

Patogénesis y especificidad parasitaria de aislados españoles de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*

M. PÉREZ VARGAS, M. A. AÑAÑOS BEDRIÑANA, M. DE CARA GARCÍA, M. SANTOS HERNÁNDEZ, J. C. TELLO MARQUINA

En este trabajo se presenta un pormenorizado estudio sobre la patogenicidad de 6 aislados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*, tres obtenidos en Almería y tres procedentes de la isla de Creta (Grecia). El estudio de la especificidad parasitaria sobre cuatro especies de cucurbitáceas y un híbrido comercial de calabaza (*Cucurbita pepo* x *C. moschata*) y sobre ocho especies de diferentes familias botánicas (perejil, zanahoria, judía, remolacha, col china, berenjena, tomate, pimiento) puso de manifiesto que los 6 aislados de *F. oxysporum* fueron patógenos sobre tres de las especies de cucurbitáceas pero no expresó síntomas alguno sobre calabacín, sobre el híbrido de calabaza y el resto de especies diferentes de las cucurbitáceas. La secuencia de síntomas en las inoculaciones puso en evidencia que mayoritariamente se expresó la podredumbre del sistema radicular y del cuello de las plantas. Sin embargo, la necrosis del xilema fue un síntoma que se encontró de manera minoritaria. Los resultados mostraron un efecto marcado de los aislados sobre la disminución de emergencia en plantas de sandía. Las inoculaciones realizadas a 17°C y 25°C, permitieron conocer que a 17°C la expresión de la severidad de la enfermedad era ligeramente superior a la obtenida a 25°C.

M. PÉREZ VARGAS, M. A. AÑAÑOS BEDRIÑANA, M. DE CARA GARCÍA, M. SANTOS HERNÁNDEZ, J. C. TELLO MARQUINA. Dto. de Producción Vegetal. Universidad de Almería. Cañada de San Urbano s/n. 04120 Almería. jtello@ual.es

Palabras clave: Melón, pepino síndrome, fusariosis, podredumbre del cuello y de las raíces, invernadero.

INTRODUCCIÓN

La superficie dedicada al cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.) en Almería, ronda desde hace años las 4.000 ha (Instituto de Estudios Cajamar, 2006), situándose en el sexto lugar entre los cultivos bajo invernadero de la provincia. Durante la campaña 2004-2005 la exportación de pepino fue de 297.202 t, con un rendimiento medio de 80.000 kg·ha⁻¹. El valor de las ventas durante la mencionada campaña fue del orden de 165 millones de € (COEXPAL-FAECA,

2006). Las variedades cultivadas dominantes son las de pepino largo, tipo holandés o, también conocidas, como tipo Almería.

MORENO *et al.*, (2000) reportaron la presencia de *Fusarium oxysporum* Schlechtend: Fr f. sp. *radicis-cucumerinum* D.J. Vakalounakis en España, trabajando con aislados obtenidos de plantas enfermas de pepino cultivado en invernadero en cultivo sin suelo. Casi al mismo tiempo, la presencia del hongo fue detectada en plantas enfermas de pepino en Almería (BLANCO *et al.*, 2000). El estudio de los aislados permitió comunicar la

enfermedad a la opinión internacional interesada (MORENO *et al.*, 2001). Sin embargo, las publicaciones citadas eran demasiado breves, razón por la cual parece pertinente la publicación más detallada de aquellos datos, y de otros posteriores no recogidos en las mencionadas comunicaciones.

La micosis conocida como podredumbre de las raíces y del tallo (“Root and stem rot”) causada por *F. oxysporum* f. sp. *radiciscucumerinum* fue descrita por primera vez en la isla de Creta por VAKALOUNAKIS (1996). Posteriormente, y de manera muy próxima en el tiempo, fue descrita en otras partes del mundo: en Canadá (PUNJA *et al.*, 1998), aunque en este caso el patógeno fue denominado *F. oxysporum* f. sp. *radiciscucurbitacearum*. Una denominación propuesta con anterioridad por GERLACH y BLOCK (1988) fue la de *F. oxysporum* f. sp. *cucurbitacearum* para aislados de Holanda. Posteriormente, en Canadá, CERKAUKAS *et al.* (2001) lo describieron como *F. oxysporum* f. sp. *radiciscucumerinum*. Ha sido citado, también, en Australia (TESORIERO, 2003), Francia (REVERCHON *et al.*, 2003) y China (VAKALOUNAKIS *et al.*, 2004) que lo encontraron minoritariamente entre aislados de *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*.

Se añade de esta manera una nueva habilidad parasitaria a la larga lista de las formas vasculares de *Fusarium oxysporum*, como ya ocurrió para el caso del tomate cuando se describió *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (TELLO MARQUINA y LACASA PLASENCIA, 1998).

El síndrome de la micosis en el que coinciden todos los autores citados es el siguiente: los primeros síntomas se pueden observar ocasionalmente sobre plantas de un mes, que desarrollan una podredumbre del cuello de color ámbar que se extiende, posteriormente, a todo el hipocotilo sobre el que se instala un micelio blanco. La podredumbre puede alcanzar a la raíz principal y a las secundarias. Las plantas retrasan su crecimiento, incluso pueden marchitarse repentinamente antes de observar la podredumbre del cuello. Sin embargo, es cuando las plantas alcanzan

el tamaño adecuado para la poda y destalle y se forman los primeros frutos cuando se presentan los síntomas más generalizados. Las plantas manifiestan, entonces, un lento marchitamiento, acompañado de una amarillez foliar progresiva. La marchitez puede ser reversible en sus primeras exteriorizaciones, aunque acaba haciéndose permanente. Estos síntomas se acompañan de un podredumbre del cortex unilateral que conforma un chancro que alcanza hasta 40cm de altura al igual que la necrosis xilemática puede observarse a lo largo de todo el tallo. Las raíces primarias, secundarias y terciarias presentan podredumbres marrones. Es frecuente observar la presencia de grietas necróticas húmedas aisladas en las caras del tallo, alcanzando longitudes de 15cm o más, sobre las que se desarrolla un micelio blanco que con una alta humedad ambiental se cubre de llamativos esporodocios de *F. oxysporum* de color rosa asalmonado.

VAKALOUNAKIS (1996) observó que los síntomas de esta enfermedad eran muy similares a los causados por *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, aunque persistía en sus descripciones una característica podredumbre del tallo y de las raíces que no expresaba la forma vascular del hongo.

Los datos recopilados en la única explotación agrícola (10 ha invernadas) de Almería, situada en el término municipal de El Ejido, donde los efectos de la micosis han sido calificados como graves, permiten especular sobre su aparición en el año 1999. El cultivo se realizaba en sacos de perlita y el cultivar en toda la finca era cv Borja. Las evaluaciones realizadas durante la campaña 2003-2004 fueron del 23,21% de plantas enfermas y/o muertas durante el cultivo de otoño de 2003 y del 49,39% en el cultivo de primavera de 2004. (Fig. 1, 2, 3, 4) como puso en evidencia AÑAÑOS BEDRIÑANA (2006).

El objetivo de este trabajo es estudiar una forma especializada de *F. oxysporum* y dado, además, la proximidad de esta especialización a *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* se seguirá el modelo de estudio basado en evaluar el parasitismo sobre: a) 4 especies de cucurbitá-



Figura 1: Muerte de plantas de pepino a causa de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* en los invernaderos de el Ejido (Almería).

ceas y un híbrido de calabaza y b) 8 especies de familias botánicas diferentes entre si y, a su vez, diferentes de la familia *Cucurbitaceae*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Evaluación de la especificidad parasitaria y expresión del síndrome en cucurbitáceas.

