

POR UN ERROR DE COMPAGINACIÓN, ÉSTE ARTÍCULO SE PUBLICO EN EL NÚMERO ANTERIOR CON UNA PÁGINA MENOS. DADA LA INCOMPRESIÓN DEL MISMO, LO VOLVEMOS A PUBLICAR EN SU VERSIÓN INTEGRAL.

Nueva enfermedad en el cultivo del ajo ocasionada por *Fusarium* spp.

M^a José Basallote Ureba; Carlos Zurera Muñoz; Ana M^a Prados Liger (Área de Protección de Cultivos, IFAPA, Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía).

José M^a Melero Vara (Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC, Córdoba).

La podredumbre de disco basal y raíces de ajo y la de los dientes de siembra observadas a menudo en Andalucía y Albacete en la década pasada parecen tener una etiología compleja, con *F. oxysporum* y *F. proliferatum* como agentes principales, seguidos por *F. solani*. Se sugiere la importancia de la colonización de dientes por estos hongos, incluso durante el almacenaje, como fuente de inóculo que origina la enfermedad en los campos de cultivo.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del ajo (*Allium sativum* L.) ocupa en España, unas 15.500 ha distribuidas principalmente entre Castilla-La Mancha (55,8%) y Andalucía (25,2%) (Anónimo, 2009). La producción alcanzada fue de 133.610 t, de las cuales el 37% se destinó a la exportación (Anónimo, 2009).

Desde principios de la pasada década, se ha detectado la presencia de una nueva enfermedad que se manifiesta en plantas aisladas de ajo desde los primeros estadios del cultivo, independientemente del cultivar. Los síntomas aéreos incluyen enanismo y necrosis en los bordes de las hojas, acompañados de necrosis o podredumbre del disco basal, acortamiento o empobrecimiento del sistema radical y necrosis de raíces. Como consecuencia, las plantas afectadas producen bulbos de bajo calibre y escaso interés comercial. Se han referido síntomas similares a los antes descritos en cultivos de ajo y cebolla afectados por *Fusarium* spp. en diversos países (DUGAN y col, 2003; DU TOIT y col, 2003; HAVEY, 1995; MOHAN y col, 1997; PALMERO y col, 2010; STANKOVIC y col, 2007). Dadas las elevadas pérdidas causadas por la Fusariosis en otros cultivos hortícolas, la difícil erradicación del patógeno de los suelos infestados y su posible transmisión por los dientes de siembra, decidimos abordar el conocimiento de la nueva enfermedad del ajo.

Materiales y métodos

Prospección en campos y almacenes comerciales. Procesado de muestras

Para evaluar la importancia real de esta nueva problemática fitopatológica, se realizaron durante 2003-2006 inspecciones sistemáticas en 36 campos de ajo distribuidos entre las provincias de Cádiz, Córdoba, Granada, Jaén, Málaga, Sevilla y Albacete (Tabla 1), y en dos bancos de germoplasma (BG) establecidos en los centros IFAPA Alameda del Obispo (Córdoba) y Venta del Llano (Jaén), que incluían 532 entradas. En cada campo se muestrearon 7-10 plantas con los síntomas asociados a la Fusariosis y en los dos BG una o dos plantas por entrada.

Para determinar la presencia de *Fusarium* spp. en los bulbos de ajo se visitaron, tras

Localidad	Variedad	Campos (Nº)	Frecuencia (%)
Olvera (Cádiz)	Chino	1	70
Montalbán-Aguilar (Córdoba)	Blanco	1	100
Montilla-Espejo (Córdoba)	Rojo	1	57,1
Santaella (Córdoba)	Chino, Morado	4	48,6 - 100
S. Sebastián Ballesteros (Córdoba)	Chino	2	100
Alomartes (Granada)	Chino	2	43,9 - 66,7
Atarfe (Granada)	Chino, Blanco Basic	2	42,9 - 100
San Pascual (Granada)	Chino	1	28,6
Valderrubio (Granada)	Chino	1	50
Tocón (Granada)	Chino	3	0 - 100
Mengiábar (Jaén)	Chino, Morado	4	20 - 100
Antequera (Málaga)	Blanco Basic, Chino, Morado	5	57,1 - 100
El Rubio (Sevilla)	Blanco Basic, Chino, Morado	3	12,5 - 50
Barrax (Albacete)	Blanco, Morado	6	0 - 50

Tabla 1. Frecuencia de aislamiento de *Fusarium* spp. en las plantas de ajo muestreadas en los campos prospectados.

