

25/97

COMUNICACIÓN I+D

EL CAVITY SPOT DE LA ZANAHORIA



COMUNIDAD EUROPEA



Consejería de Agricultura y Pesca

INDICE

ABREVIATURAS	11
1. INTRODUCCIÓN GENERAL Y REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	13
1.1. SUPERFICIE DE CULTIVO Y PRODUCCIONES	13
1.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA EN ANDALUCÍA	13
1.3. CLASIFICACIÓN E HISTORIA	14
1.4. CARACTERÍSTICAS DE LA PLANTA	15
1.5. EL "CAVITY SPOT" DE LA ZANAHORIA	15
1.5.1. Sintomatología de la enfermedad	16
1.5.2. Detección de la enfermedad y primeros estudios	16
1.5.3. Estudios nutricionales	17
1.5.4. Condiciones en el suelo	17
1.5.5. Variabilidad en la incidencia	18
1.5.6. Repetición del cultivo	19
1.5.7. Implicación de agentes bióticos	19
1.5.8. Anaerobiósis, implicación bacteriana	20
1.5.9. Variedades, híbridos y cultivares	21
1.5.10. Relación con <i>Rhizoctonia solani</i> (Kühn)	21
1.5.11. "Root dieback" y "cavity spot"	22
1.5.12. Identificación de especies de <i>Pythium</i>	22
1.5.13. Otros organismos propuestos como agentes causales	23
1.5.14. Estudios sobre control químico	23
2. OBJETIVOS	27
3. MATERIALES Y MÉTODOS	29

3.1. SINTOMATOLOGÍA Y CARACTERIZACIÓN DEL CS.	29
3.1.1. Experiencias de campo.	29
3.1.2. Muestras de campo.	30
3.1.3. Valoración de la enfermedad.	30
3.2. IMPLICACIÓN DE AGENTES BIÓTICOS.	31
3.3. AISLAMIENTOS DE TEJIDOS SINTOMÁTICOS.	31
3.4. AISLAMIENTOS DE SUELO.	32
3.5. INCIDENCIA Y DISTRIBUCIÓN DEL CS EN LA COSTA NOROESTE DE CÁDIZ.	32
3.6. EFECTO NUTRICIONAL.	34
3.6.1. Experiencia en ambiente controlado.	34
3.6.2. Experiencia en campo.	34
3.7. INFLUENCIA DE LA FECHA DE SIEMBRA.	36
3.8. CONTROL QUÍMICO DE LA ZANAHORIA.	36
3.8.1. Fungotoxicidad “in vitro”.	36
3.8.2. Fitotoxicidad en semillas.	37
3.8.3. Experiencia en ambiente controlado.	37
3.8.3.1. Tratamientos.	37
3.8.4. Experiencias de campo.	38
3.9. EFECTO DE LA REPETICIÓN DE CULTIVO.	39
3.10. CAPACIDAD PATOGENICA DE LOS AISLADOS.	39
3.11. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.	39
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
4.1. SINTOMATOLOGÍA Y CARACTERIZACIÓN DEL CS.	41
4.2. IMPLICACIÓN DE AGENTES BIÓTICOS.	51
4.3. AISLAMIENTOS DE TEJIDOS SINTOMÁTICOS.	51
4.4. AISLAMIENTOS DE SUELO.	54
4.5. INCIDENCIA Y DISTRIBUCIÓN DEL CS EN LA COSTA NOROESTE DE CÁDIZ.	55

4.6. EFECTO NUTRICIONAL	57
4.6.1. Experiencia en ambiente controlado.....	57
4.6.2. Experiencias en campo.	58
4.7. INFLUENCIA DE LA FECHA DE SIEMBRA	60
4.8. CONTROL QUÍMICO DEL CS DE LA ZANAHORIA	67
4.8.1. Fungotoxicidad “in vitro”.....	67
4.8.2. Fitotoxicidad en semillas.	67
4.8.3. Experiencias en ambiente controlado.....	68
4.8.4. Experiencias de campo.....	70
4.9. EFECTO DE LA REPETICIÓN DEL CULTIVO	75
4.10. CAPACIDAD PATOGENICA DE LOS AISLADOS	76
5. CONCLUSIONES	79
6. LISTA DE FIGURAS	81
7. LISTA DE TABLAS	83
8. BIBLIOGRAFIA	85

ABREVIATURAS

CS: cavity spot

SE: suelo estéril

SNE: suelo no estéril

NC: Nueva California

Esc: Escuela (Centro de Investigación y Formación 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.

AVg: Agar ocho vegetales.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL Y REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.

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.

1.1. SUPERFICIE DE CULTIVO Y PRODUCCIONES.

Años	Superficie (Ha)	Producción (Tm)
1.985	5.666	161334
1.986	6.215	172373
1.987	6.248	179.193
1.988	6.401	217.036
1.989	6.594	244.965
1.990	6.803	252.228
1.993	6.358	293.594

Tabla 1. Serie histórica de superficie de siembra y producción de zanahoria (2, 3).

En España, la zanahoria esta presente en los mercados durante todo el año, gracias a que 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 (2, 3).

1.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA EN ANDALUCÍA.

La superficie de zanahoria cultivada en Andalucía durante el periodo de 1989 a 1993 fue de 1827, 1898, 1980, 2355 y 2399 ha respectivamente, de las cuales 998, 1110, 1200, 1600 y 1713 ha correspondían a la provincia de Cádiz, Chipiona y Sanlúcar de Barrameda principalmente, lo que supone un 55, 58, 61, 68 y 71 % de

la superficie cultivada en toda la Comunidad, mientras que el resto de las provincias representa algo menos de un 10 % de la superficie total (3).

Andalucía	Superficie de siembra (Ha)	Producciones (Tm)
Almería	6	120
Cádiz	1.824	95.760
Córdoba	228	7.845
Granada	45	1.575
Huelva	42	987
Jaén	42	814
Málaga	97	1.940
Sevilla	150	3.750
Total	2.434	112.791

Tabla 2. Superficie de siembra y producciones de zanahoria obtenidas en Andalucía. (4)

1.3. CLASIFICACIÓN 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 éste género en el S.O. de Asia, norte de África y Norteamérica. Su cultivo fue introducido en China hacia los siglos XIII o XIV y en Japón hacia el XVII (130). A partir de la forma original y por sucesivas selecciones iniciadas en el siglo XVII, se obtienen las formas actuales (55).

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: superior a 20-25 cm
- Semilargas: entre 15-20 cm
- Semicortas: entre 10-20 cm
- Cortas: inferior a 10 cm

De este grupo las de mayor aceptación para el mercado fresco son las semilargas. Aunque durante las últimas campañas se está incrementando considerablemente la superficie de siembra de zanahorias de menor calibre, raíces de unos 10 cm de longitud y 1-2 cm de diámetro, que permiten su recolección y comercialización en grupos, como son los cultivares Mokum y Evora.

De forma continua y durante décadas se han desarrollado programas de mejora genética de cultivares e 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.

ción 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 (19, 55).

1.4. CARACTERÍSTICAS 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 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 (27). 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 (29). 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 (107).

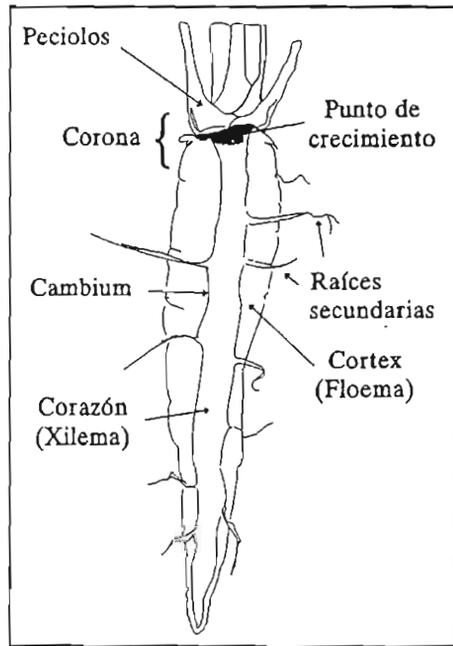


Figura 1. Corte longitudinal de la raíz de la zanahoria. Redibujado de Yamaguchi, (130).

1.5. EL "CAVITY SPOT" DE LA ZANAHORIA.

El cavity spot (CS) de la zanahoria es una enfermedad que afecta a la raíz de dicha planta produciendo oquedades en su superficie, y 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 (10, 17, 65) y Norteamérica (20, 118), como en Australia (115) e Israel (97). Considerándose como

un serio problema que afecta a la calidad de las cosechas, devaluando su valor o haciendo imposible su comercialización. Su historia se remonta a 1961 (36), y desde entonces ha sido citada como responsable de pérdidas severas en numerosos países (32, 57, 60, 62, 66, 70, 105).

El CS es una de las enfermedades con mayor incidencia económica y amplitud espacial que afecta al cultivo en la costa S.O. de Andalucía, donde fue detectada hacia 1972, fecha en la que el cultivo se extiende masivamente por la provincia de Cádiz. La primera constancia escrita sobre la enfermedad, bautizada desde un principio por los agricultores como "el picado de la zanahoria", se debe a López Aranda (50), y en ella se hace referencia a sus antecedentes y a la gravedad de su evolución. En 1994 un 71% de los campos prospectados en la citada provincia presentaron plantas infectadas, alcanzándose pérdidas de hasta el 60-80% de las cosechas, de manera que el CS actúa como un factor limitante del cultivo (12).

1.5.1. Sintomatología 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 (32, 36, 57, 62, 67, 70).

1.5.2. Detección 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 (8), así como de las lesiones en forma de "postillas" (scab) descritas por Grogan (33).

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 (82) 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 (83), 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 España en 1979, Tello Marquina establece el paralelismo existente entre el desorden denominado como "el picado" de la zanahoria y el término "cavity spot" utilizado en la literatura anglosajona (104).

1.5.3. Estudios Nutricionales.

A tenor de los estudios de Guba y col. (36), 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 ion en el medio, una alta concentración de nutrientes, o bien una excesiva concentración de K^+ , durante la ontogenia de la planta, inducen la aparición de la enfermedad (57, 58).

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 (66, 67, 68, 69, 90, 92), al igual que ocurre en las investigaciones llevadas a cabo en Australia, donde la enfermedad se registra con los mismos síntomas (115). Tampoco se confirma una relación de la enfermedad con diferentes niveles de N, B, Mn y Mg (68).

1.5.4. Condiciones en el Suelo.

El efecto positivo del ion 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 (96). De manera que suelos de pobre estructura, mal drenaje y una alta densidad de plantas favorecen el desarrollo de la enfermedad (68, 70). 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. (71, 72, 73).

De Kock y col. (24), observaron 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 con la del ion Ca^{++} , de manera que se crea una deficiencia del mismo en la planta.

Scaife y col. (88) obtienen una correlación positiva entre CS y los niveles de amonio del suelo, siendo éstos inusualmente altos. Afirmando que si las plantas absorben amonio es porque hay una alta concentración del ion en el suelo, más que por una falta de nitratos como proponían De Kock y col. (24). 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 90), 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 (70) 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., (89, 92) 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 (70) y Scaife y col., (92) la incidencia del CS es menor en suelos con $\text{pH} < 6.6$. En posteriores estudios, (77) 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 aquellas donde el $\text{pH} > 7$. Estos resultados se ven confirmados con los publicados por White y col. (128), los cuales con $\text{pH} > 8$ obtienen zanahorias con poca o ninguna enfermedad. Sin embargo, Vivoda y col. (113) niegan la existencia de correlación entre altos valores de pH y disminución de CS.

1.5.5. Variabilidad en la Incidencia.

La errática distribución del problema incluso en experiencias en macetas, les hace sugerir a Scaife y col. (92) que éste no tiene una explicación nutricional y que un agente infeccioso debe estar involucrado en su etiología (91). Esta variabilidad en la incidencia de la enfermedad, se pone de manifiesto en diferentes estudios realizados (13, 30, 32, 75, 115).

Finkelstein y col. (28), 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; mientras que en Escocia la enfermedad parecía estar relacionada principalmente con suelos arenosos cercanos a la costa (70). Estos resultados se corroboran con los presentados por Perry (74), 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 (70), 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. Redujeron 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 (74).

1.5.6. Repetición 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 periodo de tres años de repetición del cultivo entre el 50 y 78 % de enfermedad (12, 15, 54, 62, 110, 118, 121).