Aislados de F. oxysporum y especies vegetales inoculadas

Las 6 cepas estudiadas y su origen se recogen en el Cuadro 1.

Técnicas de inoculación utilizadas y mantenimiento de las plantas

La preparación del inóculo de cada aislado se hizo siguiendo las indicaciones de

TELLO *et al.* (1991). En esencia, los aislados crecieron en las condiciones del laboratorio hasta alcanzar el borde de la placa de Petri de 9cm de diámetro con 15 ml de PDA. El contenido de la placa se trituró en 100 ml de agua destilada estéril que se enrasaron, posteriormente, hasta 200 ml (10^{-3} - 10^4 propágulos-ml⁻¹) y se añadió al sustrato de cada maceta de 1 l de capacidad con 5 plantas. El sustrato utilizado fue vermiculita desinfectada en autoclave durante 1h a 120°C. El mantenimiento de las plantas se hizo en cámara climatizada con 12.000 lux de luminosidad y un fotoperiodo de 16h de luz al día. El régimen de temperaturas fue regulado especialmente a 17 y 25°C (Figuras 5 y 6), según los ensayos que se detallan más adelante. La razón no fue otra que la sugerencia de VAKALOUNAKIS (1996), según la cual, la expresión



Figura 2: Podredumbre del cuello y raíz causada por *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* (El Ejido, Almería).



Figura 3: Necrosis del xilema en un corte transversal del tallo de plantas afectadas por *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* (El Ejido, Almería).



Figura 4: Esporodocios de color rosa-anaranjado de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* en el tallo de una planta enferma (El Ejido, Almería).

de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* ocurre a temperaturas más bajas que la de *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, como se desprende del cuadro 3.

Los ensayos de patogenicidad realizados fueron los siguientes: para cada temperatura de la cámara climatizada (17 y 25°C) se inocularon plantas con 1 hoja verdadera bien desarrollada y en semillas en el momento de la siembra, sin pregerminación. Las semillas fueron tratadas, previamente, con lejía comercial (30-40g de Cl₂ activo por l) durante 15 minutos y posterior aclarado con agua del grifo, dado que eran susceptibles de transmitir *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (JENKINS y WEHNER, 1983; TAKEUCHI *et al.*, 1978) y otras formas especializadas de *F. oxysporum* que afectan a las cucurbitáceas utilizadas (GÓMEZ VÁZQUEZ y TELLO MARQUINA, 2000).

Por cada aislado y especie vegetal, se hicieron en todos los ensayos 3 repeticiones, siendo la unidad experimental una maceta de

1l de capacidad con 5 plantas o 5 semillas según tipo de ensayo.

Evaluación de la especificidad parasitaria en 8 especies vegetales diferentes de las cucurbitáceas

Para ampliar el conocimiento sobre la especificidad parasitaria de los aislados señalados en el Cuadro 1, fueron inoculados en 8 especies de hortalizas de diferentes especies, cuyo detalle se recoge en el cuadro 4, tomando como testigo positivo plantas de pepino y de melón y como testigos sin inocular tantos como especies vegetales se inocularon.

Se hicieron dos repeticiones por aislado del hongo y por especie vegetal inoculada, de manera que la unidad experimental estuvo formada por 1 maceta de 1l con 5 plantas. El estado fenológico de las plantas en el momento de inocular se recoge en el Cuadro 5

La producción y preparación del inóculo, el sustrato utilizado, la desinfección de las semillas, el mantenimiento de las plantas se hicieron tal y como se indicó en un apartado anterior. En este caso la temperatura de la cámara se mantuvo a 25°C.

Evaluación del síndrome de la enfermedad.

La evaluación de los síntomas se hizo atendiendo a: plantas muertas, plantas con podredumbre radicular, plantas con podredumbre del cuello y plantas con necrosis del xilema. Las lecturas se hicieron con una periodicidad semanal. Los análisis de reisolamiento del patógeno al final del ensayo se hicieron de cada uno de los síntomas evaluados Figura 7.

Diseño experimental

El tipo de diseño fue bloques al azar (PETERSEN, 1994). El procesamiento de los datos se hizo con el programa estadístico Statgraphis Plus (versión 4.1) y Microsoft Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para darle una mayor facilidad de lectura al trabajo, en este apartado se sigue el

Cuadro 1. Aislados utilizados en la inoculación de plantas de la familia *Cucurbitaceae*.

CÓDIGO DE LOS AISLADOS	FORMA ESPECIALIZADA	PROCEDECENCIA
FOC A	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-cucumerinum</i>	Creta
FOC B	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-cucumerinum</i>	Creta
F. FORC	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-cucumerinum</i>	Creta
J.FOR1	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-cucumerinum</i>	Almería
J.FOR2	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-cucumerinum</i>	Almería
J.FOR3	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-cucumerinum</i>	Almería

Cuadro 2. Especies vegetales de la familia cucurbitáceas utilizadas en el experimento.

ESPECIE VEGETAL	VARIEDAD O CULTIVAR
<i>Cucumis sativus</i>	<i>Cerrucho</i>
<i>Cucumis melo</i>	<i>Gallicum</i>
<i>Citrullus lanatus</i>	<i>Dulzura</i> RZ F ₁
<i>Cucurbita pepo</i>	<i>Afrodite</i>
<i>Cucurbita máxima x Cucurbita moschata</i>	Portainjerto: RS 841

Cuadro 3: Efecto de la temperatura en el desarrollo de la enfermedad en cámara de crecimiento sobre un cultivar de pepino susceptible a ambas formas especializadas (*Forc*= *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*, *Foc*= *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*) (VAKALOUNAKIS, 1996).

Días de observación tras la inoculación	Nº de plantas muertas de un cultivar susceptible a ambas formas especializadas. 15 plantas/tratamiento, inoculadas artificialmente por el método de siembra en sustrato infectado							
	17 °C		23 °C		29 °C		35 °C	
	<i>Forc</i>	<i>Foc</i>	<i>Forc</i>	<i>Foc</i>	<i>Forc</i>	<i>Foc</i>	<i>Forc</i>	<i>Foc</i>
20	3	0	6	0	0	15	0	4
30	15	0	10	7	0	15	0	7
40	15	0	10	15	0	15	0	11

Cuadro 4. Especies vegetales utilizadas en el estudio de la especificidad parasitaria de las cepas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*.

ESPECIE VEGETAL	VARIEDAD	FAMILIA
<i>Cucumis sativus</i> L	<i>Marketmore 76</i>	CUCURBITÁCEAS
<i>Cucumis melo</i> L	<i>Piñonet piel de sapo</i>	CUCURBITÁCEAS
<i>Lycopersicon esculentum</i> L	<i>Marmande cuarenteno</i>	SOLANÁCEAS
<i>Solanum melongena</i> L	<i>Bonica F₁</i>	SOLANÁCEAS
<i>Capsicum annum</i> L	<i>Veltor F₁</i>	SOLANÁCEAS
<i>Phaseolus vulgaris</i> L	<i>BBL-274</i>	LEGUMINOSAS
<i>Daucus carota</i> L	<i>Nantes 2 selección Forto</i>	UMBELÍFERAS
<i>Beta vulgaris</i> L spp <i>conditiva</i> Aff	<i>Pacemarket III F₁</i>	CHENOPODIÁCEAS
<i>Petroselinum sativum</i> Hoffm spp. <i>crispum</i> Miller	<i>Doble rizado</i>	UMBELÍFERAS
<i>Brassica campestris</i> spp <i>pekinensis</i> L.	<i>Kasumi F₁</i>	CRUCÍFERAS

