

Universidad de Sevilla
Facultad de Biología

El picado (*cavity spot*) de la zanahoria
(*Daucus carota* L.) en Andalucía

Carmen Barrau García
Abril 1994

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE BIOLOGIA

TESIS DOCTORAL

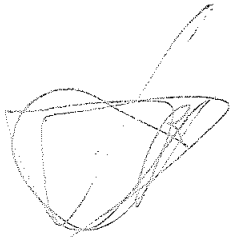
El picado (*cavity spot*) de la zanahoria (*Daucus carota* L.)
en Andalucía

Tesis Doctoral presentada por
Carmen Barrau García para optar
al grado de Doctora en Ciencias Biológicas

Doctoranda:

Carmen Barrau García

Director de Tesis



Dr. D. Fernando Romero Muñoz

Tutor



Prof. Dr. D. Salvador Talavera Lozano



Sevilla, abril 1994.

25

90

29 Abril 1994

de la Universidad Carlos III de Madrid el día 19 de Mayo

Sevilla de
DE INVESTIGACION

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]

FERNANDO ROMERO MUÑOZ, Dr. en Ciencias Biológicas, Director del Centro de Investigación y Desarrollo Agrario "Las Torres" y "Tomejil".

CERTIFICA:

Que Dña. CARMEN BARRAU GARCIA ha realizado bajo mi dirección el trabajo titulado " El picado (cavity spot) de la zanahoria (Daucus carota L.) en Andalucía", para optar al grado de Doctora en Ciencias Biológicas, cumpliendo los requisitos establecidos por la legislación vigente.

Y para que conste, firmo la presente en Sevilla, abril 1994.

[Handwritten signature]

Fdo.: Fernando Romero Muñoz.

INDICE

AGRADECIMIENTOS	I
ABREVIATURAS	III
LISTA DE FIGURAS	IV
LISTA DE TABLAS	VI
RESUMEN	VIII
1. INTRODUCCION	1
2. REVISION BIBLIOGRAFICA	4
2.1. LA ZANAHORIA.	4
2.1.1. CLASIFICACION E HISTORIA.	4
2.1.2. CARACTERISTICAS Y COMPOSICION QUIMICA DE LA PLANTA.	5
2.1.3. NECESIDADES DEL CULTIVO.	8
2.2. EL "CAVITY SPOT" DE LA ZANAHORIA.	9
2.2.1. SINTOMATOLOGIA DE LA ENFERMEDAD.	9
2.2.2. DETECCION DE LA ENFERMEDAD Y PRIMEROS ESTUDIOS.	10
2.2.3. ESTUDIOS NUTRICIONALES.	11
2.2.4. CONDICIONES EN EL SUELO.	12
2.2.5. VARIABILIDAD EN LA INCIDENCIA.	14
2.2.6. REPETICION DEL CULTIVO.	15
2.2.7. IMPLICACION DE AGENTES BIOTICOS.	16
2.2.8. ANAEROBIOSIS. IMPLICACION BACTERIANA.	17
2.2.9. VARIEDADES, HIBRIDOS Y CULTIVARES.	19

2.2.10. RELACION CON <i>Rhizoctonia solani</i> (Kühn).	20
2.2.11. "ROOT DIEBACK" Y "CAVITY SPOT".	20
2.2.12. ESTUDIOS CON PESTICIDAS.	21
2.2.13. IDENTIFICACION DE ESPECIES DE <i>Pythium</i>	22
2.2.14. OTROS ORGANISMOS PROPUESTOS COMO AGENTES CAUSALES.	24
2.2.15. ESTUDIOS SOBRE CONTROL QUIMICO.	25
3. MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1. SINTOMATOLOGIA Y CARACTERIZACION DEL CS.	31
3.1.1. EXPERIENCIAS DE CAMPO.	31
3.1.2. MUESTRAS DE PLANTAS.	32
3.1.3. VALORACION DE LA ENFERMEDAD.	33
3.2. IMPLICACION DE AGENTES BIOTICOS.	35
3.3. AISLAMIENTOS DE TEJIDOS SINTOMATICOS.	35
3.4 AISLAMIENTOS DE SUELO.	36
3.5. INCIDENCIA Y DISTRIBUCION DEL CS EN LA COSTA NOROESTE DE CADIZ.	37
3.6. EFECTO NUTRICIONAL.	40
3.6.1. EXPERIENCIA EN AMBIENTE CONTROLADO.	40
3.6.2. EXPERIENCIAS EN CAMPO.	42
3.7. INFLUENCIA DE LA FECHA DE SIEMBRA.	44
3.8. CONTROL QUIMICO DEL CS DE LA ZANAHORIA.	45
3.8.1. FUNGOTOXICIDAD "IN VITRO".	45
3.8.2. FITOTOXICIDAD EN SEMILLAS.	46
3.8.3. EXPERIENCIAS EN AMBIENTE CONTROLADO.	47
3.8.3.1. TRATAMIENTOS.	47
3.8.4. EXPERIENCIAS DE CAMPO.	49
3.9. EFECTO DE LA REPETICION DEL CULTIVO.	50
3.10. CAPACIDAD PATOGENICA DE LOS AISLADOS.	50

3.11. ANALISIS ESTADISTICOS.	51
4. RESULTADOS Y DISCUSION	52
4.1. SINTOMATOLOGIA Y CARACTERIZACION DEL CS. . .	52
4.2. IMPLICACION DE AGENTES BIOTICOS.	64
4.3. AISLAMIENTOS DE TEJIDOS SINTOMATICOS. . . .	65
4.4. AISLAMIENTOS DE SUELO.	69
4.5. INCIDENCIA Y DISTRIBUCION DEL CS EN LA COSTA NOROESTE DE CADIZ.	72
4.6. EFECTO NUTRICIONAL.	76
4.6.1. EXPERIENCIA EN AMBIENTE CONTROLADO.	76
4.6.2. EXPERIENCIAS DE CAMPO.	77
4.7. INFLUENCIA DE LA FECHA DE SIEMBRA.	80
4.8. CONTROL QUIMICO DEL CS DE LA ZANAHORIA. . .	90
4.8.1. FUNGOTOXICIDAD "IN VITRO".	90
4.8.2. FITOTOXICIDAD EN SEMILLAS.	91
4.8.3. EXPERIENCIAS EN AMBIENTE CONTROLADO	92
4.8.4. EXPERIENCIAS DE CAMPO.	95
4.9. EFECTO DE LA REPETICION DEL CULTIVO.	102
4.10. CAPACIDAD PATOGENICA DE LOS AISLADOS. . . .	104
5. CONCLUSIONES	107
6. BIBLIOGRAFIA	109

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Fernando Romero Muñoz, Director de esta Tesis, por su inestimable ayuda, estímulo y orientación.

Al Profesor Dr. Benito Valdés Castrillón, Director del Departamento de Biología Vegetal y Ecología, por facilitar la presentación de esta Tesis.

Al Profesor Dr. Salvador Talavera Lozano y al Departamento de Biología Vegetal y Ecología de la Facultad de Biología de Sevilla, por su ayuda en la presentación de esta Tesis.

Al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, que financió el Proyecto de Investigación que hizo posible la realización de este trabajo.

A la Dirección General de Investigación, Tecnología y Formación Agroalimentaria y Pesquera, de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía, en cuyo Centro de Investigación y Desarrollo Agrario "Las Torres-Tomejil", (Sevilla) y Centro de Capacitación y Experimentación Agraria de Chipioná, (Cádiz) se realizaron gran parte de los trabajos presentados en esta Tesis, así como por las becas disfrutadas durante su realización.



A D. Rafael Palomeque Rodríguez, propietario de la finca "Nueva California", que facilitó los medios para la realización de gran parte de este trabajo.

A D. Juan Andrés Navas, D. Manuel Mohino y a todas las personas que colaboraron en los trabajos de campo realizados en el Centro de Capacitación y Experimentación Agraria de Chipiona, sin cuya ayuda no hubieran podido llevarse a cabo.

Al Dr. D. José M^a Molina Rodríguez, por la aportación de conocimientos informáticos y por su perseverante estímulo.

A todos mis compañeros del laboratorio de Patología Vegetal del C.I.D.A. de Sevilla, por su constante estímulo, y sobre todo por vuestra amistad.

ABREVIATURAS

- CS: cavity spot
SE: suelo estéril
SNE: suelo no estéril
NC: Nueva California
Esc: Escuela (Centro de Capacitación y Experimentación Agraria, Chipiona (Cádiz)).
NS: no significativo
**: significativo al 0.01
*: significativo al 0.05
D.A.: dosis alta
D.M.: dosis media
D.B.: dosis baja
DL: dosis letal
ppm: partes por millón
NPP: número de propágulos de *Pythium* sp.
PDA: Agar patata dextrosa.
APZ: Agar patata zanahoria.
CMA: Agar harina de maíz.
AV₈: Agar ocho vegetales.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Corte longitudinal de la raíz de la zanahoria (redibujado de Yamaguchi, 1983).	6
Figura 2. Estadíos de desarrollo de la zanahoria. Tomado de Easau (1940).	34
Figura 3. Decoloraciones de la peridermis.	53
Figura 4. Manchas elípticas anaranjadas con peridermis hundida.	53
Figura 5. Peridermis hundida.	54
Figura 6. Datos climáticos del período de estudio. C.E.C. Agraria de Chipiona (Cádiz). 1990, 1991.	55
Figura 7. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias, 1990	56
Figura 8. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias, 1991	56
Figura 9. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias, 1990. A los tres meses de la siembra	57
Figura 10. Cavidad con rotura de peridermis y contorno irregular.	58
Figura 11. Cavidad con peridermis en franja deshilachada.	58
Figura 12. Cavidad necrosada.	59
Figura 13. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias, 1990. Final del ciclo de desarrollo .	60
Figura 14. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias, 1991. Final del ciclo de desarrollo .	61
Figura 15. Influencia de la fecha de siembra en la incidencia del CS, 1989.	83
Figura 16. Influencia de la fecha de siembra en la incidencia del CS, 1990	84

Figura 17. Influencia de la fecha de siembra en la incidencia de CS, 1991. 85

Figura 18. Porcentajes de CS obtenidos con diferentes tratamientos de Ridomil 5G. 98

Figura 19. Influencia de los tratamientos con Ridomil 5G en la incidencia del CS y en la densidad de población de *Pythium*. 101

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de la zanahoria. (De Morrison, según Gorini, 1974).	7
Tabla 2. Respuesta de híbridos y cultivares al CS, al final del ciclo de desarrollo. 1990, 1991. . . .	61
Tabla 3. Rendimientos de híbridos y cultivares expresados en Kg/m ² . 1990, 1991.	62
Tabla 4. Porcentajes de CS en SE y SNE	63
Tabla 5. Características morfológicas de las especies de <i>Pythium</i> aisladas	66
Tabla 6. Frecuencia de aislamientos de tejidos sintomáticos en diferentes fases, expresados en porcentajes.	68
Tabla 7. Relación entre la incidencia de enfermedad y el NPP/g suelo.	70
Tabla 8. Distribución de la enfermedad del CS en las áreas prospectadas.	72
Tabla 9. Influencia de la repetición del cultivo en las áreas prospectadas.	73
Tabla 10. Porcentaje de plantas muertas a los tres meses de la siembra.	76
Tabla 11. Porcentaje de CS y rendimientos obtenidos en las experiencias de abonados diferenciales. . . .	79
Tabla 12. Porcentajes de CS y rendimientos obtenidos con diferentes fechas de siembra.	81
Tabla 13. Influencia de la fecha de siembra, en el NPP/g suelo y porcentajes de CS.	89
Tabla 14. Efectividad "in vitro" de diversos fungicidas en el control de <i>Pythium</i> sp. y <i>Sclerotium</i> sp.. .	91

Tabla 15. Porcentaje de plantas emergidas a los 10 días.	91
Tabla 16. Porcentajes de CS obtenidos en la primera experiencia con diversos fungicidas en ambiente controlado.	93
Tabla 17. Porcentajes de CS obtenidos en la segunda experiencia con diversos fungicidas en ambiente controlado.	94
Tabla 18. Porcentajes de CS obtenidos con diferentes tratamientos a semillas.	95
Tabla 19. Resultados obtenidos con Ridomil 5G.	97
Tabla 20. Severidad de las lesiones observadas, expresadas en porcentajes, en los tratamientos con Ridomil 5G.	99
Tabla 21. Resultados estadísticos de la comparación del NPP en el control y D.A. de Ridomil 5G.	100
Tabla 22. Efecto de la repetición del cultivo en la incidencia de CS.	103
Tabla 23. Variación en el NPP/g de suelo con la repetición del cultivo.	103

RESUMEN

Para estudiar el cavity spot de la zanahoria en Andalucía, se han realizado diversos trabajos de campo, laboratorio y ambiente controlado que han tenido por objeto determinar:

- La caracterización de los síntomas en diferentes híbridos y cultivares sembrados en campos donde con anterioridad se había detectado la enfermedad.
- Estudio del comportamiento varietal en la incidencia de enfermedad, utilizando los híbridos y cultivares más comercializados en la zona de estudio.
- Determinación de la etiología del CS en la costa noroeste de Cádiz.
- Estudio de la influencia de la repetición del cultivo y de la fecha de siembra en la incidencia de la enfermedad.
- Determinación del efecto nutricional en el desarrollo del CS.
- Estudio del posible control químico de la enfermedad en función de los agentes causales identificados.

La extensión de la superficie cultivada en Cádiz y el índice de enfermedad detectado, motivaron que el estudio del CS se realizara en la costa noroeste de esta provincia, donde el 71 % de los campos prospectados presentaban raíces enfermas.

Los primeros síntomas de CS se apreciaron cuando las plantas mostraban el primer par de hojas verdaderas, observándose pequeñas coloraciones en la peridermis que evolucionaron hacia manchas elípticas extendidas a lo ancho de la raíz, con peridermis hundida, la cual se rompe al madurar la planta originando cavidades, que aumentan de tamaño y profundidad cuando se necrosan.

El comportamiento varietal de catorce híbridos y cultivares estudiados, mostró una diferente susceptibilidad en ambos años de repetición de la experiencia, aunque se observaron diferencias significativas entre ellos dentro de un mismo ciclo de desarrollo, éstas no se repitieron en el siguiente. A tenor de los resultados, el híbrido Bingo mostró el mejor comportamiento tanto en rendimientos, como en el porcentaje de incidencia de CS.

Las raíces cultivadas en macetas con suelo esterilizado mediante calor húmedo, presentaron un porcentaje de cavidades significativamente menor que las cultivadas con suelo no estéril. Indicando que el/los agente/s desencadenante/s de las lesiones se encontraban en el suelo y tenían una naturaleza biológica.

De aislamientos de tejidos sintomáticos cultivados en PDA, CMA, APZ y AV₃, se identificaron en orden decreciente de frecuencia *P. intermedium* de Bary, *P. violae* Chesters & Hickman, *P. sulcatum* Pratt & Mitchell, *P. ultimum* Trow y *P. sylvaticum* Campbell & Hendrix, así como *Fusarium* sp. y *Sclerotium* sp., aislados ambos de cavidades necrosadas principalmente.

Al considerar la evolución de manchas superficiales a peridermis hundida se observó un incremento de la frecuencia de aislamientos de *Pythium*, éste pudo deberse a una fase de expansión de la enfermedad, que concluyó con la aparición de las cavidades. En aislamientos de éstas, la frecuencia de *Pythium* disminuye e incrementan las de *Fusarium* y *Sclerotium*, que parecen actuar como organismos secundarios intensificando la severidad de las lesiones, hecho que se mantiene hasta el final de cosecha. La frecuencia de los aislados de *Pythium* presentó un incremento en la fase final, probablemente debido a un favorecimiento del desarrollo del hongo por unas mejores condiciones ambientales, que pueden dar lugar a un nuevo ciclo de enfermedad si se retrasa la recolección de la planta.

La población de *Pythium* en suelo se incrementó durante el cultivo, encontrándose los mayores niveles en los 20 cm de la capa superior del suelo. Siendo las especies determinadas en orden decreciente de frecuencia: *P. intermedium*, *P. oligandrum* Drechs, *P. irregulare* Buisman, *P. ultimum*, *P. sylvaticum* y *P. undulatum* Petersen.

Estadísticamente se demuestra una asociación entre el NPP/g suelo y porcentaje de CS. Sin embargo, la incidencia y severidad de la enfermedad puede fluctuar independientemente de los niveles de población del hongo en suelo, debido a factores ambientales, como temperatura y humedad, así como a la propia agresividad de una determinada especie o la diferente virulencia de las especies patógenas implicadas.

En cuanto al efecto nutricional en la incidencia de enfermedad, estudiado en experiencias de campo mediante la aportación de siete abonados diferenciales, a tenor de los

resultados puede pensarse que al menos en suelos arenosos, donde se da una rápida percolación de los elementos fertilizantes, los abonados testados no presentaron relación directa con la ocurrencia de la enfermedad.

En el estudio de la influencia de las fechas de siembra en el desarrollo del CS, se observó una tendencia a la disminución de los porcentajes de cavidades en plantas sembradas en fechas tardías, así como unas producciones significativamente menores que con fechas tempranas. Este comportamiento podría explicarse por unas mejores condiciones medioambientales, al adelantar la siembra, que favorecieron los rendimientos del cultivo, pero así mismo facilitaron el desarrollo de las cavidades.

De manera que, para temperaturas mínimas superiores a 10°C y precipitaciones regulares, condiciones que se registran con fechas de siembras tempranas, las lesiones se detectaron en un período de 25-30 días después de la siembra. Mientras que tras períodos de sequía o temperaturas por debajo de 10°C, registradas con fechas de siembra tardías se requiere un plazo de 45-60 días para la aparición de síntomas. Así mismo, si las cavidades se han manifestado con anterioridad a estas últimas condiciones climatológicas, su desarrollo se ve frenado. Este hecho podría explicarse teniendo en cuenta que si bien las temperaturas registradas se encuentran dentro de los rangos de crecimiento establecidos para las especies de *Pythium* determinadas, el óptimo térmico para el desarrollo de las mismas es de 25°C o superior, de manera que el crecimiento de las especies es menor cuanto mas bajas son las temperaturas registradas, lo que se traduce en un menor desarrollo de cavidades. Así, coincidiendo con subidas de temperaturas se

observa un brusco incremento en el número de lesiones y en el NPP/g suelo cuantificados, mientras que la severidad de las mismas parece estar influenciada por el tiempo de permanencia de la planta en suelo.

Las características del cultivo en la zona de estudio y la intensidad con la que durante veinte años se ha venido sembrando, no permitieron distinguir un efecto de la repetición del cultivo en la incidencia de la enfermedad. De manera que toda la zona aparece infestada, como lo demuestra el hecho de el elevado NPP cuantificados en suelos no cultivados. Sin embargo, las experiencias de campo realizadas para observar dicha influencia, resultaron positivas, observándose un aumento significativo de la ocurrencia de enfermedad y de la densidad de población de *Pythium* en suelo con la repetición del cultivo.

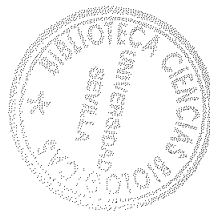
Los tratamientos con fungicidas a semillas (TMTD y Apron), no ofrecieron protección a la raíz contra la enfermedad. Tampoco fueron efectivos los tratamientos aéreos con Aliette, ni las aplicaciones al suelo con Rizolex.

Considerando la ausencia de *Rhizoctonia solani* en los tejidos de zanahoria afectados de CS y la respuesta negativa de los tratamientos con Rizolex a suelos infestados, se podría descartar, en la zona de estudio, a dicho patógeno como posible agente implicado en el CS.

La aplicación a suelo de metalaxil (Ridomil 5G), a dosis de 7 g/m² manifestó un efecto positivo del tratamiento, no sólo en la menor incidencia de la enfermedad, disminuyendo el número total de cavidades y parcialmente su severidad, sino también en la obtención de mejores rendimientos de cosecha.

En cuanto a las pruebas de patogenicidad realizadas mediante inoculación sobre la superficie intacta de la raíz, con discos de CMA en los que el hongo crecía activamente, no se observaron síntomas tras las inoculaciones con *Fusarium* sp. y *Sclerotium* sp., así como con *P. oligandrum*, *P. irregulare* y *P. undulatum*, especies aisladas de suelo. *P. sulcatum* y *P. sylvaticum* aisladas de cavidades tampoco lograron reproducir los síntomas.

Mientras que las inoculaciones con *P. intermedium*, *P. violae* y *P. ultimum* produjeron pequeñas decoloraciones de la superficie de la raíz, las cuales tuvieron un desarrollo hacia lesiones hundidas, obteniéndose un 37.5, 28.6 y 5 % respectivamente.



1. INTRODUCCION

El cultivo de la zanahoria (*Daucus carota* L.) tanto por su elevado rendimiento económico como por la mano de obra necesaria para su siembra y recolección, es considerado de alto interés social. Sin embargo el mantener esta situación conlleva mejorar los factores que determinan la calidad y el nivel productivo de la planta.

El cavity spot (CS) de la zanahoria es una enfermedad que afecta a la raíz de dicha planta produciendo oquedades en su superficie, y que actúa como un factor limitante en su producción, habiéndose detectado la enfermedad en todos aquellos países donde el cultivo se encuentra ampliamente extendido, tanto en Europa y Norteamérica (Wheatley y col., 1984), como en Australia (Walker, 1988) e Israel (Soroker y col., 1984). Considerándose como un serio problema que afecta a la calidad de las cosechas, devaluando su valor o haciendo imposible su comercialización.

La superficie de zanahoria cultivada en Andalucía durante el período de 1989 a 1992 fue de 1827, 1898, 1980 y 2355 ha respectivamente, de las cuales 998, 1110, 1200 y 1600 ha correspondían a la provincia de Cádiz, Chipiona y Sanlúcar de Barrameda principalmente, lo que supone un 55, 58, 61 y 68 % de la superficie cultivada en toda la Comunidad, mientras que en el resto de las provincias supone algo menos de un 10 % de la superficie total (Boletín Información Agraria y Pesquera, 1992).

El CS es uno de los problemas más importantes que afecta a la zanahorias en Andalucía, limitando el desarrollo del cultivo durante los últimos años. Los síntomas que caracterizan al CS se manifiestan como pequeñas decoloraciones de la

peridermis que evolucionan hacia manchas hundidas, de forma más o menos elípticas; al madurar la raíz se produce una ruptura de la peridermis originándose la cavidad propiamente dicha. Estos y otros síntomas han sido descritos por diversos autores, Guba y col., (1961); Maynard y col., (1961); Perry, (1967 b); Mildenhall y Williams, (1970); Perry y Harrison, (1979 a); Green y Makin, (1985).

Numerosos factores han sido sugeridos como causantes del CS, tales como condiciones climáticas (Grogan y col., 1961; Scaife y Clarkson, 1978), insuficiente drenaje del suelo (Guba y col., 1961), condiciones anaeróbicas temporales (Perry y Harrison, 1979 a,b), presencia de bacterias anaeróbicas (Perry y Harrison, 1977), pérdida de Ca (Maynard y col., 1963), presencia o ausencia de iones amonio (Scaife y col., 1980), estructura del suelo (Perry y Harrison, 1979 b). Sin embargo ninguno de dichos factores han sido confirmados (Lund, 1982; Vivoda y col., 1991), como desencadenantes de la enfermedad.

Durante la última década se sugiere que el/los agente/s causal/es del CS son de naturaleza biótica, dirigiéndose las investigaciones hacia el estudio del efecto producido por aplicaciones de diversos fungicidas en la incidencia de enfermedad (Gladders y Crompton, 1984), y al rol desempeñado por *Pythium* sp. en el desarrollo del CS. Se obtienen resultados positivos mediante aplicaciones con metalaxil (Lyshol y col., 1984; Wheatley y col., 1984; Walker, 1988), y se demuestra una asociación entre *Pythium* sp. y CS (White, 1986; Phelps y col., 1991). Siendo varias las especies que se identifican en relación a la enfermedad (Perry, 1984; White y Bloor, 1985; Groom y Perry, 1985; White, 1988; Phelps y col., 1991).

La diversidad de matices que presenta la enfermedad según la zona de estudio, así como la importancia económica del cultivo en nuestra Comunidad, dieron lugar a la realización del presente trabajo en el que se han desarrollado los siguientes objetivos:

1.- Caracterización de los síntomas en diferentes híbridos y cultivares.

2.- Estudio del comportamiento varietal ante la incidencia de la enfermedad, utilizando los híbridos y cultivares más comercializados en la zona de estudio.

3.- Determinación de la etiología del CS en la costa noroeste de Cádiz.

4.- Estudio de la influencia de la repetición del cultivo y de la fecha de siembra en la incidencia de la enfermedad.

5.- Determinación del efecto nutricional en el desarrollo del CS.

6.- Estudio del posible control químico de la enfermedad en función de los agentes causales identificados.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. LA ZANAHORIA.

2.1.1. CLASIFICACION E HISTORIA.

La zanahoria (*Daucus carota* L.), es una planta herbácea, dicotiledónea, que pertenece a la familia de las Umbelíferas.

Su origen botánico parece ser que se localiza en el S.E. de Europa y Afganistán, aunque se han encontrado formas silvestres de este género en el S.O. de Asia, norte de Africa y Norteamérica. Su cultivo fue introducido en China hacia los siglos XIII o XIV y en Japón hacia el XVII (Yamaguchi, 1983). A partir de la forma original y por sucesivas selecciones iniciadas en el siglo XVII, se obtienen las formas actuales (Maroto, 1989).

Hoy en día se pueden encontrar gran número de cultivares, siendo los más apreciados aquellos que presentan raíces de color rojo anaranjadas, diferenciándose una gran variabilidad en función de su longitud:

- Largas, de longitud superior a 20-25 cm
- Semilargas, de longitud entre 15-20 cm
- Semicortas, cuya longitud es de 10-20 cm
- Cortas, de longitud inferior a 10 cm

De este grupo las de mayor aceptación para el mercado fresco son las semilargas. Y para la industria aquellas que tienen raíces de unos 10 cm de longitud y 1-2 cm de diámetro.

En los últimos años se están desarrollando programas de mejora genética de cultivares híbridos con características de mayor productividad, precocidad, homogeneidad de las raíces,

epidermis lisas, brillantes, anaranjadas con lenticelas poco marcadas, supresión del color verdoso del cuello de la raíz, supresión del raquis central blanquecino, hojas fuertes y erguidas que faciliten la recolección mecanizada, resistencia a la subida prematura de la flor, resistencia al reventado de las raíces, resistencia al frío, y principalmente resistencia a las enfermedades que los afectan (Maroto, 1989).

En España, la zanahoria esta presente en los mercados durante todo el año, los diferentes climas peninsulares permiten rotar las siembras. Aún cuando su cultivo se extiende por la mayoría de las zonas hortícolas cabe destacar como más importantes las de Segovia, Toledo, Valencia, Valladolid, Alicante, Madrid y Barcelona, con producciones que abarcan desde el verano hasta finales de invierno, correspondiéndole a Cádiz (Chipiona y Sanlúcar de Barrameda principalmente), Córdoba, Huelva, Málaga y Sevilla el suministro de primavera, que les permite cada año realizar importantes exportaciones a Europa.

Para dar una idea de la importancia económica de esta hortaliza diremos que la superficie de cultivo en España en 1989 fue de 6.594 ha, de las cuales 1.898 ha correspondían a Andalucía, 1.555 ha a Castilla-León, 847 ha a Castilla-La Mancha, 726 ha a la Comunidad Valenciana y 356 ha a Cataluña. (Anuario Estadística Agraria, 1989).

2.1.2. CARACTERISTICAS Y COMPOSICION QUIMICA DE LA PLANTA.

La zanahoria presenta una raíz hipertrofiada, principalmente a base de parénquima cortical. Las raíces de estructura ordinaria son importantes órganos de reserva de la

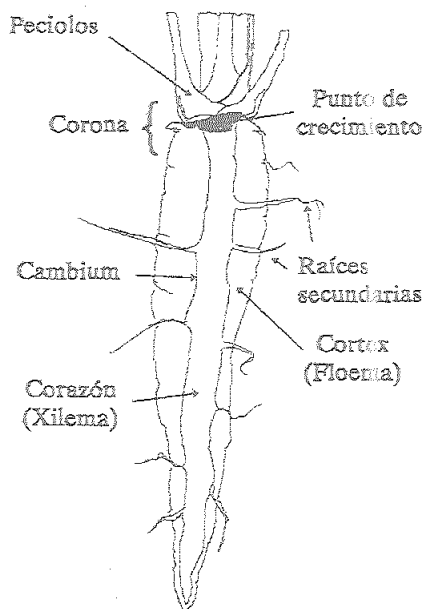


Figura 1. Corte longitudinal de la raíz de la zanahoria (redibujado de Yamaguchi, 1983).

planta; la raíz de la zanahoria se adapta específicamente para esta función mediante distintas peculiaridades de su desarrollo. En ella el hipocótilo y la parte superior de la caliptra después de desprenderse del córtex de manera natural, se vuelven carnosos mediante un desarrollo masivo de parénquima, en el floema y xilema (Easau, 1940). En un corte longitudinal de la raíz, Figura 1, el floema forma una amplia zona que rodea totalmente al xilema, este desarrollo se debe a un engrosamiento secundario en el que el xilema queda en gran parte sin lignificar (Gill y Vear, 1965).