En este sentido, se realizaron estudios observándose que intervalos de 1, 2 ó 3 años de rotación no reducen la incidencia del CS (46), 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 (45, 52, 53, 109, 118, 121). En suelos esterilizados por calor húmedo y en ambiente controlado Guba y col., (36), 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.

1.5.7. Implicaciones de Agentes Bióticos.

Perry y Harrison en 1977 confirmaron que un agente biológico está implicado en la etiología del CS, aunque desconocían su identidad (69).

En 1982, Hafidh y Kelly llegan a proponer que era *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- O-(metilcarbamoil) oxima) (37).

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., (121, 123) 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.

1.5.8. Anaeroviosis. Implicación 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. El estudio de estas razones, llevaron a Perry y Harrison (69), 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 anaeróbicamente, Perry (73) 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., (28), 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 condicio-

nes 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., (97), 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., (28), 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.

1.5.9. 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 (14, 36, 67, 68, 70, 71, 77, 97, 125, 128).

Mientras que en experiencias en macetas todos los cultivares son igualmente sensibles a la formación del CS, no presentando diferencias en su comportamiento (68, 97, 113, 125, 128).

1.5.10. Relación 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 (62). En 1976, Howard y Williams, encuentran evidencias que les llevan a proponer a *Rhizoctonia solani*, como el agente causante del CS (41). 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 (6).

1.5.11. "Root Dieback" y "Cavity Spot".

En Noruega, Lyshol (52, 53), 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 (47, 63, 101), habían considerado que *Pythium* sp. era el agente causal del "root dieback" en zanahorias. Barr y Kemp, sugirieron que *Pythium* sp. junto al virus de la necrosis del tabaco y su vector, *Ospidium brassicae* Wor., estaban implicados en la etiología del "mohecido" de la raíz de la zanahoria (11).

1.5.12. Identificación de Especies de *Pythium*.

En relación a la enfermedad del CS son varias las especies de *Pythium* que se identifican (49, 81). Así, Perry (76) 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 (120) 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 (123), 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 (78, 127), 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 espe-

cies de crecimiento rápido, mientras que las especies de crecimiento lento son capaces de realizar un desarrollo progresivo y prolongar el tiempo de aparición de las cavidades, aunque finalmente también se ven afectadas. Así, Perry (76) 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 (34), consiguen reaislar el hongo de las lesiones producidas hasta los 21 días tras la inoculación.

1.5.13. 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 (32) 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 (109, 110), 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. Posteriormente, 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.

1.5.14. Estudios sobre Control Químico.

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.

estudiarse, sólo mediante estimaciones indirectas (White, citado en 78). Al estudiar la frecuencia de distribución de las cavidades Phelps y col. (78) 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 (64, 113, 129), mientras que una pequeña proporción de la enfermedad estaría asociada a *P. sulcatum* (129) y *P. ultimum* (113).

Sin embargo, se sabe que estas especies de *Pythium* son muy limitadas en suelo (34, 80), 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 (78).

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 (113).

El método convencional para la cuantificación de la población de *Pythium*, mediante diluciones de suelo en agar-agua y aislamientos en medios selectivos, no detecta con facilidad la presencia de las especies citadas. Por lo que se requiere una metodología alternativa (9).

La línea de investigación actual está encaminada a la puesta a punto de un método serológico a través de Cromatografía de Alta Densidad (HDC) para la detección en suelo de especies de *Pythium* de crecimiento lento (White, comunicación personal); que consiste en el reconocimiento, mediante test ELISA, de componentes antigénicos de *Pythium violae* y *Pythium sulcatum*, presentes en las muestras de suelo, por anticuerpos producidos en cultivos puros de los mismos hongos.

La puesta a punto de esta técnica, ofrecerá al agricultor información sobre la cuantificación en suelo de las especies implicadas, permitiéndole tomar una decisión práctica sobre el rango de enfermedad potencial, los requerimientos para su control con fungicidas y la utilización de las parcelas.

2.- OBJETIVOS.

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 (28, 36, 57, 67, 70, 95).

Se han sugerido numerosos factores como causantes o inductores del CS, tales como condiciones climáticas (33, 87), insuficiente drenaje del suelo (36), condiciones anaeróbicas temporales (70, 71), presencia de bacterias anaeróbicas (69), pérdida de Ca^{++} (59), presencia o ausencia de iones amonio (88), estructura del suelo (71). Sin embargo ninguno de dichos factores han sido confirmados (51, 113), 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 (30), y al rol desempeñado por *Pythium* sp. en el desarrollo del CS. Se obtienen resultados positivos mediante aplicaciones con metalaxil (54, 115, 118), y se demuestra una asociación entre *Pythium* sp. y CS (78, 124), siendo varias las especies que se identifican en relación a la enfermedad (35, 76, 78, 122, 127).

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

- 1.- Caracterización de 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.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. SINTOMATOLOGÍA Y CARACTERIZACIÓN 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-Nanthy, 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 varía 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/m², 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. Valoración 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

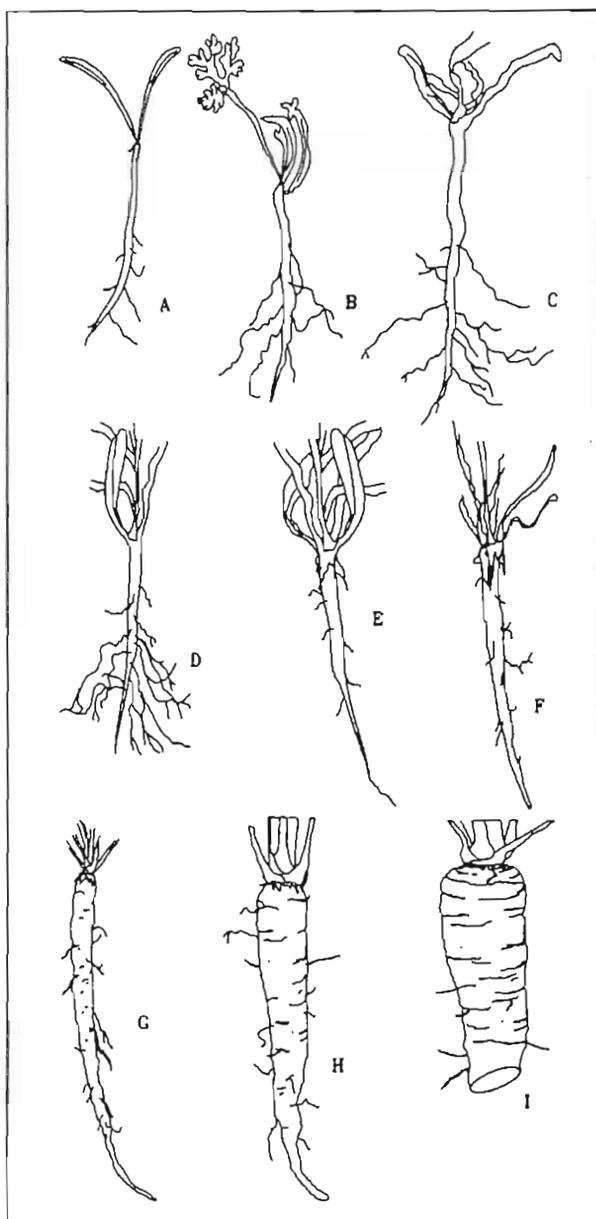


Figura 2. Estadios de desarrollo de la zanahoria. Tomado de Easau (27).

éstas eran hundidas / con / sin cavidad, clasificándolas según las dimensiones de su eje mayor (68):

- 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 (25). 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.

3.2. IMPLICACIÓN DE AGENTES BIÓTICOS.

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 $24 \pm 2^\circ\text{C}$, 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 SINTOMÁTICOS.

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) (112).

de la parcela; tratamientos pre-postsiembrados y forma de aplicación; abonados pre-postsiembrados y forma de aplicación; sistema de riego; producción media anterior de la parcela, cuando proceda; nº de veces que se repite el cultivo en la finca y en la parcela; estado fenológico; distribución de los síntomas en la parcela, en cuyo caso, se tomaron muestras de planta y suelo de los lugares donde se detectaron o presentaban plantas asintomáticas; 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 llevaron a cabo en invernadero experiencias 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: Solución 1 (S_1): Hoagland y Arnon (18) y Solución 2 (S_2): Arnon y Hoagland modificada (40).

Se sembraron 60 macetas, (20 S_1 , 20 S_2 , 20 testigo al que sólo se le aportó agua), de 25 x 30 cm, depositando en cada una de ellas tres semillas del cultivar Nantesa Tip-Top. 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 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 los distintos tratamientos, según el criterio establecido por Easau (27) 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 llevaron a cabo en el Centro de Capacitación y Experimentación Agraria de Chipiona (Cádiz), experiencias para establecer una posible relación entre la incidencia del CS de la zanahoria y los aportes nutricionales a la planta. Para ello, se utilizaron dos parcelas experimentales de 1500 m² cada una, 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 centrales para 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 ₅ O ₂)
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 apareció 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 meteorológica 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, 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 QUÍMICO 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 mejor 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 cm³ 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°C ± 1°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 $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y fotoperiodo de 14 horas de luz, bajo una radiación de $500 \text{ microeinstein} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{sg}^{-1}$.

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 $24^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 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 CS 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 Investigación y Formación 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 REPETICIÓN 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, relacionándolo con la incidencia de enfermedad detectada cada año y 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 Tip-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 $20^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 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. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

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 gran número de observaciones, los datos se expresaron mediante tablas de frecuencia y la asociación entre sus datos se determinó mediante 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 sometidos a transformación angular, en los casos en que existían 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 DISCUSIÓN.

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 (64). 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).

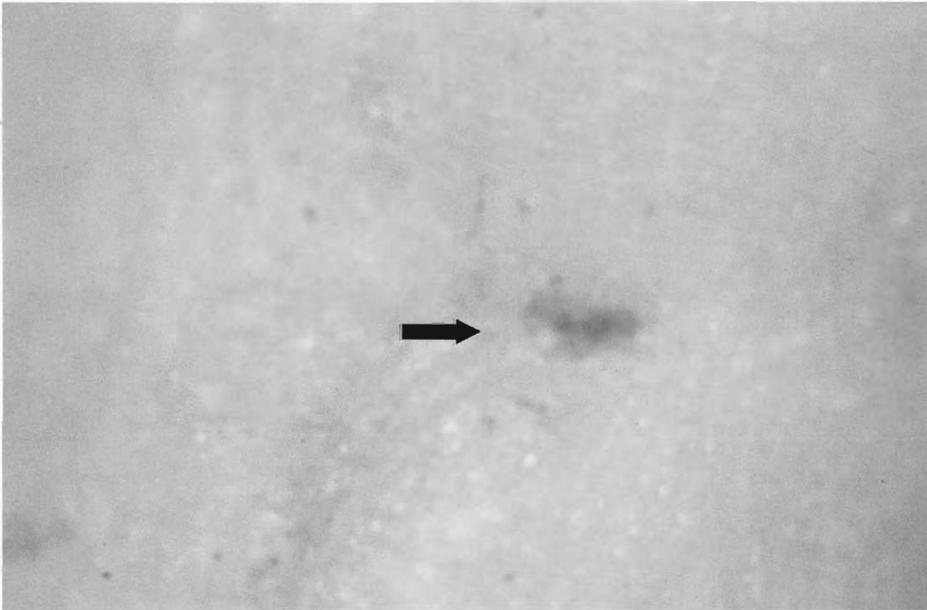


Figura 3. Decoloraciones de la peridermis.

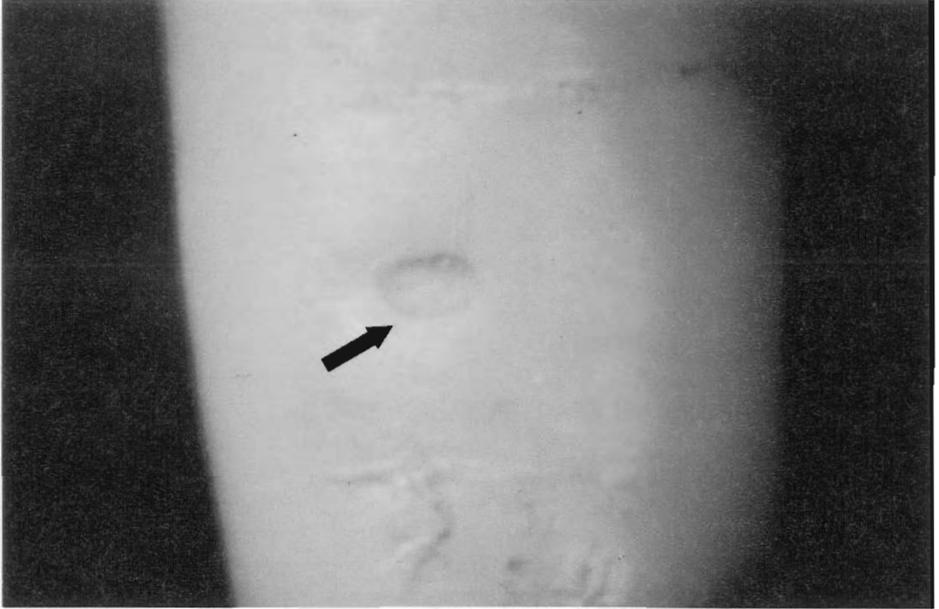


Figura 4. Manchas elípticas anaranjadas con peridermis hundida.