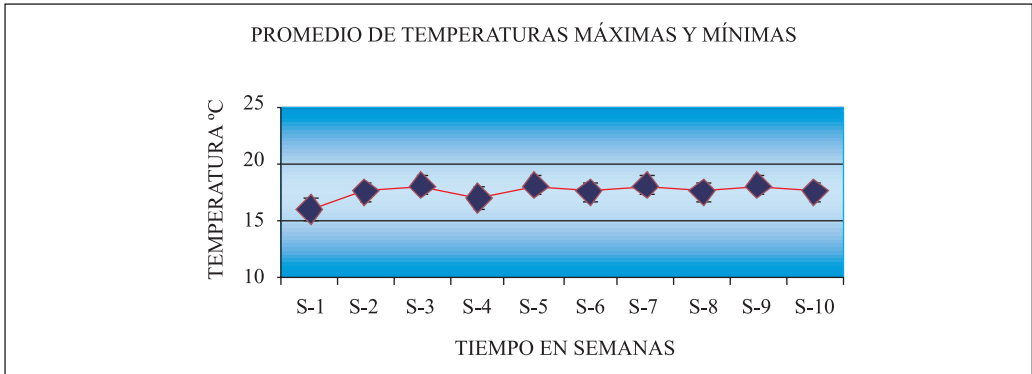


Figura 5. Promedio de temperaturas máximas y mínimas en °C cuando se hicieron las inoculaciones a temperatura de 17°C.

mismo orden del apartado de materiales y métodos.

Evaluación de la especificidad parasitaria y expresión del síndrome en cucurbitáceas.

Experimento a temperatura ambiente de 17°C

En este experimento se inocularon en un caso plantas con una hoja verdadera bien formada y en otro caso se procedió a la inoculación en el momento de la siembra de las semillas de cada especie e híbrido inoculados.

Evaluación de la patogenicidad en plantas inoculadas en el estado de una hoja verdadera desarrollada.

Los resultados globales se resumen en el Cuadro 6, donde los testigos sin inocular no se muestran por no haber exteriorizado ningún síntoma.

Los resultados ponen en evidencia que todas las cepas del hongo inoculadas fueron patógenas sobre pepino, melón y sandía pero no ocasionaron ningún síntoma sobre calabacín y el híbrido de calabaza. La secuencia de la manifestación de síntomas, para todas las especies susceptibles fueron: marchitamiento de las plantas con una epinastia marcada, a veces acompañada de amarillez foliar y posterior desecación del limbo (Figura 8).

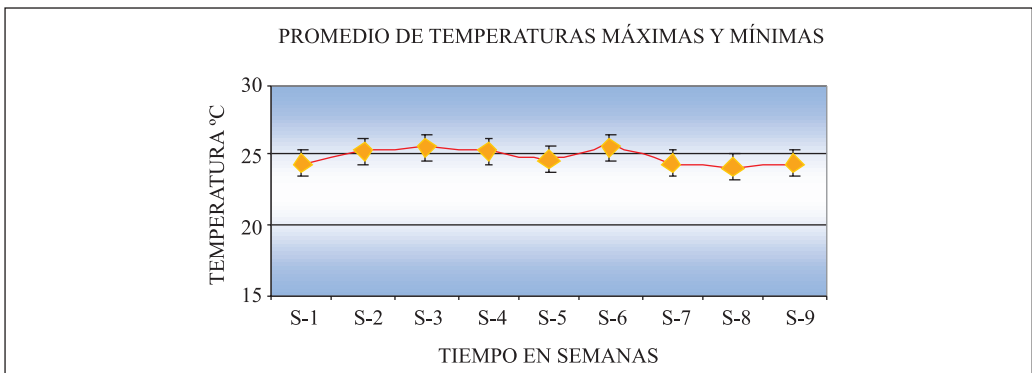


Figura 6. Valor medio de las temperaturas en °C cuando se hicieron las inoculaciones a temperatura de 25°C.



Figura 7. Melón inoculado con *F. oxysporum* (cepa FOC A); los trozos se siembran en PDA siguiendo el mismo orden desde la base hasta la parte apical del tallo. Obsérvese las necrosis de los haces xilemáticos y la podredumbre del cuello y de la raíz.

La parte que más precozmente es afectada y con mayor intensidad es la raíz principal (Figura 9) y las raíces secundarias.

Posteriormente se pudre el cuello que en numerosas ocasiones se cubre de un micelio blanco de *Fusarium oxysporum* que llega a tomar tonos anaranjados cuando envejece. Figura 10

Con menor frecuencia se producen necrosis del xilema sin que el hongo haya podrido el tallo, aunque sí el sistema radicular. Al final las plantas mueren en un periodo inferior a 35 días. La frecuencia de la necrosis vascular merece una atención especial puesto que existe una forma patogénica vascular (*F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*). En la Figura 11 se muestran las curvas de progresión de la enfermedad y la agrupación de las plantas enfermas según la sintomatología observada.

Podrá comprobarse como el síntoma necrosis vascular o del xilema es significativamente menor que las podredumbres del cuello y de la raíz.

Evaluación de la patogenicidad en plantas cuando la inoculación se hizo en el momento de la siembra

Los resultados para la emergencia de plantas se recogen en el Cuadro 7 para cada aislado y especies e híbrido inoculados y en la Figura 12 para todos los aislados.



Figura 8. Epinastia y clorosis en melón inoculado con *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*.

Cuadro 5. Estado fenológico de las plantas antes de la inoculación para cada aislado de *F. oxysporum*.

	FOC A	FOC B	F.FORC	J.FORC 1	J.FORC 2	J.FORC 3	CONTROL
MELÓN	1	1	1	1	1	1	1
PEPINO	1	1	1	1	1	1	1
TOMATE	2	2	2	2	2	2	2
PIMIENTO	2	2	2	2	2	2	2
BERENJENA	2	2	2	2	2	2	2
JUDIA	2-3	2-3	2-3	2-3	2-3	2-3	2-3
COL CHINA	1	1	1	1	1	1	1
REMOLACHA	2	2	2	2	2	2	2
PEREJIL	2	2	2	2	2	2	2
ZANAHORIA	2	2	2	2	2	2	2

Lectura: 1 = una hoja verdadera, 2 = dos hojas verdaderas, 3 = tres hojas verdaderas.

Cuadro 6. Porcentajes medios de muerte de plantas inoculadas con 6 Cepas de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*, en especies de cucurbitáceas. Inoculación mantenida a 17°C.

AISLADOS	PEPINO	MELON	SANDÍA	HÍBRIDO	CALABACÍN
FOC A	100 a	100 a	100 a	0 a	0 a
FOC B	93,3 a	100 a	93,3 a	0 a	0 a
F.FORC	93,3 a	100 a	100 a	0 a	0 a
J.FORC1	100 a	100 a	100 a	0 a	0 a
J.FORC2	100 a	100 a	100 a	0 a	0 a
J.FORC3	93,3 a	100 a	100 a	0 a	0 a

Los valores (media ± desviación típica) seguidos de la misma letra dentro de una misma columna no difieren significativamente ($p < 0,05$). Análisis de varianza seguido del Test de Student-Newman-Keuls para los grupos homogéneos.

Podrá comprobarse como todos los aislados afectaron significativamente a la emergencia de la sandía, pero no a las otras especies y al híbrido.

Las curvas de progresión de la enfermedad para cada hospedador y para la agrupación de síntomas queda resumido en la Figura 13.

Experimento a temperatura ambiente de 25°C

Evaluación de la patogenicidad en plantas inoculadas en el estado de una hoja verdadera desarrollada

Los resultados globales se presentan en el Cuadro 8. Se han omitido los testigos por no haber exteriorizado las plantas ningún síntoma de enfermedad.