Procedencia de los lotes	Variedad	Lotes (Nº)	Frecuencia (%)
Olvera (Cádiz)	Chino	1	0
Aguilar (Córdoba)	Chino	1	0
Almodóvar (Córdoba)	Chino	1	29
Hornachuelos (Córdoba)	Blanco	1	9
Montalbán (Córdoba)	Chino	1	0
Montemayor (Córdoba)	Chino, Blanco	2	9 - 29
Montilla (Córdoba)	Chino, Blanco	2	0 - 14
Pedro Abad (Córdoba)	Blanco	1	0
Puente Genil (Córdoba)	Chino	1	0
Santaella (Córdoba)	Chino	1	21
S. Sebastián Ballesteros (Córdoba)	Chino	1	25
Albolote (Granada)	Chino	1	0
Alomartes (Granada)	Chino	1	0
Atarfe (Granada)	Chino, Blanco	4	4-21
Chauchina (Granada)	Chino	1	7
El Jau (Granada)	Chino	1	4
Hueneja (Granada)	Chino, Blanco	2	0
Pinos Puente (Granada)	Chino	2	10 - 13
Tocón (Granada)	Chino	2	0 - 4
Valderrubio (Granada)	Chino	4	0 - 6
Villanueva de Mesía (Granada)	Chino	1	4
Antequera (Málaga)	Blanco	1	9
Carmona (Sevilla)	Chino	1	7
Écija (Sevilla)	Blanco, Chino	5	0 - 7
Estepa (Sevilla)	Chino	1	14
Sevilla	Chino	1	0

Tabla 2. Frecuencia de aislamiento de *Fusarium* spp. en bulbos de ajo muestreados en los almacenes comerciales inspeccionados.



Figura 1. Enanismo y necrosis en los bordes de las hojas en planta afectada en campo.

la recolección de los cultivos, 22 almacenes comerciales del sur de España en los que se muestrearon al azar 30-50 cabezas de ajo de 41 lotes procedentes de diferentes campos de las provincias de Cádiz, Córdoba, Granada, Málaga y Sevilla (Tabla 2). Además, después de la recolección de los BG de Córdoba y Jaén se



Figura 2. Necrosis del disco basal y podredumbre de raíces causadas por *Fusarium* spp.

muestrearon al azar uno o dos bulbos de 31 de las 44 entradas que habían mostrado síntomas en campo.

Se realizaron aislamientos de todas las plantas recolectadas en campo, y de dos dientes de siete bulbos que mostraban síntomas de cada lote. Para ello, las plantas se lavaron y se tomaron trozos de



Figura 3. A la izquierda sistema radical de una planta sana y a la derecha acortamiento y necrosis de raíces asociados con *Fusarium* spp.

raíces y del disco basal. Se cortaron fragmentos de lesiones de los dientes y también del disco basal. Los trozos se desinfectaron superficialmente en una solución acuosa de lejía comercial. A continuación, cada trozo se dividió en dos, que se colocaron en placas de Petri respectivamente con agar patata dextrosa acidificado (APDA) y agar agua aureomicina. Las placas se incubaron durante 7 días a 24°C. Tras la obtención de cultivos puros de los aislados fúngicos recuperados, éstos se transfirieron a suelo estéril y se conservaron en cámara frigorífica para su posterior caracterización patogénica y morfológica.

