

Etiología de la muerte súbita de la sandía en invernaderos del sureste peninsular de España

M. L. GUIRADO, E. SÁEZ, Y. SERRANO, J. GÓMEZ.

La sandía es ampliamente cultivada en España. En el sudeste de la península, en Almería, la “muerte súbita” se comenzó a observar al inicio de la década de los 80. Los síntomas generalizados más característicos de la enfermedad eran la marchitez y muerte, masiva y repentina de las plantas que se producía durante la maduración de los frutos. La estrecha asociación observada entre plantas enfermas y la detección del virus de las manchas necróticas del melón (MNSV) y del hongo de suelo *Olpidium bornovanus* sugería que el agente causal de la enfermedad fuese el MNSV. Otros hongos asociados ocasionalmente a las plantas enfermas fueron: *Pythium aphanidermatum*, *Monosporascus cannonballus*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium irregulare* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. Para estudiar la etiología de la “muerte súbita” se realizaron tres experimentos de inoculación sobre cultivo sin suelo y en invernadero. *P. aphanidermatum*, *O. bornovanus* y *F. oxysporum* f. sp. *niveum* resultaron patógenos. *P. aphanidermatum* causó siempre la necrosis generalizada del sistema radicular y, en ocasiones, marchitez, muerte de plantas y significativas disminuciones de cosecha. *O. bornovanus* originó necrosis en el sistema radicular, llevando asociado en un porcentaje variable de las plantas MNSV. El poder patógeno de *O. bornovanus* asociado al MNSV fue mayor que el de ambos patógenos por separado, causando necrosis del hipocotilo, estrías necróticas sobre los tallos y pecíolos, necrosis de las nerviaciones de las hojas, manchas necróticas sobre las hojas del ápice y la marchitez y posterior muerte de las plantas, reproduciendo así los síntomas de la “muerte súbita”. Los experimentos realizados pusieron también de manifiesto la conservación de MNSV en los esporangios de resistencia de *O. bornovanus*. La severidad de la enfermedad causada por *F. oxysporum* f. sp. *niveum* fue reducida, aunque el patógeno reprodujo en cultivo sin suelo los síntomas típicos de la enfermedad. No mostraron patogenicidad *Monosporascus cannonballus*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* y *Pythium irregulare*.

M. L. GUIRADO, E. SÁEZ, Y. SERRANO, J. GÓMEZ. Centro IFAPA La Mojonera. Camino de San Nicolás nº 1. 04745. La Mojonera (Almería). juliom.gomez@juntadeandalucia.es

Palabras clave: *P. aphanidermatum*, *O. bornovanus*, MNSV, *F. oxysporum* f. sp. *niveum*.

INTRODUCCIÓN

La sandía (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai) es ampliamente cultivada en España, la superficie dedicada en el año 2007 se estimó en 16.900 ha con una producción de 714.000 tm (ANÓNIMO, 2008). La agricultura intensiva dedicada a la producción hortícola en invernadero se ha desarro-

llado extraordinariamente durante los últimos 30 años en el sureste de la Península. En la actualidad, en la zona litoral de Andalucía de las provincias de Almería y Granada, existe una superficie que se estima en 27.763 ha. La sandía es también ampliamente cultivada, sólo en la provincia de Almería, la superficie en el año 2007 se estimó en 4.696 ha (ANÓNIMO, 2008). Durante los últimos 15 años, se

ha observado también un interés creciente por el cultivo de hortalizas en sustratos, estimándose que la superficie dedicada a estos cultivos en dichas provincias puede alcanzar actualmente las 5.500 ha, siendo los dos sustratos más frecuentemente utilizados perlita y lana de roca (SANJUÁN, 2000).

En Almería, la muerte súbita de la sandía se comenzó a observar al inicio de la década de los 80. Los síntomas generalizados más característicos de la enfermedad eran la marchitez y muerte, masiva y repentina de las plantas que se producía durante la maduración de los frutos, sin que éstas antes de su marchitez, hubiesen mostrado ningún otro síntoma de enfermedad. Las plantas enfermas mostraban frecuentemente necrosis seca del hipocotilo y necrosis del sistema radicular. Aunque en un principio la enfermedad se asoció a los hongos *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani* (CUADRADO y GÓMEZ, 1984), poco después al observarse que la enfermedad era similar a la que se manifestaba en los cultivos de melón, y que en éste, algunos de sus síntomas eran similares a los descritos en Grecia y Japón (AVGELIS, 1985; HIBI y FURUKI, 1985), a la detección en las plantas enfermas del virus de las manchas necróticas del melón (MNSV) (LUIS, 1986, 1994) y a la presencia en todos los invernaderos prospectados de *Olpidium bornovanus* (GÓMEZ *et al.*, 1990) se sugirió que el agente causal en ambas cultivos podría ser el MNSV (GÓMEZ *et al.*, 1988; CUADRADO *et al.*, 1993).

