

Eficacia de la desinfección del sustrato contra *Olpidium bornovanus* y MNSV en cucurbitáceas

Efecto de la desinfección del sustrato mediante solarización y uso de hipoclorito sódico

El virus del cribado del melón (*melon necrotic spot virus*, MNSV) causa graves daños en los cultivos protegidos de melón del litoral mediterráneo español, detectándose también en sandía y pepino. Este virus se transmite por el hongo del suelo *Olpidium bornovanus*. En este artículo se resumen los resultados obtenidos al desinfectar el sustrato mediante técnicas de solarización y desinfección en hipoclorito sódico frente a *O. bornovanus*.

M^a. L. Guirado, J. M. Rodríguez, Y. Serrano, E. Sáez y J. Góme.

Centro de Investigación y Formación Agraria La Mojonera-La Cañada. Junta de Andalucía. La Mojonera (Almería).

Las cucurbitáceas constituyen un grupo de especial importancia en la horticultura española. Melón, pepino y sandía se encuentran entre los seis cultivos hortícolas más importantes en cuanto a producción. En el año 2002, el melón fue el segundo en importancia, con 1.100.000 t, la sandía el quinto (622.000 t) y el pepino el sexto (511.000 t). Solamente en Almería, la superficie cultivada en invernadero se estimó en ese año en 4.278, 3.690 y 3.800 ha, para melón, sandía y pepino, respectivamente (MAPA, 2004).

Entre las enfermedades con mayor incidencia en cultivos protegidos de cucurbitáceas están las inducidas por virus. En particular, el virus del cribado del melón (*melon necrotic spot virus*, MNSV) ha causado y causa graves daños en los cultivos protegidos de melón del litoral mediterráneo español (Cuadrado *et al.*, 1993; Luis-Arteaga, 1994), y también se ha detectado en cultivos protegidos de sandía y pepino (Cuadrado *et al.*, 1993; Luis-Arteaga, 1994; Sáez *et al.*, datos sin publicar). Desde el punto de vista epidemiológico, la característica

más importante de este virus es su transmisión por el hongo de suelo *Olpidium bornovanus* (Tomlinson y Thomas, 1986; Campbell *et al.*, 1996), que parece ser por sí mismo un patógeno de cucurbitáceas (Gómez, 1993; Campbell y Sim, 1994). Además de la transmisión del MNSV por *O. bornovanus*, se ha descrito su transmisión por semilla (González-Garza *et al.*, 1979; Avgelis, 1985), la cual parece estar asistida por el hongo (Furuki, 1981; Campbell *et al.*, 1996).

Entre los métodos de control descritos para MNSV destacan:



Lesiones necróticas causadas por MNSV en hojas de sandía.



Estrías necróticas
causadas por MNSV en
tallo de melón.

- La introducción de resistencia genética controlada por un solo gen recesivo, en el cultivo de melón (Coudriet *et al.*, 1979).

- El injerto sobre patrones no huéspedes del virus (ej. *Cucurbita ficifolia* en pepino).

- La esterilización de suelo o lana de roca con vapor de agua; el tratamiento del suelo con bromuro de metilo (Bos *et al.*, 1984).

- La utilización de un mojante en cultivo de pepino (óxido de alquil fenol etileno) como aditivo en las soluciones nutritivas, por su efecto contra las zoosporas del hongo (Tomlinson y Thomas, 1986).

El objetivo de los experimentos realizados fue estudiar el efecto de la solarización y utilización de hipoclorito sódico en la desinfección del sustrato frente a *O. bornovanus*.

Material y métodos

Se realizaron dos experimentos en cultivo sin suelo en el Centro de Investigación y Formación Agraria La Mojonera-La Cañada de Almería durante los años 2001 y 2002. El sustrato utilizado fue perlita tipo B-12, en sacos de polietileno blanco de 120 x 20 x 20 cm, que contenían raíces procedentes de un cultivo ante-

rior de cucurbitáceas inoculado con un aislado masal de *O. bornovanus* portador del MNSV. Las temperaturas del exterior de los invernaderos se registraron en la estación meteorológica del CIFA La Mojonera-La Cañada, situada a unos 20 m de los invernaderos, mientras que las temperaturas de los sacos de cultivo se tomaron con termistores PC 108, registrándose los datos en un *da-*

talogger modelo CR10-X fabricado por Campbell Scientific Ltd.

El experimento de 2001 se llevó a cabo en un invernadero tipo túnel con estructura de hierro, 4,5 m de altura máxima, cubierta de polietileno de 200 μ m y 275 m² de superficie.

