

EFICACIA DE RIDOMIL EN EL CONTROL DE LA INFECCION PRIMARIA DE *PLASMOPARA HELIANTHI* NOVOT.

C. GARCIA-BAUDIN; J.M. MELERO-VARA y R.M. JIMENEZ-DIAZ *

INTRODUCCION

En España el girasol (*Helianthus annuus* L.) ocupa unas 550.000 hectáreas distribuidas en Andalucía y en las mesetas Central y Norte (1). Entre las enfermedades que lo afectan en nuestro país, mildiu (*Plasmopara helianthi* Novot) es una de las más importantes (7). La enfermedad, reconocida por primera vez en 1972 en algunas localidades de Andalucía Occidental (6), ocurre hoy en todas las regiones cultivadoras, con la excepción del Duero, y mantiene una tendencia creciente en la severidad de sus ataques (8).

La enfermedad es combatida en España con híbridos resistentes, sin que parezcan tener demasiado eco las recomendaciones de los técnicos de separar al máximo los cultivos de girasol en las alternativas. La utilidad de los cultivares resistentes es contrarrestada por el desarrollo de razas fisiológicas del patógeno (12, 16, 17) y su disponibilidad no excluye a otras medidas de lucha, tales como el tratamiento de las semillas con fungicidas capaces de defender a la plántula de la infección primaria. Recientemente Ridomil, un fungicida sistémico eficaz en el control de una variada gama de enfermedades causadas por oomicetos (4, 9, 10, 11, 14, 15), ha sido efectivo contra *P. helianthi* en inoculaciones artificiales en semillas de girasol revestidas del producto (13). En esta comunicación presentamos los resultados obtenidos en un intento de ampliar nuestro conocimiento sobre la actividad de Ridomil en la lucha contra el mildiu del girasol.

* Departamento Nacional de Plantas Oleaginosas, C.R.I.D.A. 10, INIA; y Departamento de Patología Vegetal, E.T.S.I.A., Universidad de Córdoba.

MATERIALES Y METODOS

En nuestros experimentos hemos empleado el cultivar Peredovik. La formulación Ridomil 25 WP fue utilizada en el revestimiento de las semillas o en la irrigación del suelo en que crecían las plántulas. Para las semillas las dosis fueron 1, 2 ó 4 g m.a./kg., realizándose la aplicación según las indicaciones de Hansing (5) y empleando una suspensión de la cantidad del producto correspondiente en 70 ml. de agua destilada por 100 g. de semilla. Las semillas fueron tratadas con el fungicida al menos 10 días antes de ser utilizadas en las inoculaciones experimentales.

Para el tratamiento del suelo el fungicida se suspendió en agua destilada a las dosis 12.5, 25.0 ó 50.0 g m.a./100 l, aplicándose 40 ml. de la suspensión por maceta que contenía 500ml. de una mezcla no estéril de suelo y en la que crecían 3 plántulas. Para cada dosis el riego fungicida se realizó una vez, 11 días después de la inoculación, o dos veces, a los 11 y 18 días de aquélla.

La inoculación se realizó por inmersión de plántulas en agua destilada que contenía 5.10^4 zoosporangios/ml. de *P. helianthi*, durante 6-7 hr. a 20 ± 1 C. Después las plántulas fueron transferidas a macetas con perlita o mezcla de suelo, y mantenidas durante un tiempo variable en cámaras de crecimiento con un fotoperíodo de 15.000 lux 12 hr/día, a 20C durante el período luminoso y 18C durante el de oscuridad. La eficacia de los tratamientos se evaluó por la proporción de plántulas con síntomas propios de la infección sistémica y/o con esporulación de *P. helianthi* en los cotiledones u hojas, después de mantener las plántulas en bolsas de polietileno durante un mínimo de 14 hr. Asimismo, la ocurrencia de infección asintomáticas se contrastó por la esporulación del patógeno en trozos de raíz hipocotilo y epicotilo mantenidos en cámara húmeda a 18° C durante 2-3 días.

RESULTADOS

En un experimento inoculamos semillas tratadas germinadas 3 días a 28° C, con radículas de 15-20 mm. Previamente a la inoculación una parte de las plántulas se lavaron 24 hr. bajo agua de grifo con objeto de eliminar restos de fungicida. La inoculación se efectuó por inmersión exclusiva de las radículas en el inóculo. Como testigos sirvieron semillas no tratadas, germinadas e inoculadas similarmente. Los resultados se presentan en el Cuadro 1. Diez días

CUADRO 1

Infección de girasol por Plasmopara helianthi Novot. tras la aplicación de Ridomol a la semilla

Tratamiento		Plántulas		
Dosis (g m.a. (Kg.))	Lavado de la semilla ^b	Inoculadas (Nº)	Con esporulación ^c en cotiledones (%)	Asintomáticas ^d y esporuladas en cámara húmeda (%)
0	—	60	88,3	0,0
1	Lavada	62	0	3,2
	No lavada	56	0	0,0
2	Lavada	54	0	7,4
	No lavada	64	0	3,0
4	Lavada	59	0	6,8
	No lavada	65	0	3,1

^a Semillas tratadas y germinadas se inocularon introduciendo sólo la radícula en una suspensión de zoosporangios en agua destilada.

