

Resistencia de los distintos híbridos, efectividad del metalaxyl-M y rendimientos del cultivo

Comportamiento de híbridos de girasol resistentes a mildiu

J. García López¹, J. R. García Ruíz¹,
J. Martínez Aguilar² y
M. Leire Molinero-Ruiz

¹ IFAPA, Centro Alameda del Obispo. Córdoba.

² Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC. Córdoba.



Los objetivos de este trabajo han sido comprobar el beneficio del uso de híbridos resistentes a través de su comportamiento en campos naturalmente infestados por *P. halstedii* en diferentes años y distintas localidades, identificar si existe mezcla de razas del patógeno dentro de un mismo campo de girasol y confirmar la efectividad del tratamiento químico con metalaxyl-M también en ensayos de campo.

El mildiu del girasol es una enfermedad causada por el oomiceto *Plasmopara halstedii* Farl. Berl. & de Toni que se detectó por primera vez en España en Andalucía en los años 70. Las condiciones óptimas para el desarrollo de la enfermedad son temperaturas entre 14 y 16°C y humedad en el suelo en el momento de la siembra (Gulya *et al.*, 1997). Los síntomas se manifiestan por un enanismo de las plantas y clorosis de las hojas desde la base hasta el ápice (**fotos 1 y 2**).

La incorporación de resistencia en los híbridos de girasol es un método de control habitual, aunque su efectividad depende de la raza del patógeno que infecte la planta (Molinero-Ruiz *et al.*, 2002). También es posible el control químico con fungicidas sistémicos como el metalaxyl que se ha utilizado durante 30 años para controlar el mildiu de girasol. En 2003 el metalaxyl se prohibió en España y se sustituyó por el metalaxyl-M. Éste se aplica recubriendo la semilla debido a que la infección ocurre en fases muy tempranas del desarrollo de las plantas. Desde los años 90 se han identificado aislados de *P. halstedii* resis-

tentes a metalaxyl en EE.UU., Francia y España (Albourie *et al.*, 1998; Gulya *et al.*, 1999; Molinero-Ruiz *et al.*, 2003). Recientemente también se ha referido las resistencia del patógeno tanto a metalaxyl como a metalaxyl-M (Molinero-Ruiz *et al.*, 2008). Estos antecedentes han hecho que se cuestione la eficacia del tratamiento químico para controlar el mildiu.

Materiales y métodos

Se realizaron nueve ensayos en condiciones de secano durante tres años (2006-2008) en diferentes localidades de Andalucía:

- En el año 2006 se realizaron dos ensayos, uno en la finca Prado Medal (La Rambla, Córdoba) y otro en la finca experimental Tomejil (Carmona, Sevilla).
- En 2007 se llevaron a cabo cuatro ensayos, uno en Tomejil, otro en la finca El Alcaparro (Santa Cruz, Córdoba) y dos en Écija (Sevilla), uno en la finca La Palmera y otro en la finca Casilla Tejada.
- En 2008 se llevaron a cabo otros tres experimentos localizados en Tomejil, en Prado Medal y en La Palmera, con la finalidad de estudiar el comportamiento de diverso material genético en su resistencia a la infección por *P. halstedii*.

Las siembras se realizaron durante los meses de marzo de cada año en campos con historial de infecciones por mildiu.

En el ensayo que se llevó a cabo durante el año 2007 en la finca Casilla Tejada (Écija) se evaluaron diecinueve variedades comerciales incluidas en la Red Andaluza de Experimentación Agraria (RAEA). Del total de variedades comerciales ensayadas en los restantes ocho ensayos se eligieron seis, comunes a todos ellos, para hacer el análisis combinado de años y localidades: la variedad población Peredovick (control genéticamente sensible a la enfermedad), cuatro variedades proporcionadas por diferentes empresas que son comercializadas como resistentes genéticamente a mildiu y un testigo de resistencia, la variedad Olimpia, tratada con metalaxyl-M para garantizar la ausencia de enfermedad en ella.

Los ensayos se plantearon según un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones. La parcela elemental consistió en cuatro líneas de siembra de 10 m de longitud y con una separación entre ellas de 0,7 m (foto 3). Las evaluaciones de síntomas de mildiu se



Fotos 1 y 2. Síntomas de mildiu en plantas de girasol.

realizaron sobre las dos líneas centrales, sobre las que también se realizó la recolección manualmente, eliminando las plantas de principio y final de línea para evitar posibles efectos borde. Se calcularon y analizaron estadísticamente la incidencia de enfermedad (IE), expresada como el porcentaje de plantas con mildiu, y la producción, expresada en kg/ha, mediante Anova y comparaciones de LSD ($p = 0,05$).