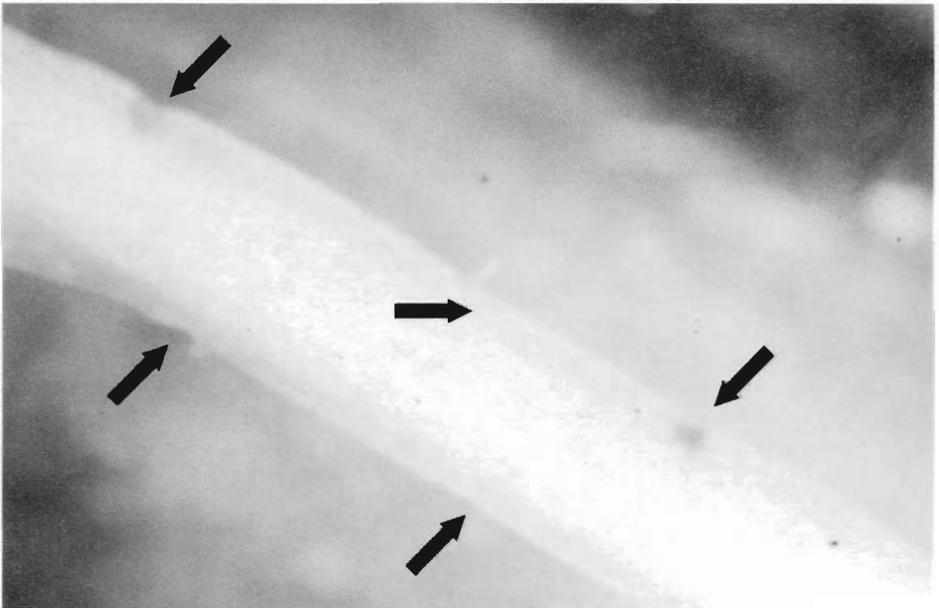


Figura 5. Peridermis hundida.

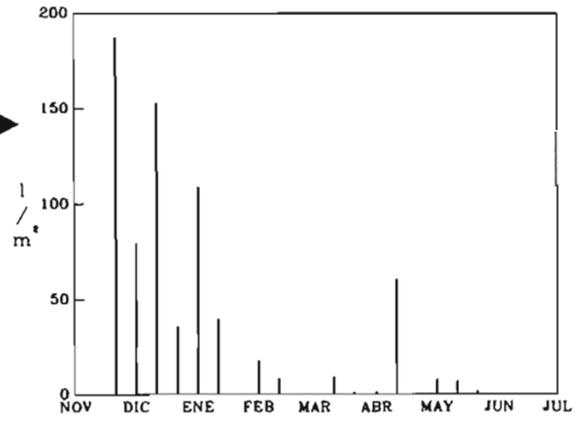
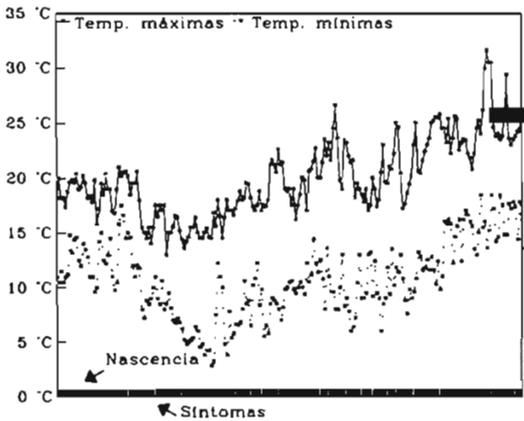
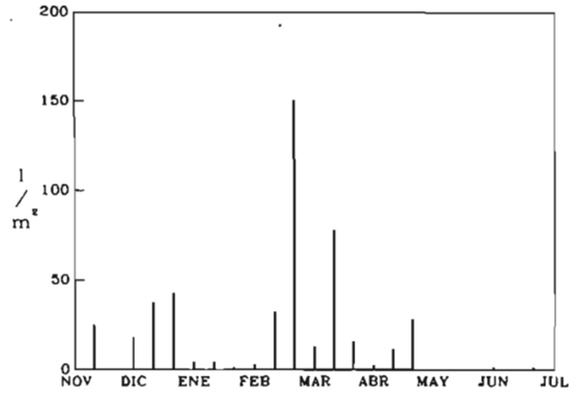
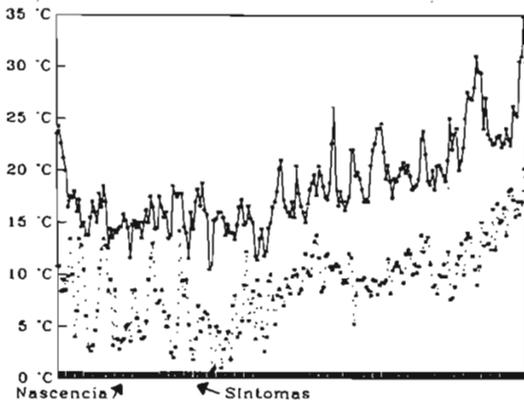


Figura 6. Datos climáticos del periodo de estudio. CIFA de Chipiona (Cádiz).

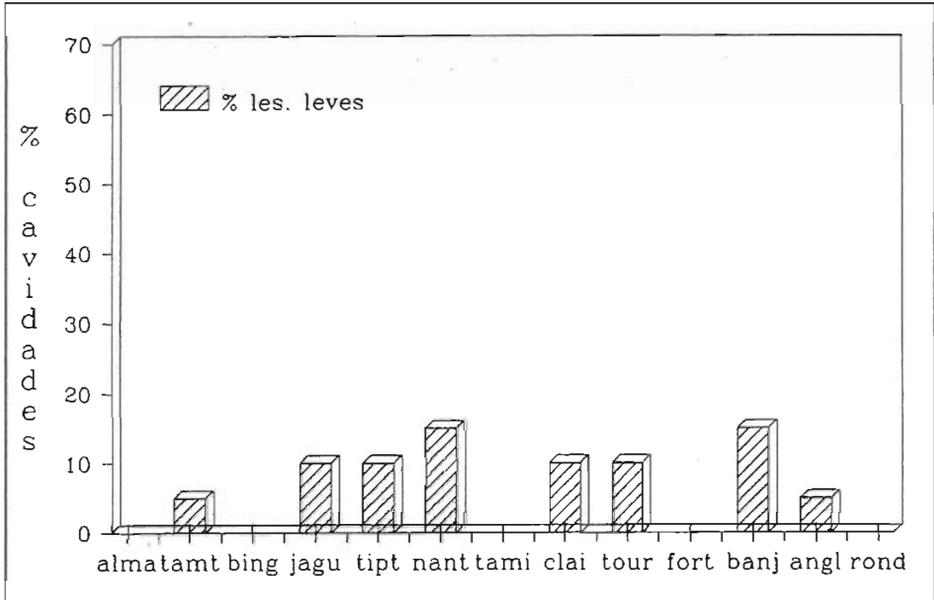


Figura 7. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias. 1er. año de experiencia.

Los síntomas se observaron a partir de los 45 días después 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 del 2º año de experiencia, 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 anterior 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. Durante el primero (Figura 7), la incidencia de enfermedad osciló entre el 0 y 15 %; mientras que en el segundo (Figura 8), todos los híbridos y cultivares se vieron afectados, variando su incidencia entre el 5 y 35 %.

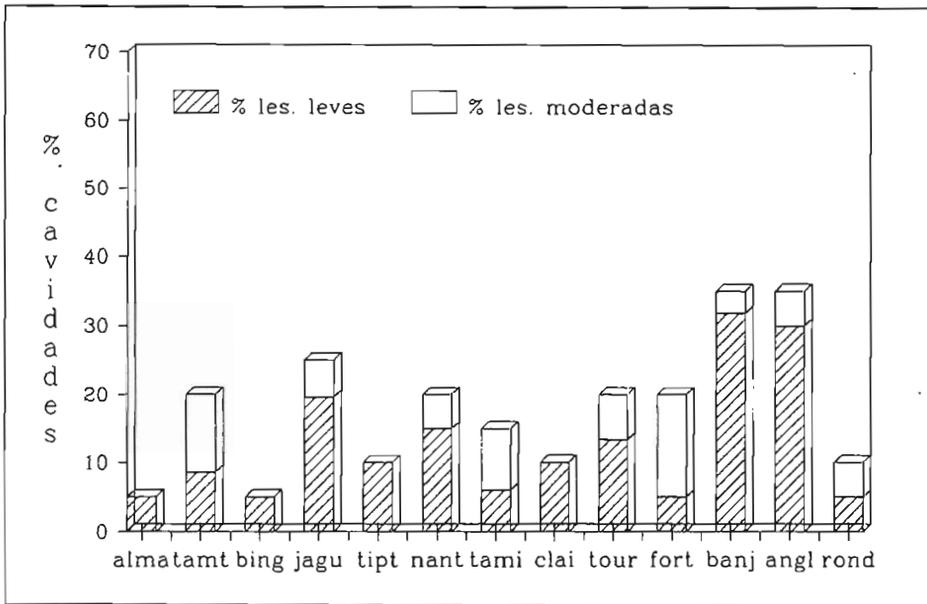


Figura 8. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias. 2º año de experiencia.

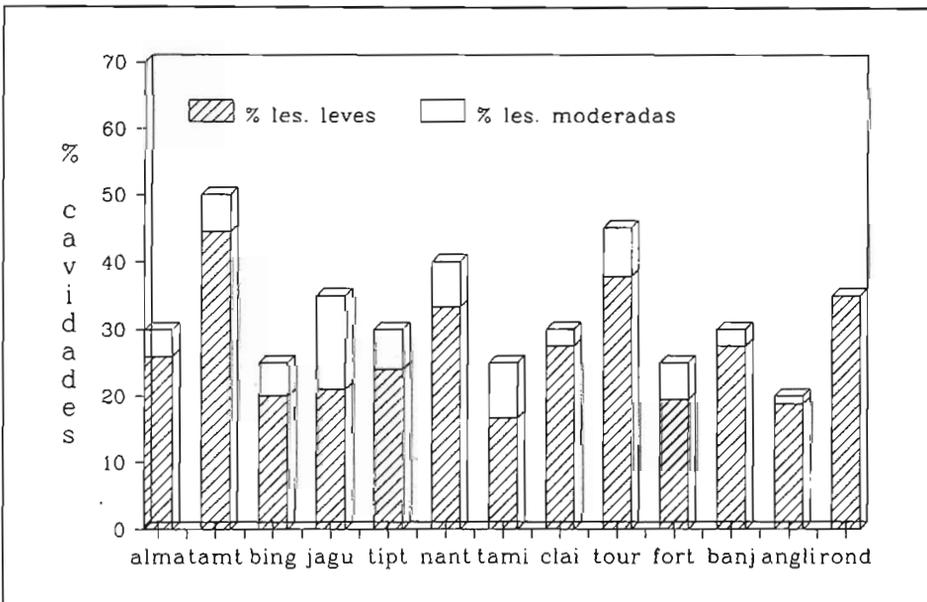


Figura 9. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias. 1er. año de experiencia. A los tres meses de la siembra.

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.