^b Antes de la inoculación parte de las semillas fueron lavadas en agua durante 2 hr.

^c La esporulación se produjo tras incluir las plántulas en bolsas de polietileno durante 24 hr., 10 días después de la inoculación.

^d Las plántulas sin esporulación se trocearon y colocaron en cámara húmeda a 18° C durante 48 hr.

después de la inoculación ninguna de las plántulas procedentes de semilla tratada desarrolló esporulación del patógeno en los cotiledones, en condiciones que resultaron en el 88,3% de infección de las plántulas no expuestas al fungicida. No obstante, un reducido porcentaje de las plántulas tratadas estaban infectadas, según indica la esporulación que se desarrolló en trozos de la raíz o hipocotilo de ellas colocados en cámara húmeda.

En otro experimento, las semillas tratadas con el fungicida se sembraron en perlita, donde las plantas crecieron durante 7 días. Las plántulas con raíces limpias de perlita se lavaron 2 hr. bajo agua de grifo y se inocularon sumergiendo raíces e hipocotilo en la suspensión de inóculo. Para contrastar la efectividad de la inoculación, plántulas similares, desarrolladas de semillas no tratadas, se inocularon simultáneamente en el mismo recipiente que contenía a las plántulas procedentes de semillas tratadas con cada dosis del fungicida. Un segundo grupo de testigos se obtuvo inoculando separadamente plántulas obtenidas de semillas no tratadas. Un mes después de la inoculación (Cuadro 2), la infección en los testigos inoculados independientemente de las plántulas tratadas fue de inci-

CUADRO 2

Infección de girasol por Plasmopara helianthi Novot. tras la aplicación de Ridomil a la semilla^a

Dosis (g m.a./Kg.)	Plántulas			
	Inoculadas (N ^o)	Con síntomas ^d (%)	Asintomáticas y esporuladas en cámara húmeda (%)	Total infectadas
0 Testigo ^b	42	85,7	2,3	88,0
1 Semilla tratada	33	51,5	15,1	66,6
0 Testigo ^c	19	57,8	0,0	57,8
2 Semilla tratada	42	21,0	5,1	26,1
0 Testigo ^c	18	61,0	0,0	61,0
3 Semilla tratada	45	11,0	0,0	11,0
0 Testigo ^c	17	70,5	0,0	70,5

^a Plántulas de 7 días desarrolladas de semillas tratada fueron lavadas 2 hr. bajo agua de grifo e inoculadas por inmersión de raíces e hipocotilo en una suspensión de zoosporangios.

^b Plántulas de semillas no tratadas inoculadas en ausencia de tejidos expuestos al fungicida.

^c Plántulas de semillas no tratadas inoculadas simultáneamente, en el mismo recipiente, que las de semillas tratadas.

^d Síntomas característicos de la infección sistémica observadas 1 mes después de la inoculación.

^e Las plántulas sin síntomas se trocearon y colocaron en cámara húmeda a 18° C durante 72 horas.

dencia similar a la del experimento anterior. Sin embargo, en los testigos inoculados al tiempo y en el mismo recipiente que las plántulas procedentes de semillas tratadas, la infección fue inferior en más de un 20%, en promedio, a la obtenida en la inoculación independiente. Comparativamente, asimismo, las dosis 2 y 4 g m.a./kg. redujeron la infección respecto a la dosis más baja, en la que la incidencia fue comparable a la obtenida en los testigos con los que fueron simultáneamente inoculados.

En la aplicación de Ridomil al suelo la inoculación fue por inmersión completa de semillas no tratadas y germinadas, en la suspensión de inóculo (3), efectuándose el primer riego con el fungicida cuando las plántulas tenían los cotiledones extendidos y el primer par de hojas en desarrollo. Cuatro semanas después de la primera aplicación fungicida, el 90% de las plántulas testigo mostraban el complejo sintomatológico típico de la enfermedad, incluyendo un enanismo pronunciado y el mosaico clorótico en todas las hojas formadas. Por el contrario, la aplicación del fungicida al suelo re-

sultó en la aparente recuperación de las plántulas infectadas, puesto que crecieron vigorosas, formando 4-5 pares de hojas y alcanzando 25-30 cm. de altura, sin mostrar en ningún caso el enanismo de los testigos.