Pruebas de patogenicidad y caracterización morfológica específica

Se llevaron a cabo pruebas de patogenicidad *in vitro* (CORPAS y col. 2006) en las que se incluyeron 44 aislados (30 de los 130 aislados obtenidos de plantas y 14 de los 74 recuperados de dientes de ajo) representativos de las distintas zonas de cultivo. Tras una limpieza minuciosa con agua del grifo se desinfectaron dientes de ajo 'Morado de Cuenca', sumergiéndolos durante 5 min en una solución acuosa de lejía comercial. Una vez desinfectados se transfirieron individualmente a frascos de vidrio con 30 ml de medio de Hoagland (TUTE, 1969), que se



Figura 4. Pérdida de escalas y lesión en un bulbo afectado por podredumbre.

incubaron durante 7 días en una cámara ajustada a 18°C, con un fotoperiodo de 12 h/día. El inóculo se incrementó en placas de Petri con APD a 25°C y 12 h de fotoperiodo durante 10-12 días. La inoculación se realizó aportando alrededor del sistema radical 2 ml de una suspensión de conidias (10^7 con/ml) obtenida vertiendo agua destilada estéril sobre la colonia desarrollada, raspándola y filtrando la suspensión a través de gasas estériles. Como testigo de la infección se utilizaron dientes de ajo a los que se añadió 2 ml de agua estéril. Se dispusieron 6-8 repeticiones por tratamiento. La incubación se realizó durante 21 días en cámara de crecimiento ajustada a 18°C, con fotoperiodo de 12 h.

Los aislados de *Fusarium* que resultaron patogénicos se transfirieron a suelo estéril para su posterior caracterización específica (LESLIE y SUMMERELL, 2006).

Resultados

Prospección en campos y almacenes comerciales

Los síntomas en campo consistieron en enanismo, necrosis en los bordes de las hojas, acompañados de necrosis y coloración pardo-rojiza en el disco basal y pérdida y/o acortamiento de las raíces (Figuras 1-3). La sintomatología más frecuente en los bulbos procedentes de almacén fue una coloración amarillenta, disminución del número de escalas y/o pérdida de turgencia (Figura 4). Los dientes afectados mostraban lesiones deprimidas de borde irregular cubiertas normalmente por

micelio de color rosa pálido (Figura 5), o punteado de color anaranjado de extensión variable. En el 89% de los campos comerciales se recuperó *Fusarium* spp. del disco basal y de la raíz, con incidencias entre un 12,5 y un 100% de las plantas muestreadas (Tabla 1). Asimismo, se aisló del 72% de las plantas sintomáticas de los BG, no observándose diferencias entre las entradas respecto a la frecuencia de aislamiento de *Fusarium* spp. de las plantas con síntomas.

Se aislaron consistentemente *Fusarium* spp. en el 69% de los lotes de bulbos de almacén muestreados, con frecuencia de aislamiento del 4 al 29%, dependiendo del lote (Tabla 2). También se aisló en 15 (48%) de las entradas muestreadas en los dos BG, en 11 de las cuales se había aislado previamente de plantas con síntomas.

Pruebas de patogenicidad y caracterización morfológica de los aislados

Los resultados de las inoculaciones fueron muy consistentes. La sintomatología observada consistió en acortamiento de las raíces, necrosis de color castaño o carmín en: tejidos de reserva,



Figura 5. Lesiones deprimidas de borde irregular cubiertas por micelio de color rosa pálido.



Figura 6. A la izquierda plántula testigo no inoculada a la derecha síntomas de acortamiento y necrosis de raíces en tres plántulas inoculadas con *F. oxysporum*.

discos basales, puntos de inserción de raíces secundarias con raíces principales y ápices radicales, extendiéndose frecuentemente a lo largo del sistema radicular (Figura 6). A veces, el síndrome de la enfermedad incluyó esos síntomas además del desarrollo de micelio sobre los tejidos de reserva. Las plántulas control no mostraron síntomas. *Fusarium* spp. se aisló consistentemente de las plantas sintomáticas. El 63,3% de los aislados de *Fusarium* de plantas afectadas en campo, caracterizados patogénica y morfológicamente, correspondió a *F. oxysporum* (Schlecht.) emend. Snyd. & Hans., el 26,7% a *F. proliferatum* (Matsush.) Nirenberg, el 3,3% a *F. solani* (Mart.) Sacc. y el restante 6,7% a *Fusarium* sp. Por otro lado, de los aislados recuperados de bulbos en los almacenes comerciales y de los BG se identificaron el 40% como *F. oxysporum*, el 53,3% como *F. proliferatum* y el 6,7% correspondió a *F. solani*.