Hasta el año 1983, la enfermedad más importante del cultivo fue la Fusariosis vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (CUADRADO y GÓMEZ, 1984; TELLO, 1984; GONZÁLEZ *et al.*, 1987; 1988; 1993). Pocos años después la muerte súbita, con una sintomatología y evolución claramente diferente de la Fusariosis, arrasó un gran número de invernaderos y se mostró como un factor limitante del cultivo. Diversas prospecciones realizadas entre los años 1984 y 1990 descartaron la implicación de *F. oxysporum* f. sp. *niveum* en dicho síndrome, asociándolo estrechamente a *O. bornovanus*

y MNSV, y en menor medida a *Pythium* spp., *R. solani*, *F. solani* y *Monosporascus cannonballus* (GÓMEZ, datos no publicados). Desde el inicio de los 90, la utilización masiva de plantas de sandía injertadas, diluyó por completo la gravedad de la enfermedad, creyendo gran parte del sector productivo que dicha técnica controlaba sólo la Fusariosis vascular.

El síndrome que parece similar al observado en otras zonas de cultivo de España y en Israel, Túnez, USA y Méjico, suele tener un denominador común: el marchitamiento y muerte de las plantas pocos días antes o durante la recolección de los frutos. Los nombres comunes asignados a estas enfermedades son: el decaimiento de los tallos ("vine decline"), acremoniosis, colapso y muerte súbita, y los agentes causales o asociados principales, que parecen variar según las diferentes zonas y sistemas de cultivos han sido: *M. cannonballus*, *Acremonium* sp. y el virus de las manchas necróticas del melón (MNSV) (KRIKUN, 1985; LOBO, 1990; CUADRADO *et al.*, 1993; MARTIN *et al.*, 1994; BRUTON *et al.*, 1995; MARTIN y MILLER, 1996; MARTIN *et al.* 1996; ANTIGNUS *et al.*, 1997).

El estudio de la etiología de las enfermedades, cuyos primeros síntomas se manifiestan cerca del periodo de recolección entraña dificultades experimentales importantes. Basándose en que la "muerte súbita" del melón y de la sandía se observaban también en los cultivos sin suelo de Almería (GÓMEZ, 1993), se plantearon los objetivos siguientes: estudiar la etiología de la muerte súbita en Almería y evaluar el poder patógeno de varios hongos asociados a las plantas enfermas en los cultivos sin suelo de sandía.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para estudiar la etiología de la "muerte súbita" se investigó sobre la patogenicidad de *P. aphanidermatum*, *M. cannonballus*, *F. solani*, *R. solani*, *P. irregulare*, *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, *O. bornovanus* infectado con MNSV y MNSV. Se realizaron tres experi-

mentos sobre cultivo sin suelo usando como sustrato perlita, en campañas de primavera y en un invernadero tipo multitúnel con cubierta de polietileno de 200 μm de espesor. El hospedador fue sandía cv. Sugar Baby. La solución nutritiva de 1,9 a 2,0 dS m^{-1} de conductividad se preparó con agua de riego de 0,5 a 0,6 dS m^{-1} . El sustrato se regó en base a la cantidad de agua sobrante y a la conductividad eléctrica (C.E.) de dicha agua (procurando mantener un drenaje próximo al 20% y que la C.E. no superara los 5,0 dS m^{-1}).

En los dos primeros experimentos se inocularon *P. aphanidermatum*, *M. cannonballus*, *F. solani*, *R. solani*, *O. bornovanus* y MNSV. Y en el tercero, *P. aphanidermatum*, *P. irregulare*, *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, *O. bornovanus* y MNSV. El diseño experimental utilizado fue de cuatro bloques completos al azar. Se utilizaron de 10 a 12 plantas de sandía cv. Sugar Baby por parcela elemental, constituida por sacos de perlita donde se trasplantaron dos plantas por saco. El cultivo, en el segundo de los experimentos, se condujo a ciclo corto (107 días) mientras que los dos restantes se realizaron a ciclo largo (160-164 días). Las inoculaciones se realizaron cuando las plantas tenían de ocho a doce hojas verdaderas. El inóculo estuvo compuesto por un triturado en agua destilada estéril del cultivo puro del aislado a ensayar, crecido hasta quedar la placa de Petri de 90 mm de diámetro, con 20 mL de medio de cultivo PDA o PZA, completamente cubierta por la colonia fúngica. El volumen de agua utilizado para inocular cada una de las plantas fue de 50 mL. Las concentraciones de inóculo para las especies utilizadas en los experimentos fueron las siguientes: *P. aphanidermatum*: $1,5 \times 10^3 - 2,5 \times 10^3$ UFC mL^{-1} ; *P. irregulare*: $10^3 - 5 \times 10^3$ UFC mL^{-1} ; *M. cannonballus*: 20-35 UFC mL^{-1} ; *R. solani*: $10^2 - 10^3$ UFC mL^{-1} y *F. oxysporum* y *F. solani*: $10^4 - 10^5$ UFC mL^{-1} . La inoculación con los aislados de *O. bornovanus* se realizó regando las plantas con una suspensión acuosa de un triturado de 0,1-0,3 g de raíces, desecadas en papel de filtro y conservadas durante varios meses a 6-8 °C. Las raíces,

con abundantes esporangios de resistencia del hongo, procedían de plantas de sandía seropositivas para MNSV, previamente inoculadas con los aislados masales de *O. bornovanus*. La inoculación mecánica con los aislados de MNSV se realizó sobre dos hojas por planta, la cuarta y la octava. El inóculo se preparó triturando tejidos vegetales de plantas de sandía, infectadas de forma artificial con los diferentes aislados de virus, en mortero junto con carbón vegetal y carborundo (0,075 g de cada uno) en 1 mL de tampón fosfato 0,1 M, pH 7,2, a una dilución 1:2. El inóculo se extendió sobre las hojas de las plantas con la ayuda de bastoncillos de algodón estériles, lavándose posteriormente éstas con agua corriente.

