

ENFERMEDAD VASCULAR Y FOLIAR DE LA LECHUGA
(*Pythium tracheiphilum*) EN VENEZUELA

Omar Tortolero*

SUMMARY

A new disease of lettuce (*Lactuca sativa L.*) was detected in Mucurubá (Mérida State) in September of 1981.

This disease causes wilting and necrotic lesions on the leaves of lettuce plants. A fungus was isolated from the root vascular cylinder and the growth on V-8 plus 100 ppm of sitosterol was effective to induce sexual structures.

Pythium tracheiphilum Matta, was determined as causal agent of the disease and its pathogenicity was demonstrated on root and leaves of six weeks old plants.

RESUMEN

En Mucurubá, Distrito Rangel del Estado Mérida fué detectada en Septiembre de 1981 una enfermedad en lechuga que por primera vez se reporta en Venezuela.

Esta enfermedad causa marchitez y necrosis foliar en plantas de lechuga. Al aislar del cilindro vascular de las plantas atacadas se encontró un hongo, el cual produce estructuras sexuales en medios de cultivos como V-8 más 100 ppm de sitosterol.

Se determinó que *Pythium tracheiphilum* Matta, es el agente causal probándose su patogenicidad sobre hojas y raíces de plantas de seis semanas de edad.

* Posgrado en Fitopatología. Escuela de Agronomía. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado. Barquisimeto, Venezuela.

INTRODUCCION

La lechuga (*Lactuca sativa* L.), es una de las más importantes hortalizas en la región de Los Andes Venezolanos.

En Septiembre de 1981, en inspección de campo se detectó una enfermedad en la zona de Mucurubá (Mérida) región eminentemente hortícola. La enfermedad causa marchitez de las plantas, poco desarrollo y eventualmente manchas necróticas en las hojas. Las plantas atacadas pueden ser sacadas fácilmente del suelo con solo halarlas ligeramente hacia arriba.

Es de hacer notar que las raíces de plantas infectadas al ser observadas no muestran ningún síntoma exterior; no obstante, al cortársele longitudinal o transversalmente se observa ennegrecido el sistema vascular (Fig. j).

La condición fría y lluviosa de la región de Mucurubá (15 °C average) propicia la aparición de la enfermedad, pues condiciona alta humedad en el suelo, lo que favorece el desarrollo y diseminación del patógeno.

El hongo produce abundantes esporangios en medios de cultivo como: Agar Papa Dextrosa (APD) y Agar V-8 (Fig. f). Sin embargo, requiere de medios con esteroles para producir estructuras sexuales (Fig. a y b).

El *Pythium* aislado de plantas enfermas de los campos de Mérida corresponde al mismo organismo encontrado en los Estados Unidos (11) se estudiaron sus características y patogenicidad; usando para ello medios de cultivos a base de Agar V-8 y APD y para las pruebas de patogenicidad el cultivar comercial de Lechuga Great Lakes.

REVISION DE LITERATURA

Varias especies de *Pythium* han sido reportadas como causales de enfermedades en Lechuga; algunas causan: a) Damping off (10), b) Manchas foliares (1), c) Pudriciones de raíces (6) y un último grupo causa Marchitez (9).

Ciccarone (3) en Italia reportó a *Pythium oligandrum* Drechs como causal de Damping off en plántulas de Lechuga.

Pythium debaryanum Hesse y *Pythium ultimum* Trow se aislaron de Lechuga (10).

Como causal de Necrosis foliares *P. aphanidermatum* (Edson) Fitz ha sido encontrado en Nagpur (7).

En 1940 Biraghi (2) descubrió en Italia una especie de *Pythium* no identificada aislada del sistema vascular.

Hannon (6) describe una enfermedad de lechuga consistente en pudrición de raíces y ennegrecimiento vascular en la zona de Nueva York, *P. vexans* de Bary resultó ser el agente causal.