Se establecieron cuatro tratamientos con un diseño experimental en bloques al azar con cuatro repeticiones. Los tratamientos que se aplicaron sobre los sacos de sustrato contaminados con *O. bornovanus* fueron:

- Solarización durante 30 días.
- Solarización durante 60 días.
- Utilización de hipoclorito sódico (40 g de Cl activo por l).
- Parcelas sin solarizar.

La solarización se realizó saturando los sacos con agua, cubriéndolos posteriormente con polietileno transparente de 50 μ m y sellando los extremos del mismo con la grava que cubría el suelo del invernadero de manera que quedara lo más hermético posible. Ésta se inició el 2 de julio de 2001 y se prolongó en el tratamiento de dos meses hasta el 3 de septiembre de 2001.

Los sacos del tratamiento con hipoclorito sódico se saturaron, a primeros de julio, con una disolución de 3.000 ppm en agua. Para

evaluar la eficacia de los diferentes tratamientos una vez acabado el período de solarización, se sembraron semillas de melón cv. Gallicum en los sacos de cultivo. Además, se introdujo un testigo inoculado con *O. bornovanus* y un testigo no inoculado sobre sacos de cultivo nuevos.

Cada parcela elemental estuvo constituida por dieciocho plantas, colocando seis en cada saco. La siembra se realizó el 17 de septiembre y, semanalmente y hasta el 29 de noviembre, se observaron las plantas para detectar la posible aparición de síntomas de MNSV. Cuando finalizó el experimento, se tomaron tres muestras de raíces por saco de cultivo (nueve muestras por parcela elemental) y se observaron bajo microscopio óptico para determinar la presencia de *O. bornovanus*. Además, se tomaron el mismo número de muestras de hipocotilo de las plantas y se analizaron por serología para detectar la presencia de MNSV.

En el experimento de 2002, la solarización se realizó en un invernadero tipo doble túnel de 800 m² de superficie, 4,5 m de altura máxima y cubierta de polietileno de 200 μ m.

Se estableció un diseño experi-



Muerte de planta de sandía causada por MNSV + *O. Bornovanus*.

mental de tres tratamientos en cuatro bloques al azar. Cada parcela elemental estuvo constituida por tres sacos de cultivo. Los tratamientos ensayados fueron:

- Solarización durante 30 días.
- Solarización durante 60 días.
- Testigo sin solarizar.

Se utilizó un film de polietileno especial para solarización de 40 μm . Ésta se inició el 12 de julio de 2002. Para evaluar la eficacia de los tratamientos, se recogieron tres muestras por cada tratamiento y bloque (una por saco) a los 60 días del inicio de la solarización.



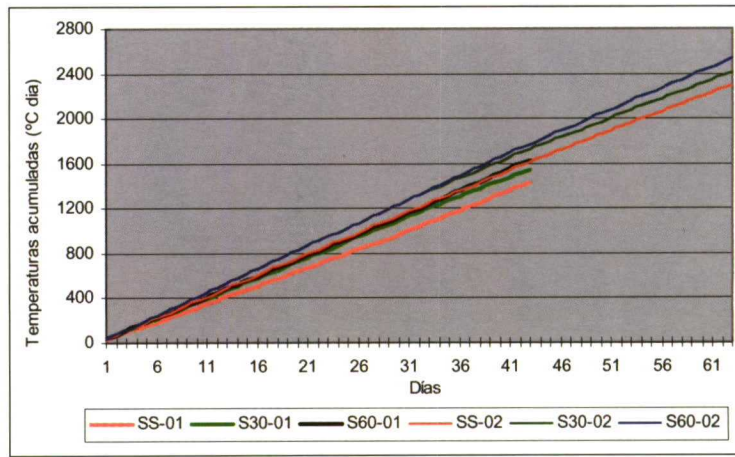
Esporangios de resistencia de *Oidium bornovanus*.



Solarización de los sacos de cultivo infectados.

FIGURA 1.

GRADOS-DÍA ACUMULADOS EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS, DURANTE PERÍODOS DE 43 Y 63 DÍAS, EN LOS AÑOS 2001 Y 2002, RESPECTIVAMENTE.



Posteriormente y para la detección de *O. bornovanus* MNSV, se realizó un bioensayo en cámara de cultivo consistente en la siembra de semillas de sandía c.v. Sugar Baby sobre las muestras recogidas mezcladas con vermiculita hasta completar el volumen de 300 cc de los contenedores utilizados. El testigo inoculado estuvo constituido por cinco contenedores rellenos con una mezcla de raíces secas infectadas por un aislado masal de *O. bornovanus*, obtenido de sandía, y vermiculita. Como testigo no inoculado se utilizaron cinco contenedores rellenos con una mezcla de vermiculita y raíces infectadas con el hongo, previamente autoclavada durante 30 minutos a 120°C. El crecimiento de las plantas se realizó durante 60 días con temperaturas de 25°C de día y 18°C durante la noche y un fotoperíodo de 14 horas. Posteriormente, las plantas se analizaron por serología y se observaron sus raíces con un microscopio óptico para detectar la presencia de MNSV y de *O. bornovanus*, respectivamente.