En los cuatro ensayos correspondientes al año 2007 se tomaron muestras de plantas enfermas de distintas variedades a fin de determinar la raza de los aislados de mildiu de

cada campo, y su reacción al metalaxyl-M. Se analizaron 62 muestras de plantas: 7 de Tomejil, 3 de El Alcaparro, 18 de La Palmera y 34 de Casilla Tejada, recuperando de ellas, mediante incubación en cámara húmeda y oscuridad, otros tantos aislados de *P. halstedii*. La raza de cada uno de ellos se determinó mediante la metodología utilizada por Molinero-Ruiz *et al.* (2002) y basada en la reacción resistente o susceptible de líneas de girasol diferenciadoras que llevan incorporados diferentes genes de resistencia a *P. halstedii* (Gulya *et al.*, 1998). Cada aislado se inoculó en nueve diferenciadoras que luego

CUADRO I.

Incidencia de mildiu, raza y reacción al metalaxyl-M de aislados de *P. halstedii* en el ensayo de Casilla Tejada (Écija, Sevilla) en 2007.

Variedad	Empresa	Incidencia (%)	Raza	Resistencia metalaxyl-M
NX 35607	Syngenta	6,8	310 (1) ^a	R ^b
QUISOL	Monsanto	6	310 (1)	R
F-103	Limagrain Iberica	4,6	310 (2)	R
PR64A71	Pioneer	9	310 (1)	R
F-104	Limagrain Iberica	3,8	310 (1)	--
VORAZ	Batlle	7,5	310 (1)	R
IMIGEN	Proseme	5,4	310 (3)	R
F-101	Limagrain Iberica	17,2	310 (2)	R
ES AMIRA	Arlesa	0	-- ^c	--
PR64A14	Pioneer	4,1	310 (2)	R
MASOLI	Batlle	3,2	310 (1)	R
PR63A76	Pioneer	10,5	310 (2)	R
SOLNET	Batlle	7,6	310 (2)	R
TRANSOL	Monsanto	6,2	310 (5)	R
KARDAN	Koipesol	0,4	310 (6)	R
OLIMPIA	Arlesa	6	310 (4)	R

^a Número de aislados de cada variedad que fueron recuperados y caracterizados
^b R= Resistente
^c -- No caracterizado

crecieron en cámara de ambiente controlado (15-18°C de temperatura y 14 h de fotoperíodo) durante dos semanas. Transcurrido este

tiempo, y tras la inducción de esporulación en las plantas mediante saturación de humedad ambiental, se observó la reacción de re-

CUADRO III.

Incidencia de mildiu (IE) de las seis variedades de girasol comunes en los ocho ensayos realizados en tres años.

	2006		2007			2008		
	La Rambla	Tomejil	Santa Cruz	La Palmera	Tomejil	La Palmera	La Rambla	Tomejil
Peredovick	22,4 (a) ^a	63,2 (a)	2,5 (a)	4,3 (a)	18,7 (a)	2,1 (a)	7,8 (a)	1,7 (ab)
Montijo	0,2 (c)	0,5 (e)	0 (b)	0 (c)	0 (e)	0,5 (b)	0 (c)	1,4 (ab)
Marta	3,7 (b)	2,3 (cd)	0 (b)	0 (c)	1 (d)	0 (b)	0 (c)	1,6 (ab)
Leila	0 (c)	0,2 (e)	0 (b)	0,6 (bc)	2,1 (c)	0 (b)	0 (c)	0 (b)
Jalisco MR	0,3 (c)	1,2 (cde)	0 (b)	0 (c)	0 (e)	0 (b)	0 (c)	0 (b)
Olimpia	0 (c)	0 (e)	0 (b)	0 (c)	0 (e)	0 (b)	0 (c)	0,5 (ab)

^a(-) Letras diferentes muestran la existencia de diferencias significativas entre variedades (LSD, P=0,05)

CUADRO IV.

Rendimientos de seis variedades de girasol en ocho ensayos realizados en distintas localidades de Andalucía durante tres años.

	2006		2007			2008		
	La Rambla	Tomejil	Santa Cruz	La Palmera	Tomejil	La Palmera	La Rambla	Tomejil
Peredovick	507 (cd) ^a	871	469 (c)	789 (bc)	652 (b)	556 (b)	640 (c)	1285 (d)
Montijo	1219 (bc)	1116	316 (c)	458 (cd)	1364 (a)	445 (bc)	597 (c)	1560 (cd)
Marta	941 (c)	938	764 (b)	581 (cd)	1309 (a)	421 (bc)	589 (c)	1324 (d)
Leila	1406 (ab)	1352	942 (ab)	1147 (a)	1546 (a)	1051 (a)	1062 (b)	1899 (ab)
Jalisco MR	952 (c)	1141	257 (c)	371 (d)	1723 (a)	357 (c)	587 (c)	1723 (bc)
Olimpia	1587 (a)	1311	1180 (a)	1098 (ab)	1505 (a)	1141 (a)	1513 (a)	2089 (a)
media ensayo	1025	1125	723	691	1474	747	897	1614

^a(-) Letras diferentes muestran la existencia de diferencias significativas entre variedades (LSD, P=0,05)

CUADRO II.