En 1965 Matta (9) describe una nueva especie de *Pythium* atacando lechuga en Sanova - Italia, en las plantas enfermas se observan detención de crecimiento, marchitez y apariencia de roseta, el sistema radical, se ve ennegrecido y se manifiesta una evidente pudrición. El patógeno fué aislado en agar avena y se le llamó *Pythium tracheiphilum* Matta.

En 1978, Tortolero (11) reporta una nueva raza de *P. tracheiphilum* en los Estados Unidos. A diferencia del descrito por Matta, este *Pythium* de U.S.A. produce esporas móviles (Zoosporas) y se logra observar Oosporas in vitro, cuando se emplean medios de cultivos a base de esteroles.

MATERIALES Y METODOS.

Las plantas usadas para prueba de patogenicidad se sembraron en potes de 15 cm. (diámetro) con suelo previamente esterilizado.

Para aislar el hongo; las plantas de lechuga que mostraron síntomas se trajeron al laboratorio y se lavaron en agua de chorro. Luego las raíces se pasaron varias veces por agua destilada y fueron esterilizadas con alcohol etílico (95%) por 45 segundos, las raíces se lavaron luego 4 veces con agua destilada y los pedacitos del cilindro central ennegrecidos se sembraron en agar - agua. Las puntas de las hifas que desarrollaron a las 36 horas, se transfirieron a medios de cultivos como APD y V-8.

La inducción de órganos sexuales se logró mediante el uso de Agar Papa dextrosa, más la incorporación de 100 ppm de B. Sitosterol. La preparación del medio consistió en: Mezclar 2.5 gr. de CaCO_3 y 300 ml de V-8 centrifugado a 4000 g., cada 200 ml del líquido supernadante se mezcló con 100 mg de Sitosterol (disuelto en 20 ml de alcohol al 95%). Finalmente el volumen fue llevado a 1 lts. mediante la incorporación de agua destilada.

Para inducir zoosporas, el hongo crecido en APD por 12 días fue colocado con el medio más 80 ml de agua estéril por caja, en una licuadora a alta velocidad por 40 segundos, posteriormente esta mezcla se colocó en vasos de precipitados y se incubaron a 18 °C por 16 horas.

Para los procedimientos de inoculación se preparó inóculo de la misma forma que la descrita para inducir zoosporas; solo que la solución resultante fue añadida al suelo del pote con plantas de 6 semanas de edad a razón de 40 ml/ por planta. Para facilitar el contacto del inóculo con las raíces, a cada planta a inocular se le hizo un hueco alrededor de la raíz principal y allí se vertió la solución de inóculo. Después de inóculadas las plantas se colocaron en una cámara de crecimiento (con un humidificador interior para asegurar suficiente humedad) por espacio de 24 horas.

Para inocular hojas, pedacitos de agar con el hongo (10 días) se colocaron en la lámina foliar previamente herida con una aguja de disección y las plantas una vez inóculadas se llevaron a la cámara descrita anteriormente usada para inoculación en raíces.

Los procedimientos para observar el hongo en las raíces consistieron en: colocar raíces infectadas en solución de una parte de Acido Acético Glacial, más tres partes de 95% de Etanol por cuatro horas; para ello se cortaron pedacitos de raíz longitudinal y transversalmente y se colocaron en lactophenol con 0.1 % Orseillin Blue y calentándose hasta hervir, para finalmente montar el Lactofenol y examinar al microscopio.

El uso de la técnica de Marlatt (8) permitió observar el hongo (esporangios) sobre la lámina foliar.

RESULTADOS Y DISCUSION

De los estudios taxonómicos, histológicos y patológicos se concluye que *Pythium tracheiphilum* es el patógeno causal de la enfermedad en lechuga detectada en Los Andes Venezolanos.

En APD el hongo produjo esporangios (20 μ en diámetro) en gran cantidad a los 10 días de sembrados (Fig. f); con Oogonio terminal (18 μ) y

anteridio monoclinal (Fig. b), siendo plerótica la Oospora (15 μ) formada (Fig. a).

Hubo un marcado efecto del medio de cultivo en la formación de estructuras reproductivas; siendo solo los medios con esterol los únicos capaces de inducir la formación de estructuras sexuales a temperatura ambiental 24° - 28 °C.

