

El virus de las manchas necróticas del melón (MNSV) en Almería

II. Eficacia de la desinfección del suelo frente al MNSV

J. GÓMEZ, I. CUADRADO y V. VELASCO

En este artículo se da información sobre la eficacia de la desinfección del suelo para controlar el virus del cribado del melón (MNSV). La utilización de diferentes técnicas y fumigantes para eliminar al hongo *Ospidium radicale*, vector del MNSV, ha producido resultados diversos, que oscilan entre la notable acción del bromuro de metilo y el nulo efecto del metam-sodio, pasando por las efectividades intermedias de la solarización y del formol. Sin embargo ninguno de estos tratamientos ha tenido una proyección sobre la disminución de la gravedad de la enfermedad producida por el virus. Colateralmente, de los ensayos planteados para conseguir el objetivo esencial de este trabajo, se han deducido dos observaciones importantes: de un lado la presencia del hongo *O. radicale* en el suelo hasta profundidades no inferiores a 60 cm.; de otro, la manifestación sintomatológica de la virosis sobre melón cultivado en invernadero en Almería, consistente en la continua presencia de una necrosis superficial en la base del tallo y la, menos frecuente, exteriorización de estrías necróticas en los tallos de los hospedadores. Las manchas necróticas en las hojas apicales, que dieron su nombre al común de la enfermedad («cribado»), han sido infrecuentes.

J. GÓMEZ, I. CUADRADO y V. VELASCO. Centro de Investigación y Desarrollo Hortícola de La Mojonera (Almería).

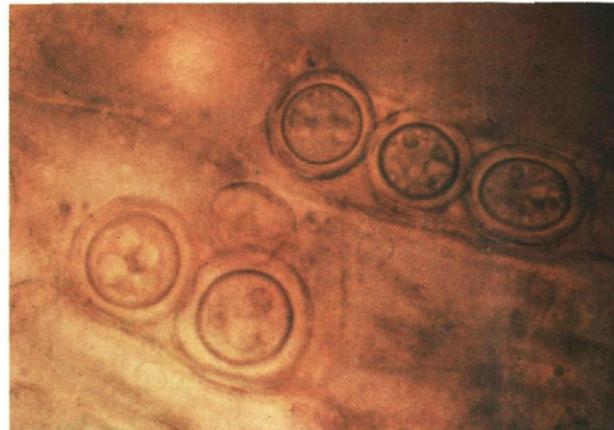
Palabras clave: virus, MNSV, desinfección del suelo, *Ospidium radicale*, sintomatología, melón.

INTRODUCCION

MNSV parece sobrevivir en las esporas de resistencia de *O. radicale* (Fig. 1) y éstas son capaces de conservarse en el suelo durante años (TOMLINSON Y THOMAS, 1986), a profundidades de al menos 40 cm. (GÓMEZ y VELASCO, 1991-1a). Por este motivo será necesario erradicar de un suelo contaminado este tipo de estructuras de conservación para prevenir la virosis en años posteriores.

El control de la enfermedad mediante desinfección del suelo con vapor de agua o bromuro de metilo ha producido resultados variables en otros países (AVGELIS, 1985; BOS *et al.*, 1984). En nuestras condiciones de cultivo el bromuro de metilo no ha sido

Fig. 1.—Esporas de resistencia de *Ospidium radicale*.



efectivo para reducir el número de plantas enfermas en plantaciones comerciales de melón. Sin embargo, esta aparente falta de efectividad podría estar interferida por la transmisión del hongo vector del MNSV mediante el agua de riego almacenada en embalses descubiertos (GÓMEZ Y VELASCO, 1991-1b), y/o por los sustratos utilizados para el crecimiento de plántulas en semilleros (GÓMEZ *et al.*, datos no publicados).

A partir de estos apuntes sobre la epidemiología del hongo, se planteó este trabajo con dos objetivos concretos: 1) evaluar la eficacia de las desinfecciones practicadas en Almería sobre *O. radiale*, midiendo expresamente su relación con la profundidad del suelo y 2) valorar la eficacia de las desinfecciones sobre la gravedad de la virosis en condiciones experimentales de invernadero.