Las técnicas de cultivo y los tratamientos fitosanitarios para las plagas y enfermedades aéreas fueron los habituales en la zona. Se determinó, antes de cada experimento, la ausencia de *Pythium* spp. y de *Olpidium* spp. en el agua de riego. Durante los experimentos se realizaron observaciones semanales de los síntomas aparecidos en las plantas. En el cultivo conducido a ciclo corto y al término del mismo, se realizó una valoración del aspecto sanitario del sistema radicular con escala de 0 a 4. 0 a 1- Planta con el sistema radicular sin necrosis a planta con el 25% del sistema radicular necrosado, 1 a 2- Plantas con un porcentaje del sistema radicular necrosado comprendido entre el 25 y el 50%, 2 a 3- Plantas con un porcentaje del sistema radicular necrosado comprendido entre el 50 y el 75%. Y 3 a 4- Plantas con un porcentaje del sistema radicular necrosado comprendido entre el 75% y el 100%. La producción comercial de frutos en las recolecciones practicadas, una para el cultivo realizado a ciclo corto (PC1/pl) y dos para los de ciclo largo (PC1/pl y PC2/pl), se valoró mediante pesada con un dinamómetro, contándose el número de frutos recolectados. Las comparaciones entre las medias se realizaron por el método de la menor diferencia significativa (LSD), para un nivel de confianza del 95%. Al término del cultivo todas las plantas del experimento se analizaron para detectar la

presencia de *O. bornovanus* y del virus de las manchas necróticas del melón. Para la detección de *Olpidium*, después de lavar el sistema radicular de las plantas con abundante agua del grifo, se seleccionaron 10 pequeños trozos, de aproximadamente 1 mm de diámetro y 1 cm de longitud y se observaron mediante un microscopio óptico con 250-400 aumentos. Los reaislamientos en las plantas inoculadas con *P. aphanidermatum* y con *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, se realizaron sembrando tejidos con síntomas en los medios de cultivo Ponchet y PDA, respectivamente (RAPILLY, 1968; PONCHET *et al.* 1972).

Los análisis para detectar en las plantas la presencia del virus de las manchas necróticas del melón (MNSV) se realizaron por la técnica inmunoenzimática ELISA DAS descrita por CLARK y ADAMS (1977), con antisueros de la firma Loewe y con tejidos del hipocotilo. Antes de ser utilizadas en los experimentos, una muestra de 300 semillas fue analizada por serología para garantizar la ausencia de MNSV.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el primer experimento se encuentran reflejados en el Cuadro 1. Solamente las plantas inoculadas con *P. aphanidermatum* y *O. bornovanus* mostraron síntomas de enfermedad. *P. aphanidermatum* causó en todas las plantas inoculadas necrosis generalizada del sistema radicular, síntomas de necrosis del hipocotilo al 28,7% y la muerte al 17,6% de las plantas. Las mermas de producción provocadas fueron del 39,2% para la comercial precoz y del 35,7% para la comercial final. *O. bornovanus* causó necrosis en el sistema radicular de todas las plantas y mermas de cosecha del 28,4% para la comercial final. *O. bornovanus* se detectó en las 36 plantas inoculadas y MNSV en el 48,5% de éstas. *O. bornovanus* no se detectó en las raíces de las plantas no inoculadas.

Las plantas inoculadas mecánicamente con MNSV mostraron, pocos días después

de la inoculación, lesiones necróticas locales sobre las hojas inoculadas. No se observaron síntomas generalizados en las plantas, ni sistémicos del virus, aunque se detectó por serología al termino del experimento en el 5,7% de las plantas. El virus tampoco causó necrosis del sistema radicular ni mermas de producción con respecto al testigo no inoculado.

El resto de los hongos inoculados: *M. cannonballus*, *F. solani* y *R. solani* no provocaron síntomas ni redujeron significativamente la producción comercial precoz o final.

En el segundo experimento, cuyos resultados se muestran en el Cuadro 2, las plantas inoculadas con *P. aphanidermatum* mostraron necrosis generalizadas del sistema radicular. Se observaron síntomas de marchitez y la muerte de un porcentaje de plantas (del 4,8%) estadísticamente no significativo. Las mermas de la producción comercial provocadas con respecto a las parcelas del testigo tampoco fueron significativas.

Todas las plantas inoculadas con *O. bornovanus* mostraron necrosis severas y generalizadas en el sistema radicular. En el 78,6% de éstas se observó la necrosis del hipocotilo y el 42,9% se detectaron síntomas sistémicos consistentes en necrosis sobre los tallos y nerviaciones de las hojas. Por el contrario, el síntoma de cribado de las hojas sólo se observó de forma puntual. Algunas plantas comenzaron a marchitarse y morir pocos días antes del inicio de la recolección. Cuando se finalizó el experimento habían muerto el 76,1% de las plantas. El hongo se observó sólo en el 47,3% de las plantas inoculadas, mientras que el virus se detectó en el 61,3%. Las mermas en la producción comercial alcanzaron el 88,0% con respecto a la obtenida en las parcelas de las plantas testigo.