Las formas silvestres del género *Daucus* son plantas anuales, pero la forma cultivada *Daucus carota* es una planta bianual, que durante el primer año de cultivo desarrolla una roseta de hojas doble o triplemente pinnadas con pequeños lóbulos lanceolados y con largos peciolos, que almacena sus reservas en la propia raíz. Durante el segundo año emite el

tallo floral de unos 90 cm de alto y portador de la umbela, el cual se expansiona gracias a las reservas acumuladas en la raíz. Si el cultivo se desarrolla a altas temperaturas (>28 °C) durante un período suficientemente amplio (unos 15 días) la planta florece en el primer año. Esta subida a flor prematura es un accidente fisiológico que deprecia la calidad comercial de la zanahoria, ya que con la floración se produce una rápida lignificación de los tejidos radiculares (Thompson y Kelly, 1957).

COMPOSICION QUIMICA DE LA ZANAHORIA			
Materia seca	11.9 %	Azufre	0.02 %
Materia seca digerible	10.3 %	Magnesio	0.02 %
Proteína	1.2 %	Hierro	0.002 %
Proteína digerible	0.9 %	Manganeso	1.7 mg/lb
Extracto no nitrogenado	8.2 %	Caroteno	48.1 mg/lb
Fibra	1.1 %	Tiamina	0.3 mg/lb
Minerales	1.2 %	Riboflavina	0.3 mg/lb
Calcio	0.05 %	Niacina	6.7 mg/lb
Fósforo	0.04 %	Ac. pantoténico	0.9 mg/lb
Nitrógeno	0.19 %	Ac. fólico	0.29 mg/lb
Potasio	0.25 %	Colina	431 mg/lb
Sodio	0.19 %	Vitamina A activa	80.16 U
Cloro	0.06 %	Trazas de vit. D, E, Biotina	

Tabla 1. Composición química de la zanahoria.
(De Morrison, según Gorini, 1974).

2.1.3. NECESIDADES DEL CULTIVO.

Su consumo es universal y el cultivo se extiende por toda la geografía de la tierra allí donde el clima le es propicio, no teniendo grandes exigencias en este aspecto.

La temperatura óptima de crecimiento esta comprendida entre 16 y 18 °C, jugando un importante papel en el color y tamaño que alcanzan las raíces. Así, una temperatura excesivamente alta (28 °C) repercute en una coloración más clara y en un tamaño más reducido de las mismas; mientras que con temperaturas inferiores (10-14 °C) se obtienen coloraciones pálidas y mayor longitud de las raíces (Laumonnier, 1963).

Posee importantes exigencias de humedad, si se mantiene a condiciones de saturación de agua en el suelo se induce la formación de raíces bifurcadas, ramificadas, alargadas y decoloradas, incrementando estas características con el tiempo de exposición (White y Strandberg, 1979), y en caso de sufrir sequía, se forma sobre el periciclo un retículo fibroso que deprecia el valor de la raíz.

La zanahoria es una planta de día largo, de manera que períodos de luz entre 9 y 14 horas no afectan a su color, pero si éstos se reducen a 7 horas la raíz adquiere un tono más encendido (Yamaguchi, 1983).

En cuanto a tipos de suelos, le son propicios los profundos de textura ligera con un buen contenido en arena. Los compactos y pesados originan raíces fibrosas y endurecidas, de menor peso, diámetro y longitud (Strandberg y White, 1979). Es un cultivo sensible a la salinidad y a la excesiva acidez, y

los suelos alcalinos tampoco son adecuados. Es decir son recomendables suelos de pH entre 5.5-7.0 (Yamaguchi, 1983).

El abonado del cultivo dependerá de los nutrientes disponibles en el suelo; en cuanto a fertilización mineral se aconsejan aportaciones anuales entre 70-120 U.F. de N/ha; 30-300 U.F. P/ha; 0-200 U.F. de K/ha (Messiaen, 1979; Yamaguchi, 1983; Amorós y Amorós, 1984; Maroto, 1989).

2.2. EL "CAVITY SPOT" DE LA ZANAHORIA.

2.2.1. SINTOMATOLOGIA DE LA ENFERMEDAD.

Los síntomas que caracterizan la enfermedad, se manifiestan como cavidades que aparecen en la superficie de la raíz. Bajo la peridermis, el floema secundario sufre un colapso de las células. En principio se observa una lesión que aparece como una pequeña zona hundida, de forma más o menos elíptica extendida a lo largo de la anchura de la raíz, no observándose un marcado cambio de color de la peridermis. Esta, finalmente, se rompe al madurar la raíz, originándose la cavidad propiamente dicha. La peridermis queda, entonces, como un filo irregular o como una franja deshilachada en el fondo de la cavidad. Esta apertura permite que se establezca un contacto de los tejidos con el suelo circundante, facilitando que la cavidad se vea invadida por organismos secundarios que agrandan y profundizan la misma. Como respuesta a esta infección se desarrolla un mecanismo de defensa por parte de la planta, que hace que las cavidades presenten un aspecto acorchado debido al tipo de células desarrolladas, así como un oscurecimiento de las lesiones producido por la necrosis de los tejidos

subyacentes a la cavidad (Guba y col., 1961; Maynard y col., 1961; Perry, 1967 b; Mildenhall y Williams, 1970; Perry y Harrison, 1979 a; Green y Makin, 1985).

2.2.2. DETECCION DE LA ENFERMEDAD Y PRIMEROS ESTUDIOS.

El nombre de CS fue dado por Guba y col. en 1961, para referirse a síntomas observados en chirivías (*Peucedanum sativum* (L.) Benth. (= *Pastinaca sativa* L.)) y zanahorias (*Daucus carota* L.) cultivadas en Massachusetts (EE.UU.). Esta enfermedad afectaba a las raíces y según los autores, no era un problema parasitario sino de origen fisiológico que se caracterizaba por la presencia de cavidades que aparecían en el córtex, bajo la peridermis el tejido colapsaba y el área se decoloraba y pudría por la acción de bacterias y hongos.

Con este nombre diferencian estas lesiones de otros síntomas causados por *Xanthomonas carotae* (Kendrick) Dowson (Ark y Gardner, 1944), así como de las lesiones en forma de "postillas" (scab) descritas por Grogan y col. en 1961.

Sin embargo, la primera referencia a lesiones aparentemente similares a las descritas como CS se remonta a 1936, en un trabajo realizado en California por Ramsey (1937) se describen lesiones que aparecían como cráteres hundidos o cavidades en los tejidos superficiales de la zanahoria, éstas manchas, se decía, eran inusuales y en muchos casos presentaban podredumbre, aislándose de ellas, consistentemente, especies del género *Fusarium*. Este problema fue estudiado de nuevo por Ramsey y Wiant en 1941, observando manchas invadidas por *Fusarium*, y que formaban zonas acorchadas superficialmente, que

de manera ocasional desarrollaban podredumbre y que raramente penetraban en los tejidos, con hundimiento no superior a 30 mm.

En la costa noroeste de Cádiz, el problema se detectó hacia 1972, fecha en la que el cultivo se extiende en esta zona de Andalucía. La primera constancia escrita sobre la enfermedad se debe a López Aranda (1978), en la que hace referencia a sus antecedentes y a la gravedad de su evolución.

En 1979, Tello Marquina establece el paralelismo existente entre el desorden, bautizado desde un principio por los agricultores como "el picado" de la zanahoria y el término "cavity spot" utilizado en la literatura anglosajona.

2.2.3. ESTUDIOS NUTRICIONALES.

A tenor de los estudios de Guba y col. (1961), enfocando el CS como un problema nutricional y climático, y sugiriendo la posibilidad de una curación de las lesiones mediante la fertilización apropiada del suelo y un buen drenaje del mismo, se alienta al estudio de la enfermedad desde la perspectiva de la fisiología de la planta. Esto lleva a que las investigaciones se enfoquen hacia estudios nutricionales, en los que se intenta relacionar la incidencia de CS y la concentración de nutrientes en el medio. Los primeros estudios indican que una deficiencia de Ca^{++} en la planta originada por un bajo nivel del ión en el medio, por una alta concentración de nutrientes, o bien por una excesiva concentración de K^+ , durante la ontogenia de la planta inducen la aparición de la enfermedad (Maynard y col., 1961, 1963).

Mientras que en Estados Unidos se sugiere que el CS está causado por una deficiencia en Ca^{++} debido a una competencia de cationes, en Europa no se confirman estos resultados (Perry, 1967 a, b; Perry y Harrison, 1971, 1977; Scaife y col., 1981, 1983), al igual que ocurre en las investigaciones llevadas a cabo en Australia, donde la enfermedad se registra con los mismos síntomas (Walker, 1988). Tampoco se confirma una relación de la enfermedad con diferentes niveles de N, B, Mn y Mg (Perry y Harrison, 1971).

2.2.4. CONDICIONES EN EL SUELO.

El efecto positivo del ión Ca^{++} se explica no debido a su alta disponibilidad en el medio, sino al hecho de que el uso de yeso como fuente del mismo modifica la estructura del suelo y su permeabilidad (Sharma, 1971). De manera que suelos de pobre estructura, mal drenaje y una alta densidad de plantas favorecen el desarrollo de la enfermedad (Perry y Harrison, 1971, 1979 a). Demostrándose tanto en campo como en ambiente controlado, que manteniendo el suelo a capacidad de campo se induce el desorden, por lo que el estatus de agua en el suelo y la aireación del mismo son factores determinantes en la etiología del problema (Perry y Harrison, 1979 b; Perry, 1982 a, b).

De Kock y col. (1981), observan que el encharcamiento conduce a una pérdida de nitratos del suelo por desnitrificación y lixiviación, forzando a la planta a usar el N-amonio, siendo esta absorción antagonista de la del ión Ca^{++} , de manera que se crea una deficiencia de dicho ión en la planta.

Scaife y col. (1980) obtienen una correlación positiva entre CS y los niveles de amonio del suelo, siendo éstos inusualmente altos. Afirmando que sí las plantas absorben amonio es porque hay una alta concentración del ión en el suelo, más que por una falta de nitratos como proponían De Kock y col. (1981). Las condiciones reductoras originadas por encharcamiento o compactación del suelo producen un aumento de la relación amonio / nitrato, debido a que las bacterias amonificantes son menos sensibles a la anaerobiosis que las nitrificantes. Sin embargo, no encuentran una relación directa entre la fracción amonio/ nitrato y la incidencia del CS. Así mismo, observan una correlación negativa entre la enfermedad y pH del suelo, estando de nuevo la explicación basada en la mayor tolerancia de las bacterias amonificantes a las condiciones de acidez. Los altos niveles de NH_4^+ , limitarían la absorción de Ca^{++} en estas condiciones, como lo confirma la correlación negativa entre el nivel de amonio del suelo y la concentración de Ca^{++} en las raíces de zanahoria.

Jørgensen en 1972, (citado en Scaife y col., 1981), registra valores de 23-28 % de CS en parcelas abonadas con $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$, y de 2-8 % en parcelas abonadas con N en forma de urea. Sin embargo, Perry y Harrison (1979 a) comparan los datos obtenidos en macetas, con abonados de NH_4NO_3 , KNO_3 y K_2SO_4 , indicando que la incidencia del abonado sobre el CS es mínima. En trabajos posteriores, Scaife y col., (1981, 1983) obtienen una gran variabilidad en sus resultados, hecho que no soporta la hipótesis del amonio como responsable del CS.

En cuanto a la relación del CS con el pH los resultados de las investigaciones son variables. Así, para Perry y Harrison (1979 a) y Scaife y col., (1983) la incidencia del CS

es menor en suelos con $\text{pH} < 6.6$. En posteriores estudios, (Perry y Groom, 1984) obtienen resultados opuestos a los anteriores, de manera que, la mayor incidencia de CS se asocia con áreas donde el pH del suelo es < 5.5 y la menor incidencia en aquéllas donde el $\text{pH} > 7$. Estos resultados se ven confirmados con los publicados por White y col. en 1988, los cuales con $\text{pH} > 8$ obtienen zanahorias con poca o ninguna enfermedad. Sin embargo, Vivoda y col. (1991) niegan la existencia de correlación entre altos valores de pH y disminución de CS.

2.2.5. VARIABILIDAD EN LA INCIDENCIA.

La errática distribución del problema incluso en experiencias en macetas, les hace sugerir a Scaife y col. (1983) que éste no tiene una explicación nutricional y que un agente infeccioso debe estar involucrado en su etiología. Esta variabilidad en la incidencia de la enfermedad, se pone de manifiesto en diferentes estudios realizados (Green y Makin, 1985; Gladders y Crompton, 1984; Walker, 1988; Barrau y Romero, 1992).

Finkelstein y col. (1983), afirman que el abonado con N, así como los tratamientos de frío-calor y encharcamiento tienen un efecto mínimo en el desarrollo de la enfermedad, al igual que el tipo de suelo. Con anterioridad, en Inglaterra detectaron el problema tanto en suelos arenosos, como en turba, aunque éste último parecía presentar una mayor incidencia de enfermedad; mientras que en Escocia la enfermedad parecía estar relacionada principalmente con suelos arenosos cercanos a la costa (Perry y Harrison, 1979 a). Estos resultados se corroboran con los presentados por Perry en 1983, en los que

afirma que los tipos de suelo (arenoso, margoso y loess) no tienen un marcado efecto en la formación de las cavidades. Aunque sí parece existir una relación con los métodos culturales utilizados en la preparación del suelo. Este aspecto había sido estudiado por Perry y Harrison (1979 a), observando que los porcentajes de CS eran mayores en raíces cultivadas en campos llanos de suelos compactados, que drenaban mal, con una pobre estructura, una alta densidad de plantas y en los que no se utilizaba un sistema de riego localizado. Reducen significativamente el problema sembrando las zanahorias en líneas, con lo que disminuye la incidencia de las lesiones moderadas y severas, aunque se mantiene la proporción de raíces afectadas, indicando que el efecto del tipo de siembra incide sobre el desarrollo de las lesiones más que en su iniciación. A la vista de estos resultados y con el fin de mejorar la aireación del suelo, siembran las zanahorias en lomos consiguiendo una menor incidencia de la enfermedad (Perry, 1983).

2.2.6. REPETICION DEL CULTIVO.

Un hecho constante en los diferentes trabajos de campo realizados, es que las repeticiones del cultivo en una misma parcela aumentan la severidad de la enfermedad, registrándose datos de incidencia de CS en el primer año del 8 %, y obteniéndose tras un período de tres años de repetición del cultivo entre el 50 y 78 % de enfermedad (Mildenhall y Williams, 1970; White y col., 1984; Tomlinson y Faithfull, 1985; Lyshol y col. 1984; Wheatley y col. 1984; Barrau y Romero, 1992).



En este sentido, se realizaron estudios observándose que intervalos de 1, 2 ó 3 años de rotación no reducen la incidencia del CS (Jørgensen, 1984), mientras que se mantiene a niveles insignificantes introduciendo intervalos de rotación de 6 a 10 años. Sin embargo, también es cierto que la enfermedad se registra en parcelas en las que la zanahoria es cultivada por primera vez (Lyshol, 1981 a, b; Tomlinson y Faithfull, 1984; White y col., 1984; Wheatley y col., 1984). En suelos esterilizados por calor húmedo y en ambiente controlado Guba y col., (1961), observaron una considerable incidencia de lesiones y establecen una diferenciación en el tipo de ellas. De manera que en raíces cultivadas en suelos no estériles, éstas son hundidas y decoloradas, mientras que en suelos estériles aparecen como lesiones superficiales no hundidas.

2.2.7. IMPLICACION DE AGENTES BIOTICOS.

En 1977, Perry y Harrison confirman que un agente biológico está implicado en la etiología del CS, aunque aún desconocen su identidad.

En 1982, Hafidh y Kelly llegan a proponer que es *Bradysia impatiens* Joh., la larva del "gusano de los hongos" el agente causal del CS. El cual controlan mediante tratamientos con el insecticida sistémico Aldicarb (2-metil-3 (metiltio) propionaldehído-0-(metilcarbamoil) oxima).

Mediante experiencias en macetas, mezclando suelo tratado con Bromuro de metilo y suelo no estéril en el que se había desarrollado la enfermedad, White y col., (1984; 1985) demuestran que según aumenta la cantidad de suelo no estéril se produce un incremento en la incidencia del CS, y a su vez una

progresiva disminución del peso medio de las raíces. Este hecho, indicaba que el factor desencadenante de las lesiones se encontraba en el suelo y era de origen biótico.

2.2.8. ANAEROBIOSIS. IMPLICACION BACTERIANA.

La compactación y encharcamiento del suelo así como las temperaturas elevadas pueden favorecer la aparición del CS. De igual modo, la enfermedad es más común en parcelas cultivadas con una alta densidad de plantas, lo cual supone una mayor demanda de oxígeno por unidad de volumen de suelo, las lesiones se inician al elevarse las temperaturas, produciéndose un aumento de la tasa de respiración en el suelo. El estudio de estas razones, llevaron a Perry y Harrison (1977), a concluir que la restricción de la aireación de las raíces, favorecía la iniciación del CS debido al desarrollo de una bacteria anaeróbica pectolítica del género *Clostridium*. Estas bacterias fueron aisladas de las lesiones desarrolladas, y posteriormente, en 1979, los mismos autores, prueban su patogenicidad. En 1982, Perry estudia la distribución y el número de propágulos de *Clostridium* en suelos y raíces, que confirman la existencia de períodos anaeróbicos en este microambiente. Concluyendo que una excesiva irrigación o la siembra en líneas, no afectan consistentemente a las poblaciones de bacterias en suelo o en raíces.

Mediante la inoculación de suspensiones de suelos, corregidas con un 1 % de glucosa, e incubadas anaeróticamente, Perry (1982 b) induce lesiones en raíces de zanahorias similares al CS. Dichas suspensiones de suelo se acidifican después de la incubación anaeróbica y es cuando causan las lesiones. En este trabajo no se consigue determinar los

compuestos tóxicos, pero por analogía con otros previos, se sugiere la presencia de ácidos alifáticos y aromáticos, los cuales son capaces de causar lesiones, pudiendo ser los responsables del colapso del floema secundario dando lugar a síntomas similares a los de CS. En 1983 y 1984, Perry observa que los tejidos de la raíces adyacentes a las lesiones acumulan sustancias fenólicas, las cuales se detectan a las 36 horas en los puntos de inoculación "in vitro" con especies de *Pythium*.

Finkelstein y col., (1983), en un intento de reproducir los síntomas del CS inocularon raíces con 20 tipos diferentes de bacterias, tanto aeróbicas como anaeróbicas aisladas de la rizosfera y superficie de las zanahorias, no consiguiendo su objetivo. Sin embargo, confirman que el estrés hídrico por encharcamiento y temperaturas superiores a 28 °C inducen la formación de cavidades, las cuales comienzan siendo microscópicas y estando libres de bacterias, para posteriormente proliferar en concomitancia con el desarrollo de las cavidades. Este hecho, lo explican diciendo que el estrés a que son sometidas las plantas, origina daños fisiológicos microscópicos en las raíces, los cuales producen un escape considerable de sustancias, azúcares, aminoácidos y minerales que enriquecen la microflora del suelo. Bajo estas condiciones se desarrollan bacterias no específicas, que causan una degradación de los tejidos. Su actividad induce un mecanismo de defensa en la planta para combatir la infección local, originándose manchas negras debidas a la necrosis de los tejidos. Estos resultados son corroborados por Soroker y col., (1984), los cuales inoculando con 40 tipos diferentes de bacterias anaeróbicas y aeróbicas, entre ellas del género *Clostridium*, no consiguen reproducir los síntomas. Si bien por fotomicrografías observan que en las raíces sometidas a

encharcamiento y altas temperaturas se forman grietas microscópicas, cercanas a los puntos de emergencia de las raíces bajo la peridermis, siendo la proliferación de bacterias simultánea a la aparición visible de las cavidades. Comparando extractos libres de células de raíces sanas, con extractos de células de raíces infectadas, observaron que éstas presentaban una alta actividad proteasa y pectinasa específica, así como una significativa alta actividad peroxidasa, polifenoloxidasa y contenido de fenoles totales. Estos resultados completan los presentados por Finkelstein y col., (1983), y confirman el mecanismo de formación de las cavidades, concluyendo que éste es extremadamente complejo y su solución reside en el desarrollo de cultivares de zanahorias resistentes a la enfermedad.

2.2.9. VARIEDADES, HÍBRIDOS Y CULTIVARES.

Diferentes variedades, híbridos y cultivares se han testado con el fin de estudiar su comportamiento ante la enfermedad del CS. En experiencias de campo, en principio parecen observarse diferencias significativas en su respuesta. Sin embargo, en los casos estudiados, a lo largo del cultivo todos son sensibles al CS, no presentando diferencias significativas. Obteniéndose resultados heterogéneos, que sólo permiten hablar de mayor o menor susceptibilidad frente al problema (Guba y col., 1961; Perry, 1967 b; Perry y Harrison, 1971, 1979 a, b; Soroker y col., 1984; Perry y Groom, 1985; White y col., 1987; 1988; Barrau y Romero, 1992).

Mientras que en experiencias en macetas todos los cultivares son igualmente sensibles a la formación del CS, no presentando diferencias en su comportamiento (Perry y Harrison,

1971; Soroker y col., 1984; White y col., 1987; 1988; Vivoda y col., 1991.).

2.2.10. RELACION CON *Rhizoctonia solani* (Kühn).

En 1970, Mildenhall y Williams aislaron *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. de las lesiones típicas de CS. En las inoculaciones llevadas a cabo, los aislados de *Fusarium* no resultaron patogénicos, mientras que las inoculaciones con *Rhizoctonia* reprodujeron los síntomas, si bien esta ocurrencia era relativamente infrecuente y errática. En 1976, Howard y Williams, encuentran evidencias que les llevan a proponer a *Rhizoctonia solani*, como el agente causante del CS. Posteriormente, se confirma que *Rhizoctonia* origina la pudrición de la corona, enfermedad que se conoce con el nombre de "canker" de *Rhizoctonia* en zanahoria. Estableciéndose un acuerdo entre varios autores: Howard, Mildenhall, Perry, Williams, Anderson, Davis y Shehata, para diferenciar esta enfermedad, de la causada por bacterias del género *Clostridium* y denominada CS de la zanahoria (Anderson y col., 1982).

2.2.11. "ROOT DIEBACK" Y "CAVITY SPOT".

En Noruega, Lyshol (1981 a, b), observaron que CS y "root dieback" eran dos enfermedades afectadas por los mismos factores (aumento del abonado con N, alto contenido de agua en suelo y elevadas temperaturas) y ocurrían de forma simultánea en las mismas parcelas. Varios autores (Mildenhall y col., 1971; Sutton, 1975; Kalu y col., 1976), habían considerado que *Pythium* sp. era el agente causal del "root dieback" en zanahorias. Barr y Kemp (1975), sugirieron que *Pythium* sp. junto al virus de la necrosis del tabaco y su vector, *Olpidium*

brassicae Wor., estaban implicados en la etiología del "mohesido" de la raíz de la zanahoria.

2.2.12. ESTUDIOS CON PESTICIDAS.

Continuando con los estudios iniciados en 1981, Lyshol y col. (1984) incluyen una serie de pruebas con fungicidas, insecticidas/nematicidas y micronutrientes. Observando que el metalaxil (metiléster de D,L-N (2,6-dimetilfenil)-N-(2'-metoxiacetil) alanina) reduce ampliamente la incidencia del CS y "root dieback", tanto en campo como en ambiente controlado. Propamocarb (propanil-3-(dimetilamino) propil-carbamato) y fosetil-Al (etilfosfito de aluminio), resultaron eficaces en ambiente controlado, reduciendo ampliamente la incidencia del CS. En cuanto a benomilo (carbamato de metil N-1-(butilcarbamoil)-2-benzimidazol), aldicarb, iprodiona (1-isopropilcarbamoil-3-(3,5-diclorofenil)hidatoína) y compuestos conteniendo Fe, Mn, Cu, Zn, Co, B y Mo, no presentaron efectos significativos en la disminución de la incidencia de la enfermedad. Dichos autores, tampoco encontraron otro tipo de información, que les permitiese establecer una relación entre "root dieback" y CS, y el hecho de que a menudo aparecieran asociadas ambas enfermedades en campo, y que su incidencia se viera reducida con el mismo fungicida no significaba, necesariamente, que estuviera implicado el mismo agente causal o que existiera una relación causal entre ambos desórdenes.

La incertidumbre existente en cuanto a la identificación del agente causal del CS, así como el hecho de su asociación, en diferentes lugares, con el "root dieback" y su relación con *Pythium* sp., conduce a que en los primeros años de la década de los ochenta se inicien ensayos con diferentes fungicidas, con

el fin de observar sus efectos sobre el control de la enfermedad. En este sentido, son varios los autores que mediante aplicaciones de metalaxil consiguen reducir la incidencia del CS (Perry y Groom, 1984; White y col., 1984, 1985; Gladders y Crompton, 1984; Wheatley y col., 1984; Lyshol, 1981; Lyshol y col., 1984; White y Bloor, 1984, 1985; Tomlinson y Faithfull, 1984, 1985; White y Wakeham, 1987; White, 1988; Walker, 1988; Barrau y Romero, 1992). Estos resultados sugirieron que en el desarrollo de los síntomas, debía estar implicado un hongo Oomiceto (Green y Makin, 1985), consiguiéndose finalmente aislar de las lesiones producidas hongos pitiáceos (Perry y Groom, 1984; White y col., 1984; Gladders y Crompton, 1984; Barrau y Romero, 1992).

2.2.13. IDENTIFICACION DE ESPECIES DE *Pythium*.

En relación a la enfermedad del CS son varias las especies de *Pythium* que se identifican. Así, Perry (1984) aisló consistentemente de raíces de zanahorias *P. violae* Chesters & Hickman, el cual mediante inoculaciones en laboratorio induce repetitivamente, la formación de lesiones hundidas. Histoquímicamente se observan hifas que penetran la peridermis y el floema secundario de raíces sanas, así como, acumulaciones de compuestos fenólicos a las 36 horas de haberse efectuado la inoculación. Aunque con menor frecuencia, induce también el desarrollo de las lesiones inoculando con aislados de *P. sylvaticum* Campbell & Hendrix y *P. intermedium* de Bary. Profundizando en el estudio de estos aislados, White y Bloor (1984) realizan inoculaciones en suelos esterilizados con Bromuro de metilo, con las especies aisladas con mayor frecuencia, *P. sylvaticum*, *P. intermedium*, *P. ultimum* Trow, *P. aphanidermatum* Edson y *P. violae*, obteniendo unos porcentajes

de raíces con CS que oscilaron, entre el 0 % en suelos tratados y no inoculados, a 9 % cuando se inoculan con *P. sylvaticum* y 27 % con *P. violae*.

En posteriores estudios (White y col., 1985), observan que el 85 % de las lesiones están asociadas a especies de *Pythium* de crecimiento lento, cuya frecuencia de aislamiento en orden decreciente fue *P. violae* > *P. sulcatum* Pratt & Mitchell > *P. dissotocum* Drechsler > *P. rostratum* Butler. El 12.6 % de las cavidades estaban asociadas a especies de crecimiento rápido *P. intermedium* y *P. sylvaticum*. Mientras el 1.6 % restante correspondía a aislados no identificados. Estos resultados fueron corroborados posteriormente (White, 1988; Phelps y col. 1991), confirmando que las especies de crecimiento rápido son aisladas con mayor frecuencia de peridermis asintomática: *P. sylvaticum*, *P. ultimum* y *P. intermedium*. Mientras que del 85 % de las cavidades aislaron *P. violae* y *P. sulcatum*, especies de crecimiento lento. Así como *P. intermedium*, que fue la única especie de crecimiento rápido, numéricamente significativa, aislada de cavidades.

Los resultados no explican por qué las especies de crecimiento rápido son frecuentemente aisladas de peridermis asintomática, pero infrecuentemente de cavidades. En general, la frecuencia de aislamientos de especies de *Pythium* colonizando tejidos jóvenes es alta, descendiendo conforme madura la planta. Estos autores postularon que el mecanismo de defensa de la planta, evita la infección de las especies de crecimiento rápido, mientras que las especies de crecimiento lento son capaces de realizar un crecimiento progresivo y prolongar el tiempo de aparición de las cavidades, aunque finalmente también se ven afectadas. Así, Perry (1984) consigue

reaislar *P. sylvaticum* y *P. intermedium*, especies de crecimiento rápido, de las lesiones producidas 11 días después de la inoculación, pero no en fechas posteriores. Mientras que tras la inoculación con *P. violae*, especie de crecimiento lento (Groom y Perry, 1985), consiguen reaislar el hongo de las lesiones producidas hasta los 21 días tras la inoculación.