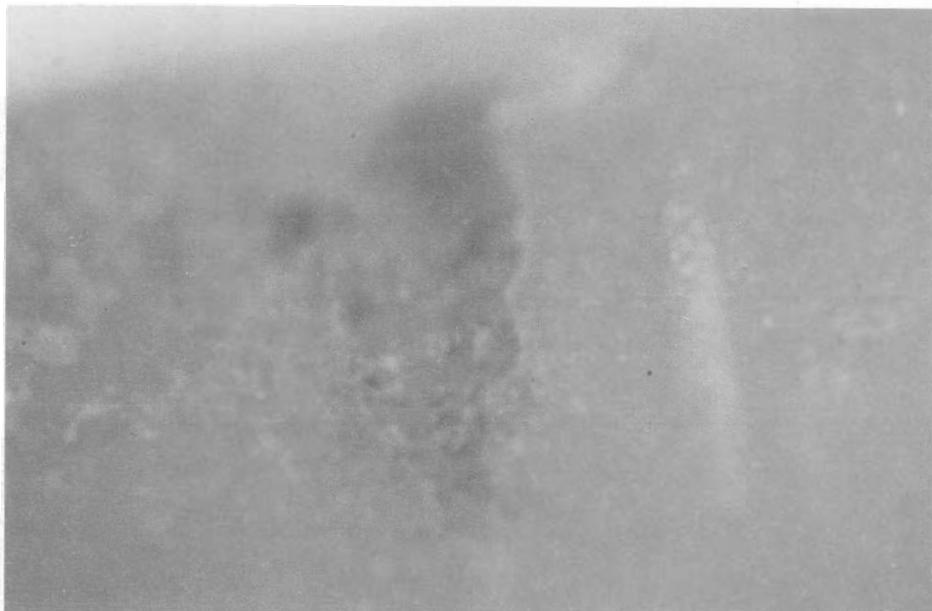


Figura 10. Cavidad con rotura de peridermis y contorno irregular. (60x).



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



Figura 12. Cavity necrosada. (6.6x).

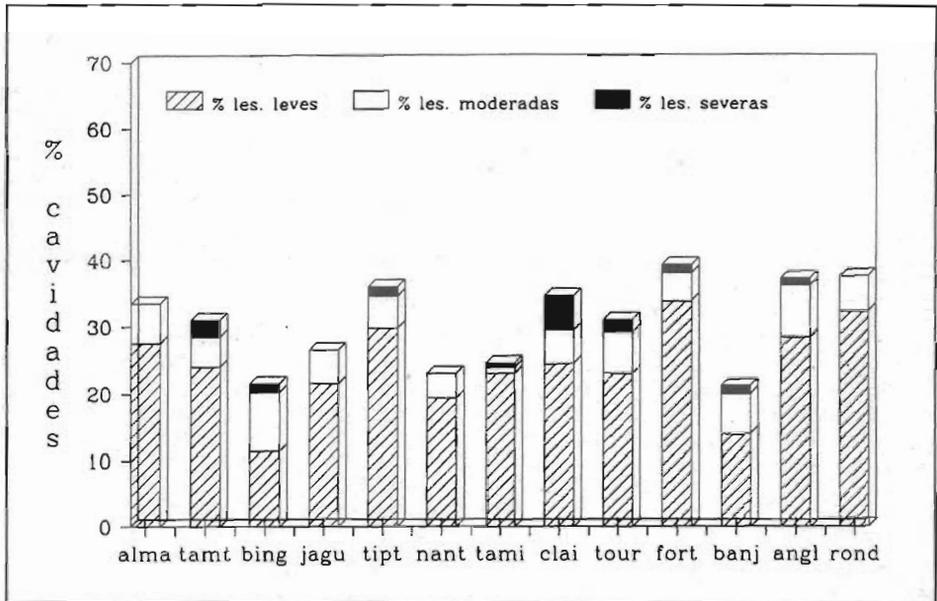


Figura 13. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias. 1er. año de experiencia. Final del ciclo de desarrollo.

Cuando las plantas alcanzan el estadio H, para el primer año, (Figura 13), se observaron que el 2.8 % de las lesiones eran severas, el 79.7 % leves y el 17.4 % moderadas. Porcentajes que se mantuvieron 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 fechas tempranas. Durante todo el ciclo de desarrollo se mantuvieron temperaturas elevadas, propiciando la formación de nuevas lesiones y el aumento de la severidad de las mismas, de manera que cuando las plantas tenían un estadio H, se detectaron un 2.8 % de lesiones severas, manteniéndose dicha proporción hasta la recolección.

Las bajas temperaturas y escasas precipitaciones registradas durante la primera parte del ciclo de desarrollo del segundo año, retrasaron 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, 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 % severas, 87.7 % leves y 11.4 % moderadas.

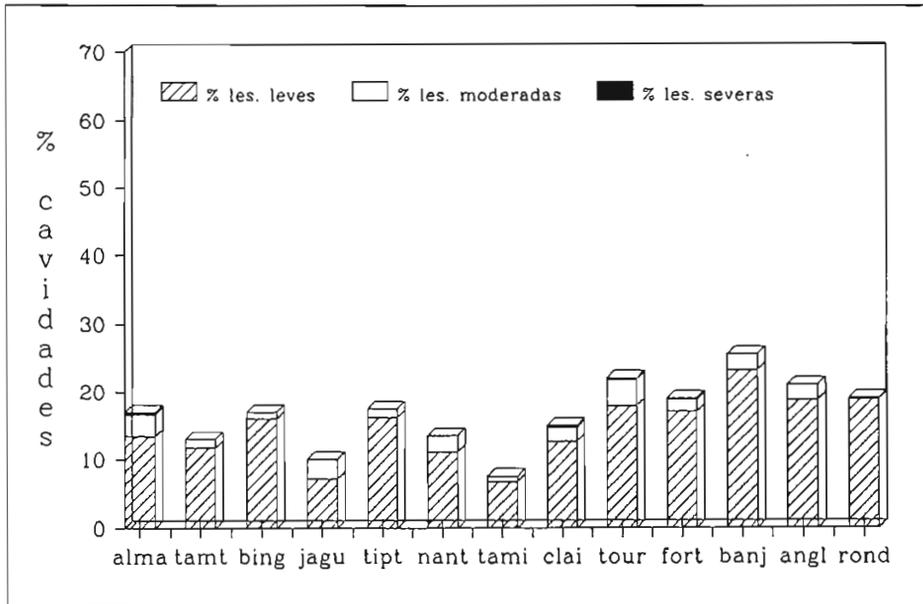


Figura 14. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias. 2º año de experiencia. Final del ciclo de desarrollo.

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 3). En el primer año Banjo y Bingo se mostraron como las más resistentes y Forto la más susceptible a la enfermedad. Sin embargo, estos resultados, no se repitieron al siguiente año, en el que Tamino se mostró como el híbrido más resistente y Banjo el más susceptible.

De igual forma los rendimientos obtenidos muestran diferencias significativas entre los híbridos y cultivares estudiados dentro del mismo ciclo de desarrollo (Tabla 4). De manera que en el primer año 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.

Los mejores resultados se obtuvieron con el cultivar Bingo, tanto en rendimientos como en el porcentaje de incidencia de CS, 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 (35, 36, 67, 68).

HIBRIDOS CULTIVARES	PORCENTAJE DE CAVIDADES			
	1.º AÑO		2º AÑO	
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 3. Respuesta de híbridos y cultivares al CS, al final del ciclo de desarrollo. Datos reales en la primera columna y transformados angularmente en la segunda.

HIBRIDOS CULTIVARES	PORCENTAJE DE CAVIDADES			
	1.º AÑO		2º AÑO	
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 4. Rendimientos de híbridos y cultivares expresados en Kg/m². Datos reales en la primera columna y transformados en la segunda ($x=[1/2+x]^{0.5}$).

4.2. IMPLICACIÓN DE AGENTES BIÓTICOS.

La implicación de agentes bióticos en suelo, responsables 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 5, 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.

SE	SNE
0.00	21.43
0.24	3.09
0.92	3.10
6.50	53.60

Tabla 5. Porcentajes de CS con SE y SNE.

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 (71) y White y col. (121, 128).

4.3. AISLAMIENTOS DE TEJIDOS SINTOMÁTICOS.

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 6), en orden decreciente de frecuencia de aislamiento fueron: *P. intermedium*, *P. violae*, *P. sulcatum*, *P. ultimum* y *P. sylvaticum*.

White y col. (125), aislan 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 (36, 64, 103).

	<i>Pythium</i>	<i>intermedium</i>	<i>violae</i>	<i>syaticum</i>	<i>irregulare</i>	<i>oligandrum</i>	<i>ulimum</i>	<i>sulcatum</i>	<i>undulatum</i>
	φ hifas	4-6 μm heterotálica	6 μm	11 μm heterotálica	6 μm	7 μm	1 μm	2-7 μm	7 μm
	Crecimiento 25 °C	CMA:2.5-3 cm	AP2:1.5 cm	CMA:2-3 cm	CMA:2.3-3 cm	CMA:2.7-3 cm	AP2: 3 cm	AP2:1.3-1.4 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								
	forma	no	no	no	globoso u oval	18-20 °C subgloboso filamentoso	5 °C globoso	20 °C filamentoso	5-20 °C proliferación interna
Esporangio	dimensión máxima				10-20 μm	15-35 μm	12-28 μm	22-30 μm	
	posición			terminal intercalar	intercalar (terminal)	terminal			
	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
Chameteo final	dimensión máxima	18-20 (29) 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
	forma	globoso esférico	globoso	globoso	globoso o limoniforme	subgloboso	globoso	esférico irregular	
Cogonio	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	puntagudas 3-7 μm	no	no	
	posición	intercalar terminal	terminal e intercalar	intercalar terminal	intercalar	terminal o intercalar	intercalar terminal	intercalar terminal	
Oospora	dimensión media	aplerótico 1/2 oogonio	aplerótica	aplerótica	aplerótica		aplerótica globosa	aplerótica esférica	
	dimensión pared	17.5 μm	27 μm	16.5 μm	15.9 μm	22 μm			
	dimensión pared n°/oogonio	1-2 μm	3 μm	1-2 μm	1-1.5 μm	1-2.8 μm			
	posición	1-7 μm	1-8	2-4	1-2 (4)	1-2			
Anteridio	posición	diclino	monoclino diclino sesil	diclino (monoclino)	monoclino y diclino	(diclino)	monoclino (diclino) (hipogino)	monoclino (diclino)	
	pedículo	bilurcado cerca oogonio	largo	bilurcado cerca oogonio	largo		sesil o corto	ramificado	

Tabla 6. Características morfológicas de las especies de *Pythium* aislada (80).

A partir de síntomas primarios, Tabla 7, 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*.

	MANCHAS SUPERFICIALES	PERIDERMIS HUNDIDA	CAVIDADES	RECOLECCIÓN
<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 7. Frecuencia de aislamientos de tejidos sintomáticos en diferentes fases, expresados en porcentajes.

De las fluctuaciones observadas en las 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 (39) y Dick y Ali-Shtayeh (25), en suelos no cultivados, donde observaron la existencia de una alta población de *Pythium* (1). Sin embargo, durante el cultivo, Hendrick y Campbell (38), 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 (25), 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.). Resultados son semejantes a los obtenidos por Platts-Niterink (79).

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 9, 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 (124), 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 8. 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 (93, 94); la propia agresividad

de una determinada especie (21), o la diferente virulencia de las especies patógenas implicadas (113).

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 6 (Apartado 4.3.). Todas ellas pertenecen al grupo de hongos de crecimiento rápido (80, 118, 127); 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 (16). 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 (25) en el que una baja frecuencia de aislamientos fue detectada junto con otras 29 especies de *Pythium*.

4.5. INCIDENCIA Y DISTRIBUCIÓN 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 9, 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.

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 9. Distribución de la enfermedad del CS en las áreas prospectadas.

La Tabla 10, 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 detectaron 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 observó un 20 % de incidencia de la enfermedad. 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 (85) y Lyshol y col. (54).

Estadio	Nº campos visitados	% CS y (años repetición del cultivo)	Localidad
A	1	0(14)	Chipiona
B	1	0(-)	Chipiona
BC	6	20.8(3), 10(7), 40(3), 40(3), 0(10), 0(5)	Chipiona
CD	4	0(-), 40(3), 30(7), 0(-)	Chipiona
DE	7	(20), 40(12), 40(12), 10(7), 0(13), 0(20), 0(2)	Chipiona
FG	11	40(3), 4.8(-), 3.4(2), 40(4), 3.4(-), 30(7), 0(13), 30(7), 20(3), 20(-), 20(5)	Chipiona
HG	4	20(10), 0(-), 30(4), 40(12)	Chipiona
G	1	3.4(-)	Chipiona
AB	2	0(-), 0(-)	Sanlúcar Bda.
CD	1	0(3)	Sanlúcar Bda.
DE	3	0(-), 0(10), 0(3)	Sanlúcar Bda.
E	2	0(-), 20(10)	Sanlúcar Bda.
EF	6	40(-), 60(10), 20(3) 40(10), 20(3), 60(6)	Sanlúcar Bda.
F	1	80(3)	Sanlúcar Bda.
GH	1	0(10)	Sanlúcar Bda.
AB	1	20(14)	Rota
BC	1	20(-)	Rota
CD	1	20(2)	Rota
DE	2	10(2), 0(10)	Rota
EF	2	20(2), 20(2)	Rota
FG	1	20(4)	Rota
DE	3	10(3), 20(4), 30(-)	Pto. Sta. María
EF	1	10(3)	Pto. Sta. María

Tabla 10. Influencia de la repetición del cultivo en las áreas prospectadas.