MATERIAL Y METODOS

Las experiencias se realizaron durante los años 1988, 1989, 1990 y 1991, en un invernadero, situado en la finca del Centro de Investigación Hortícola de La Mojonera (Almería), uniformemente infectado de forma natural por *Ospidium radiale* y en el cual el número de plantas de melón enfermas por el virus del cribado había superado el 80 %.

El diseño estadístico utilizado fue de bloques al azar con tres repeticiones. La comparación de medias se hizo mediante el test t de Student. Los tratamientos ensayados durante los cuatro años de la experiencia fueron:

1988.—Bromuro de metilo a razón de 500 Kg/Ha, Solarización del suelo por un período de dos meses y testigo no tratado.

1989.—Metam-Na a razón de 1.200 Kg/Ha, Formol 40 % a razón de 3.000 l/Ha y testigo no tratado.

1990.—Bromuro de metilo a razón de 500 Kg/Ha, Metam-Na a razón de 1.200 Kg./Ha y testigo no tratado.

Los tratamientos de fumigación y solarización se efectuaron durante los meses de julio y agosto.



Fig. 2.—Aspecto de la experiencia realizada en el invernadero de ambiente controlado para valorar la eficacia de las desinfecciones sobre *O. radiale*.

a) Profundidad de conservación de *Ospidium radiale* en el suelo y efectividad de las desinfecciones.

Aproximadamente un mes después de practicadas las desinfecciones, se tomaron seis muestras de suelo por cada tratamiento, dos por repetición, a cada una de las siguientes profundidades: 10-20 cm, 20-30 cm, 30-40 cm, 40-50 cm, 50-60 cm y 60-70 cm. Las muestras fueron conservadas en el frigorífico por un tiempo que osciló entre los 10 y los 150 días. Posteriormente, de cada una se tomaron cinco submuestras de aproximadamente 20 gr. mezclándose con vermiculita o perlita en contenedores de plástico de 10 cm. de diámetro y de 1 litro de capacidad, esterilizados por inmersión en una solución al 10 % de formol (formaldehído del 40 p. 100), durante 72 horas. En ellas se sembraron semillas de melón cv. Galia (5 por profundidad, tratamiento y repetición). Se colocaron además, 30 macetas como testigos, es decir, sólo vermiculita sin aporte de suelo problema para asegurarnos de que el agua de riego no era fuente de inóculo, quince de las cuales se dispusieron intercaladamente entre las demás del experimento como indicadores de eventuales contaminaciones entre tratamientos.

Las macetas, se instalaron en un invernadero de ambiente semicontrolado (20-35° C) y fueron colocadas a un marco real de 40

cm. (Fig. 2). Las plantas se regaron diariamente con una solución nutritiva y semanalmente se podaron.

Al cabo de dos meses, del sistema radicular de cada muestra, una vez lavado abundantemente con agua del grifo, se seleccionaron diez pequeños trozos, de aproximadamente 1 mm de diámetro y 1 cm de largo para su observación al microscopio óptico con 250-400 aumentos. Posteriormente, todas las plantas se analizaron por la técnica serológica D.I.A. modificada (CUADRADO, I. M. y MORENO, P., 1987) utilizando un antisuero de MNSV cedido por A. AVGELIS.

b) Efectividad de las desinfecciones con respecto a la enfermedad.

Después de practicadas las desinfecciones del suelo del invernadero se realizaron cultivos de melón entutorado de los cvs. *Galia* y *Gallicum* durante el otoño de 1988 y las primaveras de 1989, 1990 y 1991.

El número de plantas de melón por parcela elemental fue de 66, a un marco de plantación de (1 x 0.5 m.). En el año 1988 y en

la primavera de 1989 se utilizaron plantas crecidas en semilleros sobre turba y vermiculita, respectivamente, y en los cultivos restantes se utilizó la siembra directa.