2.2.14. OTROS ORGANISMOS PROPUESTOS COMO AGENTES CAUSALES.

Paralelamente a estas investigaciones que confirman la implicación de *Pythium* sp. en el desarrollo de la enfermedad, se llevan a cabo estudios que descartan la implicación de organismos anteriormente propuestos como posibles agentes causales del CS. En las investigaciones realizadas por Green y Makin (1985) observan que tratamientos con metil-tolclofos (0-2,6-dicloro,p-tolyl 0.0-dimetil fosforotioato), con actividad contra *Rhizoctonia solani*, no consiguen disminuir la incidencia de la enfermedad, lo cual elimina a dicho hongo como responsable de la formación de las cavidades; tampoco resultaron efectivos tratamientos con aldicarb y dieldrin (1R, 4S, 4aS, 5R, 6R, 7S, 8S, 8aR)-1, 2, 3, 4, 10, 10-hexacloro-1, 4, 4a, 5, 6, 7, 8, 8a-octahidro-6, 7-epoxy-1, 4:5, 8-dimetanonaftaleno), por lo que descartan que nematodos o artrópodos estén involucrados en el desorden.

En este mismo sentido, Tomlinson y Faithfull (1984, 1985), realizaron un estudio microscópico de las raíces de zanahorias afectadas por CS, obteniendo correlaciones entre la presencia y ausencia de *Olpidium brassicae* en raíces con/sin CS, en zanahorias recolectadas en 10 áreas de cultivo muy apartadas entre sí. Comprobando que usualmente las raíces laterales de las zanahorias afectadas mostraban esporangios y/o

esporas resistentes del hongo. En 1984, estos autores, no consiguen reproducir los síntomas con los aislados obtenidos. Las plantas inoculadas con *O. brassicae*, mueren en una proporción del 15-20 %. Las infecciones tras la inoculación con zoosporas, fueron controladas con carbendazima (2-(metoxicarbonilamino)-bencimidazol), mientras que los tratamientos con metalaxil no fueron efectivos. Sin embargo, se sabe que en suelos en los que se desarrolla el CS, el efecto de estos dos fungicidas es el opuesto al observado en su caso. Debido a que *O. brassicae* es el vector del virus de la necrosis del tabaco, intentaron aislar éste de las raíces afectadas por CS y de raíces de plántulas inoculadas con el hongo, pero todas las pruebas resultaron negativas. Concluyendo que el mencionado hongo no parece estar implicado directamente en el desarrollo de la enfermedad.

2.2.15. ESTUDIOS SOBRE CONTROL QUIMICO.

Junto al estudio de los agentes implicados en la ocurrencia del CS se desarrollan de forma simultánea, investigaciones para la obtención de un posible control químico mediante aplicaciones de metalaxil, en distintas dosis y formas de aplicación, así como los efectos producidos por otros fungicidas.

En 1984, White y col., estudian la respuesta del CS frente a diferentes tratamientos, realizados en macetas, con metalaxil al 35 % (Apron). Obteniendo un 42 % de CS en el testigo no tratado. Con tratamientos a semillas la incidencia de la enfermedad se redujo al 24.9 %, llegando hasta el 2.7 % de CS si además de los tratamientos a semillas efectuaban pulverizaciones superficiales a la planta con Apron,

obteniendo, en este caso, un incremento en los rendimientos del 200 %. En suelo tratado con Bromuro de metilo y semillas no tratadas obtienen un 1.5 % de CS y un 300 % de aumento de peso en las raíces. Paralelamente muestrean 250 raíces por tratamiento, de cuyos aislados cuantifican especies, no identificadas, de *Pythium* y *Phytophthora*, que valoran como unidades formadoras de colonias (U.F.C.), obteniendo los siguientes resultados: 90 U.F.C./ testigo; 75 U.F.C./ semillas tratadas; 1 U.F.C./ semillas tratadas + pulverizaciones; 1 U.F.C./ Bromuro de metilo.

Wheatley y col. (1984) estudian los efectos del metalaxil y carbofurano (N-metilcarbamato de O,O-dimetilo 2,3-dihidro 7-benzofuralino), en tratamientos simples o en combinación. El primero evitaba las lesiones, aunque su utilización en gel de germinación presenta efectos fitotóxicos, disminuyendo la producción de zanahorias. El tratamiento con carbofurano, no tiene un efecto significativo en la incidencia del CS, aunque incrementa considerablemente los rendimientos, obteniéndose además, raíces muy simétricas y bien coloreadas. En combinación, metalaxil y carbofurano, presentan un efecto complementario, disminuyendo el porcentaje de CS e incrementando la producción de raíces.

Tratamientos con Fubol (metalaxil + mancozeb) (metaxanina, (D,L)-N-(2,6-dimetilfenil) N-(2-metoxiacetil) alaninato de metilo) + (complejo de ión Zn^{++} con 1,2-etilenbis (ditiocarbamato) de manganeso), realizados en 1985 por White y col., dieron un control errático de la enfermedad, oscilando entre 0-100 %. Estos resultados revelan que, si bien la mayoría de los aislamientos son altamente sensibles al metalaxil, algunas especies crecen en concentraciones de 50 y 100 $\mu\text{g/ml}$

del fungicida, aunque concluyen que pudieron estar motivados por deficiencias en la aplicación del tratamiento, más que por el desarrollo de resistencia del patógeno.

White y Wakeham (1987), estudian la respuesta de *P. violae* a diversos fungicidas, observando que los más efectivos son: metalaxil y furalaxil (metil-N-(2,6-dimetilfenil)-N-(2-furanilcarbaril)-DL-alaninato), seguidos en orden decreciente por ofurace (2-cloro N-(2,6 dimetilfenil) N-(2-oxotetrahidrofuran 3-il) acetamida) > oxadixil (2-metoxi N-(2,6-dimetilfenil) N-(2-oxo 3-oxazolidinil) acetamida) > benalaxil + cyprofuran (N-(2,6-dimetilfenil) N-(fenilacetil) DL alaninato de metilo) + (N-(3-clorofenil)-N-(tetrahydro-2-oxo-3-furanil) ciclopropano carboxamida). Obteniendo unos resultados negativos al aplicar estos mismos fungicidas a *P. sulcatum* y *P. dissotocum*, especies poco estudiadas, si bien no existe una clara evidencia que haga suponer una resistencia adquirida por parte de estas especies.

En Australia, Walker (1988) obtiene resultados positivos mediante aplicaciones al suelo, entre la 3ª y 6ª semana después de la siembra, con metalaxil (1.000 g/ha), reduciendo el porcentaje de CS en un 32 %. Dosis de 2.000 g/ha aplicadas entre la 9ª y 12ª semana o repeticiones después de las 6ª semana de la siembra, no tienen un efecto adicional en la disminución de la enfermedad (Lyshol y col., 1984). Pulverizaciones foliares con nitrato cálcico y fosetil-Al, no presentaron un efecto significativo en la incidencia del CS. Mientras que, pulverizaciones foliares con ácido fosfórico, en estado de 5-6 hojas verdaderas, reducen la incidencia del CS en un 78 % e incrementan el peso de las raíces, aunque este efecto sólo lo obtienen en una parcela de las tratadas. Los mejores

resultados conseguidos con el ácido fosfórico, los explican diciendo que el metalaxil aplicado al suelo y captado por las raíces, ejerce un efecto fungistático sobre parte de los propágulos del suelo, mientras que el ácido fosfórico en pulverización foliar es traslocado hacia la raíz protegiéndola de la infección. Este mejor comportamiento, hace pensar en una alternativa al metalaxil, cuyas aplicaciones repetidas pueden originar mecanismos de resistencia (Sanders, 1984).

Los resultados obtenidos con metalaxil + mancozeb, y la confirmación de los hallados por Scaife y col. (1983), en cuanto a pH de suelo, llevaron a White (1988) a sugerir que, a corto plazo, una cosecha de zanahorias con un pH de suelo > 8 , haría innecesarios los tratamientos con fungicidas o éstos podrían ser aplicados a dosis reducidas, presentando un beneficio dual en cuanto a coste económico y desarrollo de una posible resistencia por parte de las especies de *Pythium* al metalaxil. Para ello sería necesario, una aproximación cuantitativa del CS, mediante muestreo de la densidad de población de *P. violae* y *P. sulcatum*, y su relación con los niveles de enfermedad. Tal información, combinada con los datos de pH del suelo servirían para decidir la dosis y fecha de utilización del fungicida.

Sin embargo, la determinación de la densidad de población en suelo de estas especies de crecimiento lento es difícil. En suelos no cultivados (Ho, 1975; Dick y Ali-Shtayeh, 1986) las especies de *Pythium* se encuentran en una alta y variable proporción habiéndose detectado valores que oscilan entre 10 y 3800 propágulos por gramo de suelo (Stanghellini y Hancock, 1970; Ricci y Messiaen, 1976), dependiendo de factores como tipo e historia de suelo, profundidad de muestreo, etc.

La densidad de población de *Pythium* se incrementa considerablemente en suelos cultivados (Hendrick y Campbell, 1973), así como, con la repetición de un cultivo (Plaats-Niterink, 1981). Pero sólo encontramos una referencia de aislamientos de suelo de especies de crecimiento lento, en la que la frecuencia de *Pythium violae*, aunque baja, pudo ser cuantificada (Dick y Ali-Shtayeh, 1986). Mediante diluciones de suelo en los que se desarrollaban zanahorias con CS, Vivoda y col., (1991), aislaron *P. irregulare*, *P. ultimum*, *P. oligandrum* Drechs., *P. aphanidermatum*, *P. spinosum* Sawada, *P. vexans* de Bary, *P. paraecandrum* Drechs. y *P. catenulatum* Matthews, mientras que *P. violae* sólo consiguen aislarla de cavidades. En otros estudios de aislamientos mediante diluciones de suelo, también se han obtenido únicamente especies denominadas de crecimiento rápido, las cuales impedían el aislamiento y cuantificación de especies de crecimiento lento, tales como *Pythium violae*, cuya concentración de inóculo y distribución en el suelo pueden estudiarse, sólo mediante estimaciones indirectas (White, citado en Phelps y col., 1991). Al estudiar la frecuencia de distribución de las cavidades Phelps y col. (1991) observaron que éstas tienden a darse por grupos en cada raíz, postulando que su distribución respondía a dos orígenes, la fuente de inóculo en el suelo y la probabilidad de producirse una lesión a partir de otra.

Actualmente, *P. violae* está considerado como el agente causal del CS (Montfort y Rouxel, 1988; White, 1989; Vivoda y col., 1991), mientras que una pequeña proporción de la enfermedad estaría asociada a *P. sulcatum* (White, 1989) y *P. ultimum* (Vivoda y col., 1991). Sin embargo, se sabe que estas especies de *Pythium* son muy limitadas en suelo (Plaats-Niterink, 1981; Groom y Perry, 1985), y la naturaleza de la

asociación entre el patógeno y la planta huésped, durante la ontogenia de ésta, con relación al desarrollo de las lesiones de CS, aún no ha sido establecida (Phelps y col., 1991). En la estrategia de control para la reducción de la incidencia del CS, sería necesario profundizar en el conocimiento de los ciclos de vida de las especies patógenas, la naturaleza de la supervivencia de sus propágulos en suelo y el mecanismo de infección a la planta (Vivoda y col., 1991).



3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. SINTOMATOLOGIA Y CARACTERIZACION DEL CS.

3.1.1. EXPERIENCIAS DE CAMPO.

El estudio de la sintomatología del CS, así como la caracterización de la enfermedad, se llevó a cabo mediante experiencias de campo que se realizaron durante dos años consecutivos en la finca del Centro de Capacitación y Experimentación Agraria de Chipiona (Cádiz); en suelos en los que al menos se había repetido el cultivo durante 10 años, alternando con patata (*Solanum tuberosum* L.) y remolacha (*Beta vulgaris* L.) de mesa, y donde se había detectado CS con anterioridad. En una superficie de 1300 m² se constituyeron parcelas elementales de 24 m², formadas por 4 lomos de 0.6 m de anchura separados 0.4 m, con 2 líneas de siembra cada uno de ellos.

Se testaron 13 de los híbridos y cultivares más comercializados en la zona: Almaro, Tam-Tam, Bingo, Jaguar, Nantesa Tip-Top, Nantes-Nanthya, Tamino, Clairon, Tourino, Nantes-Forto, Banjo, Anglia y Rondino.

La siembra se realizó entre el 10-15 de noviembre con una sembradora manual de precisión modelo Mininivex, estableciéndose una dosis de 120-140 semillas/m lineal. Una vez finalizada se instaló el riego por aspersión, que se mantendría hasta la emergencia de las plántulas, fecha en la que se continuó con riego localizado. El control del agua aportada a la parcela, se realizó mediante la información cuantitativa dada por un tanque de evaporación, cuyo volumen total evaporado multiplicado por el coeficiente de cultivo, calculado a partir de datos obtenidos en experiencias anteriores, el cual varia

según las necesidades del cultivo en función del desarrollo vegetativo de la planta, permite conocer la dosis de riego teórica, que era repuesta cada 3-4 días según la información cualitativa del estado hídrico de los 30 cm superiores del suelo, obtenida mediante la instalación de tensiómetros en las parcelas a diferentes profundidades, y cuyas lecturas combinadas nos permitió conocer el desplazamiento del riego en profundidad y con ello la eficacia de la dosis de riego utilizada.

El diseño experimental utilizado fue el de bloques completos al azar con 4 repeticiones.

3.1.2. MUESTRAS DE PLANTAS.

Las tomas de muestras comenzaron cuando las plantas presentaban el primer par de hojas verdaderas y continuaron con una periodicidad mensual hasta la recolección.

De los lomos centrales de cada parcela elemental se tomaron cinco plantas al azar, lo que supuso un total de 20 plantas por híbrido y cultivar en cada muestreo realizado.

Los datos de producción media, en Kg/m^2 , se obtuvieron del peso de las raíces cosechadas en los lomos exteriores de cada parcela elemental, en los cuales no se habían realizado muestreos de plantas, hallándose la media obtenida para las cuatro repeticiones por cada híbrido y cultivar.

3.1.3. VALORACION DE LA ENFERMEDAD.

En la descripción de los síntomas y medida de la severidad de la enfermedad, se consideraron las siguientes características y parámetros por raíz muestreada: número, localización y dimensiones de las lesiones, color y forma de las mismas. Así mismo se observó si éstas eran hundidas / con / sin cavidad, clasificándolas según las dimensiones de su eje mayor (Perry y Harrison, 1979 a).

- LEVES < 5 mm
- MODERADAS 5 - 20 mm
- SEVERAS > 20 mm

El desarrollo de la planta se determinó mediante longitud y grosor de la raíz, y número de hojas de la planta, estableciéndose los diferentes estadios de acuerdo con la Figura 2 (Easau, 1940). Correspondiéndose el estadio A con la presencia de hojas cotiledóneas; estadio B con la presencia de hojas verdaderas; el estadio C se corresponde con el comienzo de la ruptura del córtex en la base de la raíz; en el estadio D la ruptura del córtex llega hasta el hipocótilo; el estadio E se reconoce por una pérdida de raicillas secundarias y la aparición del color anaranjado. A partir de esta fase se produce el engrosamiento del hipocótilo y la raíz, de manera que los diferentes estadios están marcados por las dimensiones de su diámetro. Así para el estadio F alcanzará hasta 0.5 cm; en el G entre 0.5 y 1.0 cm; para el estadio H entre 1.0 y 2.0 cm; y para el I más de 2.0 cm.



Figura 2. Estadios de desarrollo de la zanahoria. Tomado de Easau (1940).

3.2. IMPLICACION DE AGENTES BIOTICOS.

La implicación de agentes bióticos en el CS de la zanahoria, se determinó en invernadero, utilizando suelos procedentes de parcelas donde se había detectado la enfermedad, que fueron esterilizados mediante calor húmedo en autoclave a 120 °C y 1 atm de presión durante dos horas no consecutivas.

La experiencia se repitió cuatro veces, y en cada una de ellas se utilizaron 15 macetas de 25 x 30 cm de diámetro, por cada tratamiento: Suelo estéril (SE) y suelo no estéril (SNE), a razón de 4 semillas por maceta del cultivar Nantesa Tip-Top. Cada tratamiento se distribuyó al azar, manteniéndose las macetas a una temperatura de 24 ± 4 °C, regándose periódicamente con agua destilada.

A los cuatro meses de la siembra se extrajeron las raíces para determinar la presencia/ausencia de cavidades en ellas.

3.3. AISLAMIENTOS DE TEJIDOS SINTOMATICOS.

Una vez descritas las lesiones y con el fin de identificar los posibles agentes etiológicos existentes en la zona e implicados en el CS de la zanahoria, se realizaron cortes de los tejidos sintomáticos de unos 2 mm, se introdujeron en hipoclorito sódico al 0.5 % durante 30 segundos y se lavaron con agua destilada estéril, disponiéndose a continuación en diferentes medios de cultivo PDA (Agar patata dextrosa), CMA (Agar harina de maíz), APZ (Agar patata zanahoria) y AV₈ (Agar 8 vegetales) (Tuite, 1969).

Las placas se incubaron en oscuridad a $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Las colonias desarrolladas se repicaron en CMA para su identificación. Las especies obtenidas fueron determinadas por sus características morfológicas (Waterhouse, 1967; Waterhouse, 1968; C.M.I., 1978; Plaats-Niterink, 1986).

3.4 AISLAMIENTOS DE SUELO.

La recogida de muestras de suelo se llevó a cabo mediante una sonda vertical graduada. Tomándose dos puntos por cada parcela elemental. Las profundidades de muestreo fueron de 0-10, 10-20, 20-30, 30-40 cm y las tomas se realizaron coincidiendo con las recogidas de material vegetal.

Las muestras se dejaron secar en el laboratorio a temperatura ambiente, tamizándose a continuación con una criba de malla de 2 mm (Anónimo, 1986).

Los aislamientos de suelo después de la observación de las colonias, fueron considerados para la detección de la presencia de *Pythium* sp. y su variación en función de los diferentes tratamientos, para lo cual se utilizó el método de Jeffers y Martin (1986).

El medio utilizado fue P₁ARP, con la siguiente composición por litro de agua destilada:

- Agar harina de maíz	17 g
- Pimaricina	5 mg
- Ampicilina sódica	250 mg
- Rifampicina	10 mg
- Pentacloronitrobenceno	100 mg

Los antibióticos se disolvieron en 3 ml de Dimetilsulfóxido antes de añadirlos al medio base autoclavado durante 20 min. a 120 °C y enfriado a 43 °C en baño termostaticado (Tsao, 1983).

Las suspensiones de suelo se realizaron en agar-agua 0.2% (Tsao, 1983), añadiéndose a cada placa 1 ml de suspensión, que se disperso por la superficie del medio mediante un asa de vidrio estéril. Por cada parcela elemental y profundidad se emplearon 5 placas, que se mantuvieron en estufa a 24°C ± 1°C durante 48 horas. Pasado este período, el medio de las placas se lavó con agua destilada y llevándose a la estufa 24 horas más para contabilizar a continuación el número de colonias de *Pythium* sp. Los resultados se expresaron como número de propágulos del hongo por gramo de suelo (NPP/g de suelo).

Las placas fueron observadas a microscopio periódicamente y replicadas sus colonias para la identificación de las especies en CMA.

3.5. INCIDENCIA Y DISTRIBUCION DEL CS EN LA COSTA NOROESTE DE CADIZ.

Con el fin de determinar la incidencia y distribución del CS de la zanahoria, se visitaron desde 1989-1991, ambos inclusive, 69 campos de cultivo que supusieron un total de 47 ha. en la provincia de Cádiz (Chipiona, Sanlúcar de Barrameda, Rota y Puerto de Santa María).

Las prospecciones de las parcelas se llevaron a cabo con ayuda de técnicos del Servicio de Extensión Agraria, distando las parcelas, al menos, 300 m entre sí. Las visitas se

efectuaron en diferentes estadios de desarrollo, a partir de los 20 días después del nacimiento de las plántulas, en ellas se tomaron muestras de suelo, agua y plantas, para lo cual se han considerado los siguientes tipos de parcelas según su extensión:

A:	hasta	2.000 m ²
B:		5.000 m ²
C:		10.000 m ²
D:	más de	10.000 m ²

Siendo la metodología seguida:

- Los muestreos de plantas se realizaron: situándose aproximadamente en el centro de la parcela y en diagonal y hacia la parte más larga de la misma, se contaban 6 líneas de siembra o 3 lomos de dos líneas, en el cuarto y consecutivamente se tomaron las plantas de un mismo línea dirigiéndonos hacia la parte más ancha de la parcela.

El número de plantas varió según el tipo de parcela:

A :	20 plantas.
B :	40 plantas.
C :	60 plantas.
D :	80 plantas.

- Las muestras de suelo se obtuvieron del centro, aproximado, de la parcela mediante una sonda vertical graduada, a las profundidades de: 0-10, 10-20, 20-30 y 30-40 cm Los puntos de muestreos se distanciaron entre sí 10 m , variando su número con la superficie:

- A : 3 puntos de muestreo.
- B : 4 puntos de muestreo.
- C : 5 puntos de muestreo.
- D : 6 puntos de muestreo.

- Las muestras de agua se tomaron de la salida del pozo, después de que éste hubiera funcionado durante una hora al menos, y de la salida de los goteros. Midiéndose en ellas pH y conductividad eléctrica.

En cada campo visitado se constataron una serie de informaciones que recogimos en la correspondiente ficha fitopatológica y que fueron: superficie de la finca; superficie de la parcela cultivada; localidad; fecha, densidad y forma de siembra; nº de líneas por lomo; procedencia, tratamiento y tipo de semilla utilizada; orientación de la parcela; tratamientos pre-postsiembra realizados y forma de aplicación; abonados pre-postsiembra y forma de aplicación; sistema de riego; producción media anterior de la parcela, cuando procedía; nº de veces que se repite el cultivo en la finca y en la parcela; estado fenológico de la planta; distribución de los síntomas en la parcela, en cuyo caso, se tomarían muestras de planta y suelo de los lugares donde se detectan y no se detectan los síntomas; observaciones del agricultor en cuanto al CS; síntomas en parte aérea y subterránea.

3.6. EFECTO NUTRICIONAL.

3.6.1. EXPERIENCIA EN AMBIENTE CONTROLADO.

A fin de establecer un aporte nutricional adecuado para la planta, se llevó a cabo en invernadero una experiencia en macetas, en las que se observó el desarrollo de plantas de zanahorias en suelo artificial (50 % perlita + 50 % vermiculita), sustentadas por dos tipos de soluciones nutritivas (Blankendaal y col., 1972):

Solución 1 (S₁): Hoagland y Arnon (1938).

Solución madre macronutrientes.

K ₂ PO ₄	136.1 g/l
KNO ₃	101.1 g/l
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	236.2 g/l
MgSO ₄ ·7H ₂ O	246.5 g/l

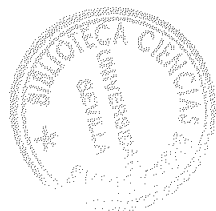
Solución madre micronutrientes (en 1 l. agua destilada).

H ₃ BO ₃	2.50 g/l
ZnCl ₂	0.50 g/l
CuCl ₂ ·H ₂ O	0.05 g/l
MoO ₃	0.05 g/l
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.50 g/l

Solución Fe 167 g Sandofer (6 % p/p)/1 l. agua destilada.

Solución nutritiva. (ml/1 l. agua destilada).

K ₂ PO ₄	1.0 ml
KNO ₃	5.0 ml
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	5.0 ml
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2.0 ml
Fe	1.0 ml
micronutrientes	1.0 ml



Solución 2 (S₂): Arnon y Hoagland modificada (1940).

Solución madre macronutrientes.

KNO ₃	127.5 g/750 cc
Ca(NO ₃) ₂	148.0 g/750 cc
NH ₄ H ₂ PO ₄	167.0 g/750 cc
MgSO ₄ ·7H ₂ O	147.5 g/750 cc

Solución madre micronutrientes (en 1 l. agua destilada).

BO ₃ H ₃	2.86 g/l.
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.81 g/l.
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.08 g/l.
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.22 g/l.
MnO ₂	0.09 g/l.

Solución Fe 167 g Sandofer (6 % p/p)/1 l. agua destilada).

Solución nutritiva (ml/1 l. agua destilada).

KNO ₃	6.0 ml
Ca(NO ₃) ₂	3.0 ml
NH ₄ H ₂ PO ₄	1.5 ml
MgSO ₄ ·7H ₂ O	3.0 ml
micronutrientes	1.0 ml
Fe	1.0 ml

Se sembraron 60 macetas, (20 macetas S₁, 20 macetas S₂, 20 macetas testigo), de 25 x 30 cm, depositando en cada una de ellas tres semillas del cultivar Nantesa Tip-Top por maceta. El aporte de solución nutritiva, se realizó de forma semanal en 30 de las macetas y cada 10 días en las 30 restantes. Se mantuvieron a una temperatura de 23-25 °C, regándose periódicamente con agua destilada.

Se observó el desarrollo de la planta cada 2-3 días, y transcurridos tres meses de la siembra se extrajeron las raíces

constatándose las diferencias fenológicas existentes entre las raíces de los distintos tratamientos, según el criterio establecido por Easau (1940) para determinar los estadios de desarrollo de la planta, y expuesto, anteriormente, en el Apartado 3.1.3.

3.6.2. EXPERIENCIAS EN CAMPO.

Durante tres años consecutivos se han llevado a cabo en el Centro de Capacitación y Experimentación Agraria de Chipiona (Cádiz), experiencias encaminadas a establecer una posible relación entre la incidencia del CS de la zanahoria y los aportes nutricionales a la planta. Para ello, se han utilizado dos parcelas experimentales de 1500 m² cada una (1a y 2a experiencias), en las que se habían cultivado zanahorias con anterioridad, alternando con otros cultivos, y donde se había detectado la enfermedad. Las parcelas elementales de 28 m², estuvieron constituidas por cuatro lomos con dos líneas de siembra cada uno de ellos. Considerándose sólo los dos lomos centrales en la toma de los datos.

La siembra se efectuó el 20 de Noviembre mediante una sembradora de precisión, regulada a 120/140 semillas/m lineal del cultivar Nantesa Tip-Top. Con anterioridad a la siembra las parcelas habían permanecido en descanso y sin sufrir tratamientos químicos.

El diseño estadístico fue el de bloques completos al azar con 4 repeticiones, cada uno con 7 parcelas unitarias en las que se establecieron 7 abonados diferenciales. De acuerdo con los resultados obtenidos en 4.6.1., se tomaron los macronutrientes, así como el micronutriente en mayor proporción

(H_3BO_3) de la solución nutritiva S_1 (en Apartado 3.6.1.), al objeto de poder establecer una posible relación de la incidencia de síntomas con la presencia/ausencia en el abonado de los siguientes elementos Ca, Mg, K, P y B.

Los requerimientos básicos de cada uno de ellos, se obtuvieron extrapolando las proporciones en las que se encontraban en la solución y teniendo en cuenta las condiciones dadas en el campo, en el que encontramos un suelo arenoso, con una porosidad considerada del 40 %, y en el que se pretendía mantener una humedad relativa, aproximada, del 20 - 30%.

Ca	3.60	g/m ²	
K	4.30	g/m ²	(5.16 g/m ² K ₂ O)
P	0.57	g/m ²	(1.31 g/m ² P ₂ O ₅)
Mg	0.891	g/m ²	
B	0.0081	g/m ²	

Estos elementos fueron aportados bajo las siguientes formulaciones: $(NO_3)_2Ca$, NO_3K , PO_4H_3 , SO_4Mg y BO_3H_3 . Considerando los siguientes tratamientos:

T	testigo (sin tratamiento)
T ₁	T. completo
T ₂	T. completo menos PO_4H_3
T ₃	T. completo menos NO_3K
T ₄	T. completo menos $Ca(NO_3)_2$
T ₅	T. completo menos $MgSO_4$
T ₆	T. completo menos BO_3H_3

La aportación de estos abonos se realizó mediante el sistema de riego localizado por goteo, el cual se instaló en la parcela al presentar las plantas el primer par de hojas verdaderas. Se contó con un tanque de abonado de una capacidad de 50 litros, que recibía el agua filtrada y decantada

procedente de un hidrociclón, y la enviaba hacia un sistema central de válvulas independientes para cada uno de los tratamientos, conectadas a su vez con siete tuberías madres, las cuales disponían de un caudalímetro independiente. Las aportaciones de abonados se repitieron tres veces a lo largo del cultivo: cuando aparece el primer par de hojas verdaderas, un mes antes de la recolección y en una fecha intermedia a las dos anteriores, coincidiendo con un estadio medio de desarrollo de la planta.