Los resultados ponen en evidencia que la expresión de la enfermedad es comparable a los obtenidos a 17°C. La secuencia de síntomas no difirió de la presentada para la mencionada temperatura. La frecuencia de cada síntoma evaluado se resumen en la Figura 14.

De nuevo los síntomas menos frecuentes son los que corresponden a la necrosis del xilema.

Evaluación de la patogenicidad en plantas cuando la inoculación se hizo en el momento de la siembra

Los resultados para la emergencia de las plantas se recogen en el Cuadro 9.

De nuevo se constata como ocurrió a 17°C el efecto de los aislados sobre la sandía, pero no para el resto de las especies. Así queda de manifiesto, estadísticamente, en el Cuadro 10.



Figura 9. Podredumbre radicular en plantas de pepino inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*.



Figura 10. Micelio blanquecino de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* en plantas de pepino inoculadas

La comparación mediante rangos múltiples pone en evidencia que la emergencia de sandía es significativamente menor que la de pepino, melón, calabacín y el híbrido (Cuadro 10).

Los resultados atendiendo a la agrupación de síntomas se recogen en los Cuadros 11, 12 Y 13.

En todos los casos, se reproducen resultados comparables a los obtenidos a 17°C.

Una comparación entre los experimentos a 25°C y 17°C, teniendo en cuenta la patogenicidad de los aislados, la especie vegetal sensible y el porcentaje de plantas muertas, puso en evidencia: 1) Qué la sandía y el melón resultaron más susceptibles a los aislados del hongo estudiados (Figura 15). 2) Cuando la inoculación se realiza en el momento de la siembra, la expresión de la enfermedad es ligeramente menor (Figura 16). 3) La mayor expresión de la enfermedad ocurre al mantener la temperatura a 17°C (Figura 17)

Evaluación de la especificidad parasitaria en 8 especies vegetales diferentes de las cucurbitáceas.

En este ensayo se utilizaron tomate, berenjena, pimiento, judía, zanahoria, perejil y col china. Como testigos positivos se utilizaron pepino y melón. Todas las especies fueron inoculadas con los seis aislados de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*.

Los resultados se presentan en la Figura 18, donde puede comprobarse como sólo se enfermaron el melón y el pepino, mientras que el resto de especies no exteriorizaron ningún síntoma.

Los resultados presentados ponen en evidencia que las cepas de *F. oxysporum* estudiadas podrían asignarse, por los síntomas que han expresado a *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*, coincidiendo con los descritos por VAKALOUNAKIS (1996), VAKALOUNAKIS y FRAGKIADAKIS (1999), VAKALOUNAKIS *et al.* (2004, 2005), PUNJA *et al.* (1998) y PUNJA y PARKER (2000). Y, además, reprodujeron los síntomas observados en el campo. Un síntoma importante para poder separar a *F. oxysporum*

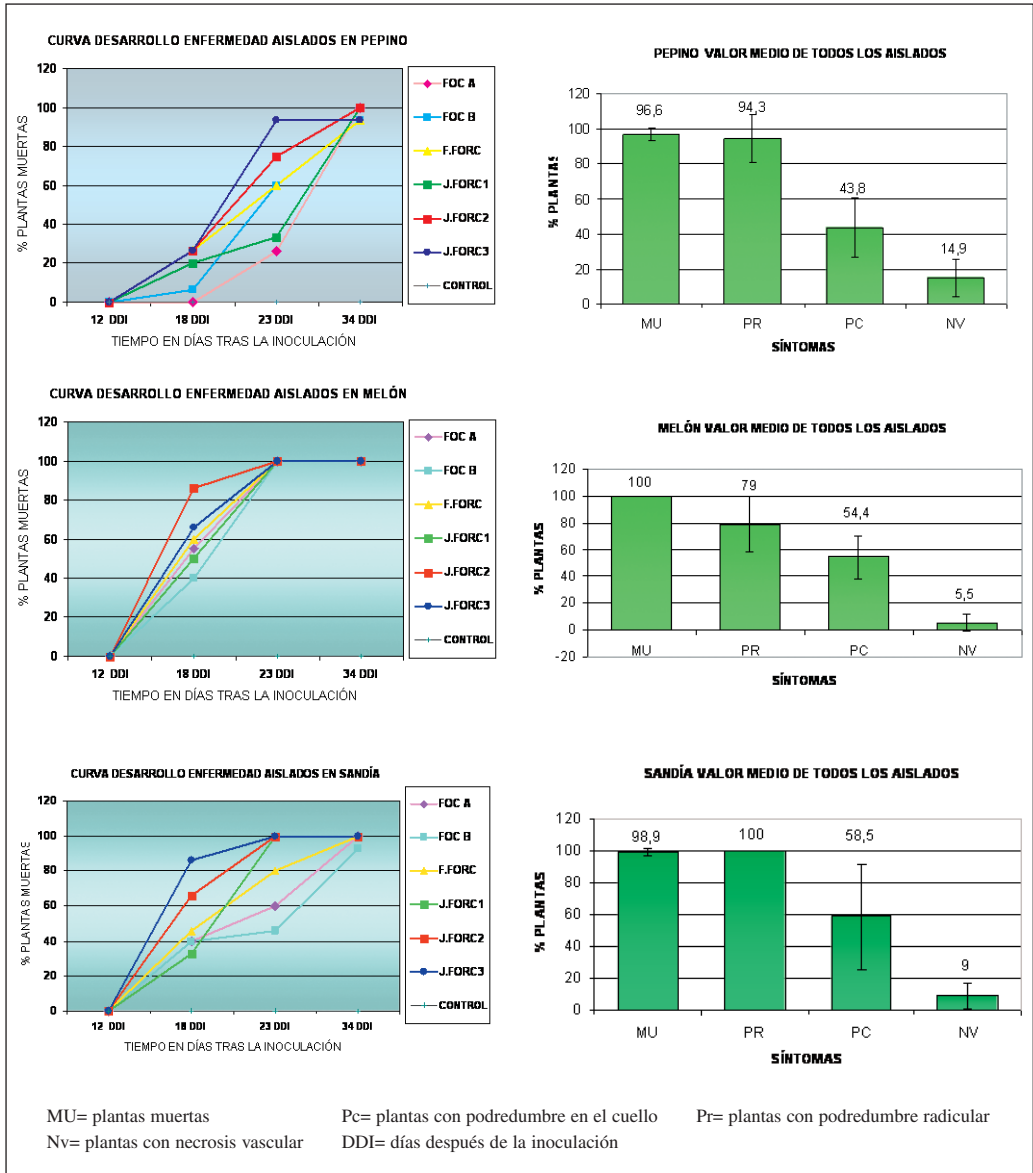


Figura 11. Curvas de progresión de la enfermedad en plantas inoculadas (1 hoja verdadera) con *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* y valoración de los síntomas observados (ensayos a 17°C)

f sp. *cucurbitacearum* de *F. oxysporum* f sp. *radicis-cucumerinum* es la invasión del xilema por el hongo, que es casi preceptivo para la primera forma especializada. En los experimentos presentados no fue, ni mucho menos,

la necrosis xilemática el síntoma más frecuente y nunca se presentó independiente de la podredumbre del hipocotilo.