La liberación de Zoosporas ocurre entre 14-18 horas a temperatura alrededor de 16 °C; como es característico en *Pythium*; una vesícula es formada previo a la salida de las Zoosporas (Fig. d y e) éstas pierden su movilidad varios minutos después de liberadas (Fig. c).

La aplicación de la técnica modificada de Marlatt (8) para examinar raíces infectadas, dió el resultado buscado; el método dió una clara diferenciación entre el hongo y el tejido (Xilema) del hospedero (Figs. k y l).

Así mismo se pudo observar esporangios sobre la lámina foliar (Fig. i).

Las pruebas de patogenicidad practicadas en hojas y raíces resultaron positivas en ambos casos.

Los síntomas en hojas se evidenciaron a las 48 horas y a partir de ese momento la necrosis avanzó hasta cubrir una buena porción de la lámina foliar y los pecíolos (Fig. h).

Las plantas inoculadas en raíces evidenciaron síntomas de marchitez a los cinco días (Fig. g), a partir de ese momento la pérdida de vigor de la planta se hizo cada día más palpable hasta la muerte total de la plantas.

El carácter vascular y foliar del *Pythium* encontrado en Los Andes Venezolanos, semeja a la especie de *Pythium* descrita en Wisconsin (U.S.A.) diferenciándose de las especies reportadas en Italia (2), New York (6) India (7); por no ser éstos últimos patógenos vasculares.

La producción de zoosporas en el *Pythium* estudiado en el presente trabajo fué mucho más abundante que las reportadas en el *Pythium tracheiphilum* encontrado en Los Estados Unidos (11).

Aunque no se han hecho estudios detallados de la enfermedad, se sospecha que por ser el patógeno causal un micro organismo de suelo con habilidad para producir estructuras de resistencia (Oosporas) puede permanecer por largos períodos en el suelo y construir una seria amenaza para el desarrollo del cultivo en la zona.

Se estima necesario considerar el uso de variedades tolerantes a la enfermedad (11) y emplear control químico cuando el aspecto económico lo permita.

Se cree necesario considerar la posibilidad de rotar cultivo, siempre y cuando la sustitución se haga por cultivos resistentes al patógeno.

Conviene hacer investigación de posibles hospederos alternantes del patógeno y su posible papel en la epidemiología de la enfermedad.

FIGURA 1.-

Fig. a: Oosporas desarrolladas en medios a base de esterol.

