



Variación estacional de *Pythium* Pringsh (Pythiaceae, Oomycetes) en las albercas del Poniente almeriense (Almería, España)

José Sánchez y Eduardo Gallego

Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Escuela Politécnica Superior, Universidad de Almería, España

Resumen

La densidad de población (nº propágulos/l) de *Pythium* en el agua de riego se ha estudiado en las albercas del Poniente almeriense (Almería, España). Estas albercas son utilizadas de forma habitual en el riego de las hortalizas de invernadero de la comarca. Desde octubre de 1994 a agosto de 1997 se efectuaron 17 campañas de muestreo; se visitaron 23 albercas y tres de ellas se muestrearon durante tres años. Para ello, se recogieron 300 ml de la superficie del agua y se analizaron en el laboratorio mediante filtrado con papel Whatman nº 1, situado sobre medio selectivo de Ponchet e incubado a 20 °C. Se tomaron datos de las características físico-químicas del agua (temperatura, pH, CE, aniones y cationes). Se efectuaron análisis de la distribución (geográfica, temporal) de la población y de las correlaciones con las características analizadas. Las densidades de población más frecuentes fueron entre 0-100 propágulos/l. Se observó una estacionalidad de la población, con máximo en invierno y mínimo en verano. A una mayor cantidad de Cl⁻ en el agua apareció una menor cantidad de propágulos/l.

Palabras clave

Alberca, Agua, Hongo acuático, *Pythium*, Riego

Seasonal variation of *Pythium* Pringsh (Pythiaceae, Oomycetes) in the irrigation reservoirs of the Poniente Almeriense (Almería, Spain)

Summary

Population density (number of propagules/l) of *Pythium* in the irrigation water has been studied in the reservoirs of the Poniente Almeriense (Almería, Spain). These reservoirs are habitually used in the watering of the greenhouse crops of the district. From October 1994 to August 1997, 17 sampling campaigns were carried out, 23 reservoirs were visited and three of them were sampled during three years. 300 ml of superficial water were sampled and analyzed in the laboratory by means of filtration with paper Whatman nº 1, placed on Ponchet selective medium and incubated at 20°C. Data of the physical-chemical characteristics of the water (temperature, pH, CE, anions and cations) were taken. The geographical and seasonal distributions of the population were correlated with the analyzed characteristics. The more frequent densities were among 0-100 propagules/l. A population's seasonality was observed, with a maximum in winter and a minimum in summer. When Cl⁻ concentration was higher, the number of propagules/l was smaller.

Key words

Reservoir, Aquatic fungi, *Pythium*, Water, Almería

Es conocido desde hace tiempo que el agua de riego actúa como transmisora de propágulos de agentes patógenos. A principios de siglo, ya se aislaron hongos patógenos, como *Phytophthora parasitica* y *Phytophthora cryptogea*, del agua de riego de cultivos de invernadero [1]. También se han encontrado que son diseminados por aguas de riego *Verticillium albo-atrum* [2] y *Sclerotinia sclerotiorum* [3]. Se han aislado diversas especies de patógenos vegetales en el agua y en los sedimentos del fondo de diversos estanques de irrigación: *Phytophthora*, *Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Alternaria*, *Ascochyta*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Diplodia*, *Phoma* y *Rhizopus* [4,5]

Por otro lado, diversos autores señalan como posible fuente de patógenos para los cultivos hidropónicos al agua procedente de embalses, depósitos, ríos y arroyos [6-8].

Dirección para correspondencia:

Dr. José Sánchez
Departamento de Biología Vegetal y Ecología
Universidad de Almería
E-04120 Almería, España
Tel.: +34 950 015 551
Fax: +34 950 015 069
E-mail: josanche@ual.es

Aceptado para publicación el 28 de Junio de 2002

Los hongos pitiáceos parecen ser la mayor amenaza del agua de riego, ya que se encuentran bien adaptados a la supervivencia en el agua, se dan comúnmente en las albercas, y además, son importantes agentes causales de enfermedades de plántulas, de podredumbres radiculares y de podredumbres de tallos de muchas especies cultivadas [5].