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 no se observaron lesiones en el 47.1% de los casos. Todos los híbridos y cultivares fueron afectados, sin que se observara un comportamiento diferencial en ninguno de ellos. Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores: Guba y col. (36); Perry (66); Perry y Harrison (68); Perry y Groom (77); Soroker y col. (97); White y col. (128).

Los tratamientos de desinfección de suelo previos a la siembra no parecen influir en la ocurrencia de la enfermedad, 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 enfer-

medad, 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 Gladders y Crompton (30), Scaife y col. (92) y Walker (115). 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-postsiembra 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, impiden poder considerar la exclusión de no cultivo. De aquí que sea difícil disponer de 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 (18), tuvieron una respuesta diferencial, mostrándose en algún caso inadecuadas para el cultivo (Tabla 11).

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

Tabla 11. 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 .

Los riegos con 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, hipertrofias en general y bifurcaciones en la raíz principal. Mientras que en las regadas con S_1 cada 10 días, no se observaron pérdidas 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 12, 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 del primer año, no permitieron sembrar en la fecha prevista (20 Noviembre), teniendo que ser retrasada hasta mediados de enero. Este hecho junto con la pérdida de la cosecha en la 2ª experiencia, así como, la anomalía climatológica general que presentó el año, hizo que se tuviera que repetir el ensayo completo durante una tercera campaña.

1.º ENSAYO						
ABONADO SUPRIMIDO	1.º año		2º año		3.º año	
	% 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	38.8 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	*

2º ENSAYO						
ABONADO SUPRIMIDO	1.º año		2º año		3.º año	
	% 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 12. Porcentaje de CS y rendimientos obtenidos en los ensayos con abonados diferenciales. (NS no significativo; * p < 0.05; ** p < 0.01).

En el primer ensayo se observaron diferencias significativas entre tratamientos los dos primeros años. El primer año el mejor resultado, en cuanto a porcentaje de CS, se obtuvo con la supresión de MgSO₄, sin embargo el porcentaje de CS aumentó en el segundo año, frente al abonado completo con el que se obtuvo el mejor comportamiento. Mientras que en el tercer año los resultados no presentaron diferencias significativa.

En el segundo ensayo los resultados presentaron diferencias significativas para los porcentajes de CS obtenidos con los tratamientos en los dos primeros años, si bien, como ocurrió en el 1er. ensayo, 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 los dos ensayos, 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 segundo año, muestran diferencias significativas en el porcentaje de CS entre el primer y segundo ensayo.

La siembra tardía propició un retraso en el desarrollo del cultivo, presentando en el caso del segundo ensayo 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.

¹Datos del último muestreo en junio del 2º año.

El tratamiento sin Ca, resultó ser el más efectivo en ambas experiencias para el tercer año, 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 observaron 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 produce 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: Finkelstein y col. (28), Perry y Harrison (68, 70) y Scaife y col. (90, 92).

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 13.

% 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 13. 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.

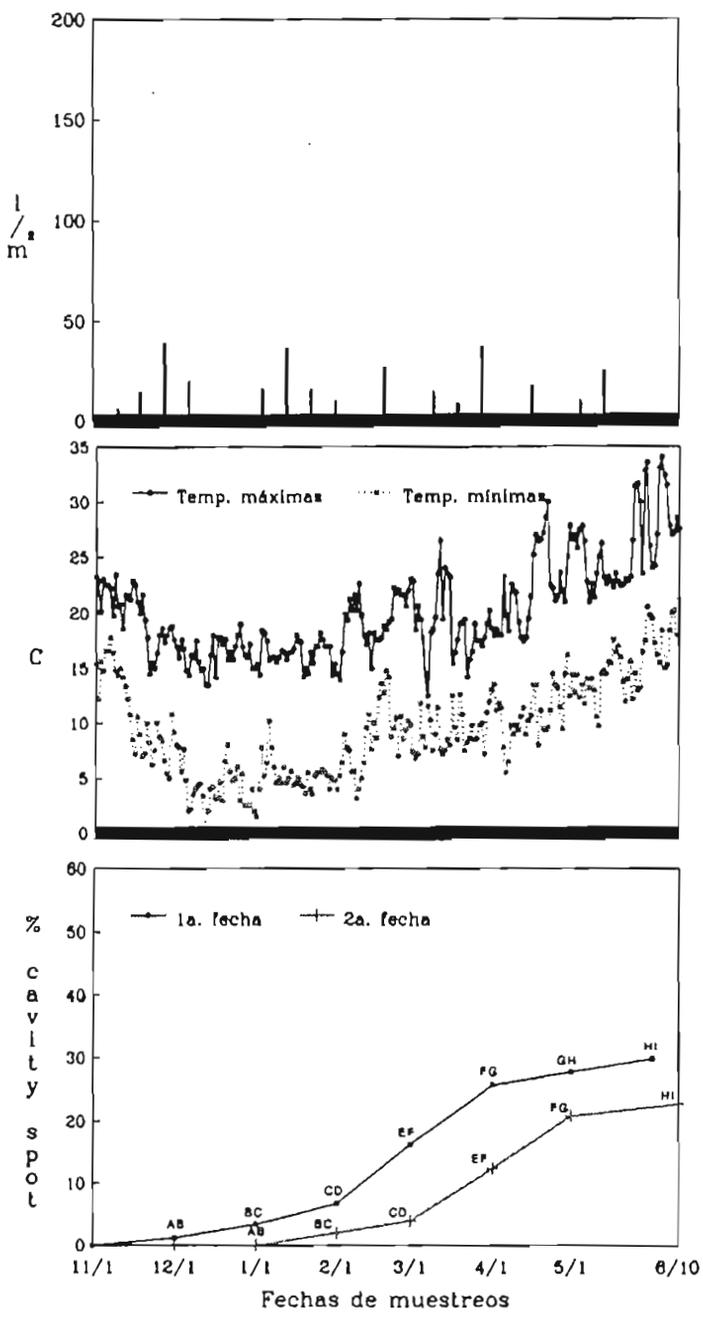


Figura 15. Influencia de la fecha de siembra en la incidencia del CS. 1.^{er} año de experiencia.

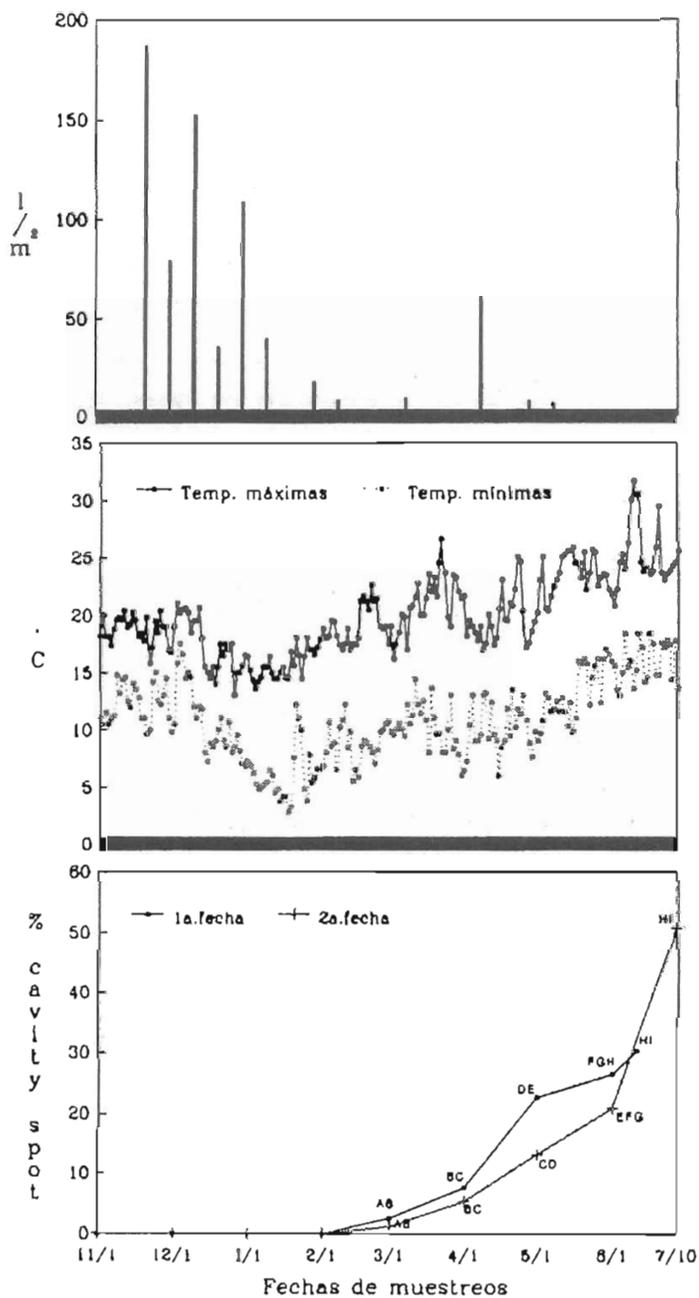


Figura 16. Influencia de la fecha de siembra en la incidencia del CS. 2º año de experiencia.

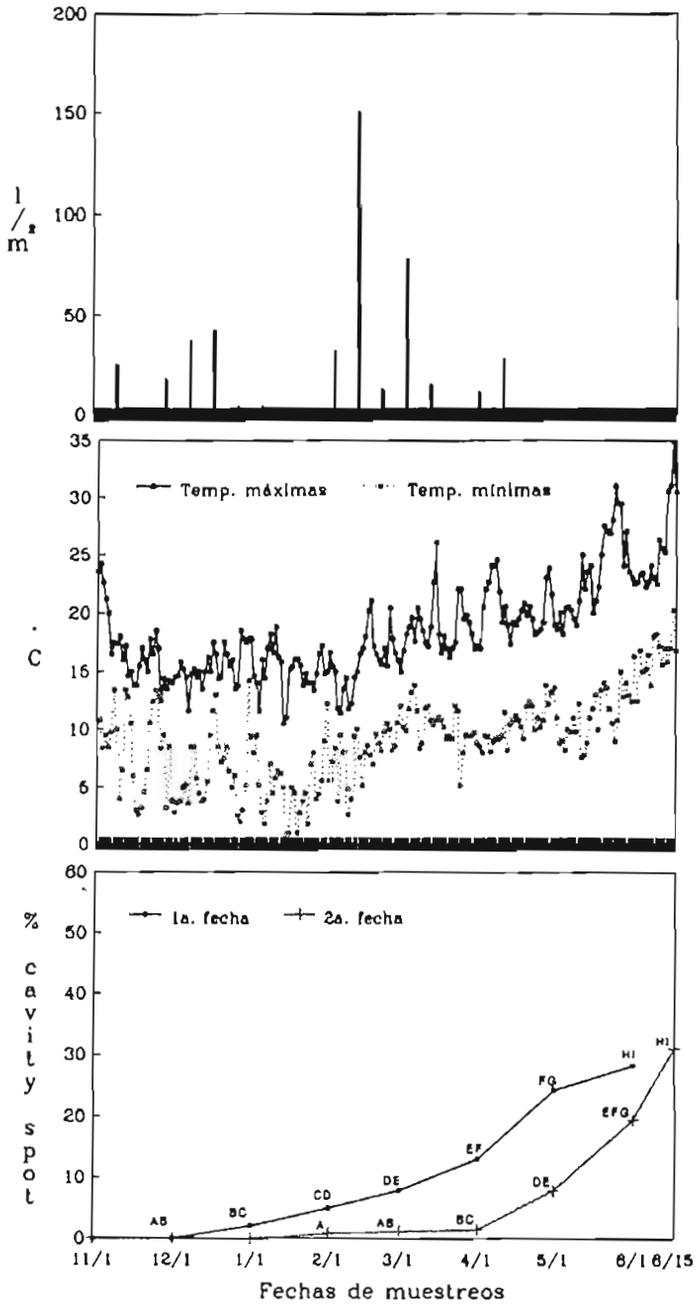


Figura 17. Influencia de la fecha de siembra en la incidencia de CS. 3.er año de experiencia.