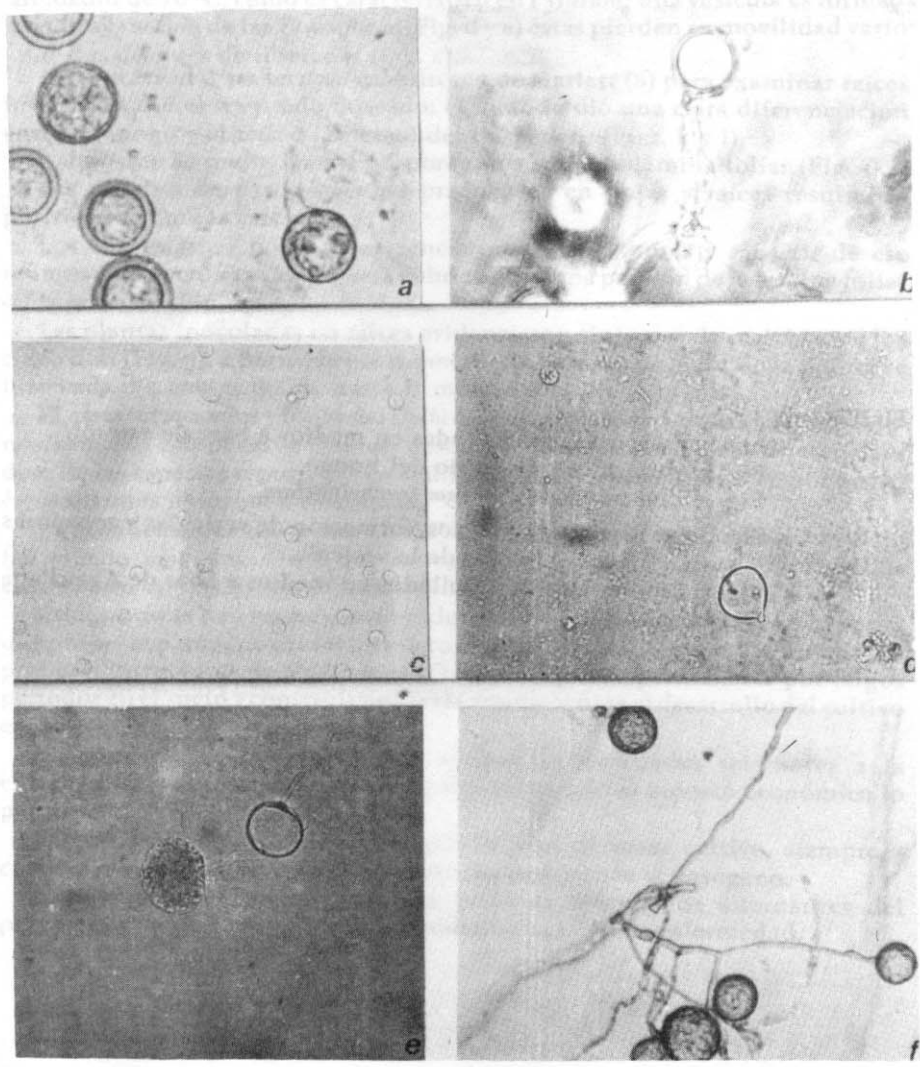
Fig. b: Anteridio y Oogonio del hongo.

Fig. c: Zoosporas de *Pythium tracheiphilum*.

Fig. d y e: Esporangios vacíos, formación de vesículas y zoosporas (flecha) liberada de la vesícula.

Fig. f: Esporangios desarrollados en medios a base de Agar Papa Dextrosa (APD).

La liberación de Zoospores ocurre entre 14-18 horas a temperatura de agua de 16°C como se muestra en el Pythium una vesícula es formada



FIGURAS:

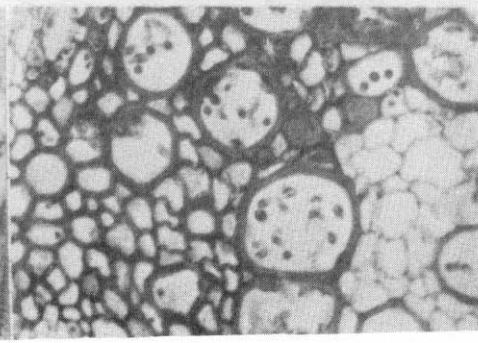
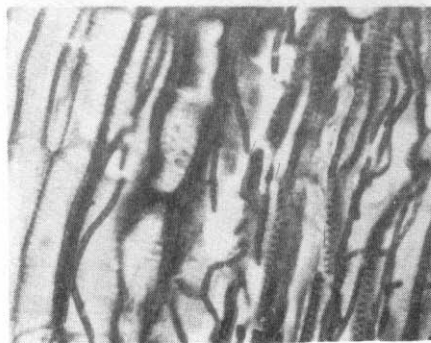
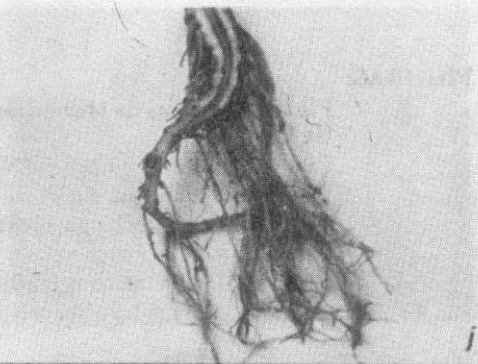
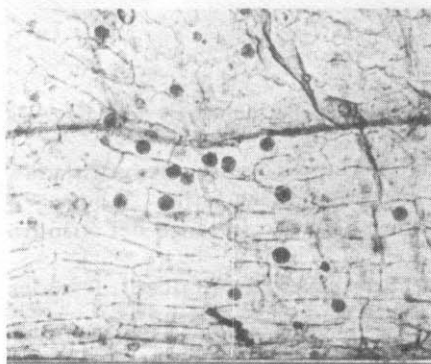
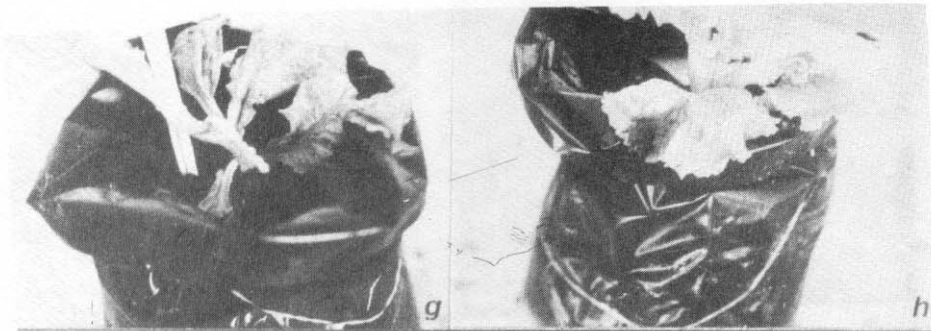
Fig. g: Síntomas de Marchitez en plantas de lechuga 5 días después de inoculada.