El agua de riego ha sido considerada como fuente de patógenos radiculares en viveros, almácigos, cultivos hortícolas y otros [9], así como un importante factor limitante del éxito de los fumigantes de amplio espectro en la producción de plántulas de plantas ornamentales y hortalizas certificadas [5].

En los cultivos hidropónicos, que basan substancialmente su producción en el agua como sustrato de cultivo, las especies zoospóricas, como *Pythium*, cobran aún mayor importancia [10,11]. En estos cultivos, algunas especies de *Pythium* transmitidas por las aguas de riego han sido descritas como importantes patógenos para plántulas y para plantas adultas, de tomate y pepino principalmente [12].

En España, se han efectuado limitados estudios sobre este tema. En embalses para riego del mismo Poniente almeriense se detectó la presencia de *Olpidium* [13] y también la presencia de *Pythium* y asimismo, se realizó el conteo del número de cebos vegetales colonizados [14]. Por último, también se ha descrito la presencia en las albercas del Poniente almeriense de *P. catenulatum* y aislados con esporangios filamentosos [15].

Material y métodos

Población objeto de estudio. El muestreo se realizó sobre las aguas de riego de las albercas presentes en la zona de Adra (Figura 1), dentro del Poniente almeriense (Almería, España). Según la fotografía aérea del vuelo del 4/10/1985 del Instituto Geográfico Nacional, se han contabilizado un total de 280 albercas en la zona de estudio. El área de estudio se dividió en cuatro subzonas.

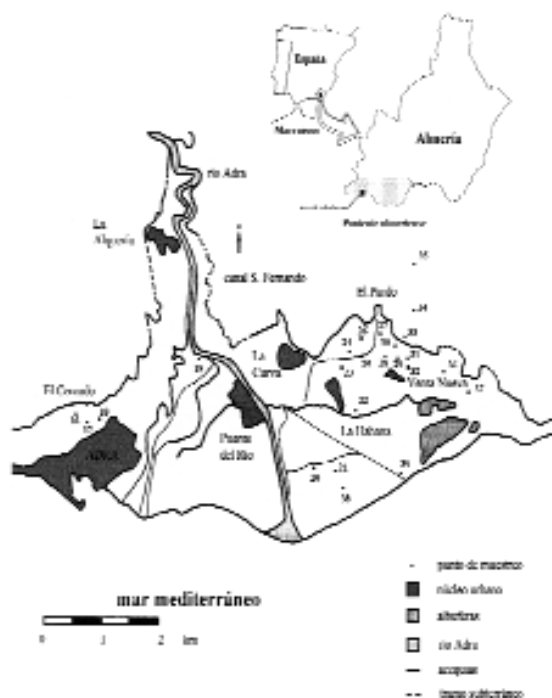


Figura 1. Distribución de los puntos de muestreo en el área de estudio.

Elección de los puntos de muestreo y número de muestras. En principio se escogieron en el mapa, de forma sistemática, los puntos de muestreo. Sin embargo, una vez en el campo se acabaron escogiendo los que fueran accesibles, representativos de las albercas de la zona, y que conservaran agua en el momento de realizar el muestreo. Estas limitaciones explican también la variación que se observa entre diferentes campañas, tanto en el número de albercas muestreadas como en su situación, aunque se persiguió mantener el máximo de constancia en los mismos.

Se realizaron campañas de muestreo durante un período trianual (1994-1997), de manera que se efectuara al menos una en cada estación del año. En total, se contabilizaron 17 campañas, aunque algunas son complementarias en fechas sólo algo distanciadas, por los motivos antes reseñados. El resultado final fue el siguiente:

- Se realizó una primera campaña de reconocimiento (7/10/1994) de la población de posibles puntos de muestreo, y en total se muestrearon ocho albercas. Sólo se perseguía averiguar la existencia de *Pythium* en las albercas.
- En una segunda campaña de prospección (8/11/1994), se muestrearon ocho albercas, siete de ellas diferentes a las de la primera campaña. En esta campaña ya se realizó además un análisis cuantitativo de la población total de *Pythium* mediante filtración.
- Para el resto de campañas (hasta el 29/8/1997), se repitieron los muestreos en tres albercas determinadas, una en cada subzona, y a veces se muestreó alguna más.