Las tomas de muestras de plantas se efectuaron a los 10 días de cada aportación de nutrientes y al final de cosecha, siguiéndose los métodos ya descritos en los Apartados 3.1.2 y 3.1.3.. Así mismo, se realizaron aislamientos de los tejidos sintomáticos, muestreos y aislamientos de suelo, cuyos métodos están recogidos en los Apartados 3.3. y 3.4. Se tomaron datos de pluviometría y temperaturas, facilitados por la estación metereológica existente en la finca, así como de los pluviómetros instalados en cuatro puntos de la parcela.

3.7. INFLUENCIA DE LA FECHA DE SIEMBRA.

Para el estudio de la influencia de la fecha de siembra en la incidencia de la enfermedad, se plantearon dos experiencias simultáneas llevadas a cabo durante cinco años consecutivos, en la finca del Centro de Capacitación y Experimentación Agraria de Chipiona (Cádiz), considerándose dos momentos diferentes de siembra, el 10-15 de Noviembre y el 10-15 de Diciembre.

En todos los casos se utilizaron 120 semillas/m lineal del cultivar Nantesa Tip-Top, siguiéndose los métodos culturales y de siembra ya descritos en el Apartado 3.1.1. Los procesos de muestreos de plantas y características y parámetros considerados se realizaron como en los Apartados 3.1.3. y 3.1.4.. Así mismo, los aislamientos de tejidos sintomáticos, muestreos y aislamientos de suelos se efectuaron, según los métodos descritos en los Apartados 3.3 y 3.4..

3.8. CONTROL QUIMICO DEL CS DE LA ZANAHORIA.

3.8.1. FUNGOTOXICIDAD "IN VITRO".

Con las especies de *Pythium* y *Sclerotium* aisladas de los tejidos sintomáticos se llevaron a cabo pruebas de fungotoxicidad "in vitro" para determinar los productos que pudieran ofrecer un control. Utilizándose en una primera fase las concentraciones de 0, 1, 10, 20, 30, 40 y 50 ppm de los siguientes fungicidas: Fosetyl-Al (Aliette 80 %), Metil-tolclofos (Rizolex 50 %), Dicloran (Fubotran 75 % pp.), Metalaxil (Ridomil 5 %), Iprodiona (Rovral 50 %) Carbendazima (Kemdazin 50 %), Metalaxil (Apron 35 %) y Vinclozolina (Ronilan 50 %). Una vez conocidos los intervalos bajo los cuales se producía inhibición del desarrollo, se tomaron dosis comprendidas entre los mismos al objeto de poder establecer la concentración de producto a la cual se originaba inhibición total del desarrollo. Los fungicidas en disolución acuosa estéril, se añadieron al medio PDA licuado a 45°C, que después de agitado se vertió en placas de Petri a razón de 10 cm¹ de medio, utilizando cinco repeticiones por fungicida y dosis.

Se tomaron cilindros de 0.5 cm de diámetro, de los bordes de las colonias, que previamente se habían desarrollado durante cinco días a $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, y se dispusieron en las placas de los fungicidas a testar. Se llevaron de nuevo a estufa, midiéndose la velocidad de crecimiento del hongo, tomando los diámetros transversales de las colonias y comparándolas con el crecimiento del testigo cuyo medio no contenía fungicidas. Cuando éste ocupó la totalidad de la placa se dejó de medir.

3.8.2. FITOTOXICIDAD EN SEMILLAS.

Para establecer un posible control químico de la enfermedad mediante tratamientos fúngicos a semillas, se llevó a cabo el siguiente experimento.

Semillas del cultivar Nantesa Tip-Top se sometieron a tratamientos por inmersión durante 5 minutos, en soluciones de agua estéril con Dicloran 75% (Fubotran), metil-tolclofos 50% (Rizolex) y metalaxil 35% (Apron), a las dosis de 0.5, 1, 1.5, 2 y 2.5 g m.a./kg semilla.

Una vez secas, se sembraron 30 semillas, por tratamiento, en bandejas con suelo procedente campos infestados, esterilizado por calor húmedo en autoclave, según lo descrito en el Apartado 3.2.. Así mismo, se sembraron 30 semillas no tratadas por cada fungicida, que sirvieron como control.

Estas bandejas se dispusieron en cámara de ambiente controlado a temperatura de $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y fotoperíodo de 14 horas de luz, bajo una radiación de $500\text{ microeinsteins}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sg}^{-1}$.

Se cuantificaron las plántulas emergidas a los 6 y 10 días de la siembra, comparándolas con el testigo.

3.8.3. EXPERIENCIAS EN AMBIENTE CONTROLADO.

El efecto de los fungicidas fue estudiado en invernadero, siguiendo los tratamientos descritos en el subapartado 3.8.3.1., repitiéndose la experiencia en dos ocasiones.

Para ello, se utilizó suelo arenoso procedente de Chipiona. Los tratamientos se realizaron tanto en SNE, como en SE, tal como se describe en el Apartado 3.2. Para cada tratamiento se utilizaron 15 macetas de 25 x 30 cm, distribuidas al azar, a razón de 4 semillas por maceta, que se mantuvieron a temperatura de 24 ± 4 °C y se regaron periódicamente con agua destilada.

A los cuatro meses de la siembra, se extrajeron las raíces, en las que se cuantificó la presencia o no de CS, realizándose mediciones y aislamientos de las lesiones, como se describen en los Apartados 3.1.3. y 3.3. respectivamente.

3.8.3.1. TRATAMIENTOS.

Se consideraron tres clases de tratamientos, a semillas, suelos y plantas.

Los tratamientos a semillas incluían:

- Semilla no tratada.
- Semilla tratada comercialmente con Thiram (TMTD) (disulfuro de bis(N,N- dimetiltiocarbamoilo).

- Semilla tratada con metalaxil 35 % (Apron), como se describe en el Apartado 3.8.2., a las dosis de:

1.25 g ma/50 g semilla.

2.50 g ma/50 g semilla.

5.00 g ma/50 g semilla.

Los tratamientos a suelo, se aplicaron en dos momentos diferentes:

- Antes de la siembra, mediante incorporación directa al suelo de metalaxil 5% (Ridomil 5G):

1.75 g ma/m²

3.50 g ma/m²

7.00 g ma/m²

- Después de la siembra, con metil-tolclofos 50 % (Rizolex) en disolución acuosa y mediante pulverización al suelo con una presión constante de 3 atmósferas.

5 kg/ha

10 kg/ha

15 kg/ha

Los tratamientos a plantas se realizaron con etil fosfito de aluminio (Aliette 80 %) en disolución acuosa, cuando éstas presentaban el primer par de hojas verdaderas, mediante pulverizaciones a la planta a una presión constante de 3 atmósferas:

150 g/100 l

250 g/100 l

300 g/100 l

3.8.4. EXPERIENCIAS DE CAMPO.

En el estudio en campo de la efectividad de los fungicidas testados, en el control del OS de la zanahoria, se consideraron dos fincas en la provincia de Cádiz, en las cuales se había detectado la enfermedad con anterioridad, la finca Nueva California (NC) y la del Centro de Capacitación y Experimentación Agraria de Chipiona (Esc.), donde se llevaron a cabo los experimentos durante dos años consecutivos, siguiendo los mismos tratamientos que en invernadero, tal como se describe en el subapartado 3.8.3.1..

En ambas experiencias se utilizaron semillas del cultivar Nantesa Tip-Top, la siembra se realizó entre el 10-15 Noviembre, siguiendo el mismo procedimiento que en el Apartado 3.1.1.

El diseño experimental fue el de bloques completos al azar con 4 repeticiones, en cada una de las cuales estaban representados los 14 tratamientos, considerándose como testigo las parcelas sembradas con semillas no tratadas y las tratadas comercialmente con thiram (TMTD) respectivamente. Siendo las dimensiones y distribución de las parcelas elementales análogas a las descritas en el Apartado 3.1.1..

Los procesos de muestreo de plantas, toma de datos, aislamientos de tejidos y muestras de suelo se realizaron como en los Apartados 3.1.2., 3.1.3., 3.3. y 3.4..

3.9. EFECTO DE LA REPETICION DEL CULTIVO.

Con el fin de conocer la posible influencia de la repetición del cultivo en la incidencia de la enfermedad, se ha constatado el número de veces que éste se repetía en cada uno de los campos visitados; así como en las parcelas utilizadas en las experiencias de campo realizadas, relacionándolo con la incidencia de enfermedad detectada cada año, constatando como influye sobre la densidad de población de *Pythium* en suelo.

3.10. CAPACIDAD PATOGENICA DE LOS AISLADOS.

Las diferentes especies aisladas de cavidades, e identificadas por sus características morfológicas (Apartado 4.3.), fueron cultivadas en CMA a $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ en cámara de crecimiento y oscuridad.

Zanahorias del cultivar Nantesa Top-Top, se cultivaron en suelo esterilizado, según se describe en el Apartado 3.2.; después de un período de crecimiento de dos meses, se extrajeron las raíces, que fueron lavadas con agua destilada y a las que se les retiró la parte aérea. Veinticinco raíces por cada especie testada fueron colocadas en bandejas de plástico, sobre papel de filtro húmedo a saturación, y veinte de ellas inoculadas mediante discos de 5 mm de CMA con el hongo en crecimiento activo. Las inoculaciones se realizaron sobre la superficie intacta de la raíz y sobre heridas superficiales realizadas con bisturí estéril sobre la peridermis, se consideraron dos puntos de inoculación por raíz, localizados en el tercio superior y medio de la misma. Como control se utilizaron cinco raíces con discos de CMA sin hongo. Las

bandejas fueron selladas con plástico transparente e incubadas en condiciones de humedad, en oscuridad a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ en cámara de crecimiento. Las raíces fueron examinadas diariamente, a partir del segundo día de la inoculación y durante dos semanas, para determinar el número de discos asociados a posibles lesiones.

3.11. ANALISIS ESTADISTICOS.

El tratamiento estadístico de los datos se ha realizado mediante análisis de la varianza con una o dos fuentes de variación y multifactoriales. La significación de los valores de la prueba F se han expresado de la siguiente forma: no significativo (NS), significativo al 95 % (*) y significativo al 99 % (**). En los casos en los que el valor de F resultó significativo, el análisis de la varianza se completó con el cálculo de la mínima diferencia significativa (MDS).

Para muestras con un gran número de observaciones, los datos se expresaron mediante tablas de frecuencia y la asociación entre sus datos se determinó mediante un χ^2 .

La significación entre medias muestrales se determinó aplicando la prueba t de Student, para diferencias entre medias de dos muestras pequeñas.

Los datos expresados como porcentajes fueron previamente transformados mediante la transformación angular, en los casos en que existen valores iguales a cero la transformación utilizada fue la raíz cuadrada y la transformación logarítmica para los números enteros positivos que cubren un amplio intervalo.



4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. SINTOMATOLOGIA Y CARACTERIZACION DEL CS.

Los primeros síntomas del CS se observaron cuando las plantas presentaban un desarrollo fenológico (Figura 2), que se correspondía con el estadio B-C, coincidiendo con lo observado por Montfort y Rouxel (1988). Aparecen como pequeñas decoloraciones de la peridermis (Figura 3), a veces como manchas elípticas anaranjadas, extendidas a lo ancho de la raíz con peridermis hundida, sin observarse en ningún caso rotura de la misma (Figuras 4 y 5).

Los síntomas se observaron a partir de los 45 días de la siembra, localizándose el 75 % de ellos en el tercio superior de la raíz y el resto en el central. Tal como puede observarse en la Figura 6, las bajas temperaturas, con mínimas inferiores a 5 °C y escasas precipitaciones, por debajo de 25 l/m², recogidas tras la siembra en 1991, retrasaron tanto la emergencia de las plántulas como su posterior desarrollo, de manera que el estadio B-C se alcanzó dos semanas más tarde con respecto al año anterior, retraso que sufre también la aparición de síntomas; aunque cuando se manifiestan lo hacen con mayor severidad, observándose un 71.4 % de lesiones leves y 28.6 % moderadas, mientras que en el año 90 el 100 % de las lesiones fueron leves.

En cuanto a la respuesta varietal, en esta primera fase de aparición de síntomas, se apreciaron diferencias significativas entre híbridos y cultivares para ambos años. En 1990 (Figura 7), la incidencia de enfermedad osciló entre el 0 y 15 %; mientras que en 1991 (Figura 8), todos los híbridos y cultivares se vieron afectados, variando su incidencia entre el 5 y 35 %.

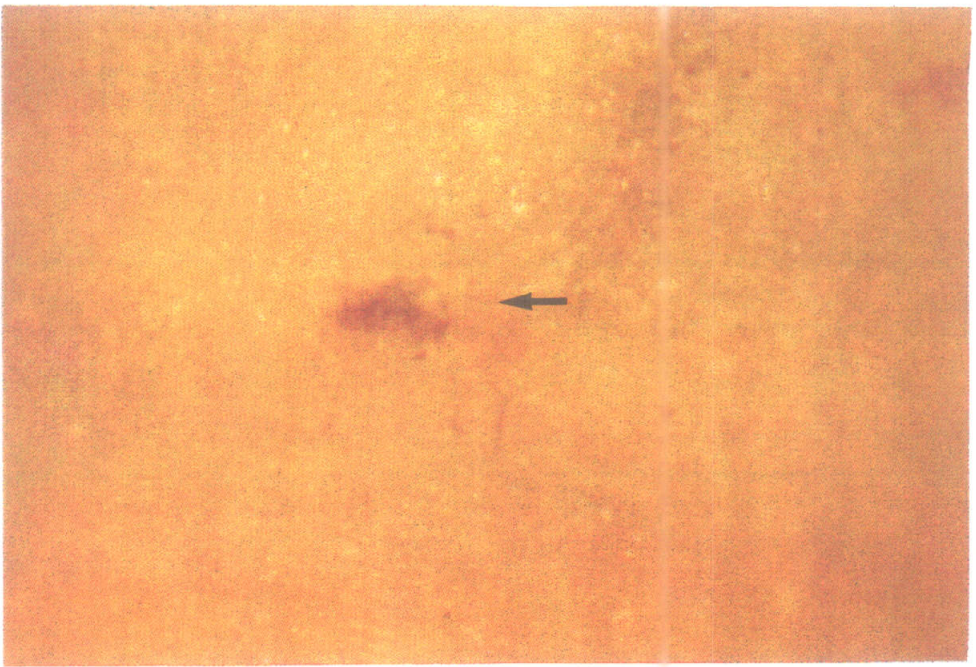


Figura 3. Decoloraciones de la peridermis. (13.2x aprox.).

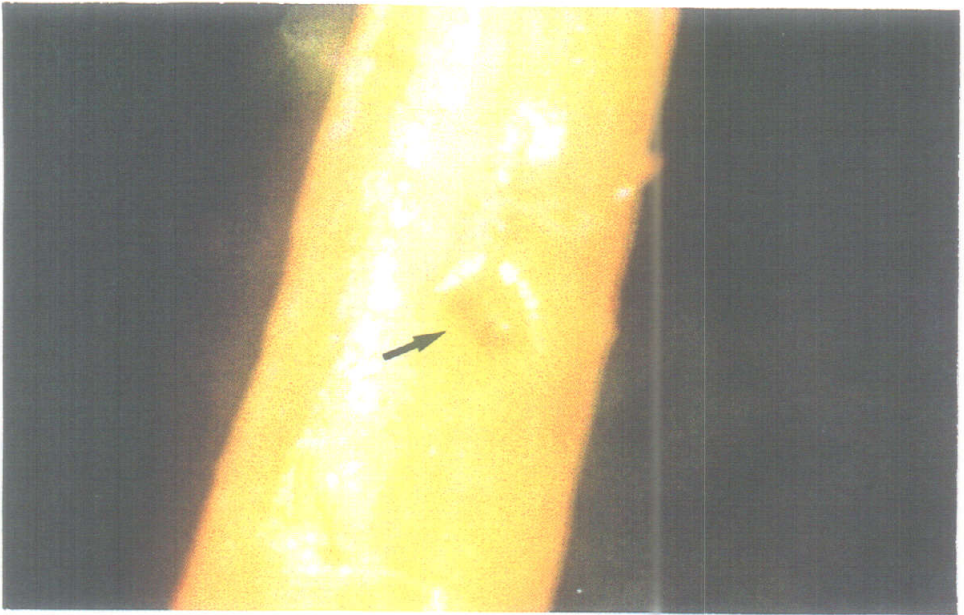


Figura 4. Manchas elípticas anaranjadas con peridermis hundida. (13.2x aprox.).

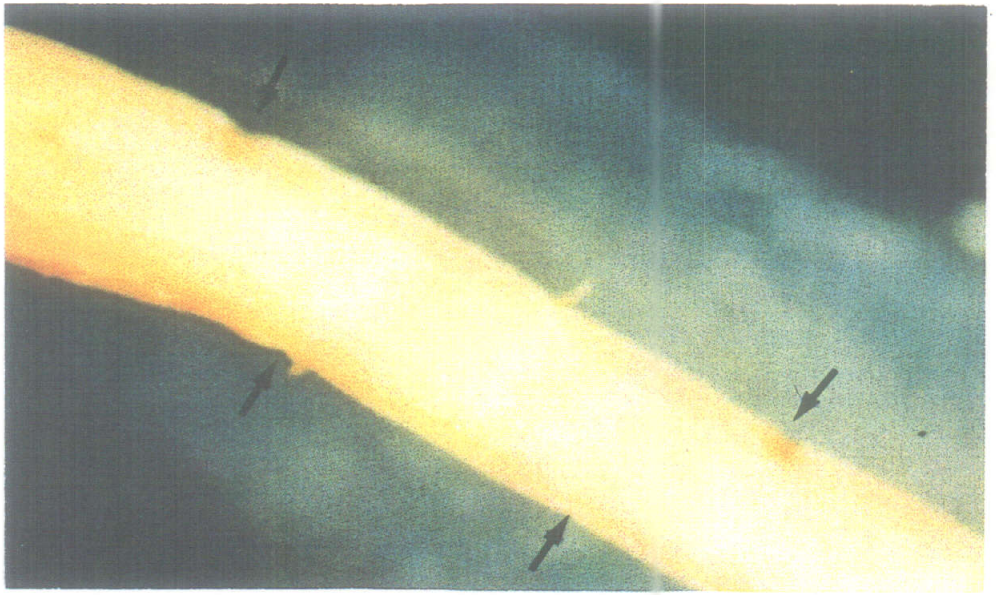
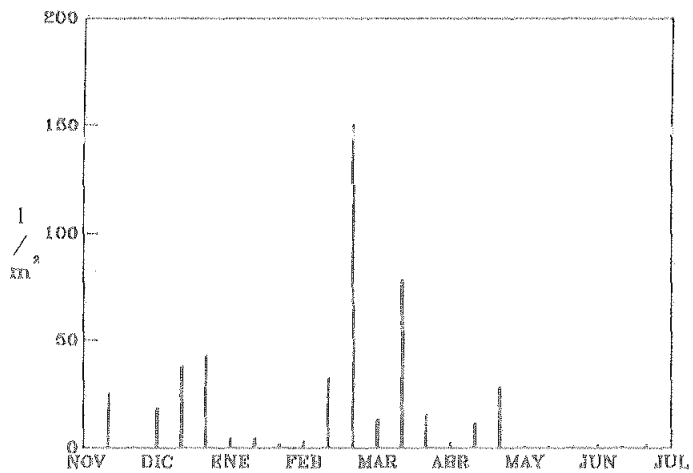
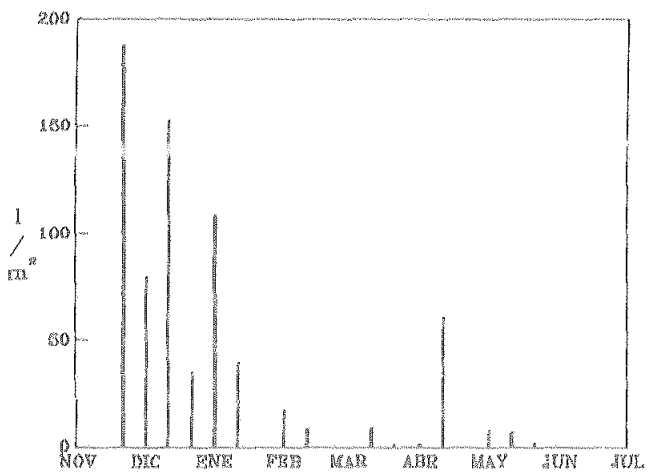
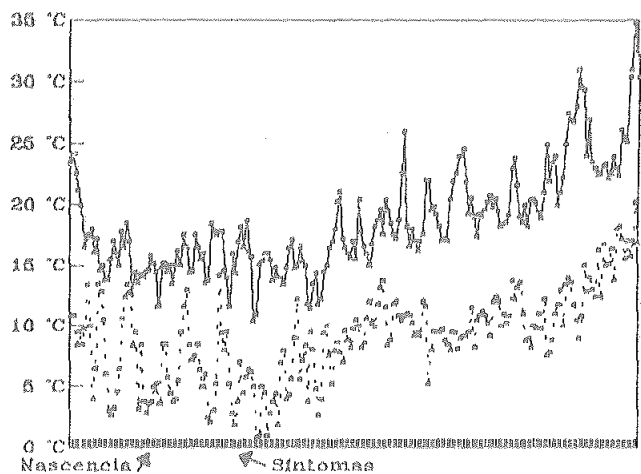
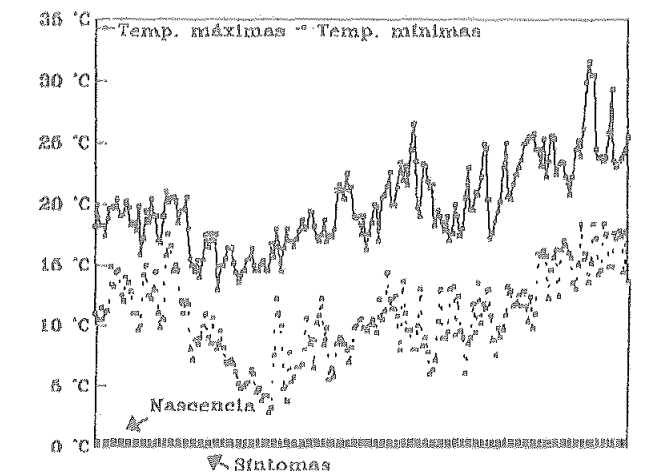


Figura 5. Peridermis hundida. (13.2x aprox.).

Figura 6. Datos climáticos del período de estudio.
 C.F.C. Agraria de Chipiona (Cádiz). 1990, 1991.



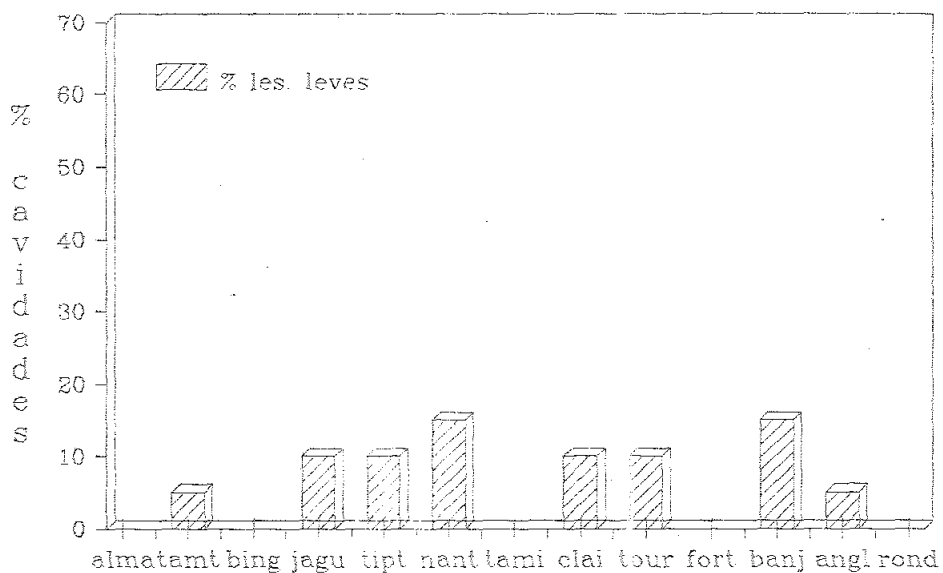


Figura 7. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias, 1990. MDS (0.05)=13.74.

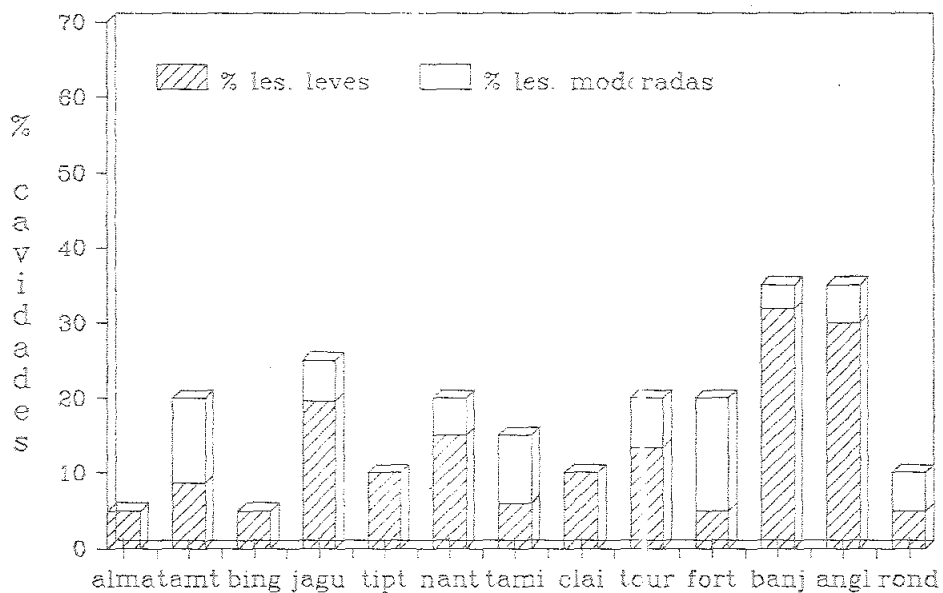


Figura 8. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias, 1991. MDS (0.05)=24.40.

Conforme avanza el cultivo en su desarrollo las lesiones son más generalizadas. A los tres meses de la siembra para el primer año, en el estadio F-G (Figura 9), no se observaron diferencias significativas en la incidencia de CS entre

híbridos y cultivares, que mostraron un 83.7 % de lesiones leves y 16.3 % moderadas. Observándose las primeras cavidades con rotura de peridermis, caracterizadas porque en su mayoría presentaban un contorno irregular (Figura 10). En otros casos, la peridermis se agrieta y permanece como una franja deshilachada (Figura 11); o bien se originan necrosis (Figura 12), aumentando el tamaño y profundidad de las cavidades en esta situación.

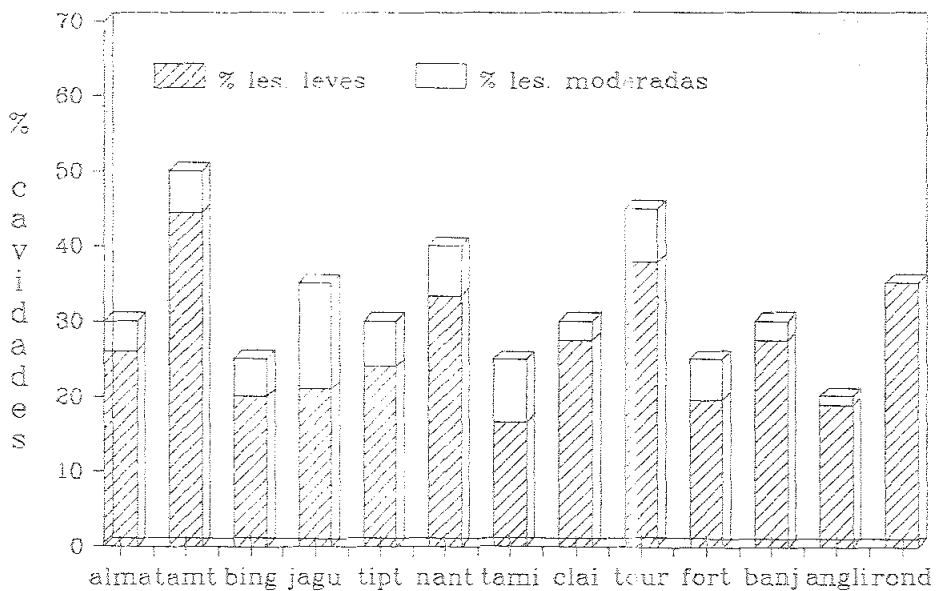


Figura 9. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias, 1990. A los tres meses de la siembra. MDS=NS.

