De interior de escoriaciones superficiales	70		
De interior de zonas necrosadas superficiales que penetran en pequeña extensión dando podredumbre marrón seca	49-53-60 65-92	98	82

Origen del aislamiento	Aislamientos patógenos.	Aislamientos no patógenos	Aislamientos de patogenicidad dudosa
De interior de zonas necrosadas superficiales que penetran dando podredumbre blanca seca	87	85	
De exterior de podredumbre basal seca		12-15	
De interior de podredumbre basal seca	16-112 113-116		
De podredumbre seca interna	29-51 56-73 101-102 121-123 125-123 130	38-39-124	
Cepas procedentes de la A.T.C.C.	78-79		

B) F. roseum

De exterior de bulbo con podredumbre	24-27-34		
De zona interna de necrosis superficial		66	
De podredumbre seca interna	83		
De raíz de <u>Salvia</u> sp.		84	

C) F. solani

De interior de bulbo		6-7-8-11	
----------------------	--	----------	--

5: DETECCION DE F. OXYSPORUM LATENTE EN BULBOS DE GLADIOLLO

La diagnosis de F. oxysporum f. sp. gladioli latente en bulbos de gladiolo es uno de los puntos de mayor interés del presente trabajo ya que dista mucho de estar técnicamente resuelto de manera satisfactoria.

Caben dos tipos de aproximaciones muy distintas al problema: provocar la aparición de la enfermedad en cualquiera de sus formas, o bien obtener, mediante técnicas microbiológicas directas o indirectas una estimación del Fusarium implantado en los tejidos del bulbo.

5.1: ESTIMULACION DE LA MANIFESTACION DE LA ENFERMEDAD

En la literatura vienen descritos varios métodos para conseguir dicha inducción: utilización de tratamientos hormonales, principalmente del ácido 2-cloroetilfosfónico (HALEVY, SHILO y SIMCHON., 1970; SIMCHON, SILBERSTEIN, HALEVY y HENIS, 1972) y de la etilen clorhidrina (JENKINS, 1967); incubación de los bulbos en una atmósfera de anhídrido carbónico (MAGIE, 1971); utilización de fungicidas débiles, etc.

A pesar de lo sugestivas que parecen estas técnicas, ninguna de ellas parece haber funcionado con verdadera eficacia salvo en manos de quien la diseñó. De hecho, en las pruebas realizadas hasta el momento con distintas variantes y combinaciones de estos procedimientos no hemos conseguido resultados concluyentes. No obstante, al no contar con un suministro adecuado de bulbos infectados de manera uniforme, las pruebas hubieron de realizarse con distintas partidas comerciales con una gran heterogeneidad. En la actualidad y tras obtener una muestra infectada como se describe en el apartado 6, se vienen realizando nuevos ensayos en esta dirección.

5.2: DETECCION DE F. OXYSPORUM F. SP. GLADIOLI LATENTE MEDIANTE TECNICAS

MICROBIOLOGICAS

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 revelaría suficientemente un caso de latencia, el problema se ha orientado previamente en otra dirección: la obtención de una técnica de aislamiento y cultivo que permita el crecimiento y la 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. 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 PAPAVIDAS (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 PAPAVIDAS modificado, el micelio de las diversas especies testadas (F. oxysporum, F. solani, Penicillium sp., Botrytis sp., etc.) aparece en las primeras fases de su desarrollo, blanco, 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 concentraciones 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 por un medio simple: 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 se -

cundarias 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-butil 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.) Wr. (GAUMANN, NAEF-ROTH and 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 es mediante quelación de metales como hierro o cobre con lo que interfiere en los procesos enzimáticos en que estos iones actúan como cofactores (GAUMANN, 1958).

En la tabla 7 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 1280 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 aislamientos 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 esta es una ventaja fundamental ya que, como ya ha quedado indicado más arriba, reduce el peligro de contaminaciones secundarias durante la técnica de aislamiento.

En dicha tabla 7 aparecen ciertas irregularidades del crecimiento de algunos hongos: así F. oxysporum 79 no crece a 640 ppm. y sí lo hace a 960 y 1280 ppm. .Ello lo atribuimos a una irregular distribución del ácido fusárico en el medio, característica ésta que, por otra parte, se observó durante la re - suspensión 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.