Localización geográfica de los puntos de muestreo. Se tomaron las coordenadas UTM de cada alberca (Tabla 1).

Tabla 1. Localización geográfica de las albercas muestreadas.

Nº	Paraje	Coordenadas UTM
16	El Cercado	30S VF 982 679
17	El Cercado	30S VF 984 678
18	El Cercado	30S VF 986 679
19	La Alquería	30S WF 004 687
20	La Habana	30S WF 024 672
21	La Habana	30S WF 028 671
22	La Habana	30S WF 031 680
23	Venta Nueva	30S WF 029 686
24	Venta Nueva	30S WF 031 688
25	Venta Nueva	30S WF 033 688
26	Venta Nueva	30S WF 033 691
27	Venta Nueva	30S WF 036 691
28	Venta Nueva	30S WF 037 688
29	Venta Nueva	30S WF 039 688
30	Venta Nueva	30S WF 038 689
31	Venta Nueva	30S WF 041 688
32	Venta Nueva	30S WF 041 686
33	Venta Nueva	30S WF 040 691
34	Venta Nueva	30S WF 042 695
35	Venta Nueva	30S WF 042 702
36	Venta Nueva	30S WF 047 686
37	Venta Nueva	30S WF 051 683

Se distinguieron cuatro zonas diferenciadas (Figura 1) dentro del área de estudio:

- **Zona suroeste (paraje 'El Cercado')**: Las albercas suelen obtener su agua de pozos o del canal de San Fernando, presentan tamaños diversos, y son frecuentes en todas las explotaciones;
- **Zona sureste (paraje 'La Habana')**: Las albercas suelen ser de tamaño pequeño, incluso la mayoría son depósitos de tamaño reducido. El agua suele proceder de pozos o de acequias;
- **Zona nordeste (paraje 'Venta Nueva - El Pardo')**: Las albercas suelen ser de tamaño grande, de sección circular y llenadas con agua de pozo;

- Zona noroeste (paraje 'La Alquería'): Las albercas son escasas y poco accesibles, aunque alguna se muestreó. Se suelen llenar con agua de acequia.

Medida de la densidad de población de *Pythium*. En botellas esterilizadas, mediante inmersión en hipoclorito sódico (10 g/l de cloro activo) durante 24 h, se recogieron 300 ml de agua de riego de los 40 cm superficiales del agua de riego. Antes de 18 h, se llevaron en condiciones de frío y oscuridad hasta el laboratorio [16].

En el mismo, y en condiciones de esterilidad, se filtraron tres submuestras de 100 ml cada una, tras agitación de la muestra, a través de discos de papel Whatman nº1 de 7 cm de diámetro, y que posteriormente se depositaron boca abajo sobre el medio selectivo en placa de Petri de 9 cm de diámetro [17].

Se ha utilizado como medio selectivo el medio P (1000 ml agua destilada, 10 g agar, 10 g extracto de malta, 400.000 UI penicilina G, 200.000 UI sulfato de polimixina B, 15 mg benomilo, 100 mg PCNB y esterilizar a 110°C durante 30 minutos) [18], aunque se creyeron oportunas una serie de modificaciones: se esterilizó a 120 °C; los fungicidas y antibióticos se añadieron después de la esterilización, a una temperatura de sobrefusión (45 °C); se añadió Rosa Bengala (5 ppm), junto con el resto de fungicidas y antibióticos, para colorear las pequeñas colonias de *Pythium* [19].

Se incubaron a 20°C en oscuridad durante 24 h, al cabo de las cuales se retiró el papel de filtro, se enjuagó copiosamente la superficie del medio agarizado con agua estéril, y se siguió incubando en las mismas condiciones anteriores. A las 24, 48 y 72 h y hasta que fue posible, se fue observando la aparición de colonias del género *Pythium* que tras su identificación al microscopio se fueron anotando [17,16].

Sobre el cómputo final, para el manejo de los datos, y con objeto de evitar sesgos sobre la distribución normal, se realizó la transformación del logaritmo decimal sobre el número por litro, corregido en una unidad para evitar incongruencias matemáticas [17].