Cuando las plantas alcanzan el estadio H, en 1990, (Figura 13), se observaron las primeras lesiones severas en un 2.8 %, un 79.7 % Leves y 17.4 % moderadas. Porcentajes que se mantienen hasta la recolección con variaciones centesimales. El 75 % de estos síntomas se localizaron en el tercio superior de la raíz, el 20 % en el central y el resto en la zona terminal. Durante este año, las altas temperaturas y precipitaciones registradas después de la siembra facilitaron tanto la nascencia y crecimiento de la planta como la aparición de síntomas en

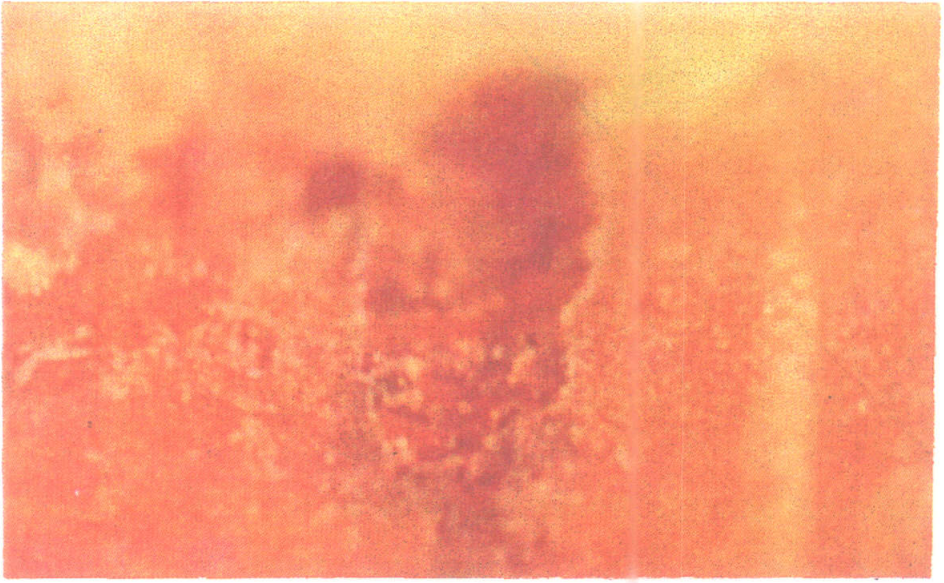


Figura 10. Cavity con rotura de peridermis y contorno irregular. (60x aprox.).

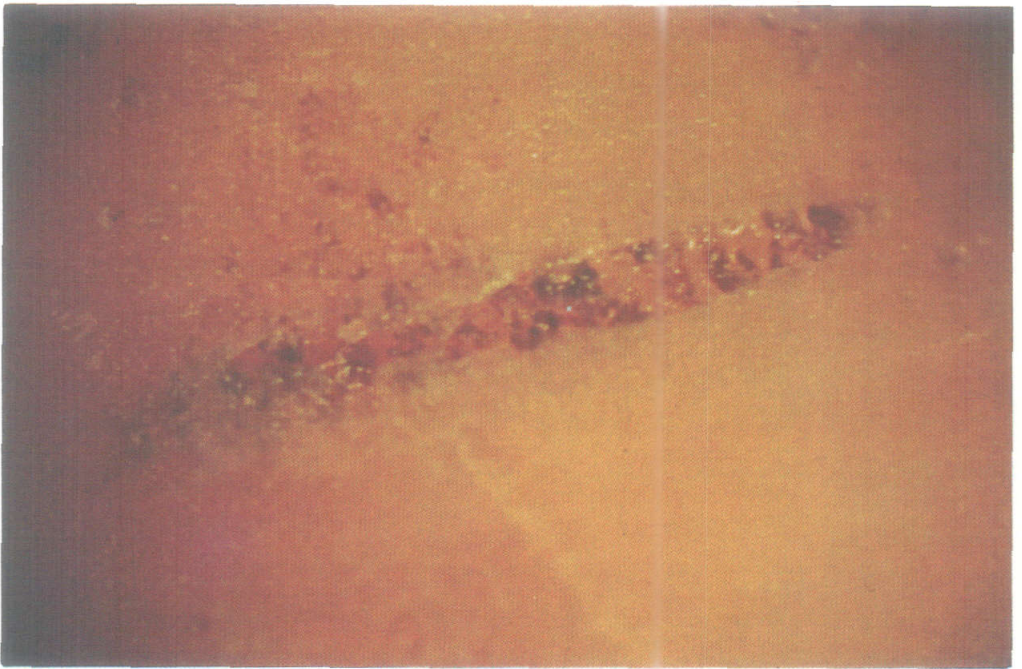


Figura 11. Cavity con peridermis en franja deshilachada. (30x aprox.).



Figura 12. Cavidad necrosada. (6.6x aprox.).

fechas tempranas. Durante todo el ciclo de desarrollo se mantuvieron unas temperaturas elevadas, propiciando la formación de nuevas lesiones y el aumento de la severidad de las mismas, de manera que cuando las plantas presentan un estadio H, se detectan un 2.8 % de lesiones severas, manteniéndose dicha proporción hasta la recolección.

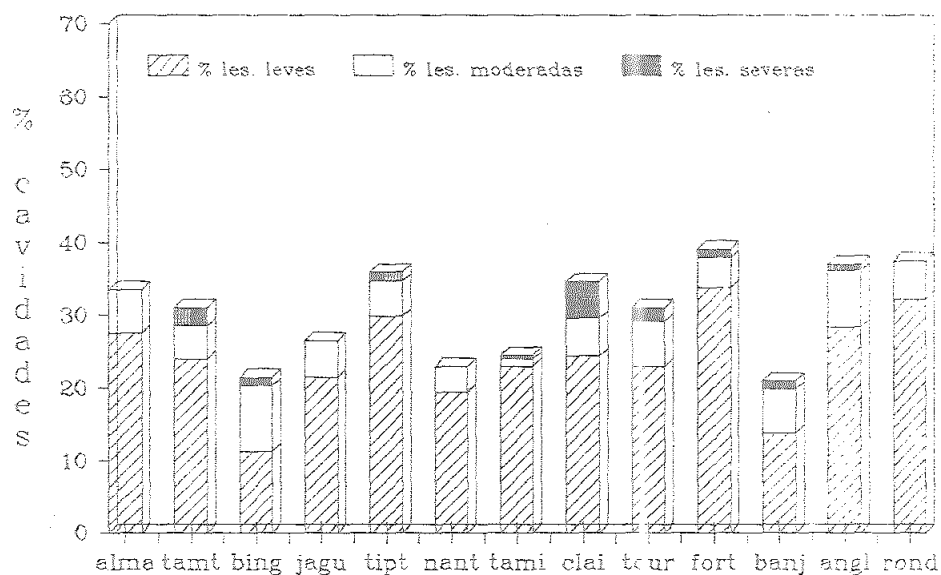


Figura 13. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias, 1990. Final del ciclo de desarrollo. MDS (0.05)=9.436.

Las bajas temperaturas y escasas precipitaciones registradas durante la primera parte del ciclo de desarrollo del año 1991, retrasan la nascencia de las plantas y la aparición de síntomas, así como su posterior evolución. Hacia mediados del ciclo de desarrollo y coincidiendo con una subida de las temperaturas y precipitaciones de hasta 150 l/m² se observó un lento incremento en la incidencia y severidad de la enfermedad, no detectándose lesiones severas hasta la recolección (Figura 14), cuando las plantas presentaban un

desarrollo fenológico que coincidía con el estadio I-J, y en una menor proporción que el año anterior, alcanzando sólo el 0.5 %, 87.7 % leves y 11.4 % moderadas.

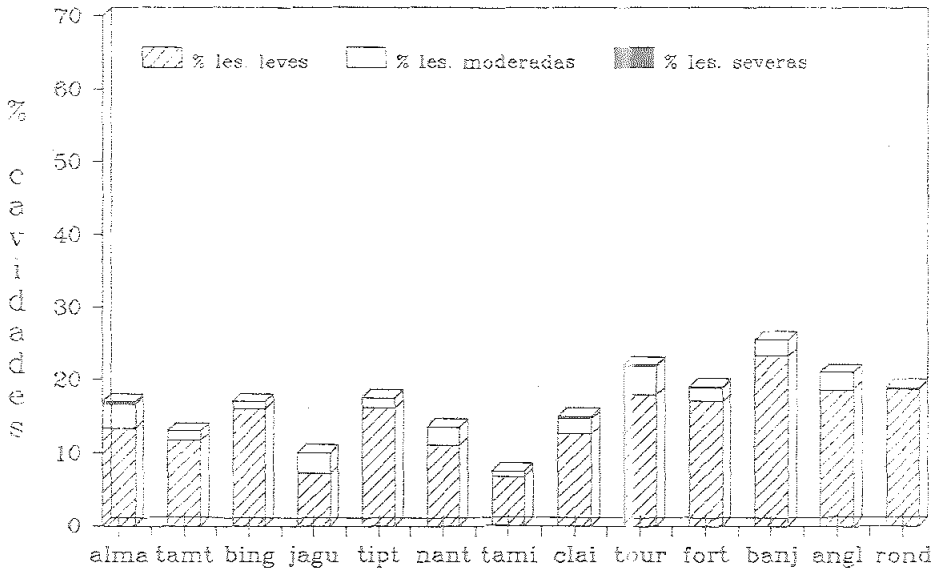


Figura 14. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias, 1991. Final del ciclo de desarrollo. MDS (0.01)=11.72.

Al comparar los datos de cosecha para ambos años, en lo que se refiere al porcentaje de CS se observaron diferencias significativas en la susceptibilidad entre los híbridos y cultivares estudiados (Tabla 2). En 1990 Banjo y Bingo se mostraron como las más resistentes y Forto la más susceptible a la enfermedad. Sin embargo, estos resultados no se repitieron en 1991, en el que Tamino se mostró como el híbrido más resistente y Banjo el más susceptible.

HIBRIDOS Y CULTIVARES	PORCENTAJE DE CAVIDADES			
	1990		1991	
ALMARO	33.5	35.4	17.0	24.3
TAMTAM	31.0	33.8	13.0	21.1
BINGO	21.5	27.6	17.0	24.3
JAGUAR	26.5	31.0	10.0	18.4
TIPTOP	36.0	36.9	17.5	24.7
NANTHYA	23.0	28.6	13.5	21.5
TAMINO	24.5	29.7	7.5	15.9
CLAIRON	29.5	32.9	15.0	22.8
TOURINO	31.0	33.8	22.0	28.0
FORTO	39.0	38.6	19.0	25.8
BANJO	21.0	27.3	25.5	30.3
ANGLIA	37.0	37.5	21.0	27.3
RONDINO	37.5	37.8	19.0	25.8
	MDS (0.05)= 9.436		MDS (0.01)=11.72	

Tabla 2. Respuesta de híbridos y cultivares al CS, al final del ciclo de desarrollo. 1990, 1991. Datos reales en la primera columna y transformados angularmente en la segunda.

De igual forma los rendimientos obtenidos muestran diferencias significativas entre los híbridos y cultivares estudiados dentro del mismo ciclo de desarrollo (Tabla 3). De manera que en 1990 oscilaron entre 1.9 Kg/m² en Rondino y 3.4 Kg/m² en Bingo. Mientras que en el segundo año las variaciones oscilaron entre el 1.9 Kg/m² en Tamino y el 3.3 Kg/m² en Bingo.

HIBRIDOS Y CULTIVARES	RENDIMIENTOS				
		1990		1991	
ALMARO	2.2	8.5	2.0	8.1	
TAMTAM	3.0	10.0	2.7	9.4	
BINGO	3.4	10.6	3.3	10.5	
JAGUAR	2.7	9.4	2.4	8.9	
TIPTOP	2.4	8.9	2.3	8.7	
NANTHYA	2.8	9.6	3.1	10.1	
TAMINO	2.2	8.5	1.9	7.9	
CLAIRON	2.4	8.9	2.2	8.5	
TOURINO	2.4	8.9	2.4	8.9	
FORTO	2.1	8.3	2.2	8.5	
BANJO	3.0	10.0	2.7	9.4	
ANGLIA	2.8	9.6	2.9	9.8	
RONDINO	1.9	7.9	2.3	8.7	
		MDS (0.01)=0.2188		MDS (0.01)=0.3294	

Tabla 3. Rendimientos de híbridos y cultivares expresados en Kg/m². 1990, 1991. Datos reales en la primera columna y transformados en la segunda ($x=[1/2+x]^{0.5}$).

Los mejores resultados se obtuvieron con el cultivar Bingo, tanto en rendimientos como en el porcentaje de incidencia de OS, si bien en este aspecto y para el segundo año tuvo un comportamiento igual a la media obtenida.

La variabilidad de los datos, así como la diferente susceptibilidad mostrada por los híbridos y cultivares en ambos años, corroboraron los resultados obtenidos por otros autores

(Guba y col., 1961; Perry, 1967 b; Perry y Harrison, 1971; Groom y Perry, 1985).

4.2. IMPLICACION DE AGENTES BIOTICOS.

La implicación de agentes bióticos en suelo, responsables

SE	SNE
0.00	21.43
0.24	3.09
0.92	3.10
6.50	53.60

Tabla 4. Porcentajes de CS con SE y SNE

de la incidencia de CS en las raíces de la zanahoria, se determinó mediante la detección de presencia/ausencia de cavidades, en raíces cultivadas en SE y SNE, y cuyos resultados se recogen en la Tabla 4, en la que observamos que las raíces cultivadas con SE presentaban un porcentaje de CS que osciló entre el 0 y 6.5 %, lo que supuso una media de 1.9 %;

mientras que en las raíces cultivadas con SNE el porcentaje osciló entre 3.09 y 53.6 %, lo que supuso una media de 20.3 %. Observándose una diferencia altamente significativa en la incidencia de enfermedad, entre las raíces cultivadas con uno y otro tipo de suelo.

Los resultados obtenidos con el SNE, muestran una gran variabilidad en la incidencia de CS. Mientras que la esterilización del suelo elimina, casi completamente, la ocurrencia de enfermedad. Este hecho, parece indicar que, el/los agente/s desencadenante/s de las lesiones se encuentra/n en el suelo y tiene/n una naturaleza biológica, coincidiendo con los resultados obtenidos por Perry y Harrison (1977) y White y col. (1983, 1988).

4.3. AISLAMIENTOS DE TEJIDOS SINTOMATICOS.

Los resultados obtenidos muestran que *Pythium*, *Fusarium* y *Sclerotium* son las especies dominantes en los aislamientos de tejidos, variando su frecuencia con la evolución de la enfermedad a lo largo del cultivo.

Las colonias de *Pythium* identificadas, procedentes de aislamientos de las cavidades, (y cuyas principales diferencias morfológicas se recogen en la Tabla 5), en orden decreciente de frecuencia de aislamiento fueron: *P. intermedium*, *P. violae*, *P. sulcatum*, *P. ultimum* y *P. sylvaticum*.

White y col. (1987), aíslan de peridermis asintomática *P. sylvaticum*, *P. intermedium* y *P. ultimum*, y de cavidades *P. violae*, *P. sulcatum*, *P. dissotocum*, *P. rostratum*, *P. intermedium* y *P. sylvaticum*. Nuestros resultados, aunque con diferentes frecuencias de aislamiento, muestran analogía en cinco de las especies de *Pythium* aisladas. Así mismo, *Fusarium* sp. había sido aislado de cavidades, con anterioridad, por otros autores (Guba y col., 1961; Tamiotti y Matta, 1980; Montfort y Rouxel, 1988).

A partir de síntomas primarios, Tabla 6, correspondientes a pequeñas decoloraciones de la peridermis, las especies aisladas en orden decreciente fueron *P. intermedium*, *P. ultimum*, *P. violae*, *P. sulcatum*. Con la intensificación de los síntomas, peridermis hundidas, la frecuencia de dichas especies aumenta, detectándose además la presencia de *P. sylvaticum*.

Si tenemos en cuenta que *P. ultimum* y *P. sylvaticum* son especies de crecimiento rápido, su incremento durante este período de evolución de las lesiones superficiales a peridermis hundida es poco importante, en relación con *P. violae* y *P. sulcatum*, que son especies de crecimiento lento.

Con la aparición de las cavidades disminuye la frecuencia de los aislamientos de *P. intermedium* y *P. ultimum*, seguido de *P. sulcatum* y *P. sylvaticum*, mientras que *P. violae* se mantiene aproximadamente igual, y se incrementan considerablemente las proporciones de *Fusarium* sp. y *Sclerotium* sp., que se hallan principalmente en cavidades necrosadas.

En las muestras obtenidas en la recolección (cavidades-R), de nuevo aumenta la frecuencia de aislamientos para todas las especies, excepto de *P. sylvaticum*, siendo moderado el incremento de los aislamientos de *Fusarium* y *Sclerotium*.

	<i>Pythium</i>	<i>intermedium</i>	<i>violae</i>	<i>sylvaticum</i>	<i>irregulare</i>	<i>oligandrum</i>	<i>ultimum</i>	<i>sulcatum</i>	<i>undulatum</i>
	Ø hifas	4-6 µm	6 µm	11 µm	6 µm	7 µm	11 µm	2-7 µm	7 µm
		heterotálica		heterotálica					
	Crecimiento 25 °C	CMA: 2.5-3 cm	APZ: 1.5 cm	CMA: ≥3 cm	CMA: 2.3-3 cm	CMA: 2.7-3 cm	APZ: 3 cm	APZ: 1.3-1.4 cm	CMA: 2 cm
	Tª óptima	25-28 °C	25 °C	25-30 °C	25-30 °C	25-32 °C	25-30 °C	28-30 °C	20-25 °C
	Rango ta	1-34 °C	5-35 °C	0-35 °C	1-35 °C	7-40 °C	5-35 °C	2-37 °C	5-35 °C
	Zoosporas				5-15 °C	18-20 °C	5 °C	20 °C	5-20 °C
Esporangio	forma	no	no	no	globoso u oval	subgloboso filamentoso	globoso	filamentoso	proliferación interna
	dimensión máxima				10-20 µm	15-35 µm	12-28 µm	22-30 µm	
	posición				terminal intercalar	intercalar (terminal)	terminal		
Hinchamiento hifal	forma	esférico decíduo cadenas de 2-5 apresorio	globoso	globoso limoniforme apresorio	globoso oval limoniforme irregular		globoso	globoso alargado periforme apresorio en cadena	globoso clamidosporas
	dimensión máxima	18-20 (25) µm	27.5 µm	11-30 (32) µm	25 µm		20-25 (29) µm	26 µm	36 µm
	posición	terminal intercalar	terminal intercalar	terminal (intercalar)	terminal intercalar		intercalar (terminal)		intercalar terminal
Oogonio	forma	globoso esférico	globoso	globoso	globoso o limoniforme	subgloboso	globoso	esférico irregular	
	dimensión máxima	21.5 µm	29.5 µm	19.3 µm	18.5 µm	25 µm	21.5 µm	16.5 µm	
	proyección	no	no	no	cilíndrica irregular y obtusa	puntiagudas 3-7 µm	no	no	
	posición	intercalar terminal	terminal e intercalar	intercalar terminal	intercalar	terminal o intercalar	intercalar terminal	intercalar terminal	
Oospora		aplerótica 1-2/oogonio	aplerótica	aplerótica	aplerótica	aplerótica	aplerótica globosa	aplerótica esférica	
	dimensión media	17.5 µm	27 µm	16.5 µm	15.9 µm	22 µm	18 µm	14.5 µm	
	dimensión pared	1-2 µm	3 µm	1-2 µm	1-1.5 µm	1-2.8 µm	2-2.5 µm	0.5-1.5 µm	
Anteridio	nº/oogonio	1-7	1-8	2-4	1-2 (4)	1-2	1-3	1-3	
	posición	diclino	monoclino diclino sésil	diclino (monoclino)	monoclino y diclino	(diclino)	monoclino (diclino) (hipogino)	monoclino (diclino)	
	pedúnculo	bifurcado cerca oogonio	largo	bifurcado cerca oogonio	largo		sésil o corto	ramificado	

Tabla 5. Características morfológicas de las especies de *Pythium* aisladas (Plaats-Niterink, 1981).

	MANCHAS SUPERFICIALES	PERIDERMIS HUNDIDA	CAVIDADES	RECOLECCION
<i>P. intermedium</i>	5.50	73.60	24.90	38.80
<i>P. violae</i>	0.80	10.30	9.90	13.00
<i>P. sulcatum</i>	0.50	7.50	5.20	10.80
<i>P. ultimum</i>	0.90	4.60	0.80	7.30
<i>P. sylvaticum</i>	----	2.90	1.10	0.80
<i>Fusarium</i> sp.	4.90	5.30	23.90	26.30
<i>Sclerotium</i> sp	1.20	8.10	24.70	27.80

Tabla 6. Frecuencia de aislamientos de tejidos sintomáticos en diferentes fases, expresados en porcentajes.

De las fluctuaciones observadas en los frecuencia de aislamientos y el desarrollo de las lesiones, podríamos pensar que, el incremento de la frecuencia de aislados de *Pythium* obtenidos al considerar la evolución de manchas superficiales a peridermis hundida, es concomitante con una fase de expansión de la enfermedad que concluye con la aparición de cavidades, durante este período disminuye la frecuencia de aislamientos de *Pythium* e incrementan los de *Fusarium* y *Sclerotium*, los cuales al aislarse principalmente de cavidades necrosadas hacen pensar que actúan como organismos secundarios, intensificando la severidad de la enfermedad, hecho que se mantiene de forma moderada hasta el final de cosecha; mientras que la frecuencia de aislamientos de *Pythium* presenta un incremento en la fase final, probablemente debido a un favorecimiento del desarrollo del hongo por unas mejores condiciones ambientales, que pueden

llevar a un nuevo ciclo de enfermedad si se retrasa la recolección de la planta.

4.4. AISLAMIENTOS DE SUELO.

Con anterioridad a la siembra, se realizaron muestreos de suelo en las parcelas estudiadas, siendo no significativas las diferencias entre el NPP/g suelo, pudiéndose entender que la distribución de la población de *Pythium* era homogénea. El NPP disminuyó significativamente con la profundidad, encontrándose la población mayoritaria entre 0-20 cm. Resultados similares fueron obtenidos por Ho (1975) y Dick y Ali-Shtayeh (1986), en suelos no cultivados, donde observaron la existencia de una alta población de *Pythium*.

Sin embargo, durante el cultivo, Hendrick y Campbell (1973), detectaron un incremento de la población de las especies de *Pythium*. Nuestros resultados muestran, que el número medio de propágulos cuantificados durante el cultivo (300 NPP/g suelo), es en todos los casos superior al observado en los muestreos anteriores a la siembra (170 NPP/g suelo). Encontrándose los mayores niveles de población en los 20 cm de la capa superior del suelo.

La densidad de población en suelo cultivado es muy variable. Así Dick y Ali-Shtayeh (1986), obtienen valores entre 3 y más de 5000 PP/g de suelo. En nuestro caso el NPP/ g de suelo osciló entre 0 y 1000, siendo escasos los valores superiores a 800 propágulos. La densidad de población sufrió un incremento con la repetición del cultivo (Apartado 4.9.). Estos

resultados son semejantes a los obtenidos por Plaats-Niterink (1981).

Al relacionar porcentajes de CS y NPP/ g suelo, obtenidos en 224 puntos de muestreos y cuyo valor medio de CS fue 23.7 %, Tabla 7, observamos que un 76.3 % de los casos estudiados, se desarrolla en áreas donde el NPP/ g suelo es menor de 400, el 23.6 % en zonas donde se cuantificaron entre 400-800 propágulos/g suelo, mientras que es inapreciable el porcentaje de CS en áreas donde el NPP era mayor de 800. La incidencia de CS osciló entre menos del 25 % y el 50 %, aunque en ningún caso fue superior al 60%. Estos resultados no son coincidentes con los obtenidos por White (1986), el cuál observó que para valores menores de 400 PP/g de suelo, la incidencia de CS era inferior al 70%, y con valores entre 400-800 propágulos/g suelo la incidencia de enfermedad era mayor al 70%.

La variabilidad de los datos obtenidos, no permiten establecer unos intervalos definidos, aunque se demuestra estadísticamente la asociación entre las dos variables estudiadas. ($\chi^2=31.7$ p < 0.01).

	NPP/g suelo		
	< 400	400-800	> 800
< 25 % CS	50.94	5.40	0.40
25-50 % CS	19.60	13.70	0.00
> 50 % CS	5.80	4.50	0.00

Tabla 7. Relación entre la incidencia de enfermedad y el NPP/g suelo.

Sin embargo, la incidencia y severidad de la enfermedad, puede fluctuar independientemente de los niveles de población del hongo en el suelo, debido a otros factores ambientales, como temperaturas y humedad (Schmitthenner, 1970); la propia agresividad de una determinada especie (Burr, 1973), o la diferente virulencia de las especies patógenas implicadas (Vivoda y col., 1991).

En cuanto a las especies de *Pythium* determinadas en los aislamientos de suelo, la más numerosa fue *P. intermedium*, seguida en orden decreciente de frecuencia por *P. oligandrum*, *P. irregulare*, *P. ultimum*, *P. sylvaticum* y *P. undulatum*; cuyas características morfológicas se recogen en la Tabla 5 (Apartado 4.3.). Todas ellas pertenecen al grupo de hongos de crecimiento rápido (Plaats-Niterink, 1981; White, 1988; Vivoda y col., 1991); sólo en dos puntos de muestreo se ha aislado una especie de crecimiento lento, *P. sulcatum*, que aparece en muy baja proporción. La estimación de la población de especies de crecimiento lento se vio dificultada por ser baja su densidad, y no tener una zona de influencia determinada en la raíz y sobre todo porque el rápido crecimiento de las restantes especies coexistentes, impidieron cuantificar y aislar a las de crecimiento lento. El hecho de que este tipo de hongo de crecimiento lento haya sido cuantificado en una proporción inapreciable, no quiere decir que no esté presente en el suelo. De hecho, sólo hemos encontrado una cita de aislamientos de especies de crecimiento lento, *P. violae* y *P. sulcatum*, realizado por Dick y Ali-Shtayeh (1973) en el que la frecuencia de aislamientos, aunque baja, fue detectada junto con otras 29 especies de *Pythium*.

4.5. INCIDENCIA Y DISTRIBUCION DEL CS EN LA COSTA NOROESTE DE CADIZ.

El CS de la zanahoria se encuentra ampliamente distribuido en la zona prospectada, que es la que contiene la mayor superficie de cultivo de Andalucía. Se visitaron 69 campos, Tabla 8, con una superficie media de 0.8 ha/campo, lo que supuso una superficie total de 47 ha prospectadas, detectándose raíces con síntomas de CS, en el 71 % de las parcelas visitadas.

LOCALIDAD	Has. prospectadas	nº medio Ha/campo	% superficie prospectada	% CS
Chipiona	25.00	0.71	53.19	17.00
Sanlúcar de Barrameda	11.40	0.71	24.25	21.25
Rota	7.30	0.91	5.53	16.20
Pto. Sta. María	3.00	0.75	6.38	10.00

Tabla 8. Distribución de la enfermedad del CS en las áreas prospectadas.

Tal como puede observarse en la Tabla 9, donde se muestra el nº de campos prospectados, el estadio de desarrollo y la incidencia de CS que presentaban las raíces en el momento de la visita, así como el nº de veces que se repetía el cultivo en la finca. Tanto en Chipiona como en Sanlúcar, los síntomas se detectan a partir de un estadio de desarrollo B-C de la raíz o posterior, mientras que en Rota en plántulas con un estado fenológico A-B se observa un 20 % de incidencia de la enfermedad.

Estadio	Nºcampos visitados	% CS y (años repetición del cultivo)	Localidad
A	1	0.0(14)	Chipiona
B	1	0.0(-)	Chipiona
BC	6	20.8(3), 10.0(7), 40.0(3) 40.0(3), 0.0(10), 0.0(5)	Chipiona
CD	4	0.0(-), 40.0(3), 30.0(7) 0.0(-)	Chipiona
DE	7	20.0(), 40.0(12), 40.0(12) 10.0(7), 0.0(13), 0.0(20) 0.0(2)	Chipiona
FG	11	40.0(3), 4.8(-), 3.4(2) 40.0(4), 3.4(-), 30.0(?) 0.0(13), 30.0(7), 20.0(3) 20.0(-), 20.0(5)	Chipiona
HG	4	20.0(10), 0.0(-) 30.0(4), 40.0(12)	Chipiona
G	1	3.4(-)	Chipiona
AB	2	0.0(-), 0.0(-)	Sanlúcar Bda.
CD	1	0.0(3)	Sanlúcar Bda.
DE	3	0.0(-), 0.0(10), 0.0(3)	Sanlúcar Bda.
E	2	0.0(-), 20.0(10)	Sanlúcar Bda.
EF	6	40.0(-), 60.0(10), 20.0(3) 40.0(10), 20.0(3), 60.0(6)	Sanlúcar Bda.
F	1	80.0(3)	Sanlúcar Bda.
GH	1	0.0(10)	Sanlúcar Bda.
AB	1	20.0(14)	Rota
BC	1	20.0(-)	Rota
CD	1	20.0(2)	Rota
DE	2	10.0(2), 0.0(10)	Rota
EF	2	20.0(2), 20.0(2)	Rota
FG	1	20.0(4)	Rota
DE	3	10.0(3), 20.0(4), 30.0(-)	Pto.Sta. María
EF	1	10.0(3)	Pto.Sta. María

Tabla 9. Influencia de la repetición del cultivo en las áreas prospectadas.