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 periodo 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 (80), 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 temperatura 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 del primer año de experiencia y primera fecha del tercer año (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 del segundo año de experiencia y segunda fecha del tercer año, 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 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 del segundo año (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 del tercer año de experiencia (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 diferenci6 una tercera fase en la evoluci6n de los sntomas, que comenz6 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 acentu6 la severidad de la enfermedad. As, los resultados obtenidos en el primer a6o presentaron un incremento final del 2 % de CS para ambos momentos de siembra (Figura 15). Para la primera fecha, en la que 6sta 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 duraci6n, el tipo de lesiones fue 20 % leves, 1.6 % moderadas y 0.7 % severas. Para la primera siembra del tercer a6o a esta fase, de un mes de duraci6n, le correspondi6 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 podr, a decir que, retrasos en el desarrollo fenol6gico de la planta debido a fechas de siembra tard, as (ambas siembras del segundo a6o), o bajas temperaturas, posteriores a la siembra, que retrasan la emergencia y desarrollo de la pl, ntula (segunda siembra del tercer a6o), llevan a considerar, que la segunda fase de evoluci6n 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 j6venes es alta, descendiendo conforme madura la planta (79, 124). Tanto las temperaturas registradas, 6ptimas para el crecimiento de las especies de *Pythium* determinadas (80), como la permanencia de la planta en el suelo durante un mayor per, odo de tiempo hasta alcanzar un tama6o adecuado para su comercializaci6n, propiciaron un nuevo ciclo de la enfermedad antes de la recolecci6n, por lo que la incidencia de la misma sigue increment, ndose en una alta proporci6n hasta esa fecha.

Estos resultados concuerdan con las fluctuaciones de frecuencia de aislamientos de tejidos sintom, aticos y desarrollo de la enfermedad, mencionados en el Apartado 4.3., en los que se detect6 una fase de expansi6n de la enfermedad, que se manifestaba con manchas y lesiones hundidas, y que coincidi6 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, origin, ndose un nuevo ciclo de enfermedad. Estas circunstancias, as, como el bajo estadio de desarrollo de las plantas, podr, an explicar que, en las experiencias citadas (ambas fechas del segundo a6o, segunda siembra del tercer a6o), la incidencia de enfermedad aumente considerablemente durante todo el ciclo de desarrollo de la planta, acentu, ndose 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 ve, amos en el Apartado 4.3. (Tabla 7), con la aparici6n 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. (28); Soroker y col.(97) en laboratorio y Jacobson y col. (43); Wheatley y col. (118) 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 (35); Sweet y col. (102); Vivoda y col. (113); Wagenvoort y col. (114), 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 14.

Fecha de siembra		muestreo	NPP/g suelo	% CS
1.º año de experiencia	1ª fecha	último	263.8	29.9
	2ª fecha	último	173.4	22.8
2.º año de experiencia	1ª fecha	1º junio	242.9	26.5
		10 junio	270.6	30.3
	2ª fecha	1º junio	228.6	20.9
		1º julio	424.5	50.7
3.º año de experiencia	1ª fecha	1º junio	313.1	28.2
	2ª fecha	1º junio	289.3	19.4
		15 julio	337.4	31.0

Tabla 14. 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 del 1er. año, primera fecha de siembra del 3er. año), 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 del 2º año, segunda fecha de siembra del 3er. año), 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 15, 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 ofreció 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 15. 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 16 muestra la influencia de los fungicidas en la germinación de semillas de zanahorias.

El porcentaje de germinación de semillas tratadas con Apron a las dosis de 2 y 2.5 g m.a./kg. semillas, 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 (22, 29).

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 16. Porcentaje de plantas emergidas a los 10 días.

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 17 y 18, 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 (32), poniendo de manifiesto la existencia de un agente biótico en suelo, responsable de la enfermedad.

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
Allette	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 17. Porcentajes de CS obtenidos en la primera experiencia con diversos fungicidas en ambiente controlado.

El tratamiento con Apron Dosis alta a semillas, dio lugar a raíces asintomáticas en ambos tipos de suelo para las dos experiencias. Con la Dosis media 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 Dosis baja sólo en el caso de SE de la primera experiencia no se detectaron lesiones de CS.

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 SG en 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 Dosis alta y Dosis media 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 18. Porcentajes de CS obtenidos en la segunda experiencia con diversos fungicidas en ambiente controlado.

Los trabajos de invernadero, efectuados por Gladders y Crompton (30) y Walker (115), 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 c/antificados 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 19.

TRATAMIENTOS	1.º año experiencia		2º año experiencia	
	Nueva California	Escuela	Nueva California	Escuela
Testigo sin tratar	18.00	26.00	33.50	35.00
Testigo (TMTD)	8.00	7.50	29.00	28.00

Tabla 19. 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 comportamiento errático, coincidiendo estos resultados con los obtenidos por Gladders y Crompton (30) y White y col. (121), 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. (54), no ofrecieron resultados positivos en campo, los cuales coinciden con los observados por Walker (115).

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 (30) y Walker (115), 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 (104, 106), el cual atribuye como posible agente etiológico a *R. solani*, ya que lo aisló en una alta proporción de los tejidos de zanahorias recolectadas en Sanlúcar de Barrameda y Chipiona.

Porcentajes de CS				
Ridomil 5G	D.A.	D.M.	D.B.	TESTIGO
N. California 1.º año	2.50**	10.00*	24.50	18.00
Escuela 1.º año	1.00*	21.50	26.50	26.00
N. California 2º año	14.50**	17.00**	32.00	33.50
Escuela 2º año	9.50**	16.20**	38.50	35.00

Rendimientos expresados en Kg/m ²				
Ridomil 5G	D.A.	D.M.	D.B.	TESTIGO
N. California 1.º año	3.10	2.83	2.21	2.95
Escuela 1.º año	2.29**	2.20*	1.92	1.64
N. California 2º año	2.37**	2.36**	2.24	1.70
Escuela 2º año	1.55	1.41	1.42	1.15

Tabla 20. 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.).

En la Tabla 20 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 Dosis alta y las testigo, así como una clara tendencia a la disminución en la incidencia de la enfermedad con el tratamiento de Dosis media, siendo significativas las diferencias con respecto al testigo para ambos años de Nueva California y Escuela 2º año de experiencia. Coincidiendo éstos con los resultados obtenidos en ambiente controlado, Apartado 4.8.3.

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 (30); White y col. (121) y White (124). Registrándose diferencias significativas tanto con Dosis alta como con Dosis media en las experiencias Escuela 1.º año y Nueva California 2º año, así como una tendencia a aumentar en las restantes.

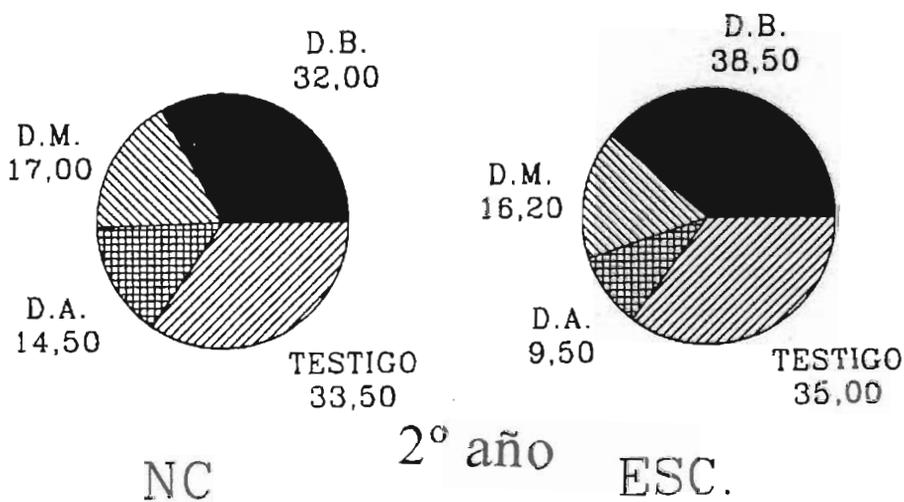
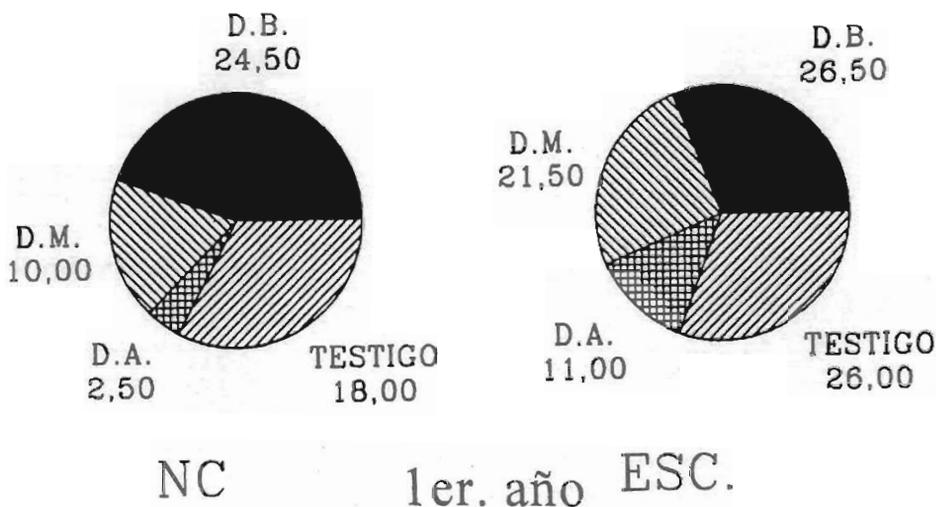


Figura 18. Porcentajes de CS obtenidos con diferentes tratamientos de Ridomil 5G.

		1.º año experiencia		2º año experiencia	
		Nueva California	Escuela	Nueva California	Escuela
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 21. Severidad de las lesiones observadas, expresadas en porcentajes, en los tratamientos con Ridomil 5G. (L leves; M moderadas; S severas).

White (120) 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 21, 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 ambos años de experiencia en Escuela, una disminución en la severidad de las lesiones con Dosis alta. de metalaxil respecto al testigo, coincidiendo con los resultados parciales obtenidos con posterioridad por el mismo autor. En la Figura 19, se observa una disminución en el NPP/g suelo y en los porcentajes de CS, respecto al testigo, con Dosis alta de metalaxil (Ridomil 5G) para todos los casos, y con Dosis media. para tres de ellos.

	TESTIGO	D.A.	t	
Escuela 1.º año	170.7	86.6	2.0118	0.05 > p > 0.025 20 g.l.
Escuela 2º año	227.7	146.7	1.2592	0.10 > p > 0.150 26 g.l.
N. Califoraia 1.º año	217.8	149.7	1.0535	0.15 > p > 0.200 22 g.l.
Nueva California 2º año	522.2	413.3	1.1853	0.15 > p > 0.100 28 g.l.

Tabla 22. Resultados estadísticos de la comparación del NPP en el control y Dosis alta de Ridomil 5G.

Los resultados estadísticos para la comparación entre el número medio de propágulos de *Pythium* cfantificados para el control y Dosis alta, recogidos en la Tabla 22, muestran que las diferencias fueron significativas para la experiencia Escue-

la 1er. año, pudiéndose hablar en las restantes de una clara tendencia a la disminución del NPP con el tratamiento (ver Tabla 22 y Figura 19). Estos resultados son concordantes con los obtenidos por Walker (115). Indicando que la aplicación de metalaxil al suelo parece ejercer un efecto fungistático sobre los propágulos de *Pythium*.