Los únicos síntomas que indicaban la infección en plántulas tratadas eran el mosaico clorótico presente en el primer par de hojas de algunas plántulas, y una clorosis tenue presente en el tejido próximo a las nervaduras de las hojas del segundo par. En ningún caso observamos síntomas en hojas de nivel superior. En el Cuadro 3 se han incluido los porcentajes de plántulas que mostraban en el segundo par de hojas de clorosis descrita. Puesto que las hojas del primer par estaban totalmente necrosadas en un elevado porcentaje de plántulas, las cifras incluidas solo son indicativas y no representan la infección total en cada tratamiento. Así, con esta consideración parece que 2 riegos con la dosis intermedia y 1 ó 2 riegos con la más alta, resultaron en una remisión de síntomas superior a la obtenida con el resto de los tratamientos. Pero, sin embargo, por el crecimiento de las plántulas no distinguimos diferencias sustanciales

CUADRO 3

Infección de girasol por Plasmopara helianthi Novot. tras la aplicación de Ridomil al suelo^a

Tratamiento		Plántulas			
Dosis (g m.a./1001)	Nº de aplicaciones ^b	Inoculadas (Nº)	Con síntomas en todas las hojas (%)	Con síntomas ^c en el 2º par de hojas (%)	Con esporulación en cámara húmeda (%)
0	—	30	90,0	—	71,4
12,5	1	29	0	41,4	0
	2	28	0	42,8	0
25,0	1	32	0	40,6	0
	2	30	0	16,6	0
50,0	1	28	0	25,0	0
	2	16	0	0,3	0

^a Semillas no tratadas y germinadas se inocularon por inmersión completa en una suspensión de zoosporangios.

^b Una suspensión acuosa del fungicida se aplicó al suelo donde crecían plantas inoculadas. La aplicación se realizó a los 11 o a los 11 y 18 días de la inoculación.

^c Las plántulas que recibieron riego fungicida no desarrollaron síntomas en hojas superiores al 2º par. Las anotaciones sintomatológicas se realizaron 4 semanas después de la primera aplicación del fungicida.

^d Todas las plántulas utilizadas se trocearon y pusieron en cámara húmeda a 18°C durante 72 hr.

entre ellos. Asimismo, en ningún caso se desarrolló esporulación del agente en tejidos sintomáticos o asintomáticos, cuando las plántulas se mantuvieron en bolsas de polietileno durante 48 hr. y sólo en las plántulas testigos, pero no en las tratadas, esporuló *P. helianthi*, en trozos de tejidos que estuvieron en cámara húmeda 72 hr. a 18° C.

El riego del suelo con la suspensión fungicida mostró cierta fitotoxicidad para las plántulas. En aplicaciones a testigos no inoculados todas las plántulas desarrollaron síntomas con cada uno de los tratamientos utilizados, que variaron desde necrosis más o menos extensas en el margen foliar a manchas necróticas circulares de 2-3 mm. de diámetro y color castaño claro, que se formaron entre las nerviaduras. Los síntomas decrecieron en severidad acropetamente en las plántulas, afectando ocasionalmente al tercer par de hojas, y fueron más severos con los tratamientos más intensos. Aunque no hemos realizado ningún esfuerzo para comparar la fitotoxicidad inducida por las varias dosis y aplicaciones, la severidad de los síntomas fitotóxicos no afectó en nuestra opinión al normal crecimiento de las plántulas.

DISCUSION

La actividad sistémica de CGA-48988 (Ridomil) contra un número de mildius de infección localizada ha sido demostrada en aplicaciones al suelo en que crecían las plantas (4, 14, 17). La remisión de los síntomas propios de la infección sistémica de *P. helianthi* en girasol y la ausencia de esporulación del agente en tejidos afectados, que hemos observado en nuestros experimentos, indican el efecto terapéutico de Ridomil 25 WP contra este otro tipo de infección, aún con aportaciones de pequeñas cantidades del producto (10^{-2} g m.a./ 10^3 ml. de suelo). La fitotoxicidad de esta materia activa sobre girasol en las aplicaciones al suelo contrasta con lo reflejado por otros autores, que no hacen mención a ella en cultivos hortícolas con aportaciones al suelo de cantidades de producto en el rango de la empleada por nosotros (14); o en cultivos leñosos con cantidades muy superiores (17). Puesto que en nuestro experimento hemos incluido la dosis recomendada para el control del Moho Azul en los semilleros de tabaco (2), pudiera ser que girasol fuese más sensible al fungicida que otras plantas herbáceas.