Tabla 7: CRECIMIENTO RADIAL DE DIVERSOS HONGOS PROCEDENTES DE AISLAMIENTO DE BULBOS DE GLADIOLO EN MEDIOS CON DISTINTAS CONCENTRACIONES DE ACIDO FUSARICO (en mm./dfa)

Aislamiento	Testigo (PDAS)	PDAS + 320 ppm. á.f	PDAS + 640 ppm. á.f	PDAS + 960 ppm. á.f	PDAS + 1280ppm.á.f
<u>F. oxysporum-16</u>	1.35	1.30	1.20	1.10	1.00
<u>F. oxysporum-29</u>	4.20	1.80	1.20	1.00	0.00
<u>F. oxysporum-79</u>	1.75	1.40	0.00	0.85	0.65
<u>F. solani-5</u>	1.75	0.35	0.75	0.15	0.00
<u>F. solani-8</u>	1.63	0.10	1.15	0.00	0.00
<u>F. roseum-27</u>	5.40	0.55	0.00	0.00	0.00
<u>F. roseum-33</u>	8.25	1.05	0.00	0.00	0.00
<u>Botrytis sp-33G</u>	4.20	2.50	0.00	0.50	1.30
<u>Botrytis sp-71</u>	1.75	0.00	0.00	0.00	0.15
<u>Penicillium sp-3</u>	1.73	1.40	1.20	0.00	0.00
<u>Penicillium sp-26</u>	1.20	0.35	0.50	0.00	0.00
<u>Penicillium sp-37</u>	1.90	1.50	1.50	0.00	0.00
<u>Aspergillus sp-58</u>	0.50	0.00	0.00	0.00	0.00
<u>A. niger-13G</u>	4.25	2.00	2.50	1.30	1.00
<u>Geotrichum sp-30</u>	3.44	0.00	0.00	0.00	0.00

: PRODUCCION DE BULBOS INFECTADOS ARTIFICIALMENTE

A lo largo del primer semestre de trabajo se hizo evidente que los estudios sobre detección de F. oxysporum latente en bulbo de gladiolo se verían muy favorecidos si se contara con un suministro adecuado de bulbos infectados de una manera uniforme. Ello nos llevó a tratar de establecer una parcela infectada homogéneamente con F. oxysporum f. sp. gladioli lo que se llevó a cabo en el término de Quart de Poblet (Valencia) gracias a la amabilidad de ICONA, que nos cedió los terrenos de dos parcelas de distinta extensión. Inoculadas respectivamente con los aislamientos de F. oxysporum nº 16, aislado de interior de bulbos con podredumbre marrón y que resultó altamente patógeno en los tests realizados y nº 79, cepa conocida que utilizamos como "standard".

La infección de las parcelas se realizó de dos maneras distintas:

- a) Se practican 4 punciones laterales en bulbos de tamaño 10/12 de la variedad Friendship y se mantiene dichos bulbos en una suspensión de esporas y micelio del hongo durante 24 horas a 25°C, al cabo de las cuales se retira la suspensión y se mantienen los bulbos durante 4 días en cámara húmeda a la misma temperatura, plantando a continuación en surcos inoculados con salvado sobre el que durante 21 días se ha hecho crecer el citado hongo.
- b) Bulbos intactos se plantan directamente en terreno infectado con salvado inoculado igual que antes.

F. oxysporum nº 16 se inoculó mediante los dos métodos mientras que para F. oxysporum nº 79 sólo se empleó el método a).

Los resultados fueron espectaculares: así, mientras que en las parcelas inoculadas sólomente con salvado infectado la emergencia fue superior al 90% y las plantas mostraban un excelente aspecto con sólo un 2-3% de plantas con síntomas de asta de toro, en las dos parcelas inoculadas respectivamente con F. oxysporum nº 16 y 79 mediante punción y salvado infectado la emergencia fue menor de un 20% y las plantas emergidas acababan marchitándose o sólo adquirirían un crecimiento raquíptico de manera que ninguna de ellas fue capaz de producir vara floral.

Esta experiencia puede servir de modelo orientativo acerca de la importancia del manejo de los bulbos tras su cosecha: la manipulación, y sobre todo, la separación del bulbo viejo no debe realizarse inmediatamente después de la

recolección sino dejando un tiempo prudencial para dejar que se forme una capa de suberización que impida la penetración del hongo por dichas zonas.

Los objetivos que nos marcamos al plantear la presente experiencia fueron múltiples: aparte de los ya descritos de obtención de partidas de bulbos infectados con F. oxysporum f. sp. gladioli y respuesta a los dos tipos de inoculación, hay otros como forma de conservación del inóculo en el suelo, características de la dispersión, tratamientos, etc. que, por ser estudios a más largo plazo no han podido ser incluidos en el presente trabajo.