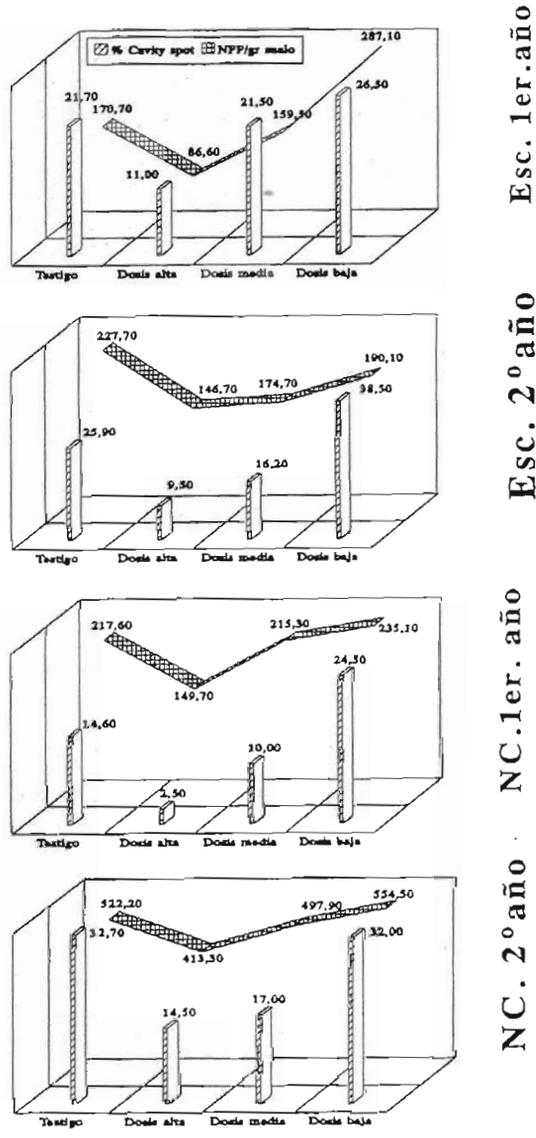


Figura 19. Influencia de los tratamientos con Ridomil 5G en la incidencia del CS y en la densidad de población de *Pythium*.

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.

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 Dosis media 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 (Dosis alta) 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.

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

Tabla 23. Efecto de la repetición del cultivo en la incidencia de CS. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

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 23. Coincidiendo estos resultados con los obtenidos por Maynard y col. (59); Wheatley y col. (118); y White y col. (121).

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 24. Coincidiendo con el comportamiento general observado por Plaats-Niterink (80) para las especies de *Pythium*.

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

Tabla 24. 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 (35).

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 (77) reproducen lesiones de CS mediante inoculaciones con *P. sylvaticum*, al igual que White y col. (121) obteniendo un 9 % de cavidades. Posteriormente, los mismos autores confirman 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 4º y 10º día después de la inoculación, obteniéndose un 37.5% de lesiones. White y col. (125), observaron que el número medio de días requeridos 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 cavidades que se detectaron progresivamente entre el 6º y el 15º día después. Según White (127), 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 raíces afectadas.

Con *P. ultimum* se obtuvo un 5 % de lesiones, que se detectaron entre el 3º y 7º día tras la inoculación.

Vivoda y col., (113), 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. (125), según los cuales *P. violae* fue más virulenta que *P. intermedium*. Mientras que están de acuerdo con los obtenidos por Vivoda y col. (113) 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 resultasen 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 la enfermedad, coincidiendo con lo observado por White (127) y Vivoda y col. (113).

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 bien no existe una zona determinada para la distribución 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. LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Corte longitudinal de la raíz de la zanahoria. (redibujado de Yamaguchi, 130).	15
Figura 2. Estadios de desarrollo de la zanahoria. Tomado de Easau (27).	30
Figura 3. Decoloraciones de la peridermis.	41
Figura 4. Manchas elípticas anaranjadas con peridermis hundida.	42
Figura 5. Peridermis hundida.	42
Figura 6. Datos climáticos del periodo de estudio. C.E.C. Agraria de Chipiona (Cádiz).	43
Figura 7. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias. 1.º año de experiencia.	44
Figura 8. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias. 2º año de experiencia.	45
Figura 9. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias. 1.º año de experiencia. A los tres meses de la siembra.	45
Figura 10. Cavidad con rotura de peridermis y contorno irregular.	46
Figura 11. Cavidad con peridermis en franja deshilachada.	47
Figura 12. Cavidad necrosada.	47
Figura 13. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias. 1.º año de experiencia. Final del ciclo de desarrollo.	48

Figura 14. Variación del CS en híbridos y cultivares de zanahorias. 2º año de experiencia. Final del ciclo de desarrollo.	59
Figura 15. Influencia de la fecha de siembra en la incidencia del CS. 1.º año de experiencia.	61
Figura 16. Influencia de la fecha de siembra en la incidencia del CS. 2º año de experiencia.	62
Figura 17. Influencia de la fecha de siembra en la incidencia de CS. 3.º año de experiencia.	63
Figura 18. Porcentajes de CS obtenidos con diferentes tratamientos de Ridomil 5G.	72
Figura 19. Influencia de los tratamientos con Ridomil 5G en la incidencia del CS y en la densidad de población de <i>Pythium</i>	74

7. LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Serie histórica de superficie de siembra y producción de zanahorias.....	13
Tabla 2. Superficie de siembra y producciones de zanahorias obtenidas en Andalucía.....	14
Tabla 3. Respuesta de híbridos y cultivares al CS, al final del ciclo de desarrollo.....	50
Tabla 4. Rendimientos de híbridos y cultivares expresados en Kg/m ²	50
Tabla 5. Porcentajes de CS en SE y SNE.	51
Tabla 6. Características morfológicas de las especies de <i>Pythium</i> aisladas.	52
Tabla 7. Frecuencia de aislamientos de tejidos sintomáticos en diferentes fases, expresados en porcentajes.	53
Tabla 8. Relación entre la incidencia de enfermedad y el NPP/g suelo.	54
Tabla 9. Distribución de la enfermedad del CS en las áreas prospectadas.	55
Tabla 10. Influencia de la repetición de cultivo en las áreas prospectadas.	56
Tabla 11. Porcentaje de plantas muertas a los tres meses de la siembra.	57
Tabla 12. Porcentaje de CS y rendimientos obtenidos en los ensayos de abonados diferenciales.	58 y 59
Tabla 13. Porcentajes de CS y rendimientos obtenidos con diferentes fechas de siembra.	60
Tabla 14. Influencia de la fecha de siembra, en el NPP/g suelo y porcentajes de CS.	66

Tabla 15. Efectividad “in vitro” de diversos fungicidas en el control de <i>Pythium</i> sp. y <i>Sclerotium</i> sp.	67
Tabla 16. Porcentaje de plantas emergidas a los 10 días.	68
Tabla 17. Porcentajes de CS obtenidos en la primera experiencia con diversos fungicidas en ambiente controlado.	68
Tabla 18. Porcentajes de CS obtenidos en la segunda experiencia con diversos fungicidas en ambiente controlado.	69
Tabla 19. Porcentajes de CS obtenidos con diferentes tratamientos a semillas.	70
Tabla 20. Resultados obtenidos con Ridomil 5G.	71
Tabla 21. Severidad de las lesiones observadas, expresadas en porcentajes, en los tratamientos con Ridomil 5G.	73
Tabla 22. Resultados estadísticos de la comparación del NPP en el control y Dosis alta de Ridomil 5G.	73
Tabla 23. Efecto de la repetición del cultivo en la incidencia de CS.	75
Tabla 24. Variación en el NPP/g de suelo con la repetición del cultivo.	76

8. BIBLIOGRAFIA.

1. 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.
2. Anónimo, 1990. Anuario Estadística Agraria. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 678 pp.
3. Anónimo, 1993. Anuario Estadística Agraria. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 707 pp.
4. Anónimo, 1995. Anuario Estadística Agraria. Instituto de Estadística de Andalucía. Junta de Andalucía. 715 pp.
5. Anónimo, 1992. Boletín de Información Agraria y Pesquera. Nº 60 Septiembre. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. pp. 18-35.
6. 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.
7. Amorós, M. y Amorós, J., 1984. Horticultura. Eds. Dilagro S.A., pp.17-27;31-56.
8. Ark, P.A. & Gardner, M.W., 1944. Carrot bacterial blight as it affects the roots. *Phytopathology*, 34: 416-420.
9. Avila, F.J.; Yuen, G. Y. & Klopfenstein N.B., 1995. Characterization of a *Pythium ultimum*-specific antigen and factors that affect its detection using a monoclonal antibody. *Phytopathology* 85:1378-1387.
10. 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.
11. 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.

12. **Barrau García, C., 1994.** El picado (cavity spot) de la zanahoria (*Daucus carota* L.) en Andalucía. Tesis Doctoral. Facultad de Biología. Departamento de Biología Vegetal. Universidad de Sevilla. pp.124.
13. **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).
14. **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).
15. **Barrau García, C. & Romero Muñoz, F. 1995.** Factores que afectan al desarrollo epifitótico del "cavity spot" (CS) de la zanahoria en el S.O. de Andalucía (España). VII Congreso Latinoamericano de Fitopatología (A..L.F.), XIV Congreso Venezolano de Fitopatología (S.V.F.) y I Congreso Venezolano de Micología (S.V.M.). Universidad de los Andes, Mérida (Venezuela). *Revista Forestal Venezolana*, Volumen 1, nº1 pp.126-127.
16. **Barrau García, C. & Romero Muñoz, F. 1995.** Identificación de agentes bióticos implicados en el "cavity spot" (CS) de la zanahoria en el S.O. de Andalucía (España). VII Congreso Latinoamericano de Fitopatología (A..L.F.), XIV Congreso Venezolano de Fitopatología (S.V.F.) y I Congreso Venezolano de Micología (S.V.M.). Universidad de los Andes, Mérida (Venezuela). *Revista Forestal Venezolana*, Volumen 1, nº 1 pp.102.
17. **Bedlan, G., 1984.** Important disease of carrot. *Pflanzenerzt*, 37 (9): 140-142.
18. **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.
19. **Bonnet, A., 1978.** Le matériel végétal. En: *La carotte: techniques modernes de production*. Ed. *Invuflec. Paris*. pp. 27-38.
20. **Brown, J.G., 1950.** Diseases of carrots. *Arizona Agr. Exp. Sta. Bull.*, 227: 1-19.
21. **Burr, T.J., 1973.** A selective medium for the isolation of *Pythium aphanidermatum* from field soil. *Phytopathology*, 63: 1215 (Abstract).
22. **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.*, nº 144. pp. 53-56.
23. **Commonwealth Mycological Institute, 1978.** Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. Fungi:nº40, nº119, nº211, nº275. *Commonwealth Agricultural Bureau, Londres*. 596 láms.

24. De Kock, P.C.; Hall, A. & Inkson, R.H.E., 1981. Cavity spot of carrots. *An. Edaf. Agrobiol.*, 40:307-316.
25. 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.
26. Domsch, K.H. & Gams, W., 1980. Compendium of soil fungi. Vols. I & II. Academic Press Ltd., Londres, 859 pp. (I) y 405 pp. (II).
27. Easau, K., 1940. Developmental anatomy of the fleshy storage organ of *Daucus carota*. *Hilgardia*, Vol.13 n° 5: 175-226.
28. Finkelstein, E.; Bashan, V.; Okon, Y. & Yaakobi, C., 1983. Induction of, and crop loss due to, cavity spot in carrots. *Phytoparasitica*, 11: 3-4.
29. Gill, N.T. & Vear, K.C., 1965. Botánica Agrícola. *Acribia*. pp. 217-219.
30. Gladders, P. & Crompton, J.G., 1984. Comparison of fungicides for control of cavity spot in carrots. *Annals of Applied Biology*, 104: 36-37.
31. Gorini, F., 1974. La coltivazione della carota. *Edagricole*. 2ª Reimpr. Bologna.
32. 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.
33. 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.
34. 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.
35. 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.
36. Guba, E.F., Young, R.E. & Ui, T., 1961. Cavity spot disease of carrot and parsnip roots. *Plant Disease Reporter*, 45(2):102-105.
37. 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.
38. Hendrix, F.F. & Campbell, W.A., 1973. Pythiums as plant pathogens. *Ann. Rev. Phytopathology* 11:77-98.
39. Ho, C.L., 1975. Populations studies on the genus *Pythium*. Ph.D. Thesis, University of Reading.