Las plantas inoculadas mecánicamente con MNSV sólo mostraron, pocos días después de la inoculación, lesiones locales necróticas sobre las hojas inoculadas. No se observaron otros síntomas aunque el virus se detectó por serología, al termino del experimento, en el 28,6% de las plantas. El virus no causó necro-

Cuadro 1. Patogenia de *P. aphanidermatum*, *M. cannonballus*, *F. solani*, *R. solani*, *O. bornovanus* y de MNSV inoculado mecánicamente, sobre plantas de sandía (cv. Sugar Baby). Experimento 1.

Aislados	PS ^a	PM ^a	NH ^a	NR ^b	O. r. ^b	+MNSV ^c	PC1/pl ^d	PC2/pl ^d
<i>P. aphanidermatum</i>	100,0 a	17,6 a	28,7 a	+++	0,0 b	0,0 b	4,9 b	8,9 c
<i>M. cannonballus</i>	1,9 b	3,7 b	1,9 b	0	0,0 b	0,0 b	7,8 a	12,8 a
<i>Fusarium solani</i>	0,9 b	0,9 b	0,0 b	0	0,0 b	0,0 b	7,2 a	11,3 ab
<i>Rhizoctonia solani</i>	2,8 b	2,8 b	0,0 b	0	0,0 b	0,0 b	7,4 a	11,2 ab
<i>O. bornovanus</i>	100,0 a	2,8 b	6,5 b	++	100,0 a	48,5 a	7,0 a	9,9 bc
MNSV (inoc. mec.)	1,9 b	1,9 b	0,9 b	0	0,0 b	5,7 b	7,7 a	12,2 a
Testigo	0,9 b	0,9 b	0,0 b	0	0,0 b	0,0 b	8,0 a	13,1 a

^a Porcentaje de plantas con síntomas (PS), muertas (PM) y con síntomas de necrosis de hipocotilo al termino del experimento (NH). ^b Necrosis radicular (NR) y detección de *O. bornovanus* (O. r.) en el de sistema radicular. ^c Porcentaje de plantas positivas a MNSV (+MNSV). ^d Producción comercial precoz en Kg planta⁻¹ (PC1/pl) y comercial total (PC2/pl). Valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P=0,05).

Cuadro 2. Patogenia de *P. aphanidermatum*, *M. cannonballus*, *F. solani*, *R. solani*, *O. bornovanus* y de MNSV inoculado mecánicamente, sobre plantas de sandía (cv. Sugar Baby). Experimento 2.

Aislados	PS ^a	PM ^a	NH ^a	NR ^b	O. r. ^b	+MNSV ^c	PC1/pl ^d
<i>P. aphanidermatum</i>	100,0 a	4,8 b	0,0 b	++	0,0 b	0,0 c	8,3 a
<i>M. cannonballus</i>	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0	0,0 b	0,0 c	9,3 a
<i>Fusarium solani</i>	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0	0,0 b	0,0 c	9,8 a
<i>Rhizoctonia solani</i>	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0	0,0 b	0,0 c	9,5 a
<i>O. bornovanus</i>	100,0 a	76,1 a	78,6 a	++	47,3 a	61,3 a	1,1 b
MNSV (inoc. mec.)	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0	0,0 b	28,6 b	9,2 a
Testigo	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0	0,0 b	0,0 c	9,2 a

^a Porcentaje de plantas con síntomas (PS), muertas (PM) y con síntomas de necrosis de hipocotilo al termino del experimento (NH). ^b Necrosis radicular (NR) y detección de *O. bornovanus* (O. r.) en el de sistema radicular. ^c Porcentaje de plantas positivas a MNSV (+MNSV). ^d Producción comercial precoz en Kg planta⁻¹ (PC1/pl). Valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P=0,05).

Cuadro 3. Patogenia de *P. aphanidermatum*, *P. irregulare*, *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, *O. bornovanus* y de tres aislados de MNSV inoculados mecánicamente, sobre plantas de sandía (cv. Sugar Baby). Experimento 3.

Aislados	PS ^a	PM ^a	NH ^a	NR ^b	O. r. ^b	+MNSV ^c	PC1/pl ^d	PC2/pl ^d
<i>P. aphanidermatum</i>	100,0 a	45,8 a	68,2 a	+++	0,0 b	0,0 b	9,7 a	13,6 b
<i>P. irregulare</i>	0,0 c	0,0 b	0,0 c	0	0,0 b	0,0 b	10,3 a	16,0 a
<i>F. oxysporum niveum</i>	87,5 b	8,3 b	0,0 c	0	0,0 b	0,0 b	10,3 a	14,7 ab
MNSV-315 (mec.)	0,0 c	0,0 b	0,0 c	0	0,0 b	10,0 b	10,2 a	15,9 a
MNSV-532 (mec.)	4,2 c	0,0 b	4,2 c	0	0,0 b	0,0 b	10,4 a	16,6 a
MNSV-457(mec.)	2,1 c	0,0 b	2,1 c	0	0,0 b	10,0 b	10,2 a	15,6 a
<i>O. bornovanus</i>	100,0 a	8,3 b	56,0 b	+++	100,0 a	45,0 a	7,8 b	11,0 c
Testigo	0,0 c	0,0 b	0,0 c	0	0,0 b	0,0 b	10,4 a	16,0 a

^a Porcentaje de plantas con síntomas (PS), muertas (PM) y con síntomas de necrosis de hipocotilo al termino del experimento (NH). ^b Necrosis radicular (NR) y detección de *O. bornovanus* (O. r.) en el de sistema radicular. ^c Porcentaje de plantas positivas a MNSV (+MNSV). ^d Producción comercial precoz en Kg planta⁻¹ (PC1/pl) y comercial total (PC2/pl). Valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P=0,05).

sis del sistema radicular ni mermas de producción con respecto al testigo no inoculado. *O. bornovanus* no se detectó en las raíces de las plantas no inoculadas con dicho hongo.