No hubo siempre una relación directa entre los años de repetición del cultivo y la incidencia de la enfermedad, estando estos resultados de acuerdo con los obtenidos por Rubens y Halford (1983) y Lyshol y col. (1984). Observándose parcelas con repeticiones superiores a 10 años sin que se detectaran síntomas, así como otras en las que nunca se había sembrado zanahoria y la incidencia del CS llegaba hasta un 40%. Si bien el 76.9 % de las parcelas en las que se repetía el cultivo las raíces presentaban síntomas, mientras que en aquellas donde se cultivaban zanahorias por primera vez el 47.1% no presentaban lesiones. Viéndose afectados todos los híbridos y cultivares utilizados, sin que se observara un comportamiento diferencial en ninguno de ellos. Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores: Guba y col. (1961); Perry (1961); Perry y Harrison (1971); Soroker y col. (1984); Perry y Groom (1985); White y col. (1988).

Los tratamientos de desinfección de suelo previos a la siembra no parecen influir en la eliminación de síntomas, así de 32 parcelas que habían sido tratadas con dicloropropeno-dicloropropano y 10 con Bromuro de metilo, 23 y 7 de ellas respectivamente presentaban raíces con síntomas, aunque de estos resultados no podemos concluir que dichos tratamientos sean inefectivos en el control de la enfermedad, ya que tanto las dosis como los métodos empleados por los agricultores pudieron no haber sido los adecuados.

En cuanto a la distribución de los síntomas dentro de las parcelas, se observó una gran variabilidad de la incidencia de un punto muestreado a otro. Coincidiendo con lo observado por otros autores Scaife y col. (1983), Gladders y Crompton (1984) y Walker (1988). De manera que no se pudieron establecerse

zonas con mayor o menor intensidad de enfermedad dentro de una parcela, observándose raíces con un abundante número de cavidades, mientras que otras adyacentes se encontraban libres o mostraban un bajo número de ellas. Así mismo, no se apreciaron diferencias significativas en cuanto a la densidad de población de *Pythium* en los diferentes puntos de muestreo de cada parcela.

Los valores de pH de las aguas analizadas oscilaron en todos los casos entre 6.5 y 7, y la C.E. entre 2 y 3 mmhos/cm. Considerándose aguas tolerables para regadío.

No se han observado diferencias significativas en la incidencia de la enfermedad en cuanto a fecha, densidad y forma de siembra, así como tampoco respecto a la orientación de la parcela, sistema de riego utilizado, abonados pre-postsiembrá y forma de aplicación.

Los resultados obtenidos en las prospecciones realizadas podrían explicarse considerando la dificultad de delimitación de las parcelas, las cuales al ser superficies reducidas, dificultan la exclusión de no cultivo. De aquí que sea difícil considerar nuevas áreas en la franja costera de Cádiz, donde la zanahoria se ha venido cultivando intensamente en los últimos 20 años, de manera que resulta fácil asumir la no correlación en función de las características de cultivo.

4.6. EFECTO NUTRICIONAL.

4.6.1. EXPERIENCIA EN AMBIENTE CONTROLADO.

Los datos obtenidos de las experiencias realizadas en macetas en ambiente controlado, han servido para determinar la fórmula nutricional proporcionada a las plantas en campo, en función del desarrollo observado según la solución aportada.

Las soluciones utilizadas (Blankendaal y col., 1972), tuvieron una respuesta diferencial, mostrándose en algún caso inadecuadas para el cultivo (Tabla 10).

	SOLUCION 1	SOLUCION 2
Aportación semanal	13.30	100.00
Aportación cada 10 días	0.00	25.30

Tabla 10. Porcentaje de plantas muertas a los tres meses de la siembra.

Las plantas regadas con S_1 , tanto en aportaciones semanal como cada 10 días, son las primeras en desarrollar hojas verdaderas y las que presentaron un mejor comportamiento general en cuanto a formación de raíz principal; mientras que las regadas con S_2 , en el caso de aportación semanal son las que más tardan en desarrollarse y al cabo de tres meses el 100 % de las plantas había muerto, frente al 13.33 % en el caso de las regadas semanalmente con S_1 . Las aportaciones de S_2 cada 10 días, dieron lugar a un desarrollo tardío, siendo la proporción de raíces muertas a los tres meses algo superior al 25 % y las

plantas supervivientes, presentaron un desarrollo anómalo de sus raíces, con proliferación de raicillas secundarias, bifurcaciones en la raíz principal e hipertrofias en general. Mientras que en las regadas con S_1 cada 10 días, no se observaron perdidas de plantas presentando un buen desarrollo general.

A tenor de los resultados se podría asumir que ciertas concentraciones de nutrientes ejercen un efecto tóxico en las plantas de zanahoria, de manera que desarrollan hiperplasias e hipertrofias e incluso pueden llegar a morir.

4.6.2. EXPERIENCIAS DE CAMPO.

Los resultados obtenidos en las experiencias de campo realizadas con abonados diferenciales, se resumen en la Tabla 11, en la que se muestran los porcentajes de CS y rendimientos obtenidos para los diferentes tratamientos considerados en dos ensayos anuales repetidos durante tres años.

Las lluvias habidas en la zona de cultivo a finales de 1989, no permitieron sembrar en la fecha prevista (20 Noviembre), teniendo que ser ésta retrasada hasta mediados de enero. Este hecho junto con la perdida de la cosecha en la 2ª experiencia, así como, la anomalía climatológica general que presentó el año, nos llevaron a repetir el ensayo completo durante una tercera campaña.

En la primera experiencia se observaron diferencias significativas entre tratamientos los años 1989 y 1990. El primer año el mejor resultado, en cuanto a porcentaje de CS, se obtuvo con la supresión de $MgSO_4$, sin embargo el porcentaje de

CS aumentó en el segundo año, frente al abonado completo con el que se obtuvo el mejor comportamiento. En 1991 los resultados no presentaron diferencias significativa.

En la segunda experiencia los resultados presentaron diferencias significativas para los porcentajes de CS obtenidos con los diferentes tratamientos en 1989 y 1990, si bien, como ocurrió en la 1ª experiencia, los resultados por tratamientos no son repetitivos para ambos años. Mientras que los porcentajes medios de enfermedad por año son significativamente diferentes en los tres casos.

En cuanto a rendimientos, se observaron diferencias significativas entre tratamientos cada año, pero no entre las dos experiencias, y los resultados tampoco se repiten en las sucesivas campañas.

Si comparamos los resultados por año, observamos que el porcentaje medio de cavidades para el primero, no presenta significación entre ambas experiencias, ni se repite la tendencia por tratamiento.

Los resultados obtenidos en el año 1990, muestran diferencias significativas en el porcentaje de CS entre la primera y segunda experiencia. La siembra tardía propició un retraso en el desarrollo del cultivo, presentando en el caso de la segunda experiencia un considerable aumento del porcentaje de raíces afectadas. Esta situación podría entenderse, si consideramos que el aumento de las temperaturas favorecen el desarrollo de las cavidades.

1a EXPERIENCIA						
ABONADO SUPRIMIDO	1989		1990		1991	
	% CS	kg/m ²	% CS	kg/m ²	% CS	kg/m ²
NINGUNO	31.0 ab	3.40 b	22.0 a	2.29 a	25.5	3.25 a
PO ₄ H ₃	24.5 ab	2.90 ab	26.5 ab	2.88 ab	26.0	3.35 ab
NO ₃ K	28.5 ab	2.60 a	38.0 b	3.21 bc	23.0	3.48 b
Ca(NO ₃) ₂	33.0 ab	3.12 ab	24.0 a	3.29 bc	20.5	3.24 a
SO ₄ Mg	18.0 a	3.30 ab	38.0 b	3.61 bc	23.5	3.23 a
BO ₃ H ₃	34.5 ab	3.40 b	28.5 ab	3.86 c	26.0	3.33 ab
TESTIGO	39.5 b	3.31 ab	35.0 ab	3.47 bc	25.5	3.39 ab
	*	**	*	**	NS	*

2a EXPERIENCIA						
ABONADO SUPRIMIDO	1989		1990		1991	
	% CS	kg/m ²	% CS	kg/m ²	% CS	kg/m ²
NINGUNO	24.5 ab	2.44 ab	35.0 a	-	27.0	2.29
PO ₄ H ₃	22.5 ab	2.71 ab	65.0 b	-	31.5	2.25
NO ₃ K	13.0 a	2.90 b	65.0 b	-	29.0	2.57
Ca(NO ₃) ₂	29.5 b	2.53 ab	45.0 ab	-	27.0	2.43
SO ₄ Mg	23.5 ab	2.45 ab	40.0 ab	-	37.0	2.16
BO ₃ H ₃	27.5 ab	2.43 ab	50.0 ab	-	30.5	2.12
TESTIGO	18.5 ab	2.26 a	55.0 ab	-	35.0	2.07
	*	*	* (1)	-	NS	NS

Tabla 11. Porcentaje de CS y rendimientos obtenidos en las experiencias de abonados diferenciales.

1 Datos del último muestreo en junio de 1990.

El tratamiento sin Ca, resultó ser el más efectivo en ambas experiencias para 1991, obteniéndose en la segunda una diferencia significativamente mayor en cuanto a porcentajes medios de CS, mientras que los rendimientos son significativamente menores que en la primera.

Los resultados obtenidos en los aislamientos de suelo, siguen el comportamiento general descrito en el Apartado 4.4. Sin embargo, no se observan diferencias en la densidad de población de *Pythium* en suelo respecto a los diferentes abonados. Siendo las especies determinadas en orden decreciente de frecuencia de aislamiento *P. irregulare* > *P. intermedium* > *P. ultimum* > *P. sylvaticum*.

La variabilidad de los resultados obtenidos con los tratamientos diferenciales y la falta de significación entre ellos y el testigo, nos llevan a concluir que, al menos en suelos arenosos, donde se da una rápida percolación de los elementos fertilizantes, los abonados diferenciales testados no presentan una relación directa con la incidencia de la enfermedad. Coincidiendo estos resultados con los obtenidos por otros autores: Perry y Harrison (1971; 1979 a), Scaife y col. (1981; 1983) y Finkelstein y col. (1983).

4.7. INFLUENCIA DE LA FECHA DE SIEMBRA.

Los porcentajes de CS y rendimientos obtenidos en las parcelas destinadas a estudiar la influencia de la fecha de siembra en la incidencia de la enfermedad, se recogen en la Tabla 12.

% CS		kg/m ²	
10-15 Noviembre	10-15 Diciembre	10-15 Noviembre	10-15 Diciembre
21.78	5.27	1.57	1.20
37.96	32.28	2.62	2.00
29.86	22.71	3.15	2.53
30.28	50.71	3.23	2.31
24.29	31.00	3.33	2.27

Tabla 12. Porcentajes de CS y rendimientos obtenidos con diferentes fechas de siembra.

Se pudo observar una tendencia a la disminución de los porcentajes de cavidades en fecha de siembra tardía en tres de los años estudiados, así como unas producciones significativamente menores que en la primera fecha para todos los años. Este comportamiento podría explicarse por unas mejores condiciones medioambientales, en fechas tempranas, que incrementan los rendimientos del cultivo y favorecen el desarrollo de las cavidades.

La evolución de las lesiones observadas en los muestreos realizados a lo largo del cultivo, expresadas como % CS, así como el desarrollo fenológico de las raíces para cada muestreo (Figura 2), y los datos de temperaturas y pluviometría registrados en los tres últimos años para ambos momentos de siembra, se recogen en las Figuras 15, 16 y 17.

Los factores determinantes en la aparición de los síntomas según los resultados obtenidos, parecen ser temperatura y pluviometría. De manera que, cuando se registraron mínimas superiores a 10°C y precipitaciones

regulares, las lesiones se detectaron en un corto período de tiempo, 25-30 días después de la siembra, encontrándose las raíces en estado AB de desarrollo. Mientras que, tras períodos de sequía o temperaturas mínimas por debajo de 10°C se requirió un mayor plazo de tiempo para la aparición de los síntomas, 45-60 días después de la siembra. Bajo éstas condiciones climatológicas se retrasa tanto el desarrollo fenológico de la planta como el de las cavidades, si es que éstas se han manifestado con anterioridad. Este hecho se explica teniendo en cuenta que si bien las temperaturas registradas se encuentran dentro de los rangos de crecimiento, establecidos por Plaats-Niterink (1981), para las especies de *Pythium* determinadas, el óptimo térmico de las mismas es de 25°C o superior. En las condiciones descritas, para esta primera fase de aparición y evolución de los síntomas, el crecimiento de las especies determinadas es menor cuanto menores son las temperaturas registradas. Oscilando la incidencia de enfermedad entre el 0.3 y 4 %.

Posteriormente, coincidiendo con subidas de temperaturas, se observó una segunda fase en la evolución de las cavidades, durante la cual se detectó un incremento brusco en el número de lesiones. Así, para ambas fechas de 1989 y primera fecha de 1991 (Figuras 15 y 17), dicha fase presentó una duración mínima de dos meses, se detectó a partir de un estadio CD de desarrollo de la planta, y el aumento en el número de cavidades osciló entre 5 y 16 %

En los tres casos restantes, ambas fechas de 1990 y segunda de 1991, esta etapa comenzó cuando las plantas presentaban un estadio de desarrollo BC y se prolongó hasta el final del ciclo de desarrollo de la planta, fechas en las que

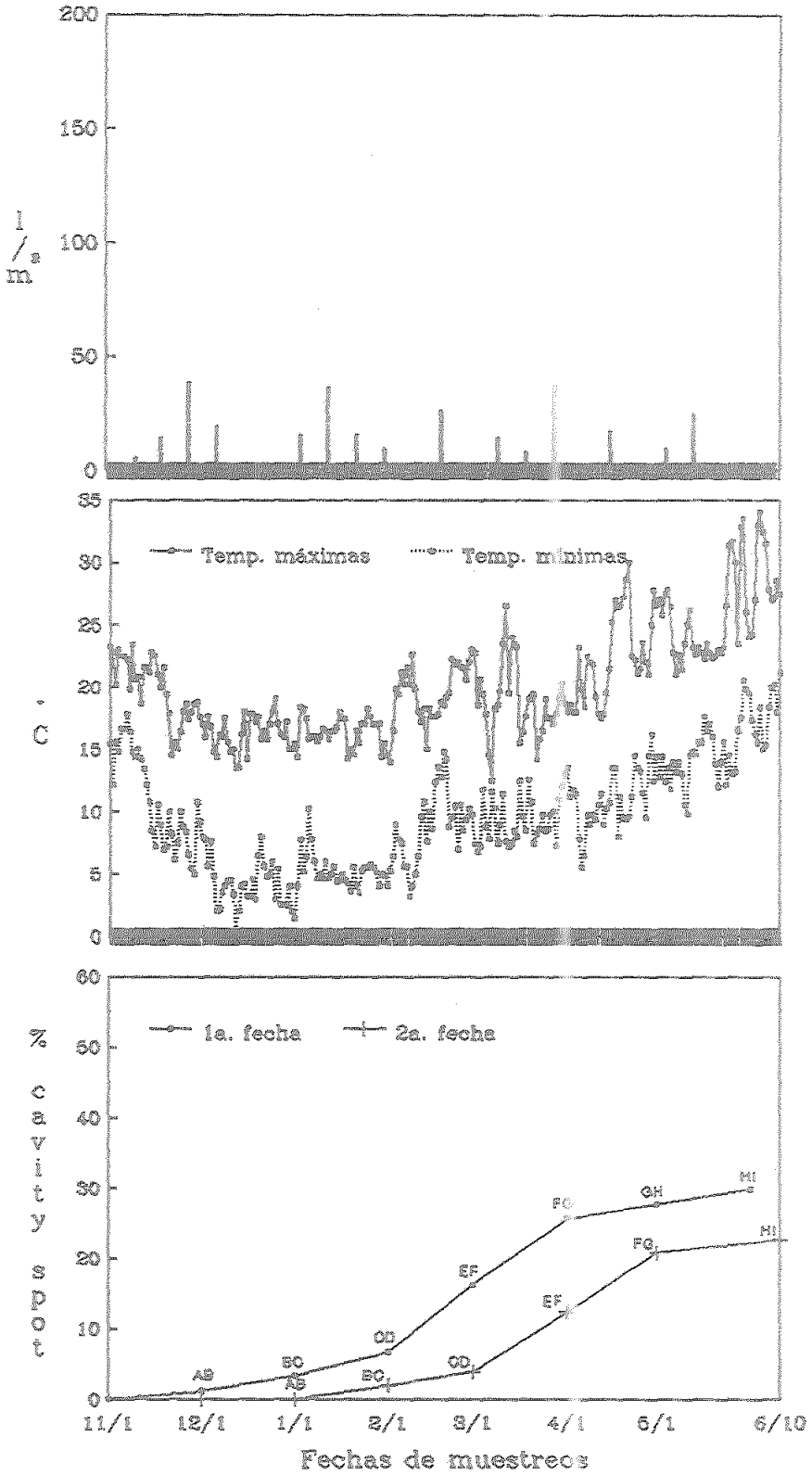


Figura 15. Influencia de la fecha de siembra en la incidencia del CS, 1989.

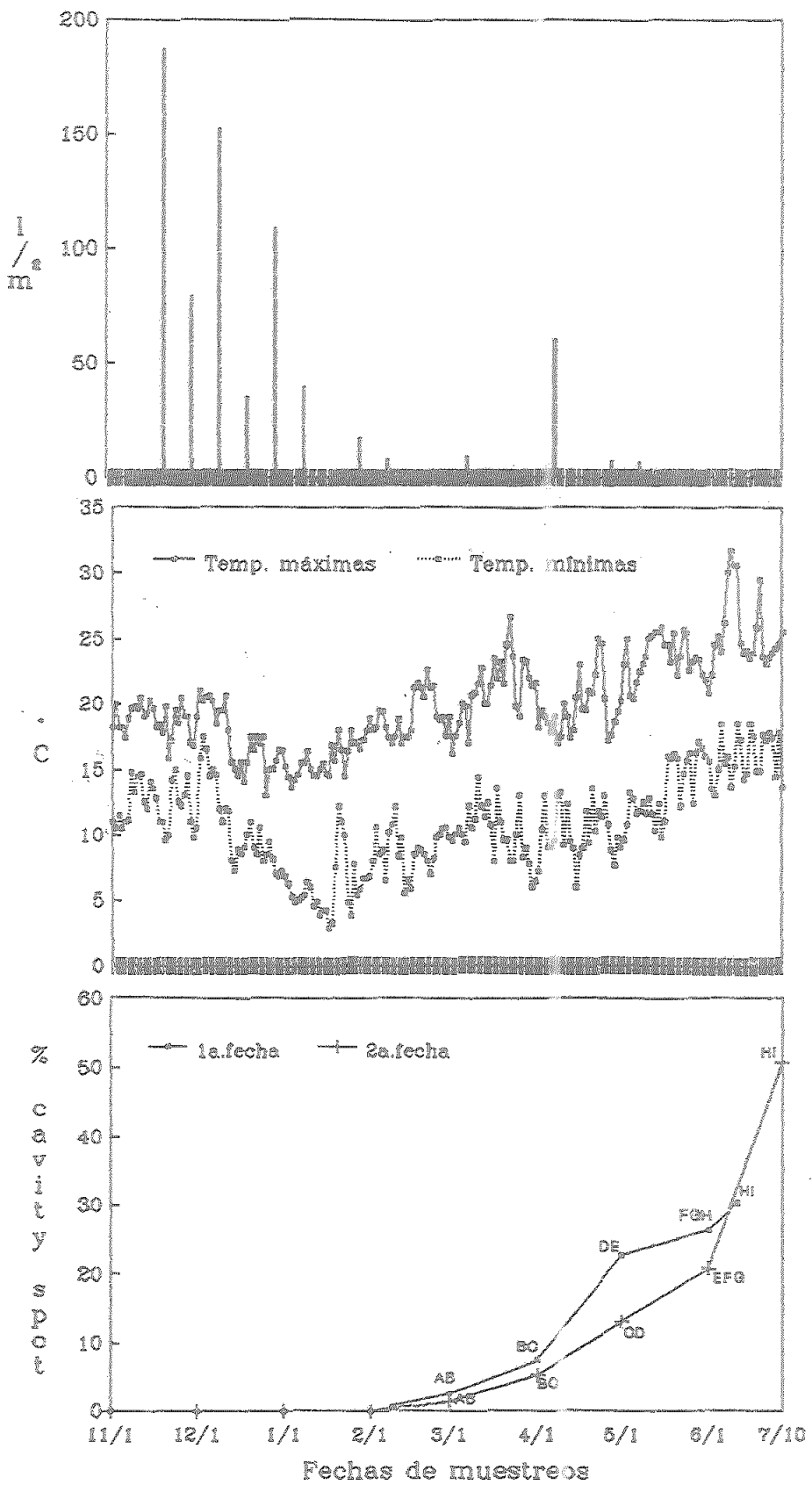


Figura 16. Influencia de la fecha de siembra en la incidencia del CS, 1990

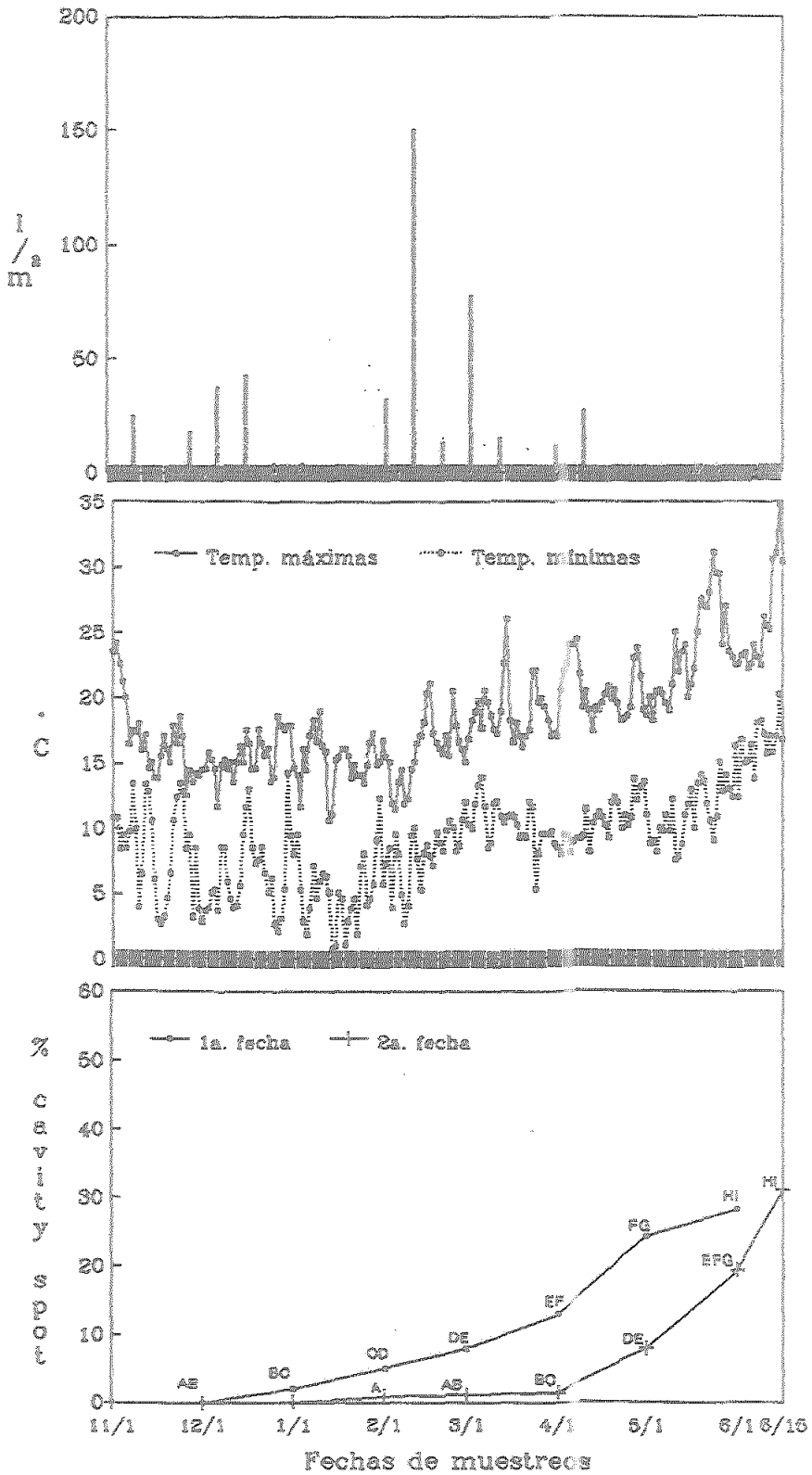


Figura 17. Influencia de la fecha de siembra en la incidencia de CS, 1991.



en cortos períodos de tiempo se observaron importantes aumentos en la incidencia de la enfermedad, así como en el NPP/ g suelo cuantificados. Así, para la segunda siembra de 1990 (Figura 16), el incremento del número de lesiones en los últimos cuarenta días supuso un 29.8 %, de las cuales el 44.1 % eran de tipo leve y el 6.6 % moderadas, no detectándose lesiones severas. Mientras que para la primera fecha de siembra del mismo año, en la que la incidencia de enfermedad había sido superior a la detectada en la segunda fecha, se observó un incremento del número de lesiones del 3.8 % en un plazo de 10 días, igual al detectado en el muestreo anterior y que correspondía a un período de treinta días (Figura 16), siendo el tipo de lesiones 19.5 % leves, 8.8 % moderadas y 2.2 % severas. En la segunda fecha de siembra de 1991 (Figura 17), el aumento de CS durante los últimos quince días fue del 11 %, de las cuales el 29.1 % fueron leves, 1.8 % moderadas y 0.03 % severas.

En tres de las experiencias se diferenció una tercera fase en la evolución de los síntomas, que comenzó a partir del estadio FG de desarrollo de la planta y en la que el incremento de la incidencia de CS fue de nuevo menor, oscilando entre 1.9 y 4 %, aunque se acentuó la severidad de la enfermedad. Así, los resultados obtenidos en 1989 presentaron un incremento final del 2 % de CS para ambos momentos de siembra (Figura 15). Para la primera fecha, en la que ésta fase dura dos meses, el tipo de lesiones detectadas fue de 17.9 % leves, 4.4 % moderadas y 7.6 % severas; mientras que la segunda fecha, con un mes de duración, el tipo de lesiones fue 20 % leves, 1.6 % moderadas y 0.7 % severas. Para la primera siembra de 1991 a esta fase, de un mes de duración, le correspondió un 4 % en el

incremento de las lesiones (Figura 17), de las cuales el 18.4 % fueron leves, 5.7 % moderadas y 0.2 % severas.

A tenor de los resultados, se podría decir que, retrasos en el desarrollo fenológico de la planta debido a fechas de siembra tardías (ambas siembras de 1990), o bajas temperaturas, posteriores a la siembra, que retrasan la emergencia y desarrollo de la plántula (segunda siembra 1991), llevan a considerar, que la segunda fase de evolución de las lesiones tenga lugar durante un estadio inferior de desarrollo, facilitando el incremento de la incidencia del CS.

En general, la frecuencia de aislamientos de *Pythium* colonizando tejidos jóvenes es alta, descendiendo conforme madura la planta (White, 1988; Phelps y col., 1991). Tanto las temperaturas registradas, óptimas para el crecimiento de las especies de *Pythium* determinadas (Plaats-Niterink, 1981), como la permanencia de la planta en el suelo durante un mayor período de tiempo hasta alcanzar un tamaño adecuado para su comercialización, propiciaron un nuevo ciclo de la enfermedad antes de la recolección, por lo que la incidencia de la misma sigue incrementándose en una alta proporción hasta esa fecha.