La gravedad de la virosis se valoró contabilizando a lo largo del cultivo las plantas muertas y con síntomas de MNSV. La valoración se completó con la producción de fruto, total y comercial, sobre el conjunto de las plantas que no murieron antes de la fructificación.

Al término del cultivo todas las plantas se analizaron por serología para MNSV.

RESULTADOS

Acción de la desinfección del suelo sobre *Ospidium radicale*

Los Cuadros 1 y 2 muestran los resultados globales de los experimentos planteados, cuya bondad queda corroborada por el hecho de que tanto los testigos como los tes-

Fig. 3.—Aspecto de la experiencia realizada en el invernadero.



Cuadro 1.—Presencia de *Olpidium radicale* en suelos desinfectados con diferentes técnicas. Se expresa en media de porcentaje de plantas colonizadas. Valores con la misma letra no son significativamente diferentes ($P = 0.5$) por el test t de Student.

Años	Tratamientos	Profundidades						Trat.	Prof.
		10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	60-70		
1988	Bloque 1	80.00	86.60	86.60	*	*	*	a	a
	Bloque 2	86.60	86.60	80.80	*	*	*	a	a
	Bloque 3	86.60	100.00	73.30	*	*	*	a	a
1988	Testigo	66.60	66.60	66.60	*	*	*	a	a
	Solarizac.	33.30	46.60	26.60	*	*	*	b	a
	Bromuro	6.60	6.60	0.00	*	*	*	c	a
1989	Testigo	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	a	a
	Metham-Na	86.60	93.30	100.00	86.60	100.00	60.00	a	a
	Formol	66.60	60.00	66.60	46.60	33.30	60.00	b	a
1990	Testigo	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	a	a
	Metham-Na	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	93.30	a	a
	Bromuro	0.00	0.00	6.60	0.0	0.0	6.60	b	a

* No se efectuaron análisis.

tigos intercalares estuvieron siempre exentos de *O. brassicae* y *radicale*.

En el Cuadro 1 puede apreciarse la uniforme distribución del hongo en todo el invernadero experimental utilizado. Distribución que no se limita a la superficie, sino que alcanza hasta el estrato más profundamente medido (30-40 cm) en los tres bloques diseñados.

Fig. 4.—Necrosis del cuello en planta de melón utilizada como «trampa» para la detección de *O. radicale*.



El rango de acción de los desinfectantes se encuentra entre la ausencia de efecto que puede atribuirse, sin lugar a dudas, a metam sodio y la máxima eficacia que corresponde a bromuro de metilo, cuya acción alcanza hasta el más profundo de los estratos analizados. Las posiciones intermedias estarían ocupadas por formol y por el tratamiento de solarización.

Los experimentos de 1989 y de 1990 nos da una información adicional desde el punto de vista epidemiológico: la presencia de *Olpidium radicale* en capas muy profundas del suelo del invernadero.

El Cuadro 2, pretende ser un complemento del Cuadro 1. En ella se presenta el análisis para el virus del cribado en las plantas de melón utilizadas como «trampa» para detectar la presencia de *O. radicale* en los suelos mencionados en el Cuadro 1. Aunque los resultados son erráticos y no puede excluirse la transmisión del MNSV por las semillas, evocan la posible transmisión del virus por el hongo y nos proporcionan una información adicional sobre la sintomatología de la virosis, ya que el único síntoma visible en las plantas enfermas fue una necrosis superficial en la base del tallo y cuello (Fig. 4).

Cuadro 2.—Valores analíticos para MNSV de las plantas de melón utilizadas como «trampa» para determinar la presencia de *O. radiale* en las muestras de suelo desinfectadas. Se expresa en medias del porcentaje de plantas con análisis positivo.