Como en el experimento anterior, el resto de los hongos inoculados: *M. cannonballus*, *F. solani* y *R. solani* no produjeron síntomas ni redujeron significativamente la producción comercial.

Los resultados obtenidos en el tercer experimento se encuentran reflejados en el Cuadro 3. Todas las plantas inoculadas con *P. aphanidermatum* mostraron necrosis generalizadas del sistema radicular. El 68,2% de ellas mostraron, además, una necrosis en la base del tallo, contabilizándose, al término del experimento, la muerte del 45,8% de las plantas y ocasionando unas mermas de cosecha del 15,0% para la producción comercial final. Por otra parte, *Pythium irregulare* no causó síntomas ni redujo significativamente la producción comercial precoz o final.

O. bornovanus causó también en todas las plantas la necrosis generalizada del sistema radicular y necrosis en las bases de los tallos al 56,0% de éstas. Al término del experimento el porcentaje de mortandad alcanzó al 8,3% de las plantas, aunque éste no fue estadísticamente significativo. Las mermas de producción fueron del 25,0% para la producción comercial precoz y del 31,3% para la producción comercial final. En el 45,0% de las plantas se detectó MNSV. *O. bornovanus* se detectó con facilidad en todas las plantas inoculadas con el hongo mientras que no se detectó en las raíces del resto de las plantas no inoculadas. El virus tampoco se detectó en las plantas del testigo.

Fusarium oxysporum f. sp. *niveum* ocasionó la marchitez unilateral, frecuentemente reversible, y una apreciable necrosis vascular en el 87,5% de las plantas. Al término del experimento el porcentaje de mortandad alcanzó al 10,4% de las plantas inoculadas. Aunque el patógeno no mermó de forma



Figura 1. Necrosis en la base del tallo causada por *P. aphanidermatum*.



Figura 2. Muerte de plantas observada en las parcelas inoculadas con *P. aphanidermatum*.



Figura 3. Muerte de plantas observada en las parcelas inoculadas con *O. bornovanus* y MNSV.

estadísticamente significativa la producción de las plantas.

Las plantas inoculadas mecánicamente con los tres aislados MNSV mostraron una reacción local en las hojas, pero no se observó ningún síntoma sistémico del virus ni tampoco una disminución de la producción comercial precoz ni de la comercial final. El virus se detectó por serología, al término del experimento, en el 10,0, 0,0 y 10,0% de las plantas inoculadas con los aislados 315, 532 y 457, respectivamente.

DISCUSIÓN

P. aphanidermatum, *O. bornovanus* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* resultaron patógenos sobre plantas adultas de sandía en cultivo sin suelo, causando síntomas más o menos graves sobre las plantas inoculadas.

P. aphanidermatum causó invariablemente la necrosis generalizada del sistema radicular y, en ocasiones, necrosis en la base del tallo, marchitez y muerte de plantas y significativas disminuciones de cosecha. La necrosis en la base del tallo fue un síntoma que afectó a un porcentaje muy variable de las plantas, oscilando entre el 0,0 y el 68,2%. En algunas ocasiones, las plantas con éste síntoma mostraron también una hipertrofia del hipocotilo con exudaciones gomosas (Figura 1). Los síntomas generalizados provocados, muy severos en dos de los tres experimentos (mortalidad del 17,6 al 45,8% de las plantas) podrían depender de las condiciones ambientales asociadas al estado vegetativo de las plantas (Figura 2). Las mermas de producción provocadas por el patógeno fueron importantes, aunque variables, resultado más elevadas (del 39,2% para la producción comercial final) cuando el patógeno produjo síntomas más precoces y no cuando fue capaz de ocasionar una mayor mortalidad. Esta es, según la bibliografía consultada, la primera cita de *P. aphanidermatum* causando enfermedad en plantas adultas de sandía. Especie que causa en los cultivos de pepino y melón en los invernade-

ros del sureste de España una grave enfermedad. En pepino largo su patogenia se manifiesta sobre plantas adultas, causando síntomas de podredumbre de la base del tallo, marchitez, muerte de plantas y mermas de cosecha (GÓMEZ, 2003). En melón *P. aphanidermatum* causa necrosis en las raíces y la base del tallo y merma la producción de frutos (GÓMEZ, 1993).