: TERMOTERAPIA DE BULBOS

Razonamientos similares a los expuestos en el apartado anterior nos lle - van a afirmar la necesidad de contar con un material testigo absolutamente libre de F. oxysporum f. sp. gladioli lo que puede conseguirse de varias ma - neras: cultivos de ápices "in vitro" conservando sólo aquellos que no presen - ten crecimiento de ningún tipo de micelio (TRAMIER, 1965); selección masal mediante eliminación muy severa de bulbos enfermos que pueden dar lugar a lo - tes de bulbos en que el número de enfermos sea débil o inexistente. y trata - miento de bulbillos con agua caliente.

El primer método tiene el inconveniente de su laboriosidad. El segundo mé - todo, 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, son de capital importancia en el caso que nos ocupa: así, MAGIE (citado en GROUET, 1967) estima que en algunos ca - sos éstas pueden alcanzar hasta el 90% de los bulbos.

La técnica más utilizada para la obtención de material exento de F. oxyspo - rum f. sp. gladioli es el tratamiento por agua caliente, método descrito por primera vez por ROISTACHER (195f). El principal problema que plantea el méto - do es la determinación de la temperatura de tratamiento más adecuada: como el punto térmico letal de los bulbillos está entre 57.2º y 60º y el de F. oxys - porum f. sp. gladioli entre 53.3º y 57.2ºC (ROISTACHER, BAKER y BALD, 1957), ello da un margen muy estrecho para efectuar el tratamiento adecuadamente, margen que puede ampliarse mediante la manipulación de diversos factores: re - mojo 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 se podrán alcanzar temperaturas de tratamiento más altas sin peligro para la viabilidad de los bulbillos.

El tratamiento se debe efectuar en el mes de Enero, cuando los bulbillos están empezando a salir de la latencia, aunque por dificultades en su sumi - nistro hubo de realizarse el 25 de Febrero, por lo que la mortalidad de bul -

billos fue mayor de lo que cabe esperar normalmente.

El proceso seguido fue el siguiente:

Para cada repetición se utilizaron 100 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.

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% 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 2 minutos en estufa a 60°C para evitar el enfriamiento brusco del agua al introducir los bulbillos fríos. Se utilizaron 4 temperaturas de tratamiento: 53º, 55º, 57º y 59º C y tres tiempos de tratamiento: 10, 30 y 60 minutos, empleándose para cada combinación de éstas dos repeticiones de bulbillos cada una. En el tratamiento de 30 minutos se usaron también bulbillos despojados de sus escamas externas para estudiar el efecto de esta operación en la sensibilidad del bulbo al tratamiento.

Asimismo, en los testigos se procedió a las dos alternativas de remojo en sulfato neutro de oxiquinoleína o no, previamente al tratamiento.

Los resultados de germinación a los 60 días después del tratamiento aparecen expresados en la tabla 8.

Aunque no queda reflejado en dicha tabla, el tratamiento por calor produce una nascencia irregular en todos los lotes procesados debido quizás a daños a la yema apical.

Las conclusiones que se pueden extraer de dicha tabla están de acuerdo con la bibliografía: así, por tratarse de bulbillos fuera de latencia, temperaturas tan bajas como 53°C causan una reducción de la germinación del 36-39% con el tratamiento de 30 minutos.

El remojo previo en la solución de sulfato de oxiquinoleína no ha influido en el % de nascencia de los testigos ni en la regularidad de ésta.

Este ensayo ha sido una prueba preliminar en que sólo hemos estudiado la resistencia del material al tratamiento con agua caliente realizado en bulbillos sanos. En el próximo mes de Enero, al haber obtenido material enfermo como se ha descrito en el apartado 6, efectuaremos las pruebas definitivas de tratamiento de bulbillos efectuados con F. oxysporum f. sp. gladioli.

Tabla 8: PORCENTAJE DE GERMINACION DE LOS BULBILLOS A LOS 60 DIAS DEL TRATAMIENTO CON AGUA CALIENTE, EFECTUADO A DIVERSAS TEMPERATURAS Y TIEMPOS DE TRATAMIENTO.