Las inoculaciones han puesto de manifiesto que las especies vegetales no pertenecien-

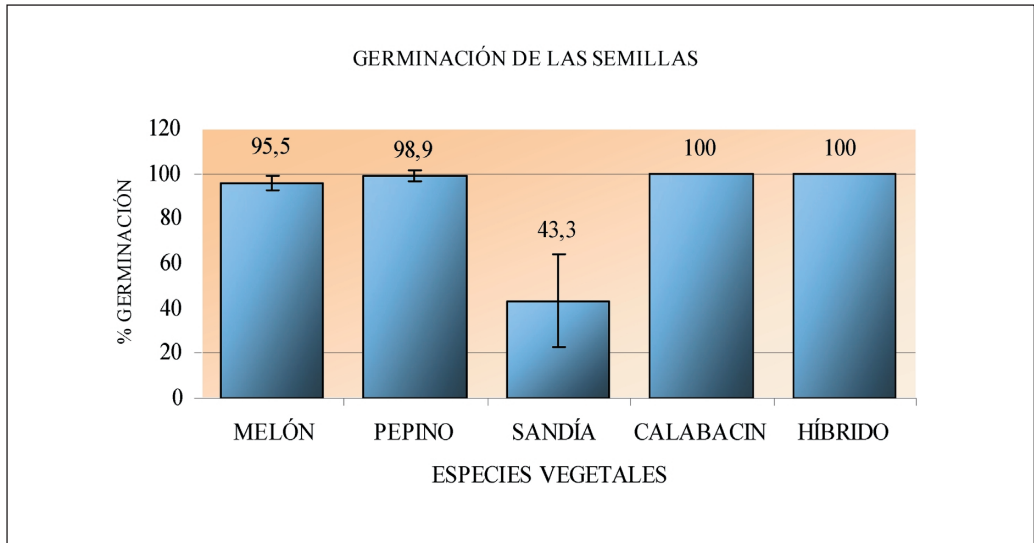


Figura 12. Valores medios de emergencia de plántulas para todos los aislados. Ensayo a 17°C.

Cuadro 7: Porcentaje de emergencia de plantas en 4 especies y 1 híbrido de cucurbitáceas. Inoculación realizada en el momento de la siembra. Ensayo a 17°C.

	MELÓN	PEPINO	SANDÍA	CALABACIN	HÍBRIDO
FOC A	100 a	100 a	80 a	100 a	100 a
FOC B	93,3 a	100 a	33,3 bc	100 a	100 a
EFORC	100 a	93,3 a	46,6 b	100 a	100 a
J.FORC1	93,3 a	100 a	46,6 b	100 a	100 a
J.FORC2	93,3 a	100 a	20 c	100 a	100 a
J.FORC3	93,3 a	100 a	33,3 bc	100 a	100 a
Control	95,0 a	100 a	85 a	100 a	100 a

Los valores (media \pm desviación típica) seguidos de la misma letra dentro de una misma columna no difieren significativamente ($p < 0,05$). Análisis de varianza seguido del Test de Student-Newman-Keuls para los grupos homogéneos.

Cuadro 8. Porcentajes medios de muerte de plantas inoculadas con 6 cepas de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* en especies de cucurbitáceas (ensayo a 25°C).

	PEPINO	MELON	SANDÍA	CALABACIN	HÍBRIDO
FOC A	73,3 a	100 a	93,3 a	0 a	0 a
FOC B	80 a	100 a	100 a	0 a	0 a
EFORC	86,7 a	100 a	100 a	0 a	0 a
J.FORC1	80 a	100 a	93,3 a	0 a	0 a
J.FORC2	93,3 a	100 a	100 a	0 a	0 a
J.FORC3	100 a	100 a	100 a	0 a	0 a

Los valores (media \pm desviación típica) seguidos de la misma letra dentro de una misma columna no difieren significativamente ($p < 0,05$). Análisis de varianza seguido del Test de Student-Newman-Keuls para los grupos homogéneos.

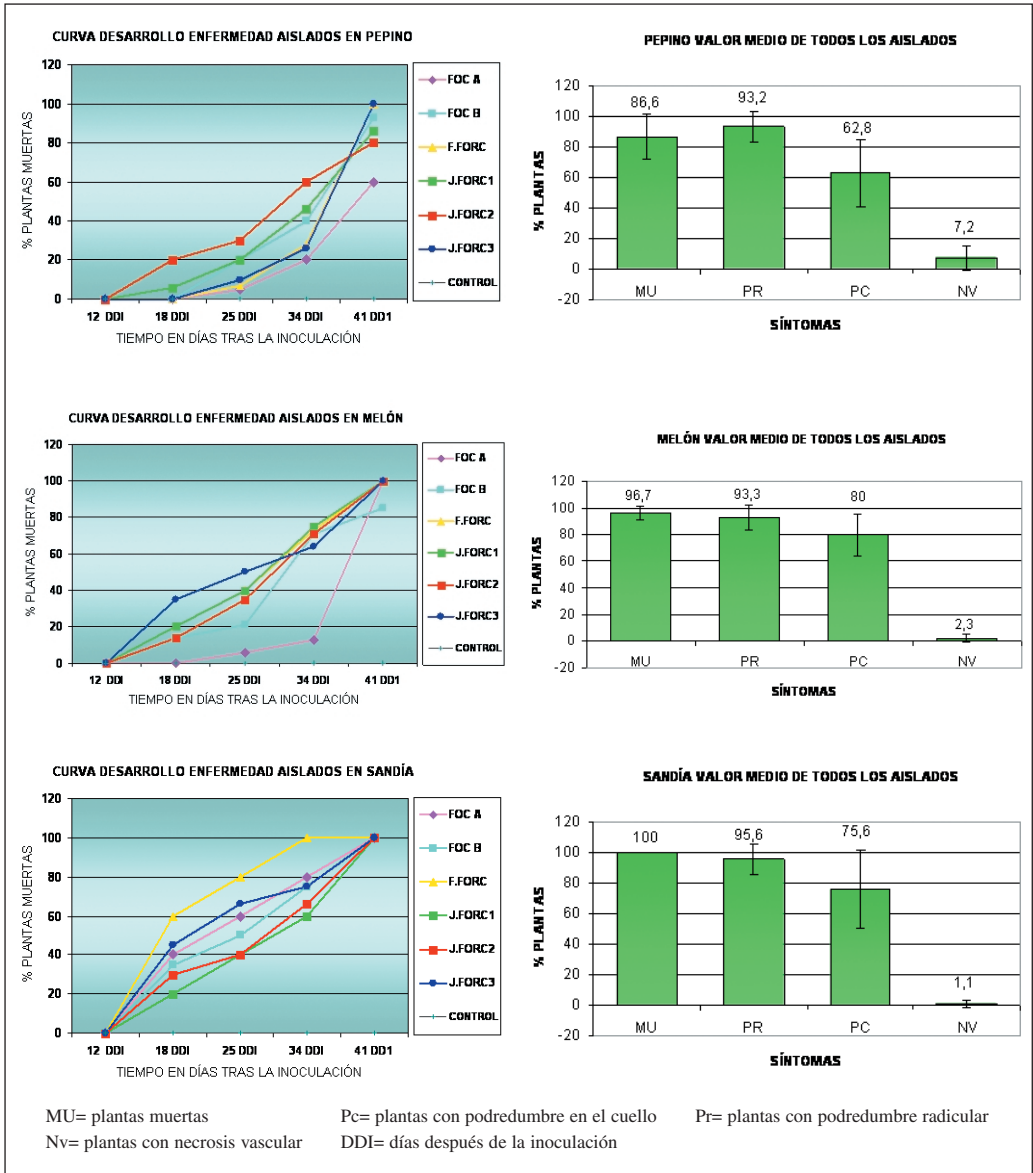


Figura 13. Curvas de progresión de la enfermedad en plantas inoculadas desde la siembra con *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* y valoración de los síntomas observados (ensayos a 25°C)

tes a la familia *Cucurbitaceae* no exteriorizaron ningún síntoma después de su inoculación tal y como le ocurrió a VAKALOUNAKIS (1996), limitando de alguna manera la especificidad parasitaria de los aislados estudiados.