Fig. h: Síntomas en hojas (Necrosis) 2 días después de inoculadas.

Fig. i: Esporangios de hongo sobre la lámina foliar.

Fig. j: Raíz de lechuga mostrando ennegrecimiento del cilindro vascular.

Figs. k y l: Cortes longitudinal y transversal de raíces infectadas mostrando micelio del hongo en el xilema.



BIBLIOGRAFIA

- 1 ADEGBOLA, M.O.K. and D.J. HAGEDORN. Host parasite relations in *Pythium* bean blight. *Phytopathology* 59: 1484 - 1487. 1969.
- 2 BIRAGHI, A. A lettuce rot caused by *Pythium*. *Boll. staz, Pat. Veg. Roma, N.S.*, 20: 119 - 124. 1940.
- 3 CICCARONE, A. Disease outbreaks on economic plants in Italy FAO, *Plant Prot. Bull.* 1(4): 49 - 51. 1953.
- 4 ELLIOTT, M.R. R. HENDRIE y B. A. KNIGHTS. The sterol requirement of *Phytophthora Cactorum*. *C.J. Microbiol* 42; 425 - 435. 1966.
- 5 ESAU, K Anatomy of seed plants. *Jonh Willey E. Sons, Inc.*, New York, London and Toronto. 550 p. 1977.
- 6 HANNON, C.J. Lettuce root rot studies PhD. Thesis Cornell Univ., Ithaca, N.Y. 91 p. 1955.
- 7 JAIN, A.C. *Pythium* leaf rot of lettuce. *Science E Culture*, 17: 258. (R.A.M. 31: 588). 1951.
- 8 MARLATT, R.B., R.W. LEWIS, y R.T. McKITTRICH. Observing *Bremia lactucae* in lettuce. *ADR.* 47: 126 - 128. 1963.
- 9 MATTA, A. A Disease of lettuce caused by a new species of *Pythium* *Phytopath Mediterr* 4: 48 - 53. 1965.
- 10 SIDKY, S. Four *Pythium* species isolated from lettuce seedlings. *Agric. Rés. Rev.*, 39: 14-27. 1961.
- 11 TORTOLERO O., y L SEQUEIRA, A new vascular disease of lettuce caused by a species of *Pythium*. *Plant Disease Reporter* 62: 517 - 521. 1978.
- 12 TORTOLERO O., et. al. Diagnóstico de Enfermedades en Cultivos de la Región Centro Occidental desde 1977 hasta 1981. *Bol. Posgrado en Fitopatología. Barquisimeto Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado.* 1982.