Análisis estadístico. Se hace un análisis estadístico para relacionar los factores ambientales y la población de *Pythium*. Se ha utilizado el paquete estadístico STATISTICA v. 4.0.

Resultados y discusión

Distribución de la población de *Pythium*. A lo largo de todo el período de muestreo, se han obtenido diferentes densidades de población en las albercas (Figura 2), aunque fueron más frecuentes los valores próximos a 0 propágulos/l y los de alrededor de 50-100 propágulos/l. Se observa que la frecuencia de éstos depende de cada alberca, siendo la alberca nº 22 la que se ha mantenido más constante alrededor de este último valor (Figura 3). Por tanto, los niveles medios de la población de *Pythium* en el agua de riego del área de estudio parecen suficientemente importantes como para que los propágulos se encuentren en todo momento al alcance de una plántula, a lo largo de su desarrollo inicial.

Como se observa, ha sido frecuente que no se detecte ningún propágulo de *Pythium*. Esto puede deberse a la verdadera inexistencia de una población en la alberca en ese momento o en todo caso, situación más probable, a que la distribución vertical de la misma en el agua de la alberca, como ya se citó para el caso de lagos naturales [20], no es homogénea y en las circunstancias o momento en que se realizó el muestreo, era mínima o nula en la capa superior del agua de la alberca.

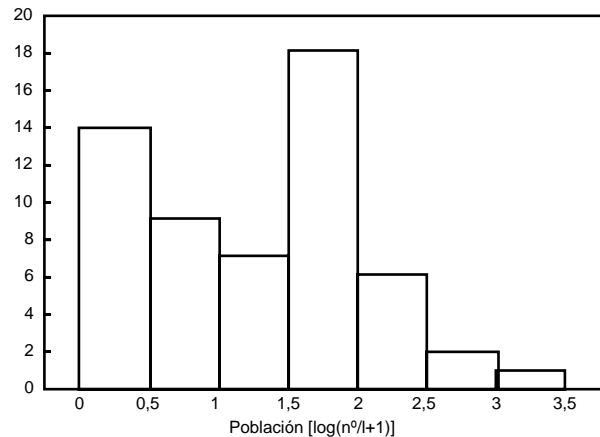


Figura 2. Distribución de frecuencias de la población de *Pythium* en albercas.

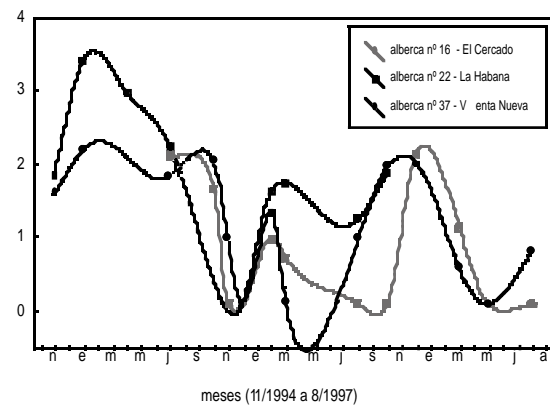


Figura 3. Distribución temporal de la población de *Pythium* en tres albercas de diferentes zonas.

A este respecto, en lagos naturales del Japón [20], se establecía que esta distribución vertical variaba según el contenido de oxígeno del agua y, por tanto, era estacional según que estuviera en fase de circulación o estancamiento. En las albercas, para esta distribución, como son totalmente artificiales, intervienen factores antrópicos de manera muy importante, debido al destino de su utilización, en principio, difícilmente ponderables: contenido de agua (relación entre disponibilidad y necesidades de riego), renovación del agua (según agricultor y disponibilidad), limpieza del fondo de la alberca (según agricultor), circulación del agua (según tipo de colectores, o turnos de riego), desinfección del agua (fungicidas, sustancias tensioactivas, filtros, ozonización), utilización de cubrimientos, etc.