Las inoculaciones con *O. bornovanus* con el virus, originaron siempre la necrosis generalizada del sistema radicular, llevando asociado MNSV, en el 5,7, 61,3 y 45,0% de las plantas. El porcentaje de las plantas que mostraron necrosis en la base del tallo fue muy variable oscilando entre el 6,5 y el 78,6% (Figura 3). Aunque la mortalidad de las plantas causada por el binomio hongo y virus, fue significativamente muy importante en uno de los años (76,1%), en los tres experimentos el binomio patógeno fue capaz de mermar la producción entre el 28,4 y el 88,0%.

Por lo tanto, los resultados obtenidos indican que el poder patógeno de *O. bornovanus* asociado al MNSV es significativamente mayor que cuando se inocula solamente el virus (Figura 4). La asociación de MNSV con *O. bornovanus* causa la necrosis del hipocotilo, estrías necróticas sobre los tallos y pecíolos, necrosis de las nerviaciones de las hojas, manchas necróticas sobre las hojas del ápice y la marchitez y posterior muerte de las plantas, síntomas que no se observaron en ninguna de las inoculaciones mecánicas realizadas con MNSV. Estas diferencias sugieren que existe una asociación sinérgica entre el virus y el hongo. Los resultados obtenidos en el tercer experimento (Cuadro 3) al inocular el hongo y el virus obtenido de una misma planta parecen corroborarlo.

Las inoculaciones realizadas con raíces infectadas con esporangios de resistencia del hongo, desecadas y conservadas durante al menos seis meses a 4-8°C, fueron eficaces para causar la infección de las plantas por el hongo y por MNSV. Dado que *O. bornovanus* no se detectó en ninguna de las plantas de las parcelas del testigo en los tres experimentos



Figura 4. Síntomas de cribado observados en algunas de las plantas inoculadas mecánicamente con MNSV.



Figura 5. Síntomas de necrosis vascular causados por *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*.

realizados, los resultados indican de nuevo la conservación de MNSV en los esporangios de resistencia del hongo. Hipótesis sugerida por las observaciones realizadas en las explotaciones comerciales y por los resultados obtenidos en otros estudios realizados con anterioridad (GÓMEZ *et al.*, 1993), que fue confirmada posteriormente en experimentos realizados con semillas libre de MNSV (GUIRADO *et al.*, datos no publicados). La conservación de MNSV en los esporangios de resistencia de *O. bornovanus* coincide con los obtenidos por algunos investigadores (AVGELIS, 1985; TOMLINSON y THOMAS, 1986) y no con los obtenidos por otros que parecen indicar la eliminación del virus en las raíces de las plantas con *O. bornovanus* después de desecadas durante pocas semanas (CAMPBELL *et al.*, 1991; CAMPBELL y SIM, 1994). Por otra parte, en el experimento en el que la detección de MNSV fue más elevada (del 61,3%), *O. bornovanus* sólo se detectó en el 47,3% de las plantas inoculadas. Esta aparente competencia entre el hongo y el virus coincide con la observada por (CAMPBELL *et al.*, 1996) y por nosotros en algunos experimentos (GUIRADO *et al.*, datos no publicados).

Las condiciones ambientales favorables para la expresión de la enfermedad causada por *P. aphanidermatum* y *O. bornovanus* parecen diferentes y contrapuestas. En los dos experimentos en los que *P. aphanidermatum* causó una significativa mortandad de plantas, la patogenia de *O. bornovanus* sólo se manifestó causando mermas de cosecha, por el contrario, cuando *O. bornovanus* causó la muerte a más del 75% de las plantas inoculadas, la mortandad causada por *P. aphanidermatum* no fue estadísticamente significativa. *P. aphanidermatum* y *O. bornovanus* portador de MNSV reprodujeron la muerte de las plantas adultas de sandía tal y como se observaba en los invernaderos de los agricultores. Sin embargo, los resultados obtenidos en los análisis realizados a las plantas recolectadas en varias prospecciones a invernaderos con plantas enfermas, indican una estrecha asociación de la enfermedad con *O. bornovanus* y MNSV, y no con *P. aphanidermatum*.

Los resultados obtenidos en sandía son en cierta medida similares a los obtenidos en experimentos realizados con plantas adultas de melón, en los que la “muerte súbita” fue reproducida por el virus del cribado (MNSV), tanto cuando el virus se inoculó mecánicamente, como cuando se empleó al hongo *O. bornovanus* como vector. En el primer caso, MNSV causó en un alto porcentaje de las plantas, manchas necróticas en las hojas jóvenes (cribado), estrías necróticas sobre los tallos, pecíolos y pedúnculos, necrosis de las nerviaciones de las hojas y la muerte de las plantas. Mientras que en el segundo caso las plantas mostraron necrosis del hipocotilo, estrías necróticas sobre los tallos, pecíolos y pedúnculos, necrosis de las nerviaciones de las hojas y del sistema radicular y la muerte de las plantas. Subrayar las diferencias observadas en los síntomas, mientras que en la inoculación mecánica, el síntoma predominante fue el de manchas necróticas en las hojas más jóvenes (cribado), cuando la inoculación se efectuó mediante el vector, *O. bornovanus*, predominó la necrosis del hipocotilo y de las raíces de las plantas. También en melón, al igual que en sandía, se evidenció la capacidad parasitaria de *O. bornovanus*, independientemente de su papel como vector del virus, utilizando para ello el cultivar de melón Vital, resistente a MNSV (GÓMEZ, 1993).