Tratamiento	Repetición	53º C	55º C	57º C	59º C
10 minutos (con escamas)	R ₁	94	44	6	4
	R ₂	100	49	5	0
30 minutos (con escamas)	R ₁	64	13	1	0
	R ₂	61	12	6	0
30 minutos (sin escamas)	R ₁	37	0	0	0
	R ₂	17	0	0	0
60 minutos	R ₁	24	1	1	0
	R ₂	12	0	0	0

Testigos	sin remojo previo	R ₁	100
		R ₂	100
	con remojo previo	R ₁	100
		R ₂	100

8: RESUMEN

Este trabajo corresponde al tratamiento inicial de un problema no investigado anteriormente en España: el estudio del hongo Fusarium oxysporum f. sp. gladioli (Massey) sn. et H., patógeno latente en bulbos de gladiolo y que constituye su más grave enfermedad en todas las zonas de cultivo.

Se ha detectado con frecuencia la presencia de F. oxysporum así como otros organismos patógenos a este cultivo en prospecciones de bulbos de gladiolo procedentes del extranjero y de las zonas productoras de nuestro país.

Se ha puesto a punto un test de patogenicidad de los aislamientos efectuados hallando patógenos diversos aislamientos de F. oxysporum procedentes del extranjero y de zonas productoras españolas. Este test se ha evaluado por medio de unos índices que permiten una separación neta en la amplia gama de aislamientos obtenidos, encuadrando adecuadamente los procedentes de situaciones-tipo fáciles de reconocer.

Se han testado diversos medios y técnicas de aislamiento selectivo a partir del material vegetal encontrando muy prometedor un medio a base de agar patata glucosado + 550 ppm. de sulfato de estreptomina al que se han adicionado cantidades variables de ácido fusárico.

Asimismo se han llevado a cabo experiencias de tratamientos de bulbillos por termoterapia y de infección natural de bulbos en campo con los organismos detectados.

En la actualidad se siguen realizando experiencias conducentes a una mejor comprensión del problema.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- ASHOUR, W.A. and GAMAL-EL-DIN, I.F.; 1964: Corn diseases of gladiolus in U.A.R. (Egipt). Annals of Agric. Sct., Fac. of Agric., Ain Shams 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, Jane and DWINELL, L.D., 1980: Decay and colonization of gladiolus corms by the pine pitch canker fungus. Phytopathology 70: 847-850.
- Mc CLELLAN, W.D., 1947: Symptoms of the Fusarium diseases of gladiolus. Gladiolus Mag. 11 (1): 26-32.
- Mc CLELLAN, W.D., 1948: Effect of Fusarium isolates on two gladiolus varieties. Phytopathology 38 (7): 576 (Abstract).
- Mc CLELLAN, W.D. and PRIOR, R.L., 1957: Susceptibility of gladiolus varieties to Fusarium, Botrytis and Curvularia. Plant Dis. Repr. 41 (1): 47-50.
- Mc CLELLAN, 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.
- Mc CULLOCH, Lucia, 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.
- GÄUMANN, E.; NAEF-ROTH, ST., and KOBEL, H., 1952: Ueber Fusarinsäure, einzweites Welketoxin des Fusarium lycopersici Sacc. Phytopathol. Z. 20: 1-38.

- GÄUMANN, 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, Denise, 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; Ruth 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.
- 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.
- 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.
- 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, 1958. Plant Dis. Reprtr. 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 cormels. Phytopathology 41: 943 (Abstract).
- ROISTACHER, C.N. ; BAKER, K.F. and BALD, J.G., 1957: Hot-water treatment of gladiolus cormels 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. Reprtr. 58: 184-187.
- WOLTZ, S.S.; MAGIE, R.O; SWITKIN; Constance; NELSON, P.E. and TOUSSOUN, T.A., 1978: Gladiolus disease response to prestorage corm inoculation with Fusarium species. Plant Dis. Reprtr. 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 bakanaë-fungus. I. Fusarinic acid, a new product of the bakana-fungus. J. Agr. Chem. Soc. Japan 10: 1059-1068.