Años	Tratamientos	Profundidades					
		10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	60-70
1988	Bloque 1	0.0	0.0	0.0	*	*	*
	Bloque 2	33.30	33.30	13.30	*	*	*
	Bloque 3	26.60	20.00	20.00	*	*	*
1988	Testigo	0.0	0.0	0.0	*	*	*
	Solarización	0.0	0.0	0.0	*	*	*
	Bromuro	0.0	0.0	0.0	*	*	*
1989	Testigo	0.0	0.0	20.0	0.0	6.60	0.0
	Metham-Na	6.60	6.60	0.0	13.30	0.0	0.0
	Formol	0.0	6.60	0.0	6.60	26.60	0.0
1990	Testigo	53.30	60.00	40.00	33.30	46.60	53.30
	Metham-Na	53.30	40.00	46.60	40.00	40.00	33.30
	Bromuro	20.00	0.0	0.0	20.00	13.30	0.0

* No se efectuaron análisis.

Cuadro 3.—Valoración de la gravedad del MNSV. Las dos columnas centrales expresan el porcentaje de plantas muertas a lo largo del cultivo y el porcentaje de ellas que dieron una reacción serológica positiva al virus del cribado. La presencia del MNSV en el total de las plantas de los experimentos y la producción total (Kg/m²) completan los resultados. Valores con la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha = 0.5$) por el test t de Student.

Años	Tratamientos	% P. m.	% + MNSV	% + MNSVT	Prod. (Kg/m ²)
1988 Otoño	Testigo	24.52 a	82.68 a	55.78 a	0.0
	Solarización	15.26 ab	59.59 a	35.93 ab	0.0
	Bromuro	3.20 b	75.00 a	16.63 b	0.0
1989 Primavera	Testigo	17.09 a	100.0 a	98.66 a	0.0
	Solarización	23.61 a	100.0 a	100.00 a	0.0
	Bromuro	14.35 a	100.0 a	97.33 a	0.0
1990 Primavera	Testigo	27.30 a	94.30 a	89.10 a	5.52 a
	Metham-Na	30.40 a	98.30 a	93.90 a	5.90 a
	Formol	35.00 a	100.00 a	94.40 a	6.10 a
1991 Primavera	Testigo	40.52 a	79.12 a	77.41 a	2.73 a
	Metham-Na	17.77 b	54.27 a	79.68 a	2.65 a
	Bromuro	27.22 ab	67.23 a	77.07 a	3.07 a

Acción de la desinfección del suelo sobre la gravedad de la virosis producida por el MNSV

El Cuadro 3 muestra el efecto de los diferentes tratamientos de desinfección del suelo sobre la enfermedad. Si se exceptúa el culti-

vo de otoño del año 1988, donde la infección por el virus parece menor, el resto de los cultivos de primavera presentan un elevado porcentaje de enfermedad. En cualquiera de los casos, la disminución o casi eliminación de *Olpidium radiale* por los diferentes tratamientos de desinfección (Cuadro 1) no tiene

Cuadro 4.—Valoración de distintos síntomas del MNSV en melón: necrosis en la base del tallo, estrías en el tallo, cribado en las hojas apicales, plantas muertas sin síntomas, plantas con síntomas y plantas infectadas por *O. radiale*. Se expresa en porcentaje sobre el total de las plantas de los experimentos. Valores con la misma letra no son significativamente diferentes ($P = 0.5$) por el test t de Student.

Años	Tratamientos	Necrosis hipocotilo	Estrías	Cribado	Plantas Muertas sin Síntomas	Total Plantas con Síntomas	% Plantas <i>Olpidium</i>
1988 Otoño	Testigo	70.83 a	0.91 a	0.91 a	0.0 a	70.83 a	*
	Solarización	39.35 b	0.0 a	0.0 a	2.30 a	39.35 b	*
	Bromuro	39.81 b	0.0 a	0.0 a	0.91 a	39.81 b	*
1989 Primavera	Testigo	90.74 a	35.65 a	24.07 a	6.94 a	92.58 a	100.0 a
	Solarización	88.42 a	41.19 a	27.31 a	7.87 a	89.81 a	100.0 a
	Bromuro	89.81 a	43.05 a	29.63 a	4.63 a	91.66 a	100.0 a
1990 Primavera	Testigo	87.11 a	41.75 a	0.0	4.12 a	87.11 a	96.60 a
	Metham-Na	80.10 a	53.57 a	0.0	10.20 a	80.10 a	93.30 a
	Formol	84.77 a	47.20 a	0.0	5.07 a	84.77 a	100.0 a
1991 Primavera	Testigo	92.76 a	72.73 a	0.0	0.0	92.76 a	100.0 a
	Metham-Na	91.10 a	71.10 a	0.0	0.0	91.10 a	100.0 a
	Bromuro	91.60 a	74.98 a	0.0	0.0	91.60 a	93.30 a