Discusión

Algunos de los síntomas observados en los bulbos en almacén que hemos referido en nuestro trabajo se han descrito recientemente en la provincia de Segovia (PALMERO *et al.* 2010) y se han asociado con *F. proliferatum*. Sin embargo, en las inspecciones realizadas en Andalucía y en Albacete hemos aislado con una frecuencia similar *F. oxysporum* y *F. proliferatum* y en menor proporción *F. solani*. Todos los aislados de estas tres especies recuperados de plantas afectadas en campo y de bulbos infectados en almacén fueron patogénicos y ocasionaron la misma sintomatología en los dientes de ajo inoculados. Esto sugiere que la podredumbre del

disco basal y de las raíces del ajo está causada por un complejo de especies del género *Fusarium* entre las que destacan las tres antes mencionadas. Además, la detección de las tres especies en plantas y en los bulbos recolectados, sugiere que los dientes infectados constituyen una importante vía de transmisión de estos patógenos. Por ello, la utilización de material de siembra (dientes de ajo) certificado y seleccionado es imprescindible para evitar la expansión de esta nueva enfermedad.

Abstract. Basal plate and root rot of garlic plants and rot of garlic cloves were frequently observed in the past decade in Andalucía and Albacete. The etiology is complex, with *F. oxysporum* y *F. proliferatum* as principal causal agents, followed by

F. solani. Garlic cloves colonized by these fungi is suggested as an important inoculum source, even under storage, responsible of diseased plants in the field.

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado por la DGIFAP de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía a través del proyecto PIA 03-023. Agradecemos a Raquel Díaz, de la Cooperativa Campo Santa Mónica SC de Balazote (Albacete), su colaboración a lo largo de esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- CORPAS-HERVIAS, C., MELERO-VARA J. M., MOLINERO-RUIZ, M. L., ZURERA-MUÑOZ, C., BASALLOTE-UREBA, M. J. (2006). *Characterization of isolates of Fusarium spp. obtained from asparagus in Spain*. Plant Disease 90: 1441-1551.
- DUGAN, F. M., HELLIER, B. C., LUPIEN, S. L. (2003). *First report of Fusarium proliferatum causing rot of garlic bulbs in North America*. Plant Pathology 52: 426.
- DU TOIT, L. J., INGLIS, D. A., PELTER, G. Q. (2003). *Fusarium proliferatum pathogenic on onion bulbs in Washington*. Plant Disease 87: 750.
- HAVEY, M. J. (1995). *Fusarium basal plate rot*. Pgs: 10-11 en: H. F. Schwartz y S. K. Mohan (eds). Compendium of Onion and Garlic Diseases. APS. St. Paul, Minnesota, USA.
- LESLIE, J. F. y B. A. SUMMERELL. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing. USA.
- MARM (2009). Anuario de Estadística. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- MOHAN, S. K., BIJMAN, V. P., KNOTT E. A. (1997). *Bulb rot of stored onions caused by Fusarium proliferatum*. Phytopathology 87: S67.
- PALMERO, D., DE CARA, M., IGLESIAS, C., MORENO, M. M., GONZÁLEZ, N., TELLO, J. C. (2010). *First report of Fusarium proliferatum causing rot of garlic in Spain*. Phytopathology 94: 277.
- STANKOVIC, S., LEVIC, J., PETROVIC, T., LOGRIECO, A., MORETTI, A. (2007). *Pathogenicity and mycotoxin production by Fusarium proliferatum isolated from onion and garlic in Serbia*. European Journal of Plant Pathology 118: 165-172.
- TUITE, J. (1969). *Plant Pathological Methods: Fungi and Bacteria*. Burgess Publishing Company, Minneapolis, MN.