La severidad de la enfermedad causada por *F. oxysporum* f. sp. *niveum* fue reducida, aunque el patógeno reprodujo en cultivo sin suelo los síntomas típicos de la enfermedad (Figura 5). Las condiciones ambientales que se dieron en los sacos de cultivo, muy favorables para la expresión de la enfermedad causada por *P. aphanidermatum*, quizás no lo fueran tanto para *F. oxysporum*, cuya severidad parece disminuir considerablemente cuando las temperaturas sobrepasan los 30°C (SHERF y MACNAB, 1986).

El resto de los hongos inoculados: *M. cannonballus*, *F. solani*, *R. solani* y *P. irregulare* no se comportaron como patógenos sobre plantas adultas de sandía en cultivo sin suelo y condiciones ensayadas. Resultados

similares fueron obtenidos en melón al intentar asociarlos con la muerte súbita de dicho cultivo (GÓMEZ, 1993).

AGRADECIMIENTOS

A Josefina Ros Orta por su imprescindible trabajo tanto en los experimentos de campo

como en los de laboratorio. Los estudios se han realizado fundamentalmente con financiación del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, otorgada al proyecto de investigación nº SC95-076, titulado: Enfermedades causadas por hongos de suelo en tomate, pepino y sandía sobre susstratos.

ABSTRACT

GUIRADO, M. L., E. SÁEZ, Y. SERRANO, J. GÓMEZ 2009. Aetiology watermelon "sudden death" of greenhouses in the southeast of Spain. *Bol. San. Veg. Plagas*, **35**: 617-628.

Watermelon is widely cultivated in Spain. In the southeast of the peninsula, in Almería, the "sudden death" began to observe the beginning of the 80s. More generalized symptoms characteristic of the disease are wilting and death, sudden mass of plants that are produced during ripening of fruits. The close association observed between diseased plants and detection of Melon Necrotic Spot Virus (MNSV) and the soil fungus *Olpidium bornovanus* reminded that the causal agent of the disease were the MNSV. Other fungi associated with diseased plants occasionally were: *Pythium aphanidermatum*, *Monosporascus cannonballus*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium irregulare* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. To study the aetiology of the "sudden death" were conducted three experiments of inoculation on soilless culture and greenhouse. *P. aphanidermatum*, *O. bornovanus* and *F. oxysporum* f. sp. *niveum* were pathogens. *P. aphanidermatum* always caused widespread necrosis of the root system and sometimes wilt plant death and harvest significant decreases. *O. bornovanus* caused necrosis in the root system, being associated in a variable percentage of MNSV plants. The pathogenicity of MNSV was associated with *O. bornovanus* more than two pathogens separately, causing hypocotyls necrosis, necrotic streaks on stems and petioles, necrosis of leaf veins, necrotic spots on leaves and wilting of the apex and subsequent death of the plants, thus reproducing the symptoms of "sudden death". Experiments also revealed MNSV conservation in the sporangia of resistance of *O. bornovanus*. The severity of disease caused by *F. oxysporum* f. sp. *niveum* was reduced, although the pathogen in soilless culture reproduced the typical symptoms of the disease.

Key words clave: *P. aphanidermatum*, *O. bornovanus*, MNSV, *F. oxysporum* f. sp. *niveum*.

REFERENCIAS

- ANÓNIMO. 2008. Anuario de Estadística. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- ANTIGNUS, Y., PEARLSMAN, M., LACHMAN, O., COHEN S. 1997. Molecular and biological characterization of Melon Necrotic Spot Virus (MNSV) infecting melon and watermelon in Israel. *Phytoparasitica*, **25**: 3.
- AVGELIS, A. 1985. Occurrence of melon necrotic spot virus in Crete (Greece). *Phytopath. Z.*, **114**: 365-372.
- BRUTON, B.D., DAVIS, R.M., GORDON, T.R. 1995a. Occurrence of *Acremonium* sp. and *Monosporascus cannonballus* in the major cantaloupe and watermelon growing areas of California. *Plant Disease*, **79**: 754.
- CAMPBELL, R. N., LECOQ, H., WIPF-SCHEIBEL, C., SIM, S. T. 1991. Transmission of cucumber leaf spot virus by *Olpidium radicale*. *Journal of General Virology*, **72**: 3115-3119.
- CAMPBELL, R.N., SIM, S.T. 1994. Host specificity and nomenclature of *Olpidium bornovanus* (= *Olpidium radicale*) and comparisons to *Olpidium brassicae*. *Canadian Journal of Botany*, **72**: 1136-1143.
- CAMPBELL, R., WIPF-SCHEIBEL C., LECOQ H. 1996. Vector-assisted seed transmission of melon necrotic spot virus in melon. *Phytopathology*, **86**: 1294-1298.
- CLARK, M. F., ADAMS, A. N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, **34**: 475-483.
- CUADRADO, I.M., GÓMEZ, J. 1984. Protección de cultivos en invernadero. En: Horticultura mediterránea