En nuestros experimentos de revestimiento de las semillas hemos tratado de evitar la posible acción protectora del fungicida, eliminando los restos de éste por lavado en agua antes de realizar la

inoculación. Los resultados han sido contradictorios, siendo las mismas dosis más eficaces contra la infección de plántulas de 3 días que contra la de 7 días. La mayor efectividad de las dosis 2 y 4 g m.a./kg. en la inoculación de plántulas de 7 días pudiera ser consecuencia de una actividad sistémica, y, posiblemente por una mejor absorción del producto por los tejidos vegetales a las dosis más altas. Alternativamente, la eficacia contra la inoculación de semillas germinadas pudiera reflejar la actividad sistémica del producto absorbido durante la germinación, o una acción protectora de residuos del mismo presentes en la radícula y no eliminados en el proceso de lavado.

AGRADECIMIENTO

Queremos expresar nuestro reconocimiento a Ciba-Geigy que gentilmente nos suministró el producto utilizado en nuestros experimentos.

REFERENCIAS

- (1) ANONIMO, 1979. Boletín mensual de Estadística, Nº 1-2. Ministerio de Agricultura.
- (2) ANONIMO, 1979. Ridomill, Ridomil Plus. Fungicidas sistémicos. Información Técnica Ciba-Geigy, 12 p.
- (3) COHEN Y., SACKSTON W. E., 1974. Seed infection and latent infection of sunflowers by *Plasmopara halstedii*. Can. J. Bot. 52:231 - 238.
- (4) BIEHN W. L., YOUNG T., DILL T. R., SNOW J., SEI FRIED E. B., 1978. CGA-48988, a unique fungicide for the control of Oomycetes. (Abstr.) Phytopathol. News 12: 142.
- (5) HANSING E. D., 1978. Techniques for evaluating seed-treatment fungicides. En Methods for evaluating plant fungicides, and bactericides, 88-92, The American Phytopathological Society, St. Paul, U.S.A.
- (6) JIMÉNEZ DÍAZ R. M., 1973. Notas sobre la presencia en España del mildiu del girasol. An. INIA Ser. Prot. veg. Nº. 3: 95-105.
- (7) JIMÉNEZ DÍAZ R. M., SACKSTON, W. E., 1977. Investigaciones preliminares para la elaboración de un mapa de enfermedades de girasol en España. II. Reunión Anual, Grupo Especializado de Fitopatología, S.E.M. Madrid.
- (8) JIMÉNEZ DÍAZ R. M., MELERO VARA J. M., BLANCO LÓPEZ M. A. TRAPERÓ CASAS A., 1980. El mildiu del girasol en España: Situación actual. Comunicaciones I.N.I.A. (Enprensa)

- (9) LAL S., BHARGAVA S. K., UPADHYAY R. N., 1979. Control of sugarcane downy mildew of maize with metalaxyl. Plant Dis. Repr. 63: 986-989.
- (10) LOCKE J. C., PAPAVIDAS G. C., LEWIS J. A., 1979. Seed treatment with fungicides for the control of *Pythium* seed rot of peas. Plant Dis. Repr. 63: 725-728.
- (11) PAPAVIDAS G. C., SCHWENK F. W., LOCKE J. C., LEWIS J. A., 1979. Systemic fungicides for controlling *Phytophthora* root rot and damping-off of soybean. Plant Dis. Repr. 63: 708-712.
- (12) POGORLETSKY B. K., GESHELE E. E., 1975. On inheritance of immunity to downy mildew in sunflower. (In Russian) Genetica 11:21 - 28.
- (13) SACKSTON W. E., 1979. Control of downy mildew of sunflower by treatment with Ridomil. (Abstr.) Ann. meeting North East Division, American Phytopathological Society.
- (14) STANGHELLINI, M. E., KRONLAND W. C., 1978. Systemic fungicide for control of *Pythium aphanidermatum* and *Pseudoperonospora cubensis* on green house cucumbers. (Abstr.). Phytopathol. News. 12: 142.
- (15) TIMMER L. W., 1979. Preventive and systemic activity of experimental fungicides against *Phytophthora parasitica* on citrus. Plant Dis. Repr. 63: 324-327.
- (16) VRANCEANU, A. V., PIRVU N., ILIESCU H., 1979. A new race of the fungus *Plasmopara helianthi* Novot identified in Romania. Proc. 8th. Internat. Sunflower Conf., Minneapolis, USA., 1978. 328-333.
- (17) ZIMMER D. E., 1974. Physiological specialization between races of *Plasmopara halstedii* in America and Europe. Phytopathology 64: 1465-1467.