La especificidad parasitaria no ha sido tan estrecha cuando los aislados se inocularon sobre pepino, melón, sandía, calabaza y un híbrido de calabaza. Especificidad que no es comparable con la mostrada por otras formas

Cuadro 9. Porcentaje de emergencia de plantas 18 días después de inocular en el momento de la siembra. (Experimento a 25°C)

	MELÓN	PEPINO	SANDÍA	CALABACIN	HÍBRIDO
FOC A	100	100	60	100	100
FOC B	93,3	100	80	100	100
E.FORC	100	100	73,3	100	100
J.FORC1	100	100	66,6	100	100
J.FORC2	93,3	93,3	73,3	100	100
J.FORC3	100	100	80	100	100
Valor medio	97,7±3,4	98,9±2,7	72,2±7,8	100±0	100±0
CONTROL	100	100	100	100	100

Cuadro 10. Emergencia de plántulas, según especies vegetales para todos los aislados. (Ensayo a 25°C).

Especie	Media
Sandía	72,2 ± 7,8 a
Melón	97,7 ± 3,4 b
Pepino	98,9 ± 2,7 b
Híbrido	100 ± 0,0 b
Calabacín	100 ± 0,0 b

Los valores (media ± desviación típica) seguidos de la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$). Análisis de varianza seguido del Test de Student-Newman-Keuls para los grupos homogéneos.

Cuadro 11. Porcentajes de plantas muertas y síntomas en plantas de pepino a los 28 días de la inoculación. (Ensayo 25°C).

AISLADO	MUERTAS	PODREDUMBRE RADICULAR	PODREDUMBRE CUELLOS	NECROSIS VASCULAR
FOC A	46,4 a	100 a	85,7 a	0 a
FOC B	73,3 b	100 a	72,7 ab	18,2 a
E.FORC	86,6 b	100 a	100 ab	0 a
J.FORC1	73,3 b	100 a	81,8 b	9,1 a
J.FORC2	73,3 b	100 a	72,7 c	0 a
J.FORC3	93,3 b	100 a	92,8 c	14,2 a

Los valores (media ± desviación típica) seguidos de la misma letra dentro de una misma columna no difieren significativamente ($p < 0,05$). Análisis de varianza seguido del Test de Student-Newman-Keuls para los grupos homogéneos.

Cuadro 12. Porcentaje de plantas muertas y síntomas en plantas de melón, a los 28 días de la inoculación. (Ensayo 25°C).

AISLADO	MUERTAS	PODREDUMBRE RADICULAR	PODREDUMBRE CUELLOS	NECROSIS VASCULAR
FOC A	100 a	100 a	86,6 bc	13,3 a
FOC B	93,3 a	100 a	78,6 ab	7,1 a
E.FORC	93,3 a	100 a	78,6 ab	21,4 a
J.FORC1	93,3 a	100 a	85,7 abc	7,1 a
J.FORC2	100 a	100 a	73,3 a	14,2 a
J.FORC3	100 a	100 a	93,3 c	20 a

Los valores (media ± desviación típica) seguidos de la misma letra dentro de una misma columna no difieren significativamente ($p < 0,05$). Análisis de varianza seguido del Test de Student-Newman-Keuls para los grupos homogéneos.

Cuadro 13. Porcentaje de plantas muertas y síntomas en plantas de sandía a los 28 días de la inoculación. (Ensayo 25°C).

AISLADO	MUERTAS	PODREDUMBRE RADICULAR	PODREDUMBRE CUELLOS	NECROSIS VASCULAR
FOCA	100 a	100 a	66,7 a	20 a
FOC B	100 a	100 a	86,7 bc	6,7 b
EFORC	100 a	100 a	80 abc	6,7 b
J.FORC1	100 a	100 a	93,3 c	20 a
J.FORC2	100 a	100 a	93,3 c	0 b
J.FORC3	100 a	100 a	73,3 ab	20 a

Los valores (media ± desviación típica) seguidos de la misma letra dentro de una misma columna no difieren significativamente ($p < 0,05$). Análisis de varianza seguido del Test de Student-Newman-Keuls para los grupos homogéneos.

especializadas de las cucurbitáceas como *F. oxysporum* f. sp. *melonis* y *F. oxysporum* f. sp. *niveum*. O las de otras especies vegetales e idéntica habilidad parasitaria a la estudiada en este trabajo, caso de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, que muestra una estrecha especificidad sobre tomate (TELLO MARQUINA y LACASA PLASENCIA, 1988). VAKALOUNAKIS (1996) pone en evidencia la mayor patogeneicidad de sus aislados sobre melón que sobre pepino o sandía y la ausencia de síntomas sobre calabaza. Este hecho reproducido por GERLACH y BLOK (1988) y, posteriormente, por PUNJA *et al.* (1998) motivó que propusiesen para este patógeno la denominación de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucurbitacearum*, atendiendo, precisamente, a esta falta de especificidad. La controversia fue abordada con anterioridad por McMILLAN (1986) quien sugirió que no se trataba de verdaderas formas especializadas, si no de razas de una forma especializada que enferman a hospedadores comunes dentro de las cucurbitáceas. Especificidad que para PUNJA *et al.* (1998) difería de la presentada por VAKALOUNAKIS (1996) en el sentido de que mientras que los primeros autores encuentran que sus aislados son patógenos sobre *Cucurbita pepo* y *Luffa aegyptica*, VAKALOUNAKIS no. Los resultados presentados en este trabajo coinciden con los de VAKALOUNAKIS (1996) al no mostrar síntomas las plantas de calabacín y el híbrido de calabaza (posiblemente, *Cucurbita pepo* x *C. moschata*). Un pequeño detalle, obtenido en

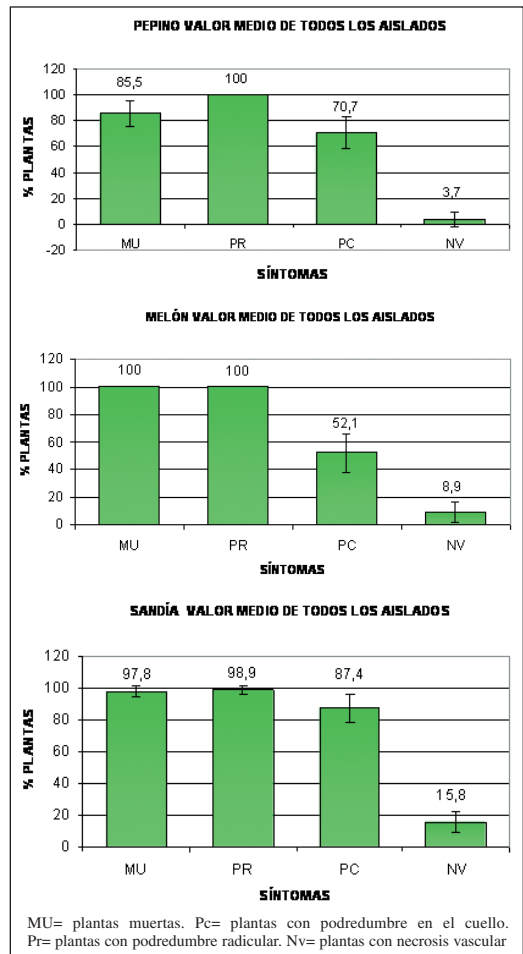


Figura 14. Valoración de síntomas de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* en plantas cuando se inoculó en el estado de una hoja verdadera (Ensayo a 25°C)