FUNDACION JUAN MARCH

SERIE UNIVERSITARIA

TITULOS PUBLICADOS

Serie Verde

(Matemáticas, Física, Química, Biología, Medicina)

- | | | | |
|----|---|----|--|
| 2 | Mulet, A.:
Estudio del control y regulación, mediante un calculador numérico, de una operación de rectificación discontinua. | 28 | Zugasti Arbizu, V.:
Analizador diferencial digital para control en tiempo real. |
| 4 | Santiuste, J. M.:
Combustión de compuestos oxigenados. | 29 | Alonso, J. A.:
Transferencia de carga en aleaciones binarias. |
| 5 | Vicent López, J. L.:
Películas ferromagnéticas a baja temperatura. | 30 | Sebastián Franco, J. L.:
Estabilidad de osciladores no sinusoidales en el rango de microondas. |
| 7 | Salvá Lacombe, J. A.:
Mantenimiento del hígado dador in vitro en cirugía experimental. | 39 | Blasco Olcina, J. L.:
Compacidad numerable y pseudocompacidad del producto de dos espacios topológicos. |
| 8 | Plá Carrera, J.:
Estructuras algebraicas de los sistemas lógicos deductivos. | 44 | Sánchez Rodríguez, L.:
Estudio de mutantes de saccharomyces cerevisiae. |
| 11 | Drake Moyano, J. M.:
Simulación electrónica del aparato vestibular. | 45 | Acha Catalina, J. I.:
Sistema automático para la exploración del campo visual. |
| 19 | Purroy Unanua, A.:
Estudios sobre la hormona Natriurética. | 47 | García-Sancho Martín, F. J.:
Uso del ácido salicílico para la medida del pH intracelular. |
| 20 | Serrano Molina, J. S.:
Análisis de acciones miocárdicas de bloqueantes Beta-adrenérgicos. | 48 | García García, A.:
Relación entre iones calcio, fármacos ionóforos y liberación de noradrenalina. |
| 22 | Pascual Acosta, A.:
Algunos tópicos sobre teoría de la información. | 49 | Trillas, E., y Alsina C.:
Introducción a los espacios métricos generalizados. |
| 25 | I Semana de Biología:
Neurobiología. | 50 | Pando Ramos, E.:
Síntesis de antibióticos aminoglicosídicos modificados. |
| 26 | I Semana de Biología:
Genética. | 51 | Orozco, F., y López-Fanjul, C.:
Utilización óptima de las diferencias genéticas entre razas en la mejora. |
| 27 | I Semana de Biología:
Genética. | | |

- 52 Gallego Fernández, A.:
Adaptación visual.
- 55 Castellet Solanas, M.:
Una contribución al estudio de las teorías de cohomología generalizadas.
- 56 Sánchez Lazo, P.:
Fructosa 1,6 Bisfosfatasa de hígado de conejo: modificación por proteasas lisosomales.
- 57 Carrasco Llamas, L.:
Estudios sobre la expresión genética de virus animales.
- 59 Afonso Rodríguez, C. N.:
Efectos magneto-ópticos de simetría par en metales ferromagnéticos.
- 63 Vidal Costa, F.:
A la escucha de los sonidos cerca de T_λ en el 4^{ta} líquido.
- 65 Andréu Morales, J. M.:
Una proteína asociada a membrana y sus subunidades.
- 66 Blázquez Fernández, E.:
Desarrollo ontogénico de los receptores de membrana para insulina y glucagón.
- 69 Vallejo Vicente, M.:
Razas vacunas autóctonas en vías de extinción.
- 76 Martín Pérez, R. C.:
Estudio de la susceptibilidad magnetoeléctrica en el Cr_2O_3 policristalino.
- 80 Guerra Suárez, M.ª D.:
Reacción de Amidas con compuestos organoaluminicos.
- 82 Lamas de León, L.:
Mecanismo de las reacciones de iodación y acoplamiento en el tiroides.
- 84 Repollés Moliner, J.:
Nitrosación de aminas secundarias como factor de carcinogénesis ambiental.
- 86 II Semana de Biología:
Flora y fauna acuáticas.
- 87 II Semana de Biología:
Botánica.
- 88 II Semana de Biología:
Zoología.
- 89 II Semana de Biología:
Zoología.
- 91 Viéitez Martín, J. M.:
Ecología comparada de dos playas de las Rías de Pontevedra y Vigo.
- 92 Cortijo Mérida, M., y García Blanco, F.:
Estudios estructurales de la glucógeno fosforilasa b.
- 93 Aguilar Benítez de Lugo, E.:
Regulación de la secreción de LH y prolactina en cuadros anovulatorios experimentales.
- 95 Bueno de las Heras, J. L.:
Empleo de polielectrolitos para la floculación de suspensiones de partículas de carbón.
- 96 Núñez Alvarez, C., y Ballester Pérez, A.:
Lixiviación del cinabrio mediante el empleo de agentes complejantes.
- 101 Fernández de Heredia, C.:
Regulación de la expresión genética a nivel de transcripción durante la diferenciación de Artemia salina.
- 103 Guix Pericas, M.:
Estudio morfométrico, óptico y ultraestructural de los inmunocitos en la enfermedad celíaca.
- 105 Llobera i Sande, M.:
Gluconeogénesis «in vivo» en ratas sometidas a distintos estados tiroideos.
- 106 Usón Finkenzeller, J. M.:
Estudio clásico de las correcciones radiactivas en el átomo de hidrógeno.
- 107 Gallán Jiménez, R.:
Teoría de la dimensión.
- 111 Obregón Perea, J. M.:
Detección precoz del hipotiroidismo congénito.