* No se efectuaron análisis.

una réplica en la gravedad de la virosis. Gravedad que medida a través de la producción final de frutos —excepción hecha del cultivo de otoño de 1988 durante el cual el frío impidió la fructificación— tampoco aporta ningún dato que oriente los efectos de la desinfección, ya que ningún tratamiento ha elevado su valor de manera significativa comparativamente con los testigos. Las diferencias observadas entre las producciones del año 1989 con respecto a la de 1990 y 1991, fueron debidas principalmente a la precocidad y gravedad de la enfermedad.

El Cuadro 4 aporta una información adicional sobre la sintomatología de la virosis en los cultivos de invernadero. Sintomatología que podría resumirse:

Sobre las hojas más jóvenes se desarrollan manchas pequeñas, inicialmente cloróticas que posteriormente se necrosan. A la vez en el tallo se desarrollan estrías necróticas observables también en los peciolo. Sobre las hojas bajas y medias se pueden ver en algunos casos necrosis de los nervios de las hojas de extensión variable, que conocemos bajo el nombre de «enrejado». Asimismo, sobre la parte baja del tallo se observa una necrosis de color marrón claro que sólo afecta a la epider-

mis y es con mucha frecuencia el único síntoma de la enfermedad. Las plantas enfermas se marchitan, mueren o su crecimiento es detenido y las hojas formadas posteriormente son de pequeño tamaño, color verde oscuro, con o sin el síntoma del cribado.

Puede comprobarse cómo el síntoma que ha dado el nombre común a la enfermedad producida por el MNSV en Almería, Cribado, sólo se presentó durante el cultivo primaveral de 1989. Uniforme y continuo, por el contrario, ha sido el síntoma consistente en una necrosis superficial, de color crema o marrón claro, en la zona del hipocotilo de la planta. No desdeñables, en su intensidad y uniformidad, han sido las necrosis lineales o estrías en los tallos de las plantas virosadas. En el extremo de esta sintomatología se evidencia la posibilidad de que plantas infectadas pero sin exteriorizar síntoma alguno puedan morir súbitamente.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Una primera conclusión de este trabajo es una aportación concerniente a la presencia de *Olpidium radiale* en el suelo. El hongo

se ha aislado en capas profundas de hasta al menos, 60 cm. La aportación puede quedar completada añadiendo que parece existir una asociación entre la presencia del hongo y una podredumbre en la raíz, lo que podría suponer una exteriorización concreta de este complejo parasitario.

Los tratamientos biocidas al suelo han tenido una eficacia diferente, siendo bromuro de metilo el más energético para actuar sobre *O. radiale*, incluso en los estratos más profundos. Su actividad, sin embargo, no ha eliminado la presencia del hongo en el suelo, y no ha disminuido de forma significativa el porcentaje de plantas colonizadas por el hongo al final del cultivo.