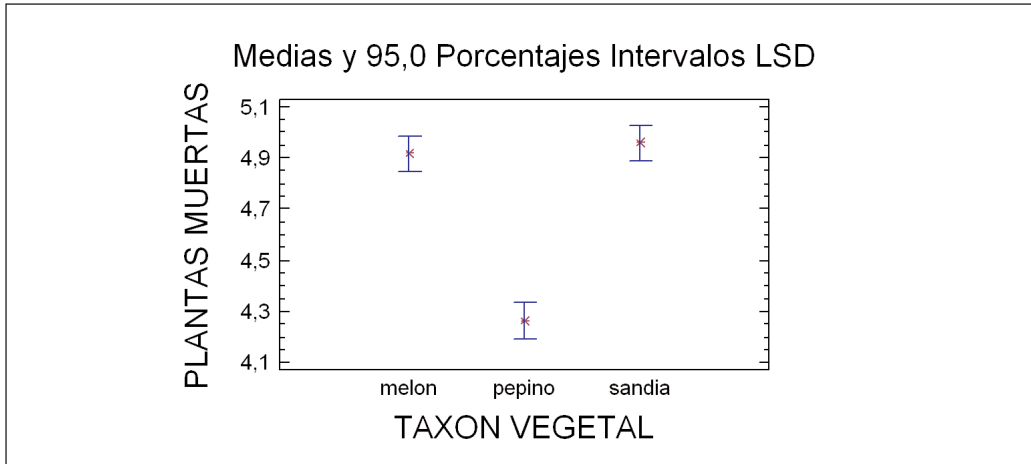


Figura 15. Comparación de la incidencia de la enfermedad en función de la especie vegetal y de las temperaturas de inoculación (17°C y 25°C).

los experimentos de inoculación, y no citado por ninguno de los autores referidos fue la influencia, tanto a 17°C como a 25°C, de los aislados sobre la emergencia de las plantas de sandía y del bajo vigor de las emergidas, que se traducían en un retraso en el crecimiento.

VAKALOUNAKIS (1996) puso énfasis en las temperaturas de las cuales se manifiestan las

enfermedades producidas por *F. oxysporum* f. sp *cucumerinum* y *F. oxysporum* f. sp *radicis-cucumerinum* (Cuadro 3). Es decir, la podredumbre del cuello y de las raíces se manifestaría a 17°C y a 23°C y dejaría de hacerlo a 29°C y 35°C. Por el contrario la fusariosis vascular se manifestaría a temperaturas más altas (23, 29 y 35°C). Esta opi-

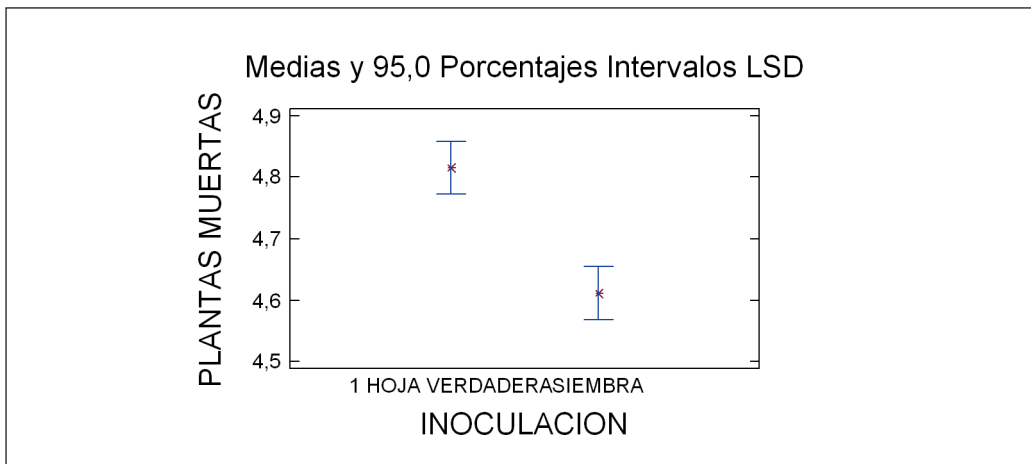


Figura 16. Comparación de la incidencia de la enfermedad en función del estado fenológico de las plantas en el momento de la inoculación.

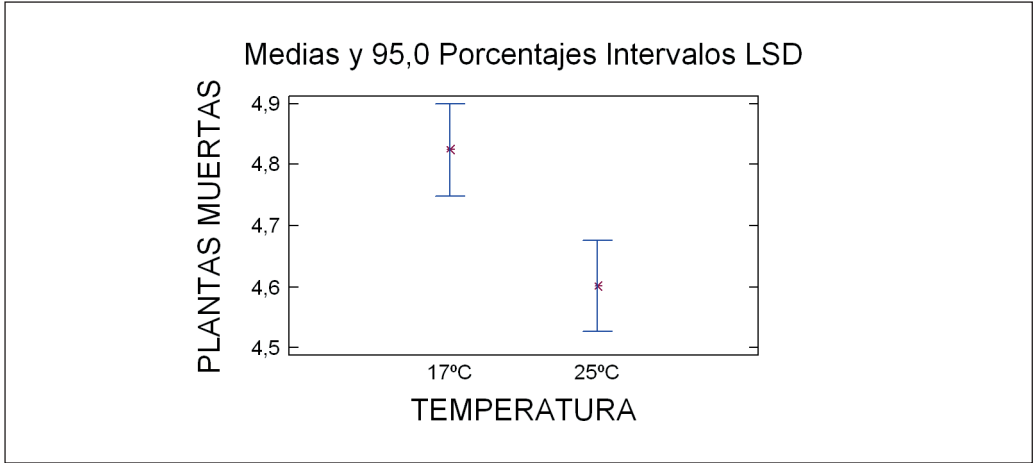


Figura 17. Comparación de la incidencia de la enfermedad en función de la temperatura

nión no es compartida por otros autores que consideran que la podredumbre del cuello y de las raíces del pepino se manifiesta a temperaturas que oscilan entre 27 y 30°C (PUNJA *et al.* 1998; CERKAUKAS y BROW, 2001). En los experimentos presentados no se aprecia una gran diferencia entre las temperaturas ensayadas, aunque a 17°C se aprecia una

severidad ligeramente superior que a 25°C.

Estos resultados de patogenicidad, unidos a la identificación morfológica de los aislados inoculados, presentada por AÑAÑOS BEDRIÑANA (2006) y al estudio de los grupos de compatibilidad vegetativa (VCGs), realizada por GARCÍA-ALCÁZAR *et al.* (2006), ponen de manifiesto la presencia

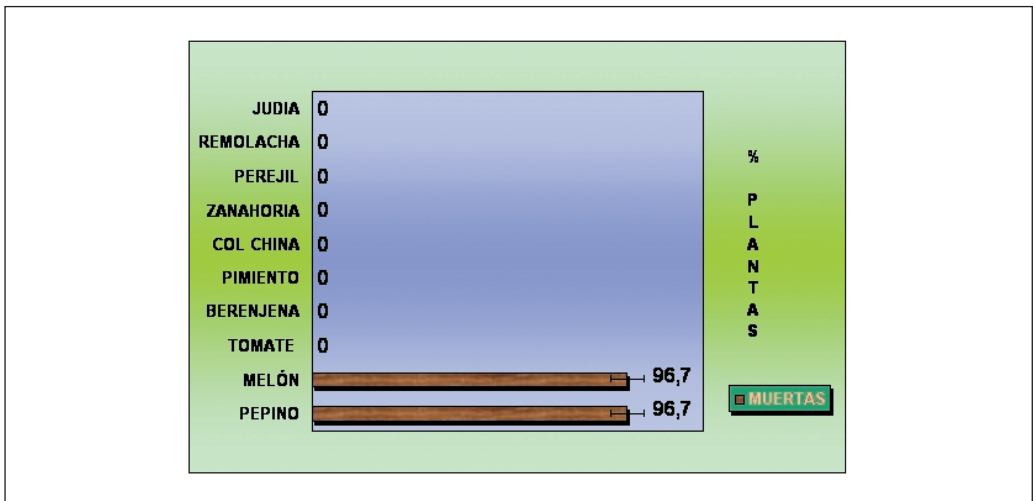


Figura 18. Valor medio de la muerte de plantas inoculadas con 6 aislados de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* en 10 especies vegetales

en España de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* causando la micosis denominada podredumbre del cuello y da las raíces en plantaciones de pepino bajo invernadero.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr Vakalounakis que cedió aislados del hongo que han servido para comparar con los aislados españoles.