Razas de *P. halstedii* identificadas en tres ensayos realizados en 2007.

Campo	Variedad	Raza
Tomejil	Marta (1) ^a	310
Tomejil	Leila (2)	310
Tomejil	Midi (2)	310
Tomejil	Peredovick (2)	310
Sta. Cruz	Midi (1)	310
Sta. Cruz	Peredovick (2)	310
La Palmera	Leila (1)	310
La Palmera	Midi (10)	310
La Palmera	Peredovick (5)	310
La Palmera	Es Isabella (2)	310

^a (-) número de aislados de cada variedad que fueron recuperados y caracterizados

sistencia/susceptibilidad de cada una de las líneas, y se obtuvo el código numérico correspondiente a la raza de cada aislado de *P. halstedii*. La reacción de cada aislado al fungicida se determinó mediante su inoculación en 40 semillas de Peredovick tratada con metalaxyl-M 33,9% (2 gr/kg) y 40 semillas de Peredovick sin tratar. Tras su inoculación e inducción de síntomas de forma análoga a la caracterización racial se observó la reacción de resistencia/sensibilidad y, en caso de resistencia al fungicida, se determinó el porcentaje de plantas tratadas esporuladas respecto al total de plantas tratadas inoculadas.

Resultados y discusión

En 2007 la enfermedad en el ensayo de variedades comerciales en Casilla Tejada (Écija) dependió de la variedad considerada ($p= 0,0049$) variando entre 0,4% (Kardam) hasta 17,2% (F-101) (**cuadro I**). La variedad ES Amira fue la única que no presentó mildiu, posiblemente debido a que era resistente a la raza de *P. halstedii* presente en este campo. En Casilla Tejada se recuperaron 34 poblaciones de *P. halstedii* todas ellas resistentes al tratamiento con Metalaxyl-M a la dosis comercial (**cuadro I**). La resistencia al metalaxyl-M ha sido recientemente constatada en España (Molinero-Ruiz *et al.* 2008). En cuanto a los resultados de la caracterización racial, todas las poblaciones analizadas fueron de raza 310, que es la más frecuente en el sur de España (Molinero-Ruiz *et al.*, 2008). Aunque se ha sugerido la mezcla de razas del patógeno en un mismo campo (Molinero-Ruiz *et al.*, 2002), nuestros resultados muestran la exis-

tencia de una sola raza en todos y cada uno de los campos estudiados (**cuadros I y II**).

En relación a los datos de enfermedad obtenidos en nuestro estudio, el **cuadro III** muestra la incidencia de mildiu (IE) de cada variedad en los diferentes años y lugares de ensayo. Vemos como Peredovick (testigo susceptible a la enfermedad) tiene unos valores de enfermedad significativamente mayores que el resto de variedades, para todos los experimentos a excepción de Tomejil-2008. Cabe resaltar la variedad Olimpia (testigo resistente), la cual tiene una IE significativamente menor que la de Peredovick en siete de los ocho campos ensayados (0%).



Fotos 3. Disposición de los ensayos en campo.

Después del análisis de contrastes de IE observamos que entre la variedad Marta y la variedad Leila sólo encontramos diferencias significativas en el año 2006, que fue muy propicio para el desarrollo de la enfermedad (Peredovick en Tomejil en torno a un 63% de IE y en La Rambla un IE del 22,5%, estos valores son los máximos IE que encontramos en los tres años de estudio). Leila se mantiene en valores muy bajos en ambos ensayos, aproximadamente un 0,2% de IE, a pesar de ser un muy buen año para el desarrollo de la enfermedad, mientras que Marta alcanzó el 2,3 y 3,7% respectivamente. Por tanto podemos afirmar que ambas son resistentes, aunque Leila es más resistente que Marta.