Pese a la efectividad de algún tratamiento al terreno, la virosis producida por el MNSV –la denominación de virus del cribado parece poco apropiada en Almería a tenor de los resultados aquí presentados– ha sido muy importante en los 4 cultivos estudiados. La disminución de *O. radiale* en el suelo no asegura una disminución de la enfermedad, lo cual concuerda con las observaciones realizadas en invernaderos comerciales de Almería y con las realizadas por otros autores (AVGELIS, 1985). Sin excluir la transmisión del virus por semilla –hecho que no hemos podido comprobar con nuestros análisis– podría pensarse que el inóculo del hongo que queda en el suelo es la causa de la ineficacia de las desinfecciones para luchar contra la virosis. Sin embargo, el ensayo realizado durante el otoño de 1988 (Cuadro 3) muestra una cierta eficacia de los tratamientos biocidas para disminuir la severidad de la virosis. Dado

que estos resultados no fueron confirmados en los cultivos primaverales posteriores, cabe pensar que han sido las condiciones ambientales en el invernadero las que han podido actuar tanto sobre la multiplicación del hongo vector como sobre la velocidad de progresión del virus.

Finalmente, una aportación sobre la sintomatología del MNSV, que tiene un neto interés en la práctica diaria de los cultivos de la zona. El síntoma de cribado en las hojas ha sido eventual, mientras que la necrosis superficial de la base del tallo y cuello, seguido de las estrías necróticas de los tallos son los que parecen definir más frecuentemente la enfermedad, que puede estar presente en el hospedador sin manifestarse a simple vista.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se ha realizado dentro del proyecto de investigación regional «El injertado del melón y la desinfección del suelo como posibles métodos de control contra el virus del cribado (MNSV)», financiado por la Consejería de Agricultura y Pesca de La Junta de Andalucía.

Deseamos expresar nuestro agradecimiento al Dr. Avgelis (Plant Protection Institute, Heraklion, Crete, Greece) por la donación del suero del MNSV, a D. Matías García Lozano por su asistencia técnica en el manejo de los cultivos hidropónicos y al Dr. Javier Tello Marquina y D. Ramón Moreno Vázquez por su ayuda en la elaboración del manuscrito.

ABSTRACT

GÓMEZ J., I. CUADRADO Y V. VELASCO (1993). El virus de las manchas necróticas del melón (MNSV) en Almería. II. Eficacia de la desinfección del suelo frente al MNSV. *Bol. San. Veg. Plagas*, 19 (2): 179-186.

Several technics and soil desinfectant have been tested in order to eliminate *Oidium radicale*, MNSV vector, with different results. Methyl bromide gave the best ones and metham-Na the worst ones, between them we have solarization and formaldehyde.

However none of the treatments have reduced the severity of the disease caused by MNSV. Besides, this experiment demonstrates the presence of *Oidium radicale* in soil,

60 cm deep or more. Also, the MNSV symptoms in plastic house have been evaluated, quite often the only symptoms of the disease were necrotic streaks near the base of the stem. Rarely, necrotic spot on leaves were found.

Key words: melon, sudden death, symptomatology, virus, MNSV, *Olpidium radiale*, soil treatment.

REFERENCIAS

- AVGELIS, A. 1985: Occurrence of Melon Necrotic spot virus in Crete (Greece). *Phytopath. Z.*, **114**: 365-372.
- BOS, L.; VAN DORST, H. J. M.; HUTTINGA, H.; MAAT, D. Z., 1984: Further characterization of melon necrotic spot virus causing severe disease in glass-house cucumbers in the Netherlands and its control. *Neth. J. Pl. Path.*, **90**: 55-69.
- CUADRADO, I. M.; MORENO, P., 1987: Detection of viruses by dot immunobinding assay in cucurbit plants grown under plastic cover in Almeria (Spain). *Proc. 7th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*. Granada (Spain), 158.
- GÓMEZ, J.; J. VELASCO, V., 1991a: Profundidad de conservación de *Olpidium radiale* en suelo. *Estudios de Fitopatología de la S. E. F.*: 244-248.
- GÓMEZ, J.; J. VELASCO, V., 1991b: Presencia de *Olpidium radiale* en los embalses para riego en Almería. *Phytoma España*, **33**: 23-27.
- 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 radiale*). *Ann. appl. Biol.* **108**: 71-80.

(Aceptado para su publicación: 16 septiembre 1992)