ABSTRACT

PÉREZ VARGAS, M., M. A. AÑAÑOS BEDRIÑANA, M. DE CARA GARCÍA, M. SANTOS HERNÁNDEZ, J. C. TELLO MARQUINA. 2009. Pathogenicity and specific parasitism of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* Spanish isolates. *Bol. San. Veg. Plagas*, **35**: 297-315.

A detailed study about pathogenicity of 6 isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*, is presented in this work. Three isolates were obtained from Almería (Spain) and three from Crete (Greece). Pathogenicity was studied on four cucurbitaceae species and one pumpkin hybrid (*Cucurbita maxima* X *C. moschata*), and on eight species belonging to different botanical families (parsley, carrot, bean, beet, Chinese cabbage, aubergine, tomato, sweet pepper). All six *F. oxysporum* isolates showed pathogenicity on three cucurbitaceae, but didn't on squash and pumpkin hybrid, and didn't on each of eight other species different to cucurbitaceae. Symptomatology of inoculated plants mainly showed root and crown rot. However, xylem necrosis was minority observed. Results also evidenced a clear effect on reducing emergence of watermelon seeds. Severity of the disease was lightly higher at 17 °C than 25 °C.

Keywords: Melon, cucumber syndrome, Fusarium disease, root and crown rot, greenhouse.

REFERENCIAS

- AÑAÑOS BEDRIÑANA, M.A. 2006. Control de la micosis causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*, nuevo patógeno de los pepinos (*Cucumis sativus* L.) en los cultivos "sin suelo" de Almería. Tesis doctoral. Universidad de Almería. España. 267 pp.
- BLANCO, R., DIÁNEZ, F., MORENO, A., ALFÉREZ, A., AVILÉS, M., TELLO, J.C. 2000. Nueva micosis de la raíz y el tallo del pepino en Almería. Estudio de su especificidad patogénica. X Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Valencia. España pp 177.
- CERKAUSKAS, R.F., BROW, J., FERGUSON, G. 2001. First report of *Fusarium* stem and root rot of greenhouse cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* in Ontario. *Plant Dis.*, **85**: 1028.
- COEXPHAL-FAECA. 2006. Balance Campaña 2004-2005. Revista Almería en Verde. Web: www.coexp-hal.es
- GARCÍA-ALCÁZAR, M., AÑAÑOS, M.A., BLANCO, R., CIFUENTES, D. 2006. Grupos de compatibilidad vegetativa de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* en la provincia de Almería. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 535-544
- GERLACH, M., BLOK, W.J. 1988. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucurbitacearum* n.f. embracing all formae specialis of *Fusarium* attacking cucurbitaceous crops. *Neth. J. Plant Path.* **94**: 17-31.
- GÓMEZ VÁZQUEZ, J., TELLO MARQUINA, J.C. 2000. Las semillas de melón (*Cucumis melo* L.) portadoras de diversos patotipos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Bol. San. Veg. Plagas* **26**: 35-45.
- INSTITUTO DE ESTUDIOS CAJAMAR, 2006: Análisis de la campaña hortofrutícola de Almería 2004-2005. Web: www.instituto.cajamar.es/descargas/0203.pdf
- JENKINS, S.F., WEHNER, T.C. 1983. Occurrence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* on greenhouse-grown *Cucumis sativus* seed stocks in North Carolina. *Plant Dis.*, **67**: 133-140.
- MORENO, A., ALFEREZ, A., AVILÉS, M., DIÁNEZ, F., BLANCO, R., SANTOS, M., TELLO, J.C. 2001. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* on cucumber in Spain. *Plant Dis.*, **85**: 1206.
- MORENO, A., ALFEREZ, A., TELLO, J.C., AVILÉS, M. 2000. Primera cita de podredumbre de raíz y cuello en pepino causado por *Fusarium oxysporum* en España. X Congreso Sociedad Española de Fitopatología. Valencia. España. pp 198.
- PETERSEN, R.G. 1994. *Agricultural Field Experiments: Design and Analysis*. Ed. Marcel Dekker. pp. 426.
- PUNJA, Z.K., PARKER, M. 2000. Development of *Fusarium* root and stem rot, a new disease on greenhouse cucumber in British Columbia, caused by *Fusarium*

- oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*. *Can. J. Plant Pathol.* **22**: 349-363.
- PUNJA, Z.K., PARKER, M., ROSE, S., LOUIE D. 1998. Occurrence of *Fusarium* crown and root rot, a new disease on greenhouse cucumbers in British Columbia, an methods for disease control. En: *Cucurbitaceae*, **98**: 174-185.
- REVERCHON, S., MONNET, Y., BELIARD, E., ALABOUVETTE, C. 2000. Du nouveau sur les fusarioses du concombre. *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* isolate pour la premiere fois en France. *Phytoma* **53**: 36-38.
- TAKEUCHI, S., OGAMA, K., NOMURA, Y. 1978. Mechanism of seed transmission of *Fusarium* wilt of cucumber and bottle gourd, and improvement of a method for the seed-disinfection test. *J. Cent. Agric. Exp. Stn.* **28**: 49-76.
- TELLO MARQUINA, J.C., LACASA PLASENCIA, A. 1988. La podredumbre del cuello y de las raíces, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, nueva enfermedad en los cultivos de tomate (*Lycopersicon esculentum*) españoles. *Bol. San. Veg. Plagas*, **14**: 307-312
- TELLO, J.C., VARES, F., LACASA, A. 1991. Análisis de muestras. En: Manual de laboratorio. Diagnóstico de hongos, bacterias y nematodos fitopatógenos. M.A.P.A. Madrid.
- TESORIERO, L. 2003. Abstracts to IXth International *Fusarium* Workshop. Sydney 2003. University of Sydney (Australia). 27-30 Enero.
- VAKALOUNAKIS, D.J. 1996. Root and stem rot of cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* f. sp. nov. *Plant Dis.*, **80**: 855-858.
- VAKALOUNAKIS, D.J., DOULIS, A.G., KLIRONOMOU, E. 2005. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* attacking melon under natural conditions in Greece. *Plant Pathology* **54**: 339-346.
- VAKALOUNAKIS, D.J., FRAGKIADAKIS, G.A. 1999. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from cucumber: Differentiation by pathogenicity, vegetative compatibility and RAPD fingerprinting. *Phytopathology* **89**: 161-168.
- VAKALOUNAKIS, D.J., WANG, Z., FRAGKIADAKIS, G.A., SKARACIS, G.N., LI, D.B. 2004. Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates obtained from cucumber in China, by pathogenicity, VCG and RAPD. *Plant Dis.* **88**: 645-649.

(Recepción: 9 diciembre 2008)

(Aceptación: 14 mayo 2009)