- de invernadero. Ed. López L. y Castillo J.E. 173-216.
- CUADRADO, I.M., GÓMEZ, J., MORENO, P. 1993. El virus de las manchas necróticas del melón (MNSV) en Almería. I. Importancia del MNSV como causa de la muerte súbita del melón. *Bol. San. Veg. Plagas*, **19** (1): 93-106.
- GÓMEZ, J., CUADRADO, I.M., JUAN, E. 1988. Muerte súbita del melón. *Poniente* **152**: 22-23.
- GÓMEZ, J., CUADRADO, I., VELASCO, V. 1993. El virus de las manchas necróticas del melón en Almería: II. Eficacia de la desinfección del suelo frente al MNSV. *Bol. San. Veg. Plagas*, **19** (2): 179-186.
- GÓMEZ, J. 1990. Presencia de *Olpidium brassicae* y *O. bornovanus* (Phycomycetes, Chytridiales) en Almería. Actas de Horticultura del III Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas.
- GÓMEZ, J. 1993. Enfermedades del melón en los cultivos "sin suelo" de la provincia de Almería". Comunicación I+D Agroalimentaria **3/93**. Ed. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y pesca. 64 pp.
- GÓMEZ, J. 2003. Enfermedades del melón y pepino en los cultivos sin suelo del sudeste andaluz. Tesis Doctoral. 253 pp.
- GONZÁLEZ, R., JIMÉNEZ, R., GÓMEZ, J., NOGALES, A. 1987. Incidence and distribution of fusarium wilts of melon and watermelon in Andalucía, southern Spain". Proceeding of 7 th. Congress of the Mediterranean Phytopathological Union. Septiembre de 1987. Granada (España).
- GONZÁLEZ, R., JIMÉNEZ, R.M., GÓMEZ, J. 1988. Incidencias y distribución de las fusariosis vasculares del melón y de la sandía en Andalucía. *Invest. Agr. Prod. Prot. veg.*, **3**: 377-392.
- GONZÁLEZ, R., MELERO, J.M., GÓMEZ, J., JIMÉNEZ, R.M. 1993. The effects of soil solarization and soil fumigation on fusarium wilt of watermelon grown in plastic houses in southeastern Spain. *Plant Pathology*, **42**: 858-864.
- HIBI, T., FURUKI, I. 1985. Melon Necrotic Spot Virus. AAB Descriptions of Plant Viruses N. 302.
- JORDÁ, C., FONT, M.I., MARTÍNEZ-CULEBRAS, P., TELLO, J. 2005. Viral etiology of diseases detected in elon in Guatemala. *Plant Dis.*, **89**: 338.
- KRIKUN, J. 1985. Observations on the distribution of *Monosporascus eutypoides* as related to soil temperature and fertigation. *Phytoparasitica*, **13**: 3-4.
- LOBO, M. 1990. Colapso del melón producido por hongos del género *Monosporascus*. *Bol. San. Veg. Plagas*, **16**: 701-707.
- LUIS, M. 1986. Virosis de cucurbitáceas. I Jornadas Nacionales de cultivos protegidos. Almería. 20 pp.
- LUIS, M. 1994. "Enfermedades producidas por virus". En: Enfermedades de las cucurbitáceas en España. Monografías de la Sociedad Española de Fitopatología nº 1. I.S.B.N.: 84-605-0858-7. (L) Editores J.R. Díaz Ruíz y J. García Jiménez. 73-108.
- MARTYN, R.D., BATTEN, J.S., PARK, Y.-J. MILLER, M. 1996. First report of *Monosporascus* root rot/vine decline of watermelon in Mexico. *Plant Dis.*, **80**: 1430.
- MARTYN, R. D., LOVIC, B. R., MADDOX, D. A., GERMASH, A., MILLER, M. E. 1994. First report of *Monosporascus* root rot/vine decline of watermelon in Tunisia. *Plant Dis.*, **78**: 1220.
- MARTYN, R.D., MILLER, M.E. 1996. *Monosporascus* root rot and vine decline: An emerging disease of melons worldwide. *Plant Dis.*, **80**: 716-725.
- PONCHET, J., RICCI, P., ANDREOLI, C., AUGÉ, G. 1972. Méthodes sélectives d'isolement de *Phytophthora nicotianae* f. sp. *parasitica* (DASTUR) WATERH á partir du sol. *Ann. Phytopathol.*, **4**: 97-108.
- RAPILLY, F. 1980. Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Annales des epiphyties*, **19** (Hors-série). 102 pp.
- SANJUAN, J.F. 2000. Análisis de la evolución de la superficie invernada en la provincia de Almería mediante teledetección de imágenes del satélite Landsat. Edita Fundación para la Investigación Agraria de la Provincia de Almería (FIAPA).
- SHERF, A.F., MACNAB, A.A. 1986. Vegetable diseases and their control. 2nd ed. John Wiley and Sons, New York. 726 pp.
- STAGHELLINI, M.E., KIM, D.H., RASMUNSEN, S.L. 1996. Ascospores of *Monosporascus cannonballus*: Germination and distribution in cultivated and desert soils in Arizona. *Phytopathology*, **86**: 509-514.
- TELLO, J. 1984. Enfermedades criptogámicas de las hortalizas. Comunicaciones I.N.I.A. Serie Protección Vegetal **22**: 342.
- TOMLINSON, J.A., THOMAS, B.J. 1986. Studies on melon necrotic spot virus disease of cucumber and on the control of the fungus vector (*Olpidium bornovanus*). *Ann. appl. Biol.*, **108**: 71-80.

(Recepción: 13 noviembre 2009)

(Aceptación: 18 diciembre 2009)