Estos resultados concuerdan con las fluctuaciones de frecuencia de aislamientos de tejidos sintomáticos y desarrollo de la enfermedad, mencionados en el Apartado 4.3., en los que se detectó una fase de expansión de la enfermedad, que se manifestaba con manchas y lesiones hundidas, y que coincidió con un incremento en la frecuencia de aislamientos de *Pythium*. Al final del ciclo de desarrollo, favorecido por las condiciones medioambientales, se produjo un nuevo aumento en la frecuencia de aislamientos, originándose un nuevo ciclo de

enfermedad. Estas circunstancias, así como el bajo estadio de desarrollo de las plantas, podrían explicar que, en las experiencias citadas (ambas fechas 1990, segunda 1991), la incidencia de enfermedad aumente considerablemente durante todo el ciclo de desarrollo de la planta, acentuándose hacia el final del mismo.

Mientras que, cuando el incremento brusco de las cavidades, tiene lugar en plantas con un estadio de desarrollo superior, la incidencia de la enfermedad tiene un incremento menor, probablemente debido al propio mecanismo de defensa de las plantas, aunque aumenta la severidad de las lesiones, que son invadidas por organismos secundarios que las agrandan y profundizan. Como veíamos en el Apartado 4.3. (Tabla 6), con la aparición de las cavidades disminuye la frecuencia de aislamientos de *Pythium* e incrementan los de *Fusarium* y *Sclerotium*, aislados principalmente de cavidades necrosadas, y que intensifican la severidad de las lesiones hasta el final del ciclo de desarrollo de la planta.

La evolución de los síntomas observada coincide con los resultados obtenidos por Finkelstein y col. (1983); Soroker y col. (1984) en laboratorio y Jacobson y col. (1973); Wheatley y col. (1984) en campo, en los que una baja incidencia inicial de CS se incrementaba considerablemente con el aumento de las temperaturas (> 27°C), y la severidad se acentuaba con el tiempo de permanencia de la planta en el suelo, debido a la evolución de las lesiones al ser invadidas por organismos secundarios. Así mismo, Groom y Perry (1985); Sweet y col. (1986); Wagenvoort y col. (1989); Vivoda y col. (1991), observaron una mayor susceptibilidad de la planta a la

enfermedad, bajo condiciones medioambientales favorables, durante la última etapa del cultivo.

En relación con los resultados expuestos, en los últimos muestreos de estas seis experiencias se observó una clara relación entre NPP/g suelo y % de CS, Tabla 13.

Fecha de siembra	muestreo	NPP/g suelo	% CS
1ª fecha 1989	último	263.8	29.9
2ª fecha 1989	último	173.4	22.8
1ª fecha 1990	10 junio	240.9	26.5
1ª fecha 1990	10 junio	270.6	30.3
2ª fecha 1990	10 junio	228.6	20.9
2ª fecha 1990	10 julio	424.5	50.7
1ª fecha 1991	10 junio	312.1	28.2
2ª fecha 1991	10 junio	289.3	19.4
2ª fecha 1991	15 junio	337.4	31.0

Tabla 13. Influencia de la fecha de siembra, en el NPP/g suelo y porcentajes de CS.

Si comparamos los resultados obtenidos para una misma fecha de muestreo, vemos que a siembras tardías le corresponden un menor incremento de CS y también un menor NPP/g suelo. Cuando se distingue una tercera fase en la evolución de los síntomas (ambas fechas de siembra 1989, primera fecha de siembra 1991), que se corresponde con un menor incremento en la incidencia de la enfermedad, se observa también un menor NPP/g suelo en los muestreos de siembra tardías. Si la segunda fase

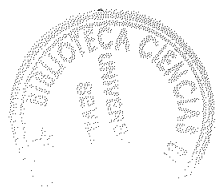
se prolonga hasta la recolección (ambas fechas de siembra 1990, segunda fecha de siembra 1991), la densidad de población de *Pythium* se incrementa considerablemente, en cortos períodos de tiempo, y paralelamente se obtiene un aumento de la incidencia de la enfermedad.

La densidad de población de *Pythium* en suelo, sigue el comportamiento general, descrito en el Apartado 4.4, en lo referente a homogeneidad de la población antes de la siembra, disminución del NPP/g suelo con la profundidad, incremento de la densidad de población durante la cosecha y con la repetición del cultivo.

4.8. CONTROL QUIMICO DEL CS DE LA ZANAHORIA.

4.8.1. FUNGOTOXICIDAD "IN VITRO".

Como puede observarse en la Tabla 14, los productos Apron, Ridomil 5G y Rizolex ofrecieron una buena actividad antifungal, inhibiendo por completo el desarrollo de las especies de *Pythium* a dosis de 5, 28 y 50 ppm respectivamente. Mientras que los restantes fungicidas ofrecieron un control parcial en la inhibición del crecimiento de dichas especies. Así dosis de 10 ppm de Rovral, Ronilan y Fubotran inhiben el 50% del crecimiento para los dos primeros y un 75% para el tercero. Aliette a dosis de 50 ppm inhibe el 90% del crecimiento, mientras que Kemdazin no ofrece control para las especies de *Pythium*.



TRATAMIENTOS	<i>Pythium</i> sp.	<i>Sclerotium</i> sp.
KEMDAZIN	-	1 ppm (DL 100)
ROVRAL	10 ppm (DL 50)	20 ppm (DL 100)
RONILAN	10 ppm (DL 50)	10 ppm (DL 100)
FUBOTRAN	10 ppm (DL 75)	10 ppm (DL 50)
ALIETTE	50 ppm (DL 90)	-
RIZOLEX	50 ppm (DL 100)	10 ppm (DL 75)
RIDOMIL 5G	28 ppm (DL 100)	-
APRON	5 ppm (DL 100)	-

Tabla 14. Efectividad "in vitro" de diversos fungicidas en el control de *Pythium* sp. y *Sclerotium* sp..

Los fungicidas Kemdazin, Ronilan y Rovral a dosis de 1, 10 y 20 ppm inhiben por completo el desarrollo de *Sclerotium* sp., mientras que con dosis de 10 ppm de Rizolex y Fubotran se obtiene una inhibición del 50 y 75% de su crecimiento respectivamente.

4.8.2. FITOTOXICIDAD EN SEMILLAS.

La Tabla 15 muestra la influencia de los fungicidas en la germinación de semillas de zanahorias.

DOSIS (g m.a./Kg)	TRATAMIENTOS		
	FUBOTRAN	RIZOLEX	APRON
0.5	96.7	96.7	90.0
1	90.0	96.7	90.0
1.5	90.0	93.3	90.0
2	80.0	90.0	93.7
2.5	73.3	90.0	96.7
TESTIGO 93.3			

Tabla 15. Porcentaje de plantas emergidas a los 10 días.

El porcentaje de germinación de semillas tratadas con Apron a las dosis de 2 y 2.5 g m.a./ kg semilla, no inciden negativamente en su germinación. Mientras que con Fubotran y Rizolex, se observó una disminución en el porcentaje de germinación al aumentar la dosis de fungicida. En ningún caso puede hablarse de fitotoxicidad ya que los resultados obtenidos se encuentran dentro de los intervalos considerados como normales para la germinación de semillas de zanahoria (Gill y Vear, 1965).

4.8.3. EXPERIENCIAS EN AMBIENTE CONTROLADO

Los resultados obtenidos en invernadero en las dos experiencias de tratamientos con fungicidas realizadas en SE y SNE se recogen en las Tablas 16 y 17, observándose para ambas experiencias una alta incidencia de CS en las raíces cultivadas en SNE, a pesar de los tratamientos realizados, frente al porcentaje obtenido en SE. Este hecho confirma los resultados expuestos en el Apartado 4.2., y que coinciden con los observados por Green y Makin (1985), poniendo de manifiesto la existencia de un agente biótico en suelo, responsable de la enfermedad.

El tratamiento con Apron D.A. a semillas, dio lugar a raíces asintomáticas en ambos tipos de suelo para las dos experiencias. Con la D.M. no se detectaron cavidades para SE, y con SNE se obtuvo un 3.3 % para la primera experiencia no registrándose enfermedad en la segunda. Mientras que con D.B. sólo en el caso de SE de la primera experiencia no se detectaron lesiones de CS.

TRATAMIENTOS		SE	SNE
Apron	D.A.	0.0	0.0
	D.M.	0.0	3.3
	D.B.	0.0	6.7
Rizolex	D.A.	0.0	3.1
	D.M.	0.0	0.0
	D.B.	0.0	3.3
Aliette	D.A.	0.3	2.9
	D.M.	0.0	3.3
	D.B.	0.0	2.9
Ridomil 5G	D.A.	0.0	3.1
	D.M.	0.0	3.3
	D.B.	0.0	3.3
No tratadas		0.0	4.8
TMTD		0.0	3.1

Tabla 16. Porcentajes de CS obtenidos en la primera experiencia con diversos fungicidas en ambiente controlado.

Mediante las aplicaciones de Rizolex en SE, se obtuvieron raíces libres de enfermedad, para ambas experiencias. Mientras que ofrecen una respuesta errática con SNE, al igual que ocurre con los tratamientos aéreos de las plantas con Aliette en ambas experiencias y para los dos tipos de suelo.

Los tratamientos con Ridomil 5G a SE en las dos experiencias, también dieron lugar a raíces asintomática. En SNE para la primera experiencia, el porcentaje de CS disminuye con el tratamiento, aunque las diferencias no fueron significativas. Mientras que para la segunda experiencia se obtuvo una significación entre los resultados para D.A. y D.M. con respecto al testigo.

TRATAMIENTOS		SE	SNE
Apron	D.A.	0.0	0.0
	D.M.	0.0	0.0
	D.B.	0.8	4.8
Rizolex	D.A.	0.0	0.0
	D.M.	0.0	3.1
	D.B.	0.0	0.0
Aliette	D.A.	0.6	3.6
	D.M.	0.0	3.3
	D.B.	0.0	3.3
Ridomil 5G	D.A.	0.0	2.9
	D.M.	0.0	2.9
	D.B.	0.0	6.2
No tratadas		0.6	9.7
TMTD		0.0	3.6

Tabla 17. Porcentajes de CS obtenidos en la segunda experiencia con diversos fungicidas en ambiente controlado.

Los trabajos de invernadero, efectuados por Gladders y Crompton (1984) y Walker (1988), mediante tratamientos con fungicidas para el control del CS, dieron lugar a resultados variables, similares a los obtenidos en las experiencias anteriormente descritas. Dichos autores enfatizan la necesidad de un alto grado de replicación en el estudio de la enfermedad bajo estas condiciones, a fin de disminuir la diversidad de los resultados. Aún teniendo en cuenta esta premisa, el porcentaje de CS observado en raíces cultivadas en macetas muestran una enorme variabilidad. Este hecho podría explicarse por la distribución variable de los propágulos del patógeno en suelo.

En nuestras experiencias el suelo utilizado procedía de parcelas de zanahorias cultivadas con anterioridad, en las cuales (Apartado 4.4.), en suelos no cultivados la distribución de la población de *Pythium* era homogénea, siendo no

significativas las diferencias entre el NPP/g suelo cuantificados en los puntos de muestreo. Sin embargo, en suelos cultivados la densidad de población fue muy variable, oscilando entre 0 y 1000 PP/g suelo, e incrementándose con la repetición del cultivo (Apartado 4.9.). La distribución del suelo en macetas incrementaría la variabilidad en el NPP, llegando a enmascarar los resultados del posible efecto de los tratamientos, de manera que éstos no ofrecen una respuesta concluyente en cuanto a la eficacia de los fungicidas testados.

4.8.4. EXPERIENCIAS DE CAMPO.

Los porcentajes de CS obtenidos con los tratamientos con fungicidas a semillas, se recogen en la Tabla 18.

TRATAMIENTOS	NC 90(2)	Esc.(3)	NC 91	Esc. 91
Testigo sin tratar	18.00	26.00	33.50	35.00
Testigo (TMTD)	8.00	7.50	29.00	28.00

Tabla 18. Porcentajes de CS obtenidos con diferentes tratamientos a semillas.

Se observó un porcentaje de CS significativamente menor ($MDS (0.05) = 6.752$) en raíces de parcelas cultivadas con semillas tratadas con TMTD respecto a las no tratadas; de igual manera la incidencia de la enfermedad fue significativamente menor ($MDS (0.05) = 9.549$) durante el primer año de la experiencia. Mientras que los tratamientos efectuados con metalaxil (Apron) no fueron efectivos, además de presentar un

2 Parcelas de la finca Nueva California.

3 Parcelas de la Finca del C.E.C. Agraria de Chipiona (Cádiz).

comportamiento errático, coincidiendo estos resultados con los obtenidos por Gladders y Crompton (1984) y White y col. (1984), en los que se concluye que dicho tratamiento no ofrece protección a la raíz contra la enfermedad.

Tratamientos aéreos con Aliette, fungicida preventivo y curativo con actividad sobre Ficomycetos, y cuya eficacia en el control del CS en invernadero había sido probada por Lyshol y col. (1984), no ofrecieron resultados positivos en campo, los cuales coinciden con los observados por Walker (1988).

Los tratamientos a suelo, posteriores a la siembra, con Rizolex, muestran una respuesta errática en el control del CS, para ambos años y lugares, coincidiendo con lo observado por Gladders y Crompton (1984) y Walker (1988), por lo que no han sido considerados estadísticamente.

Considerando la ausencia de *Rhizoctonia solani* en los tejidos de zanahorias afectados de CS (Apartado 4.3), y la respuesta negativa a los tratamientos de suelo con Rizolex en la incidencia del CS, se podría descartar, en la zona estudiada, a dicho patógeno como posible agente implicado en la enfermedad. Estos resultados son contrarios a los obtenidos por Tello Marquina (1979; 1984), el cual atribuye como posible agente etiológico a *R. solani*, ya que lo aisló en una alta proporción de los tejidos de las zanahorias recolectadas en Sanlúcar de Barrameda y Chipiona.

En la Tabla 19 y Figura 18, se muestran los resultados obtenidos con Ridomil 5G, aplicado al suelo después de la siembra, observándose unas diferencias altamente significativas para ambos años y localidades, entre los porcentajes de CS

registrados en parcelas con D.A. y las testigo, así como una clara tendencia a la disminución en la incidencia de la enfermedad con el tratamiento de D.M., siendo significativas las diferencias con respecto al testigo para NC 90, NC 91 y Esc. 91. Coincidiendo éstos con los resultados obtenidos en ambiente controlado, Apartado 4.8.3.

Porcentajes de CS				
Ridomil 5G	D.A.	D.M.	D.B.	TESTIGO
NC 90	2.50 ^{**}	10.00 [*]	24.50	18.00
Esc. 90	11.00 [*]	21.50	26.50	26.00
NC 91	14.50 ^{**}	17.00 ^{**}	32.00	33.50
Esc. 91	9.50 ^{**}	16.20 ^{**}	38.50	35.00

Rendimientos expresados en kg/m ²				
Ridomil 5G	D.A.	D.M.	D.B.	TESTIGO
NC 90	3.10	2.83	2.21	2.95
Esc. 90	2.29 ^{**}	2.20 [*]	1.92	1.64
NC 91	2.37 ^{**}	2.36 ^{**}	2.24	1.70
Esc. 91	1.55	1.41	1.42	1.15

Tabla 19. Resultados obtenidos con Ridomil 5G. (D.B. 1.75 g m.a./m²; D.M. 3.50 g m.a./m²; D.A. 7.00 g m.a./m²). (** p < 0.01, * p < 0.05.).

Este efecto positivo del tratamiento, no sólo se manifiesta en la menor incidencia de la enfermedad, sino también en la obtención de mejores rendimientos de cosecha, al igual que ocurría en los resultados de Gladders y Crompton (1984); White y col. (1984) y White (1986). Registrándose diferencias significativas tanto con D.A. como con D.M. en las experiencias Esc. 90 y NC 91, así como una tendencia a aumentar en las restantes.

White (1984) demostró que la aplicación de metalaxil disminuye el número total de cavidades, pero no afecta al tamaño de las mismas. Nuestros resultados, tal como se observa en la Tabla 20, muestran que efectivamente se reduce el número total de cavidades, de manera que se obtiene una menor incidencia de la enfermedad, presentando a su vez en las experiencias de Esc. 90 y 91, una disminución en la severidad de las lesiones con D.A. de metalaxil respecto al testigo,

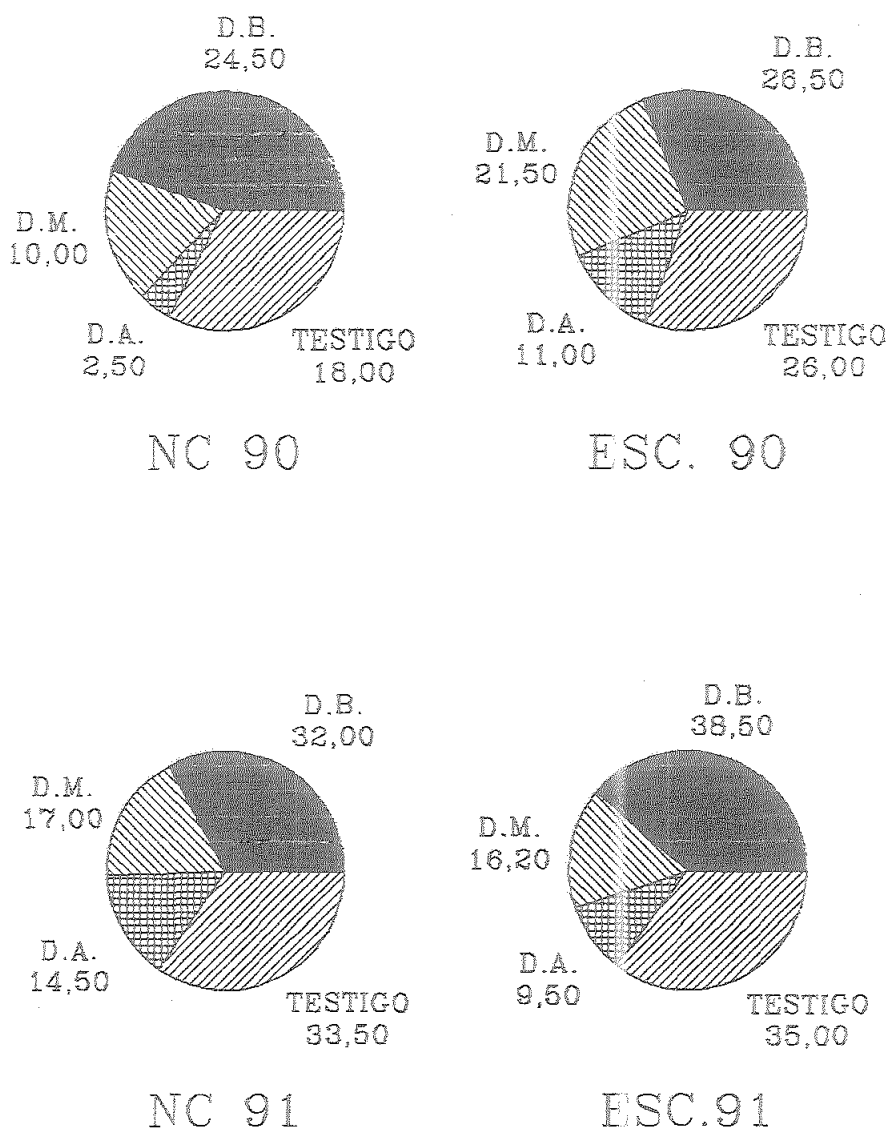


Figura 18. Porcentajes de CS obtenidos con diferentes tratamientos de Ridomil 5G.

coincidiendo con los resultados parciales obtenidos por el mismo autor en 1988.

		NC 90	Esc. 90	NC 91	Esc. 91
TESTIGO	% L	18.00	18.84	27.00	21.14
	% M	-	6.90	6.35	11.92
	% S	-	0.26	0.15	1.24
	Total	18.00	26.00	33.50	35.00
D.A.	% L	1.56	11.00	9.89	7.33
	% M	0.94	-	4.28	2.10
	% S	-	-	0.33	0.06
	Total	2.50	11.00	14.50	9.50
D.M.	% L	8.38	17.72	7.07	13.05
	% M	1.62	2.60	9.74	3.02
	% S	-	1.18	0.19	0.13
	Total	10.00	21.50	17.00	16.20
D.B.	% L	21.15	22.56	21.55	31.80
	% M	3.35	3.79	10.06	6.69
	% S	-	0.15	0.39	-
	Total	24.50	26.50	32.00	38.50

Tabla 20. Severidad de las lesiones observadas, expresadas en porcentajes, en los tratamientos con Ridomil 5G. (L leves; M moderadas; S severas).

En la Figura 19, se observa una disminución en el NPP/g suelo y en los porcentajes de CS, respecto al testigo, con D.A. de metalaxil (Ridomil 5G) para todos los casos, y con D.M. para tres de ellos. Los resultados estadísticos para la comparación entre el número medio de propágulos de *Pythium* cuantificados para el control y D.A., recogidos en la Tabla 21, muestran que las diferencias fueron significativas para la experiencia Esc. 90, pudiéndose hablar en las restantes de una clara tendencia a la disminución del NPP con el tratamiento (ver Tabla 21 y

Figura 19). Estos resultados son concordantes con los obtenidos por Walker en 1988. Indicando que la aplicación de metalaxil al suelo parece ejercer un efecto fungistático sobre los propágulos de *Pythium*.

	TESTIGO	D.A.	t	
Esc. 90	170.7	86.6	2.0118	0.05 >p> 0.025 20 g.l.
Esc. 91	227.7	146.7	1.2592	0.10 >p> 0.150 26 g.l.
N.C. 90	217.8	149.7	1.0535	0.15 >p> 0.200 22 g.l.
N.C. 91	522.2	413.3	1.1853	0.15 >p> 0.100 28 g.l.

Tabla 21. Resultados estadísticos de la comparación del NPP en el control y D.A. de Ridomil 5G.

En cuanto a la relación entre CS y NPP/g suelo, estadísticamente se demuestra una asociación entre las dos variables, ($\chi^2=31.7$ p < 0.01), sin embargo, y debido a que la cuantificación se refiere a población de *Pythium*, dentro de la cual sólo un número restringido de especies serán patógenas (Apartado 4.10.), la incidencia de enfermedad puede fluctuar independientemente al NPP/g suelo condicionada por otros factores como temperatura y humedad.

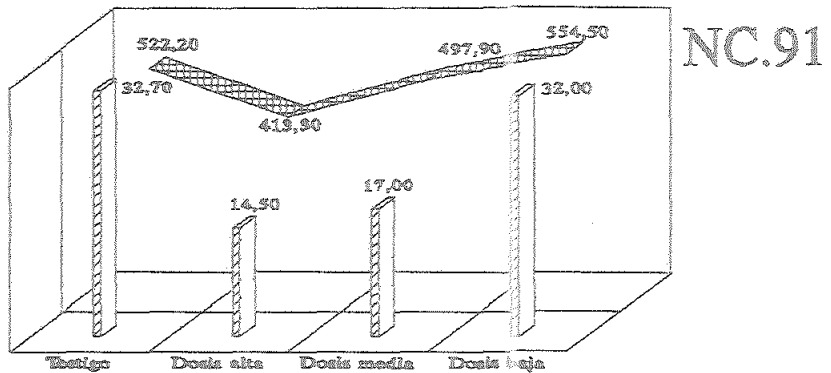
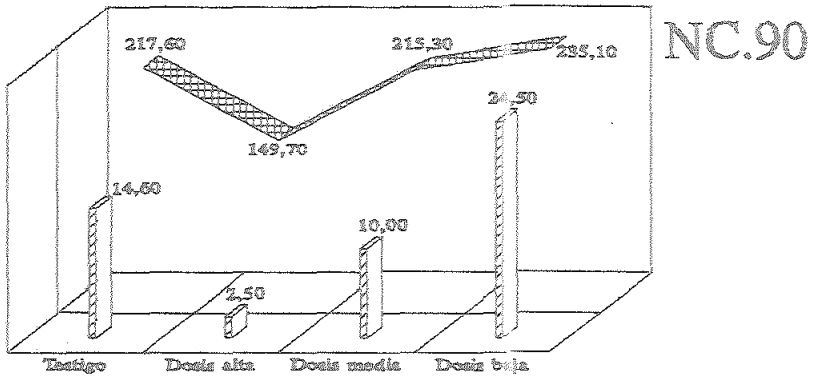
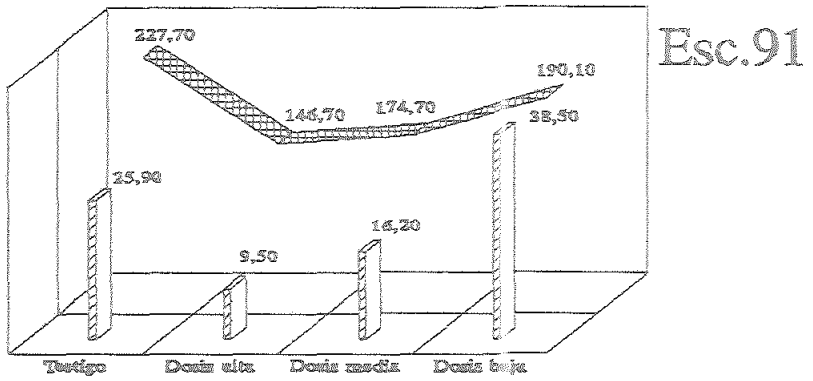
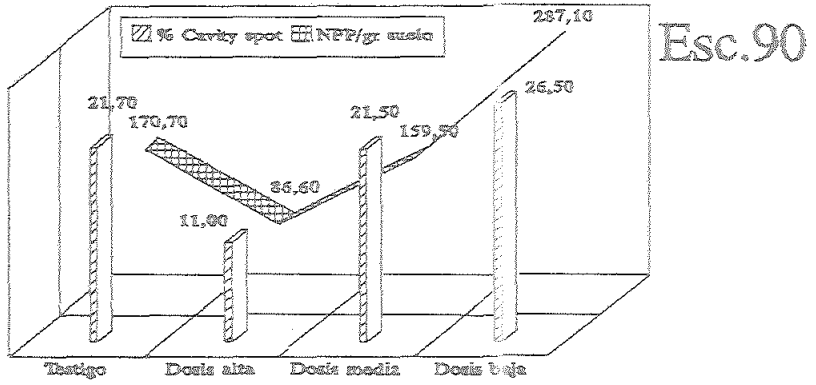


Figura 19. Influencia de los tratamientos con Ridomil 5G en la incidencia del CS y en la densidad de población de *Pythium*.

De los catorce tratamientos con fungicidas utilizados, fue metalaxil (Ridomil 5G), incorporado al suelo, el que presentó unos mejores resultados en el control de la enfermedad. El tratamiento con D.M. muestra una disminución significativa de CS en tres de las experiencias, incrementándose también significativamente los rendimientos en dos de ellas. Con la dosis de 7 g/m² (D.A.) se obtiene una mayor eficacia en el control del CS, reduciendo el porcentaje total de lesiones e incrementando los rendimientos de cosecha para ambos años y localidades, así como disminuyendo parcialmente la severidad de las lesiones.

4.9. EFECTO DE LA REPETICION DEL CULTIVO.

Tal como se indicó en el Apartado 4.5., la repetición del cultivo no muestra una relación directa con la incidencia de enfermedad. Las siembras continuadas en las parcelas prospectadas, no bien delimitadas en la mayoría de los casos, o en sus proximidades, hacen que no podamos considerar nuevas áreas de cultivo dentro de la franja costera de Cádiz, donde la zanahoria se ha venido cultivando intensamente en los últimos 20 años, de manera que toda la zona aparece infestada, y lo único que podemos distinguir en ella son diferentes niveles puntuales de infestación, como lo demuestra el hecho de el elevado NPP/g suelo cuantificados en suelos no cultivados (Apartado 4.4.). De manera que resulta fácil asumir la no correlación en función de las características del cultivo en la zona.

Sin embargo, las experiencias de campo realizadas para determinar la influencia de la repetición del cultivo,

resultaron efectivas en la mayoría de los casos, observándose un aumento significativo de la incidencia de la enfermedad con la repetición del cultivo, como se recoge en la Tabla 22. Coincidiendo estos resultados con los obtenidos por Maynard y col. (1963); White y col. (1984); Wheatley y col. (1984).

	Porcentajes de CS	
	1er. año cultivo	último año
Exp. 1	21.78	24.29
Exp. 2	5.27	31.00**
Exp. 3	18.00	33.50**
Exp. 4	26.00	35.00
Exp. 5	8.00	29.00*
Exp. 6	7.50	28.00**

Tabla 22. Efecto de la repetición del cultivo en la incidencia de CS. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

Así mismo, la densidad de población de *Pythium* en suelo, sufre un incremento significativo con la repetición del cultivo, tal como se observa en la Tabla 23. Coincidiendo con el comportamiento general observado por Plaats-Niterink (1981) para las especies de *Pythium*.

	NPP/g suelo	
	1er año cultivo	último año
Exp. 2	127.3	168.1
Exp. 3	81.2	299.1
Exp. 5	154.7	175.0
Exp. 6	171.6	502.6

Tabla 23. Variación en el NPP/g de suelo con la repetición del cultivo.