40. Hoagland, D.R. & Arnon, D.I., 1950. The water-culture method for growing plants without soil. *Calif. Agr. Exp. Sta. Cir.*, 347. 39 pp.
41. 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.
42. 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.
43. Jacobson R.; Dan, C.; Yaakobi, C. & Sander, N., 1973. Unidentified spots on carrots. *Hassadeh*, 53:1168-1171.
44. Jeffers, S.M. & Martin, S.B., 1986. Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species. *Plant Disease* 70:1038-1043.
45. Jensen, A., 1973. Sygdomme hos gulerdder. *Saertryk af Sandbouyt* 27:75-82.
46. Jørgensen, I., 1984. Effect of number of years between crops. *Meddelelse. Statens Planteavlsvforsog*, 86:(1778). 3 pp.
47. 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.
48. Laumonier, R., 1963. Cultures maraichères (II). 2^a Edición. J.B. Baillière et fils. París.
49. 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.
50. 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).
51. 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.
52. Lyshol, A.J., 1981a. Brune rotspissar og skjeggete roter i gulrt. *Gartneryrket* 71:370-373.
53. Lyshol, A.J., 1981b. Darlege rotspissar og gropflekk i gulrt. *Gartneryrket* 71:478-480.
54. 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.
55. Maroto Borrego, J.V., 1989. Horticultura. Herbácea Especial. 3^a Edición. Mundi-Prensa. 566 pp.

56. M.A.P.A., 1986. Métodos oficiales de Análisis, vol.II. Ed. *Secretaría General Técnica, M.A.P.A., Madrid.*
57. 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.
58. 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.
59. 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.
60. Messiaen, C.M. & Lafon, R., 1967. Enfermedades de las hortalizas. 1ª Edición. *Oikos-Tau, S.A.* 361 pp.
61. Messiaen, C.M., 1979. Las hortalizas. Técnicas agrícolas y producciones tropicales. 1ª Edición. *Blume, S. A., Barcelona.* pp. 292-295.
62. Mildenhall, J.P. & Williams, P.H., 1970. *Rhizoctonia* crown rot and cavity spot of muck-brown carrots. *Phytopathology*, 60:887-890.
63. 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.
64. 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.
65. Oudinet, R., 1978. Le carotte de Normandie dans le departament de la Manche. *Phytoma. Decembre*, pp. 3-12.
66. Perry, D.A., 1967a. Cavity spot of carrots. *Reporter of the Horticultural Research Institute for 1966*, p. 37.
67. Perry, D.A., 1967b. Carrot root disorders. *Agriculture*, 74: 222-225.
68. Perry, D.A. & Harrison, J.G., 1971. Cavity spot of carrots. *Scot. Hort. Res. Inst. 18th Annual Rpt.*, pp. 49-50.
69. Perry, D.A. & Harrison, J.G., 1977. Pectolytic anaerobic bacteria cause symptoms of cavity spot in carrots. *Nature*, 269:509-510.
70. Perry, D.A. & Harrison, J.G., 1979a. Cavity spot of carrots. I. Symptomatology and calcium involvement. *Ann. Appl. Biol.*, 93:101-108.

71. 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.
72. 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.
73. Perry, D.A., 1982b. Induction of carrot lesions. *Annual Report of the Scottish Crop Research Institute for 1981*, pp. 82-83.
74. Perry, D.A., 1983. Effect of soil cultivation and anaerobiosis on cavity spot of carrots. *Ann. Appl. Biol.*, 103:541-547.
75. Perry, D.A. & Rubens, T.G., 1983. Disorders of vegetables (cavity spot). En: *Report Scottish Crop Research Institute 1981, (1982)*. pp. 81-83.
76. Perry, D.A., 1984. Recent advances in control of cavity spot of carrots. *Crop Protection in Northern Britain*, (3):417-422.
77. 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.
78. 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.
79. Plaats-Niterink, A.J. van der., 1968. The occurrence of *Pythium* in the Netherlands. I. Heterothallic species. *Acta Bot. Neerl*, 17 (4):320-329.
80. Plaats-Niterink, A.J. van der., 1981. Monograph of the Genus *Pythium*. *Studies in Mycology No.21. Centraalbureau voor Schimmelcultures. Baarn.*, 244 pp.
81. 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.
82. Ramsey, G.B., 1937. Fruit and vegetable diseases on the Chicago market in 1936. *Plant Disease Repr. Suppl.*, 101:81-96.
83. Ramsey, G.B. & Wiant, J.S., 1941. Market diseases of fruits and vegetables. *U.S.D.A. Misc. Publ.*. 440 pp.
84. 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.
85. Rubens, T.G. & Halford, M., 1983. Seeking the causes of cavity spot in the field. *Grower U.K.*, 99:49-53.

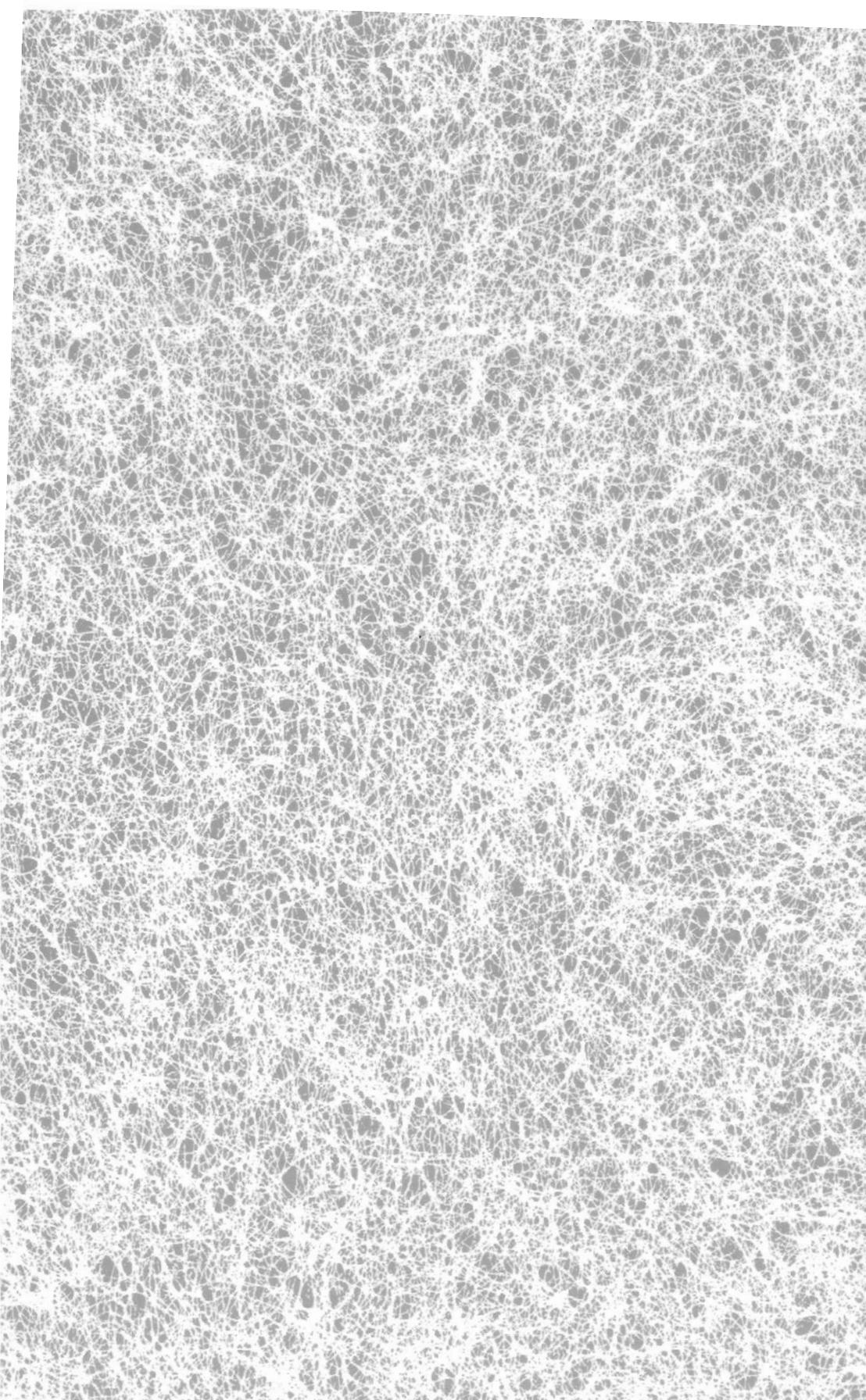
86. Sanders, P.L., 1984. Failure of metalaxyl to control *Pythium* blight on turgrass in Pennsylvania. *Plant Disease*, 68:776-777.
87. Scaife, M.A. & Clarkson, D.T., 1978. Calcium-related disorders in plants - a possible explanation for the effect of weather. *Plant & Soil*, 50:723-725.
88. Scaife, 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.
89. Scaife, M.A. & Turner, M.K., 1981. Cavity spot of carrots. *Report of the National Vegetable Research Station for 1980*. pp. 125-126.
90. 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.
91. 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.
92. 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.
93. 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.
94. Schrandt, J.K.; Davis, R.M. & Nunez, J.J., 1994. Host range and influence of nutrition, temperature and pH on growth of *Pythium violae* from carrot. *Plant Disease* 78:335-338.
95. Serveto Aquilo, F.J., 1984. Estudio fitopatológico del "picado". *Trabajo fin de carrera*. E.I.T.A. 112 pp. (inédito).
96. 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.
97. 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.
98. Stanghellini, M.E. & Hancock, J.G., 1970. A quantitative method for the isolation of *Pythium ultimum* from soil. *Phytopathology*, 60:551-552.
99. Steel, G.D. & Torrie, J.H., 1985. Bioestadística: Principios y procedimientos. 2ª Edición. Mc Graw-Hill Latinoamericana, S.A., 622 pp.

100. Strandberg, J.O. & White, J.M., 1979. Effect of soil compactation on carrot roots. *J. Am. Soc. Hort. Science*, 104(3):344-349.
101. Sutton, J.C., 1975. *Pythium* spp. produce rusty root of carrots in Ontario. *Can. J. of Plant Science*, 55:139-143.
102. Sweet, J.B., Lake, S.E., Wrigth, I.R. & Priestley, R.H., 1986. Resistance of carrot varieties to cavity spot disease. *Aspects Appl. Biol.*, 12:235-245.
103. Tamietti, G. & Matta, A., 1980. Alterazione dei fittoni di carotta durante il periodo invernale di conservazione in campo. *Riv.Patol.Veg.*, 17:45-54.
104. 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.*
105. Tello Marquina, J.C., 1983. Enfermedades criptogámicas en hortalizas. Observaciones en los cultivos del litoral español. *Publicaciones Agrarias. Serie técnica. Madrid.*
106. 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.*
107. Thompson, H.C. & Kelly, W.C., 1957. *Vegetables Crops. 5ª Edición. Mc Graw Hill Book Company.*
108. Thompson, R., 1969. Some factors affecting carrot root shape and size. *Euphytica*, 18: 277-285.
109. 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.*
110. 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.*
111. Tsao, P.H., 1983. Factors affecting isolation and quantification of *Phytophthora* from soil. En: *Phytophthora: Its biology, taxonomy, ecology and pathology. D.C. Erwin, S. Bartinicki-García and P.H. Tsao (Eds.). A.P.S. Press, St. Paul. Minnesota.*
112. Tuite, J., 1969. *Plant pathology methods. Burgess Publishing Company. 239 pp.*
113. Vivoda, E.; Davis, R.M. & Nuñez, J.J., 1991. Factors affecting the development of cavity spot of carrot. *Plant Disease*, 75:519-522.
114. 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.

115. Walker, G.E., 1988. Control of cavity spot with metalaxyl and phosphorous acid. *Australasian Plant Pathology*, 17(2):41-44.
116. Waterhouse, G.M., 1967. Key to *Pythium* Pringsheim. *Commonw. Mycol. Inst. Mycological Papers*, n° 109. 15 pp.
117. Waterhouse, G.M., 1968. The genus *Pythium* Pringsheim. Diagnosis (or descriptions) and figures from the original papers. *Commonw. Mycol. Inst. Mycological Papers* n° 110. 50 pp.
118. Wheatley, G.A., Hardman, J.A. & Edmonds, G.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.
119. 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.
120. 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.
121. 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.
122. 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.
123. 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.
124. White, J.G., 1986. The association of *Pythium* spp. with cavity spot and root dieback of carrots. *Ann. Appl. Biol.*, 109:265-273.
125. 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° 8. *Ann. Appl. Biol.* n° 110. Supplement, pp. 138-139.
126. 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° 8. *Ann. Appl. Biol.*, n° 110. Supplement, pp. 52-53.
127. White, J.G., 1988. Studies on the biology and control of cavity spot of carrots. *Ann. Appl. Biol.*, 113: 259-268.
128. White, J.G.; Dowker, B.D.; Crowther, 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° 9. *Ann. Appl. Biol.*, n° 112. Supplement, pp. 76-77.

129. 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).

130. 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.



P.V.
1.000