Por otro lado, el número de zoósporas de *Pythium* necesario para que se produzca una infección generalizada de las raíces de una planta resulta bastante variable. En césped (*bentgrass*) sólo ocurrió cuando 100 ó más zoósporas de *Pythium aphanidermatum* penetraron en la raíz por un mismo sitio [21]; sin embargo, en plántulas de algodón, en condiciones de exceso de humedad, hubo infección con sólo una pequeña cantidad de inóculo de la misma especie de *Pythium* (zoósporas o trozos de hifas), por ejemplo una única zoóspora [22].

Por otro lado, en sistemas recirculantes de cultivo hidropónico [23] hasta con 5 propágulos/l de agua de *P. aphanidermatum* se produce infección en plantas de pepino.

Por lo tanto, resulta importante concluir que la cantidad de propágulos presentes en el agua de riego del Poniente almeriense parece suficiente para que llegue a producirse la infección de plántulas o de plantas.

La población de *Pythium* resulta diferente según la alberca de que se trate, manteniéndose las diferencias a lo largo del año (Figura 3). Se ha constatado que las albercas de determinadas zonas suelen tener concentraciones similares. Esto podría deberse a que el agua proceda de la misma fuente o a otras características de diversa índole que compartan por su cercanía (tamaño, forma, tipo de propietarios, disponibilidad de agua, etc.).

Las albercas parecen constituir un ambiente lo suficientemente estable para que se observe una estacionalidad en la densidad de población de *Pythium* (Figura 3). La población sigue una distribución relativamente similar a lo largo del tiempo en cada una de las tres albercas, situadas en zonas distintas. Parece observarse cierta estacionalidad, con máximos en el invierno y mínimos durante el verano, lo que coincide con las observaciones realizadas en el río Hogsmill, en Inglaterra [24].

También se aprecia una variación interanual que ofrece unos valores mayores durante el primer año de muestreo 1994/1995, que bajan durante el segundo año 1995/1996 y que ascienden algo durante el tercer año 1996/1997, aunque no llegan a los niveles del primero.

Relación de la población de Pythium con las características físico-químicas del agua. En las albercas, el ión cloro (Tabla 2) se correlaciona negativamente con la población de *Pythium*. Este incremento de ión cloro probablemente se debe a la salinización del agua de los pozos que las suministran, a causa de las intrusiones marinas dada su cercanía al mar Mediterráneo.

Tabla 2. Tabla de correlaciones de la población de *Pythium* con las características físico-químicas del agua de riego de las albercas.

Variabes	N	R	t (n-2)	p
Temperatura	54	0,006	0,043	0,966
pH	35	-0,205	-1,203	0,238
pH (a 25 °C)	28	-0,222	-1,160	0,257
C.E.	50	0,189	1,332	0,189
C.E. (a 25 °C)	18	-0,365	-1,569	0,136
Cloro	6	-0,829	-2,960	0,042*
Sulfatos	6	-0,200	-0,408	0,704
Nitratos	6	0,029	0,057	0,957
Bicarbonatos	6	0,543	1,293	0,266
Calcio	6	0,600	1,500	0,208
Magnesio	6	-0,143	-0,289	0,787
Sodio	6	-0,371	-0,800	0,468
Potasio	6	0,371	0,800	0,468
Boro	6	0,314	0,662	0,544

Por tanto, parece que se trata de una población de agua dulce, que se ve afectada negativamente por el incremento de la salinidad.

Esto podría explicar, al menos en parte, la estacionalidad de la población, si consideramos que esta salinidad debe incrementarse en el período estival de máxima sequía.

Conclusiones

Se ha observado una estacionalidad de la población de *Pythium* en las albercas, con máximo en invierno y mínimo en verano. El contenido en ión cloro parece tener un efecto negativo sobre la población acuática de *Pythium*.