- 115 Calcedo Egües, L.:
Mecanismos moleculares de acción de hormonas tiroideas sobre la regulación de la hormona tirótrofa.
- 121 Rodríguez García, R.:
Caracterización de lisozimas de diferentes especies.
- 122 Carravedo Fantova, M.:
Introducción a las Orquídeas Españolas.
- 125 Martínez-Almoyna Rullán, C.:
Contribución al estudio de la Manometría Ano-rectal en niños normales y con alteraciones de la continencia anal.
- 127 Marro, J.:
Dinámica de transiciones de fase: Teoría y simulación numérica de la evolución temporal de aleaciones metálicas enfriadas rápidamente.
- 129 Gracia García, M.:
Estudio de cerámicas de interés arqueológico por espectroscopia Mössbauer.
- 131 García Sevilla, J. A.:
Receptores opiáceos, endorfinas y regulación de la síntesis de monoaminas en el sistema nervioso central.
- 132 Rodríguez de Bodas, A.:
Aplicación de la espectroscopia de RPE al estudio conformacional del ribosoma y el tRNA.
- 136 Aragón Reyes, J. J.:
Interacción del Ciclo de los Purín Nucleótidos con el Ciclo del Acido Cítrico en Músculo Esquelético de Rata durante el Ejercicio.
- 139 Genís Gálvez, J. M.:
Estudio citológico de la retina del camaleón.
- 140 Segura Cámara, P. M.:
Las sales de tiazolio ancladas a soporte polimérico insoluble como catalizadores en química orgánica.
- 141 Vicent López, J. L.:
Efectos anómalos de transporte eléctrico en conductores a baja temperatura.
- 143 Niéto Vesperinas, M.:
Técnicas de prolongación analítica en el problema de reconstrucción del objeto en óptica.
- 145 Arias Pérez, J.:
Encefalopatía portosistémica experimental.
- 147 Palanca Soler, A.:
Aspectos Faunísticos y Ecológicos de Carábidos Altoaragoneses.
- 150 Vioque Cubero, B.:
Estudio de procesos bioquímicos implicados en la abscisión de la aceituna.
- 151 González López, J.:
La verdadera morfología y fisiología de Azotobacter: células germinales.
- 152 Calle García, C.:
Papel modulador de los glucocorticoides en la población de receptores para insulina y glucagón.
- 154 Alberdi Alonso, M.ª T.:
Paleoecología del yacimiento del Neógeno continental de Los Valles de Fuentidueña (Segovia).
- 156 Gella Tomás, F. J.:
Estudio de la fosforilasa kinasa de hígado y leucocitos: purificación, características y regulación de su actividad.
- 157 Margalef Mir, R.:
Distribución de los macrofitos de las aguas dulces y salobres del E. y NE. de España y dependencia de la composición química del medio.
- 158 Alvarez Fernández-Represa, J.:
Reimplantación experimental de la extremidad posterior en perros.
- 161 Tomás Ferré, J. M.ª:
Secreción y reutilización de trifosfato de adenosina (ATP) por sinaptosomas colinérgicos.
- 163 Ferrándiz Leal, J. M.:
Estudio analítico del movimiento de rotación lunar.

- 164 Rubió Lois, M.; Uriz Lespe, M.ª J., y Bibiloni Rotger, M.ª A.:
Contribución a la fauna de esponjas del litoral catalán. Esponjas córneas.
- 165 Velasco Rodríguez, V. R.:
Propiedades dinámicas y termodinámicas de superficies de sólidos.
- 166 Moreno Castillo, I.:
Ciclo anual del zooplancton costero de Gijón.
- 168 Durán García, S.:
Receptores Insulínicos en hipotálamo de rata: localización subcelular y mecanismo (s) de regulación.
- 169 Martínez Pardo, R.:
Estudio del mecanismo secretor de hormona juvenil en oncopeltus fasciatus.