4.10. CAPACIDAD PATOGENICA DE LOS AISLADOS.

Los resultados de las pruebas de inoculación llevadas a cabo para determinar la patogenicidad de los diferentes aislados identificados (Apartados 4.3. y 4.4.), no tuvieron éxito cuando la inoculación se realizó sobre heridas provocadas en la superficie de la raíz mediante bisturí estéril. Coincidiendo estos resultados con los obtenidos por Groom y Perry (1985).

Las inoculaciones realizadas sobre la superficie intacta de la raíz con *Fusarium* sp. y *Sclerotium* sp. no se mostraron sintomáticas, dichos agentes habían sido cuantificados con una mayor frecuencia de aislamientos al evolucionar las lesiones, aislándose preferentemente de cavidades necrosadas (Apartado 4.3.), considerándose invasores secundarios.

De igual modo, *P. oligandrum*, *P. irregulare* y *P. undulatum*, especies aisladas de suelo no resultaron patógenas en las inoculaciones realizadas.

P. sulcatum y *P. sylvaticum*, aisladas de cavidades, tampoco logran reproducir los síntomas de CS. Perry y Groom (1984) reproducen lesiones de CS mediante inoculaciones con *P. sylvaticum*, al igual que White y col. (1985) obteniendo un 9 % de cavidades. En 1987, los mismos autores confirma estos resultados, y reproducen un 59.5% de lesiones mediante inoculaciones con *P. sulcatum*. La frecuencia de aislamientos observada por dichos autores para ambas especies a partir de cavidades, fue del 60 % y 85 % para *P. sylvaticum* y *P. sulcatum* respectivamente, mientras que en nuestros resultados se

detectan en una frecuencia mucho menor de 0.8 y 10.8 % respectivamente.

Las inoculaciones con *P. intermedium*, *P. violae* y *P. ultimum*, produjeron pequeñas decoloraciones de la superficie de la raíz, las cuales tuvieron un desarrollo hacia lesiones hundidas.

En el caso de *P. intermedium*, los síntomas aparecieron entre el 49 y 109 día después de la inoculación, obteniéndose un 37.5% de lesiones. White y col. (1987), observaron que el número medio de días requeridos para la formación de las lesiones tras la inoculación con *P. intermedium* era de 4.8, obteniendo un 28 % de lesiones.

Las inoculaciones con *P. violae* produjeron un 28.6 % de lesiones que se detectaron progresivamente entre el 69 y el 159 día después . Según White (1987), el número medio de días requerido para la formación de lesiones tras la inoculación con la especie citada, era de 3.9 días, logrando un 72.6 % de lesiones.

Con *P. ultimum* se obtuvo un 5 % de lesiones, que se detectaron entre el 3^{er} y 79 día tras la inoculación.

Vivoda y col., (1991), observan el desarrollo de CS en todas las raíces inoculadas con *P. violae* y en el 65 % de las inoculadas con *P. ultimum*.

A tenor de los resultados obtenidos, cabe decir que sólo *P. ultimum*, *P. intermedium* y *P. violae* fueron capaces de originar CS mediante inoculaciones en laboratorio. En cuanto a

la virulencia de éstas especies patógenas, *P. intermedium* se muestra como la más virulenta, seguida de *P. violae* y *P. ultimum*, estos resultados no coinciden con los observados por White y col. (1987), según los cuales *P. violae* fue más virulenta que *P. intermedium*. Mientras que están de acuerdo con los obtenidos por Vivoda y col. (1991) que muestran a *P. violae* como más virulenta que *P. ultimum*.

P. ultimum y *P. intermedium* pertenecen al grupo de especies de crecimiento rápido y fueron aisladas de tejidos sintomáticos y de suelo; mientras que *P. violae* presenta crecimiento lento y fue aislada de cavidades. El hecho de que sólo tres de las especies determinadas resulten patógenas, así como su diferente tipo de crecimiento y virulencia, explican la independencia mencionada en el Apartado 4.4., entre los niveles de población total de *Pythium* en suelo y la incidencia y severidad de enfermedad, coincidiendo con lo observado por White (1988) y Vivoda y col. (1991).

5. CONCLUSIONES

- 1.- El CS de la zanahoria, se encuentra ampliamente distribuido en la zona estudiada.
- 2.- Los híbridos y cultivares testados son todos susceptibles al CS.
- 3.- Si bién no existe una zona determinada para la distribucción de las cavidades, el mayor número de ellas se localizan en el tercio superior y medio de la raíz.
- 4.- La sintomatología que caracteriza al CS en Andalucía es análoga a la descrita por otros autores en los países donde se presenta la enfermedad.
- 5.- La enfermedad del CS en la zona estudiada, está originada por un agente de naturaleza biótica.
- 6.- La aportación de abonados diferenciales a suelos arenosos, no afectaron a la incidencia de CS.
- 7.- En la zona de estudio, *Rhizoctonia solani* (Kühn) no está implicado en la ocurrencia de CS.
- 8.- Con siembras tardías se obtiene una menor incidencia de CS, pero también una disminución de la producción.
- 9.- Siembras tempranas favorecen la incidencia de CS y aumentos de la producción.

- 10.- Tratamientos químicos específicos son capaces de disminuir significativamente la incidencia del CS y el NPP en suelo, así como incrementar los rendimientos.

- 11.- La repetición del cultivo de la zanahoria en suelos infestados favorece el aumento de la incidencia del CS, así como el incremento del NPP en suelo.

- 12.- Aunque se aislaron consistentemente de tejidos enfermos cinco especies de *Pythium*, sólo tres de ellas resultaron patógenas.

6. BIBLIOGRAFIA

- Ali-Stayeh, M.S., Lim-ho Chee Len & Dick, M.W., 1986. An improved method and medium for quantitative estimates of populations of *Pythium* species from soil. *Trans. Br. mycol. Soc.* 86 (1), 39-47.
- Anónimo, 1989. Anuario Estadística Agraria. *Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.* 741 pp.
- Anónimo, 1992. Boletín de Información Agraria y Pesquera. Nº 60 Septiembre. *Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca.* pp. 18-35.
- Anderson, N.A.; Davis, D.W. & Shehata, M.A., 1982. Screening carrots for resistance to cankers caused by *Rhizoctonia solani*. *Hort Science, Vol. 17 (2):* 254-256.
- Amorós, M. y Amorós, J., 1984. Horticultura. *Ediciones Dilagro S.A., pp. 17-27; 31-56.*
- Ark, P.A. & Gardner, M.W., 1944. Carrot bacterial blight as it affects the roots. *Pyhtopathology, 34:* 416-420.
- Baker, J.J., 1972. Report on diseases of cultivated plants in England and Wales for the years 1957-1968. *Technical Bulletin, Ministry of Agriculture, Fisheries & Food, (25):* 236-237.
- Barr, D.J.S. & Kemp, W.G., 1975. *Olpidium brassicae*, tobacco necrosis virus, and *Pythium* spp. in relation to rusty root of carrots in Ontario and Quebec. *Canadian Plant Disease Survey, 55:* 77-82.

- Barrau García, C. & Romero Muñoz, F., 1992. Caracterización y etiología del "cavity spot" de la zanahoria (*Daucus carota* L.) en la costa S.O. de Andalucía. *VI Congreso Latinoamericano de Fitopatología*. pp. 44. (Resumen).
- Barrau García, C. & Romero Muñoz, F., 1992. Desarrollo epifitótico y control químico del "cavity spot" de la zanahoria (*Daucus carota* L.) en la costa S.O. de Andalucía. *VI Congreso Latinoamericano de Fitopatología*. pp. 241. (Resumen).
- Bedlan, G., 1984. Important disease of carrot. *Pflanzenerzt*, 37 (9): 140-142.
- Blankendaal, M.; Hodgson, R.H.; Davis, D.G.; Hoerauf, R.A. & Shimabukuro, R.H., 1972. Growing plants without soil for experimental use. *Miscellaneous Pub.*, nº 1251. *Agricultural Research Service. U.S. Dept. Agric.* 17 pp.
- Bonnet, A., 1978. Le matériel végétal. En: La carotte: techniques modernes de production. *Ed. Inuviflec. Paris*. pp. 27-38.
- Brown, J.G., 1950. Diseases of carrots. *Arizona Agr. Exp. Sta. Bull.*, 227: 1-19.
- Burr, T.J., 1973. A selective medium for the isolation of *Pythium aphanidermatum* from field soil. *Phytopathology*, 63: 1215 (Abstract).

- Cesar, G., 1974. Quelques notes au sujet de l'influence du calibre des semences de chicorée witloof et de carottes sur leur faculté germinative. *Pép. Hort. et Mar.*, n^o 144. pp. 53-56.
- Commonwealth Mycological Institute, 1978. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. Fungi: n^o 40, n^o 119, n^o 211, n^o 275. *Commonwealth Agricultural Bureau, Londres*. 596 láms.
- De Kock, P.C.; Hall, A. & Inkson, R.H.E., 1981. Cavity spot of carrots. *An. Edaf. Agrobiol.*, 40:307-316.
- Dick, M.W. & Ali-Shtayeh, M.S., 1986. Distribution and frequency of *Pythium* species in parkland and farmland soils. *Transactions of the British Mycological Society*, 86:49-62.
- Domsch, K.H. & Gams, W., 1980. Compedium of soil fungi. Vols. I & II. *Academic Press Ltd., Londres*, 859 pp. (I) y 405 pp. (II).
- Easau, K., 1940. Developmental anatomy of the fleshy storage organ of *Daucus carota*. *Hilgardia*, Vol.13 n^o 5: 175-226.
- Finkelstein, E.; Bashan, V.; Okon, Y. & Yaakobi, C., 1983. Induction of, and crop loss due to, cavity spot in carrots. *Phytoparasitica*, 11: 3-4.
- Gill, N.T. & Vear, K.C., 1965. Botánica Agrícola. *Acribia*. pp. 217-219.

- Gladders, P. & Crompton, J.G., 1984. Comparison of fungicides for control of cavity spot in carrots. *Annals of Applied Biology*, 104: 36-37.
- Gorini, F., 1974. La coltivazione della carota. *Edagricole*. 29 Reimpr. Bologna.
- Green, C.D. & Makin, T., 1985. Soil-borne transmission of cavity spot of carrots, grown in north Lincolnshire for processing. *Crop Protection*, 4(3):351-358.
- Grogan, R.G.; Zink, F.W. & Kimble, K. A., 1961. Pathological anatomy of carrot root scab and some factors affecting its incidence and severity. *Hilgardia*, 31:53-68.
- Groom, M.R. & Perry, D.A., 1985. Induction of "cavity spot-like" lesions on roots of *Daucus carota* by *Pythium violae*. *Transactions of the British Mycological Society*, 84(4):755-757.
- Groom, M.R. & Perry, D.A., 1985. The epidemiology and control of cavity spot of carrots. *Annual Report, Scottish Crop Research Institute, 1985*. pp. 132.
- Guba, E.F., Young, R.E. & Ui, T., 1961. Cavity spot disease of carrot and parsnip roots. *Plant Disease Reporter*, 45(2):102-105.
- Hafidh, F.T. & Kelly, W.C., 1982. Cavity spot of carrot caused by feeding of fungus gnat larvae. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 107:1177-1181.

- Hendrix, F.F. & Campbell, W.A., 1973. Pythiums as plant pathogens. *Ann. Rev. Phytopathology* 11:77-98.
- Ho, C.L., 1975. Populations studies on the genus *Pythium*. *Ph.D. Thesis, University of Reading*.
- Hoagland, D.R. & Arnon, D.I., 1950. The water-culture method for growing plants without soil. *Calif. Agr. Exp. Sta. Cir.*, 347. 39 pp.
- Howard, R.J. & Williams, P.H., 1976. Methods for detecting resistance to *Pythium* and *Rhizoctonia* root diseases in seedling carrots. *Plant Disease Reporter.*, 60:151-15.
- Howard, R.J.; Pratt, R.G. & Williams, P.H., 1978. Pathogenicity to carrots of *Pythium* species from organic soils of North America. *Phytopathology*, 68:1293-1296.
- Jacobson R.; Dan, C.; Yaakobi, C. & Sander, N., 1973. Unidentified spots on carrots. *Hassadeh*, 53:1168-1171.
- Jeffers, S.M. & Martin, S.B., 1986. Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species. *Plant Disease* 70:1038-1043.
- Jensen, A., 1973. Sygdomme hos gulerødder. *Saertryk af Sandbouyt* 27:75-82.
- Jørgensen, I., 1984. Effect of number of years between crops. *Meddelelse. Statens Planteavlsvforskog*, 86:(1778). 3 pp.

- Kalu, N.N.; Sutton, J.C. & Vaartaja, O., 1976. *Pythium* spp. associated with root dieback of carrot in Ontario. *Canadian Journal of Plant Science*. 56:555-561.
- Laumonnier, R., 1963. Cultures maraichères (II). 2ª Edición. J.B. Baillière et fils. París.
- Liddell, C.M.; Davis, R.M. & Nuñez, J.J., 1989. Association of *Pythium* spp. with carrot root dieback in the San Joaquin Valley of California. *Plant Disease*, 73:246-249.
- López Aranda, J.M., 1978. Notas sobre los trabajos realizados para luchar contra el "picado" de la raíz de la zanahoria. S.E.A. Andalucía Occidental Jefatura Comarcal de Jerez de la Frontera (Cádiz).
- Lund, B.M., 1982. Clostridia and plant disease: new pathogens?. En: *Phytopathogenic Prokaryotes*, Vol. I. (M.S. Mount and G.H. Lacy, Eds.) pp. 264-283. Academic Press. New York.
- Lyshol, A.J., 1981a. Brune rotspissar og skjeggete roter i gulrøt. *Gartneryrket* 71:370-373.
- Lyshol, A.J., 1981b. Darlege rotspissar og gropfleck i gulrøt. *Gartneryrket* 71:478-480.
- Lyshol, A.J.; Semb, L. & Taksdal, G., 1984. Reduction of cavity spot and root dieback in carrots by fungicide applications. *Plant Pathology* 33(2):193-198.
- Maroto Borrego, J.V., 1989. Horticultura. Herbácea Especial. 3ª Edición. Mundi-Prensa. 566 pp.

M.A.P.A., 1986. Métodos oficiales de Análisis, vol.II. Ed. *Secretaría General Técnica, M.A.P.A., Madrid.*

Maynard, D.N.; Gersten, B.; Vlach, E.F. & Vernell, H.F., 1961. The effects of nutrient concentration and calcium levels on the occurrence of carrot cavity spot. *American Society for Horticultural Science*, 78:339-342.

Maynard, D.N. & Gentile, A.C., 1963. The distribution of calcium in cells of the roots of carrot (*Daucus carota* L.). *Physiologia Plantarum*, 16:40-43.

Maynard, D.N.; Gersten, B.; Young, R.E. & Vernell, H.F., 1963. The influence of plant maturity and calcium level on the occurrence of carrot cavity spot. *American Society for Horticultural Science*, 83:506-510.

Messiaen, C.M. & Lafon, R., 1967. Enfermedades de las hortalizas. 1ª Edición. Oikos-Tau, S.A. 361 pp.

Messiaen, C.M., 1979. Las hortalizas. Técnicas agrícolas y producciones tropicales. 1ª Edición. Blume, S. A., Barcelona. pp. 292-295.

Mildenhall, J.P. & Williams, P.H., 1970. *Rhizoctonia* crown rot and cavity spot of muck-brown carrots. *Phytopathology*, 60:887-890.

Mildenhall, J.P.; Pratt, R.G; Williams, P.H. & Mitchell, J.E., 1971. *Pythium* brown root and forking of muck-grown carrots. *Plant Disease Reporter*, 55:536-540.

- Montfort, F. & Rouxel, F., 1988. La maladie de la "tache" de la carotte due à *Pythium violae* Chesters & Hickman: données symptomatologiques et étiologiques. *Agronomie*, 8(8):701-706.
- Oudinet, R., 1978. Le carotte de Normandie dans le département de la Manche. *Phytoma. Decembre*, pp. 3-12.
- Perry, D.A., 1967a. Cavity spot of carrots. *Reporter of the Horticultural Research Institute for 1966*, p. 37.
- Perry, D.A., 1967b. Carrot root disorders. *Agriculture*, 74: 222-225.
- Perry, D.A. & Harrison, J.G., 1971. Cavity spot of carrots. *Scot. Hort. Res. Inst. 18th Annual Rpt.*, pp. 49-50.
- Perry, D.A. & Harrison, J.G., 1977. Pectolytic anaerobic bacteria cause symptoms of cavity spot in carrots. *Nature*, 269:509-510.
- Perry, D.A. & Harrison, J.G., 1979a. Cavity spot of carrots. I. Symptomatology and calcium involvement. *Ann. Appl. Biol.*, 93:101-108.
- Perry, D.A. & Harrison, J.G., 1979b. Cavity spot of carrots. II. The effect of soil conditions and the role of pectolytic anaerobic bacteria. *Ann. Appl. Biol.*, 93:109-115.



- Perry, D.A., 1982a. Pectolytic *Clostridium* spp. in soils and rhizospheres of carrot and other arable crops in east Scotland. *Journal of Applied Biology*, 52:403-408.
- Perry, D.A., 1982b. Induction of carrot lesions. *Annual Report of the Scottish Crop Research Institute for 1981*, pp. 82-83.
- Perry, D.A., 1983. Effect of soil cultivation and anaerobiosis on cavity spot of carrots. *Ann. Appl. Biol.*, 103:541-547.
- Perry, D.A. & Rubens, T.G., 1983. Disorders of vegetables (cavity spot). En: *Report Scottish Crop Research Institute 1981, (1982)*. pp. 81-83.
- Perry, D.A., 1984. Recent advances in control of cavity spot of carrots. *Crop Protection in Northern Britain*, (3):417-422.
- Perry, D.A. & Groom, M.R., 1984. Epidemiology and etiology of root disorders of carrots. *Report of the Scottish Crop Research Institute, 1983*. p. 128.
- Phelps, K.; White, J.G. & Henn, A.J., 1991. Studies on the frequency distribution of *Pythium*-induced cavity spot of carrots. *Ann. App. Biol.*, 119: 21-30.
- Plaats-Niterink, A.J. van der., 1968. The occurrence of *Pythium* in the Netherlands. I. Heterothallic species. *Acta Bot. Neerl*, 17 (4):320-329.

- Plaats-Niterink, A.J. van der., 1981. Monograph of the Genus *Pythium*. *Studies in Mycology No.21*. Centraalbureau voor Schimmelcultures. Baarn., 244 pp.
- Pratt, R.G. & Mitchell, J.E., 1973. A new species of *Pythium* from Wisconsin and Florida isolated from carrots. *Can. Journal of Bot.*, 51:333-339.
- Ramsey, G.B., 1937. Fruit and vegetable diseases on the Chicago market in 1936. *Plant Disease Repr. Suppl.*, 101:81-96.
- Ramsey, G.B. & Wiant, J.S., 1941. Market diseases of fruits and vegetables. *U.S.D.A. Misc. Publ.* 440 pp.
- Ricci, P. & Messiaen, C.M., 1976. La dynamique des populations de *Pythium* dans les sols maraîchères de Guadeloupe. II. Facteurs du potentiel infectieux. *Annu. Phytopathology*, 8: 257-268.
- Rubens, T.G. & Halford, M., 1983. Seeking the causes of cavity spot in the field. *Grower U.K.*, 99:49-53.
- Sanders, P.L., 1984. Failure of metalaxyl to control *Pythium* blight on turgrass in Pennsylvania. *Plant Disease*, 68:776-777.
- Scaife, M.A. & Clarkson, D.T., 1978. Calcium-related disorders in plants - a possible explanation for the effect of weather. *Plant & Soil*, 50:723-725.

- Scaife, M.A.; Burton, A.K. & Turner, M.K., 1980. Cavity spot of carrots-an association with soil ammonium. *Communication in Soil Science & Plant Analysis*, 11(6):621-628.
- Scaife, M.A. & Turner, M.K., 1981. Cavity spot of carrots. *Report of the National Vegetable Research Station for 1980*. pp. 125-126.
- Scaife, M.A.; Turner, M.K.; Hunt, J. & Barnes, S.A., 1981. Cavity spot of carrots-a pot experiment on cation effects. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 12:897-908.
- Scaife, M.A. & Turner, M.K., 1983. Carrot. En: *Diagnosis of Mineral disorders in plants. Vegetables, Vol.2*. pp. 36-40. *Ministry of Agriculture Fisheries and Food. Agricultural Research Council*.
- Scaife, M.A.; Turner, M.K., Barnes, A. & Hunt, J., 1983. Cavity spot of carrots-observations on a commercial crop. *Ann.Appl.Biol.*, 102:567-575.
- Schmitthenner, A.F., 1970. Significance of populations of *Pythium* and *Phytophthora* in soil. En: *Root diseases and soil-borne pathogens*. T.A., Toussoun; R.V., Bega; P.E., Nelson. (Eds.). *Univ. Calif. Press, Berkley*. pp. 25-27.
- Serveto Aquilo, F.J., 1984. Estudio fitopatológico del "picado". *Trabajo fin de carrera*. E.I.T.A. 112 pp. (inérito).

- Sharma, M.L., 1971. Physical and physicochemical changes on the profile of a sodic soil treated with gypsum. *Australian Journal of Soil Research*, 9:73-82.
- Soroker, E.; Bashan, Y. & Okon, Y., 1984. Reproducible induction of cavity spot in carrots and physiological and microbial changes occurring during cavity formation. *Soil Biol. Bioch.*, 16(6):541-548.
- Stanghellini, M.E. & Hancock, J.G., 1970. A quantitative method for the isolation of *Pythium ultimum* from soil. *Phytopathology*, 60:551-552.
- Steel, G.D. & Torrie, J.H., 1985. Bioestadística: Principios y procedimientos. 2ª Edición. Mc Graw-Hill Latinoamericana, S.A., 622 pp.
- Strandberg, J.O. & White, J.M., 1979. Effect of soil compactation on carrot roots. *J. Am. Soc. Hortic. Science*, 104(3):344-349.
- Sutton, J.C., 1975. *Pythium* spp. produce rusty root of carrots in Ontario. *Can. J. of Plant Science*, 55:139-143.
- Sweet, J.B., Lake, S.E., Wright, I.R. & Priestley, R.H., 1986. Resistance of carrot varieties to cavity spot disease. *Aspects Appl. Biol.*, 12:235-245.
- Tamietti, G. & Matta, A., 1980. Alterazione dei fittoni di carotta durante il periodo invernale di conservazione in campo. *Riv. Patol. Veg.*, 17:45-54.

- Tello Marquina, J.C., 1979. Informe sobre los análisis realizados en plantas de zanahorias de los términos de Sanlúcar de Barrameda y Chipiona (Cádiz). *Departamento de Protección Vegetal I.N.I.A. - CRIDA 07 Moncada. Valencia.* 22 pp.
- Tello Marquina, J.C., 1983. Enfermedades criptogámicas en hortalizas. Observaciones en los cultivos del litoral español. *Publicaciones Agrarias. Serie técnica. Madrid.*
- Tello Marquina, J.C., 1984. Notas micológicas del cultivo de la zanahoria (*Daucus carota* L.) en la provincia de Cádiz. En: *Enfermedades criptogámicas en hortalizas. Comunicaciones I.N.I.A. Serie Protección Vegetal, nº 22.* pp. 275-300.
- Thompson, H.C. & Kelly, W.C., 1957. *Vegetables Crops. 5ª Edición. Mc Graw Hill Book Company.*
- Thompson, R., 1969. Some factors affecting carrot root shape and size. *Euphytica, 18: 277-285.*
- Tomlinson, J.A. & Faithfull, E.M., 1984. Association of *Olpidium brassicae* with cavity spot. En: *34th Annual Report for 1983. National Vegetable Research Station,* pp.81.
- Tomlinson, J.A. & Faithfull, E.M., 1985. Association of *Olpidium brassicae* with cavity spot. En: *35th Annual Report for 1984. National Vegetable Research Station,* pp. 80-81.

- Tsao, P.H., 1983. Factors affecting isolation and quantification of *Phytophthora* from soil. In: *Phytophthora: Its biology, taxonomy, ecology and pathology*. D.C. Erwin, S. Bartinick-García and P.H. Tsao (Eds.). A.P.S. Press, St. Paul, Minnesota.
- Tuite, J., 1969. Plant pathology methods. Burgess Publishing Company. 239 pp.
- Vivoda, E.; Davis, R.M. & Nuñez, J.J., 1991. Factors affecting the development of cavity spot of carrot. *Plant Disease*, 75:519-522.
- Wagenvoort, W.A.; Blok, I.; Monbarg, H.F.M. & Velhuinzen, T., 1989. Cavity spot of carrot in relation to a *Pythium* sp.. *Gartenbauwissenschaft*, 54:70-73.
- Walker, G.E., 1988. Control of cavity spot with metalaxyl and phosphorous acid. *Australasian Plant Pathology*, 17(2):41-44.
- Waterhouse, G.M., 1967. Key to *Pythium* Pringsheim. *Commonw. Mycol. Inst. Mycological Papers*, n^o 109. 15 pp.
- Waterhouse, G.M., 1968. The genus *Pythium* Pringsheim. Diagnosis (or descriptions) and figures from the original papers. *Commonw. Mycol. Inst. Mycological Papers* n^o 110. 50 pp.
- Wheatley, G.A., Hardman, J.A. & Edmonds, C.H., 1984. Effects of metalaxyl and carbofuran in a fluid-drilling gel on cavity spot incidence and the yield of carrots. *Ann. Appl. Biol.*, 104:38-39.

- White, J.G. & Strandberg, J.O., 1979. Physical factors affecting carrot root growth: water saturation of soil. *J. Am. Soc. Hortic. Science*, 104:414-416.
- White, J.G. & Bloor, K., 1984. Association of *Pythium* spp. with cavity spot. En: *34th Annual Report for 1983. National Vegetable Research Station*, pp. 80-81.
- White, J.G.; Tomlinson, J.A. & Faithfull, E.M., 1984. Cavity spot of carrots. En: *34th Annual Report for 1983. National Vegetable Research Station*, pp. 80-81.
- White, J.G. & Bloor, K., 1985. Association of *Pythium* and *Phytophthora* spp. with cavity spot. En: *35th Annual Report for 1984. National Vegetable Research Station*, pp. 70-80.
- White, J.G.; Bloor, K.; Tomlinson, J.A. & Faithfull, E.M., 1985. Cavity spot of carrots. En: *35th Annual Report for 1984. National Vegetable Research Station*, pp. 79-81.
- White, J.G., 1986. The association of *Pythium* spp. with cavity spot and root dieback of carrots. *Ann. Appl. Biol.*, 109:265-273.
- White, J.G.; Dowker, B.D. & Crowther, T.C., 1987. Screening carrot cultivars against *Pythium* spp. associated with cavity spot. *Tests of Agrochemicals & Cultivars n^o 8. Ann. Appl. Biol. n^o 110. Supplement*, pp. 138-139.

White, J.G. & Wakeham, A.J., 1987. Responses of *Pythium* spp. associated with cavity spot of carrots to metalaxyl and related fungicides. *Tests of Agrochemicals & Cultivars n^o 8*. *Ann. Appl. Biol.*, n^o 110. Supplement, pp. 52-53.

White, J.G., 1988. Studies on the biology and control of cavity spot of carrots. *Ann. Appl Biol.*, 113: 259-268.

White, J.G.; Dowker, B.D.; Crowter, T.C. & Wakeham, A.J., 1988. Laboratory screening of carrots cultivars with reported differential field performance for cavity spot to three *Pythium* spp. *Tests of Agrochemicals & Cultivars n^o 9*. *Ann. Appl. Biol.*, n^o 112. Supplement, pp. 76-77.

White, J.G., 1989. Cavity spot of carrots indicates widespread occurrence of little known slow-growing *Pythium* spp. *Proceeding of International Symposium on Phytophthora*. Dublin, p. 36. (Abstract).

Yamaguchi, M., 1983. Umbellifers: Carrot, Celery and Condiment Herbs. En: *World Vegetables. Principles, production and nutritive values*. Cap. 20, pp.239-246. *Elles Horwood Ltd., Chichester*. 415 pp.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal de Exámenes en el día de la fecha, para juzgar a la Dña. Carmen Barran Carcia, titulada El picado (cavity spot) de la rana-maria (Daxius carolinsh.) en Andalucía

acordó otorgarle la calificación de ~~Calificada~~ Apta con laude Sevilla, una de Mayo 1974

El Vocal, *Milant*

El Vocal, *[Signature]*

El Vocal, *[Signature]*

El Presidente, *J. Valdez*

El Secretario, *A. Trago*

El Decano, *Carmen Barran*



UNIVERSIDAD DE SEVILLA



600672921