Bibliografía

- Bewley WF, Buddin W. On the fungus flora of greenhouse water supplies in relation to plant diseases. *Ann Appl Biol* 1921; 8: 10-19.
- Easton GD, Nagle ME, Bailey DL. A method of estimating *Verticillium albo-atrum* propagules in field soil and irrigation waste water. *Phytopathology* 1969; 59: 1171-1172.
- Steadman JR, Maier CR, Schwartz HF, Kerr ED. Pollution of surface irrigation waters by plant pathogenic organisms. *Water Resour Bull* 1975; 11: 796-804.
- Klotz LJ, Wong PP, Dewolfe TA. Survey of irrigation water for the presence of *Phytophthora* spp. pathogenic to citrus. *Plant Disease Reporter* 1959; 43: 830-832.
- Shokes FM, McCarter SM. Occurrence, dissemination, and survival of plant pathogens in surface irrigation ponds in southern Georgia. *Phytopathology* 1979; 69: 510-516.
- Price TV, Nolan PD. Incidence and distribution of *Pythium*, *Phytophthora* and *Fusarium* spp. in recirculating nutrient film hydroponic systems. *ISOOC Proceedings* 1984: 523-531.
- Rattink H. Epidemiology of *Fusarium* crown and root rot in artificial substrate systems. *Med Fac Landbouww Rijksuniv Gent* 1991; 56: 423-430.
- Stanghellini ME, Rasmussen SL. Hydroponics: A solution for zoospore pathogens. *Plant Dis* 1994; 78: 1129-1138.
- Gill DL. Pathogenic *Pythium* from irrigation ponds. *Plant Disease Reporter* 1970; 54: 1077-1079.
- Favrin RJ, Rahe JE, Mauza B. *Pythium* spp. associated with crown rot of cucumber in British Columbia greenhouses. *Plant Disease* 1988; 72: 683-687.
- Rafin C. Les *Pythium* spp. à sporanges filamenteux, agents de nécroses racinaires sur tomate (*Lycopersicon esculentum*) en culture hors-sol. Tesis Doctoral. Rennes, Universidad de Bretaña Occidental, 1993.
- Blancard D, Rafin F, Chamont S, Tirilly Y, Jailloux F. Phénomène de perte de racines en culture hors sol. Rôle des *Pythium* spp. *PHM Revue Horticole* 1992; 329: 35-45.
- Gómez J, Velasco V. Presencia de *Olpidium radiale* en los embalses para riego en Almería. *Phytoma España* 1991; 33: 23-27.
- Gómez J. Sanidad fúngica en los semilleros. Colección Comunicación I+D Agroalimentaria 1/93. Sevilla, Junta de Andalucía-Consejería de Agricultura y Pesca, 1993.
- Sánchez J, Gallego E. *Pythium* spp. present in irrigation water in the Poniente region of Almería (south-eastern Spain). *Mycopathologia* 2001; 150: 29-38.
- Pittis JE, Colhoun J. Isolation and identification of pythiaceous fungi from irrigation water and their pathogenicity to *Antirrhinum*, tomato and *Chamaecyparis lawsoniana*. *Phytopath Z* 1984; 110: 301-318.
- Park D. A two-year study of numbers of cellulolytic *Pythium* in river water. *Trans Br Mycol Soc* 1980; 74: 253-258.
- Ponchet J, Ricci P, Andreoli C, Auge G. Méthodes sélectives d'isolement du *Phytophthora nicotianae* f. sp. *parasitica* (Dastur) Waterh. à partir du sol. *Ann Phytopathol* 1972; 4: 97-108.
- Sánchez J. Análisis de la presencia del género *Pythium* Pringsh. en el agua de riego del Poniente almeriense. Serie tesis doctorales 30. Almería, Servicio de Publicaciones de la Universidad de Almería, 1998.
- Suzuki S. Ecological studies on the genus of *Pythium* (aquatic fungi) in Japanese lakes. *Japan J Ecol* 1961; 11: 91-93.
- Kraft JM, Endo RM, Erwin DC. Infection of primary roots of bentgrass by zoospores of *Pythium aphanidermatum*. *Phytopathology* 1967; 57: 86-90.
- Spencer JA, Cooper WE. Pathogenesis of cotton (*Gossypium hirsutum*) by *Pythium* species: Zoospores and mycelium attraction and infectivity. *Phytopathology* 1967; 57: 1332-1338.
- Sanogo S, Moorman GW. Transmission and control of *Pythium aphanidermatum* in a ebb-and-flow subirrigation system. *Plant Dis* 1993; 77: 287-290.
- Waterhouse GM. Some water moulds of the Hogsmill River collected from 1937 to 1939. *Brit Mycol Soc Trans* 1942; 25: 315-325.