En el **cuadro IV** podemos observar los valores de rendimiento de las distintas variedades en los diferentes ensayos durante los tres años de duración del estudio. Vemos cómo existen diferencias significativas de rendi-

miento entre variedades en todos los campos excepto en el ensayo de la finca Tomejil (Carmona) en el año 2006. Destacamos la variedad Olimpia (testigo de resistencia) ya que su comportamiento en cuanto a rendimientos es superior al resto de variedades en todos los años y lugares de ensayo a excepción de Leila. Ésta variedad, cuyas producciones se sitúan por encima de la media en todos los campos analizados, obtiene unos rendimientos sin diferencias significativas con el testigo resistente, excepto para el ensayo de La Rambla (Córdoba) en el año 2008. Al realizar el análisis de contrastes para los rendimientos observamos que la variedad Olimpia y la variedad Leila son las dos variedades más productivas,

se puede observar que existen diferencias significativas con las siguientes más productivas (Jalisco MR y Montijo) en seis de las ocho localidades testadas. Por tanto podemos afirmar que ambas son excelentes variedades ya que están por encima de las demás en distintos años y distintas localidades (distintos ecosistemas y años climatológicos).

También se ha comparado la variedad Peredovick (testigo susceptible de la enfermedad) con la variedad Marta, y observamos que únicamente existen diferencias significativas en dos de las ocho localidades. Estas localidades se caracterizan por tener Peredovick una gran cantidad de enfermedad. Por tanto, vemos cómo la variedad Marta a pesar de no tener una gran infección en ninguno de los ensayos sus rendimientos son muy bajos, solamente diferenciándose de Peredovick cuando ésta tiene un alto porcentaje de infección.

Conclusiones

Como conclusión general podemos decir que tanto Olimpia como Leila son las mejores variedades de nuestros ensayos en rendimientos y que la resistencia de Marta, aunque se manifiesta por menores niveles de enfermedad, no se ve reflejada en aumentos de producción. De hecho con niveles de enfermedad de bajos a moderados la resistencia

genética de los híbridos de girasol se manifiesta por menos síntomas, pero no siempre por rendimientos mayores. Este trabajo también revela que el tratamiento químico de la semilla con metalaxyl-M puede ser inefectivo frente a *P. halstedii*, resultando en producciones muy bajas.

Según los resultados de nuestros experimentos en campo entre los años 2006 y 2008, los dos métodos de lucha contra el mildiu del girasol disponibles (los híbridos resistentes y el tratamiento de las semillas con metalaxyl-M) son efectivos, pero ninguno de los dos garantiza un control completo del patógeno. ●

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional a través del proyecto de investigación RTA05-032 (Subprograma Nacional de Recursos y Tecnologías Agrarias en Cooperación con las Comunidades Autónomas, PNIDIT (I+D+I)) y el programa IFAPA-RAEA. El último autor fue contratado post-doctoral y el tercer autor fue técnico contratado mediante el Programa I3P financiado por el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y el Fondo Social Europeo.

BIBLIOGRAFÍA

- Albourie, J.M., Tourvieille, J., and Tourvieille de Labrouhe, D. 1998. Resistance to metalaxyl in isolates of the sunflower pathogen *Plasmopara halstedii*. *European Journal of Plant Pathology* 104: 235-242.
- Gulya, T.J., Draper, M., Harbour, J., Hohen, C., Knodel, J., Lamey, A., and Mason, P. 1999. Metalaxyl resistance in sunflower downy mildew in North America. In *Proceedings of the 21st Sunflower Research Workshop*, 12-13 January 1999, Fargo ND, USA, National Sunflower Association, Bismarck ND, USA, pp. 2-7.
- Gulya, T.J., Rashid, K.Y. and S. Masirevic. 1997. Sunflower diseases. Pp. 263-379 in: *Sunflower Technology and Production*, A.A. Schneiter (ed.), ASA, CSSA and SSSA, Madison WI, USA. 834 pp.
- Gulya, T.J., Tourvieille de Labrouhe, D., Masirevic, S., Penaud, A., Rashid, K., and Viranyi, F. 1998. Proposal for standardized nomenclature and identification of races of *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew). In *ISA Symposium III: Sunflower Downy Mildew*, 13-14 January 1998, Fargo ND, USA. Edited by T.J. Gulya, and F.Vear. International Sunflower Association, Paris, France. pp. 130-136.
- Molinero-Ruiz, M.L., M.M. Cordon-Torres, J. Martínez-Aguilar, J.M. Melero-Vara, and J. Domínguez. 2008. Resistance to metalaxyl and to metalaxyl-M in populations of *Plasmopara halstedii* causing downy mildew in sunflower. *Canadian Journal of Plant Pathology* 30: 97-105.
- Molinero-Ruiz, M.L., J. Domínguez & J.M. Melero-Vara, 2002. Races of isolates of *Plasmopara halstedii* from Spain and studies on their virulence. *Plant Disease* 86: 736-740.
- Molinero-Ruiz, M.L., Melero-Vara, J.M., Gulya, T.J. and J. Domínguez. 2003. First Report of Resistance to Metalaxyl in Downy Mildew of Sunflower Caused by *Plasmopara halstedii* in Spain. *Plant Disease* 87 (6): 749