Resultados y discusión

En el año 2001, las temperaturas medias diarias registradas en los sacos solarizados estuvieron comprendidas entre 33,7 y 40,4°C, mientras que en los no

solarizados oscilaron entre 27,6 y 37,1°C. La máxima absoluta alcanzada en los sacos solarizados fue de 51°C. Durante los primeros 43 días de solarización del experimento, los tratamientos solarización durante 60 días, solarización durante 30 días y parcelas sin solarizar acumularon 1.629, 1.542 y 1.433 grados-día respectivamente (figura 1). Al finalizar el experimento con plantas de melón, *Oidium bornovanus* se detectó en el 86,1; 77,8; 77,8; 88,9 y 97,2% de las muestras de melón crecidas en los sacos de sustratos solarizados durante 30 y 60 días, en los no solarizados, en los tratados con hipoclorito sódico y en los del testigo inoculado. Por el contrario, el hongo no se detectó en las raíces de las plantas de los sacos nuevos no inoculados. Los resultados obtenidos indicaron que ni la solarización del sustrato, ni el tratamiento con hipoclorito sódico, en las condiciones en las que se desarrolló el experimento, fueron eficaces para eliminar *O. bornovanus* de los sacos de cultivo. El virus de las manchas necróticas del melón se detectó en el 8,3; 13,9; 30,6; 47,2; 38,9 y 2,8% (cuadro I) de las muestras de planta tomadas de los sacos solarizados durante 30 y 60 días, no solarizados, tratados con hipoclorito, inoculados artificialmente con *O. bornovanus* y no inoculados, respectivamente. Aunque

los porcentajes obtenidos no fueron muy elevados, ni homogéneos entre los distintos bloques del experimento, corroboran los resultados obtenidos en la detección de *O. bornovanus* e indican la falta de eficacia de los métodos de desinfección utilizados.

En el año 2002, las temperaturas medias diarias registradas en los tratamientos solarizados estuvieron comprendidas entre 36,1 y 44,3°C, mientras que en los no solarizados oscilaron entre 33,1 y 39,6°C. La máxima absoluta alcanzada en los sacos solarizados fue de 52°C. Durante el tiempo de duración del experimento de desinfección, los tratamientos solarización durante 60 días, solarización durante 30 días y parcelas sin solarizar acumularon 2.529, 2.410 y 2.299 grados-día en el sustrato, respectivamente. Al término del bioensayo con plantas de sandía, *O. bornovanus* se detectó en las raíces del 50% de las plantas cultivadas sobre contenedores con raíces de los sacos solarizados durante 30 días y en el 91,7% de las de los sacos no solarizados (**cuadro II**). Por el contra-

rio, *O. bornovanus* no se detectó en ninguna de las plantas de los contenedores con raíces de los sacos solarizados durante 60 días ni en las del testigo no inoculado. En cuanto a los análisis por serología de MNSV, el virus no fue detectado en ninguna de las plantas del experimento, salvo en una de las del testigo no inoculado (**cuadro II**).

Los resultados obtenidos en los experimentos realizados indican, por una parte, la falta de eficacia de la solarización durante 30 días y del tratamiento con hipoclorito sódico a la dosis aplicada, en el control de *O. Bornovanus*; mientras que la eficacia de la solarización durante 60 días fue variable, ya que sólo en el año 2002 fue capaz de eliminar al hongo de los sacos de cultivo. Por otra parte, se prueba en 2001 la conservación de *O. bornovanus* y de MNSV durante el verano en los sacos de perlita utilizados. Hipótesis sugerida por las observaciones realizadas en las explotaciones comerciales y por los resultados obtenidos en otros estudios realizados con anterioridad

CUADRO I.

DETECCIÓN DE *O. BORNOVANUS* (O.B.) Y MNSV AL FINAL DEL EXPERIMENTO DE 2001. VALORES SEGUIDOS DE LA MISMA LETRA NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES (P = 0,05).

Tratamientos	% O.b.	% + MNSV
Sin solarizar (testigo)	86,1 a	30,6 a
Solarización 30 días	77,8 a	8,3 a
Solarización 60 días	77,8 a	13,9 a
Hipoclorito sódico	88,9 a	47,2 a
Control inoculado	97,2 a	38,9 a
Control no inoculado	0 b	2,8 a

CUADRO II.

DETECCIÓN DE *O. BORNOVANUS* (O.B.) Y MNSV AL FINAL DEL BIOENSAYO DEL EXPERIMENTO DE 2002. DDS= DÍAS DESDE EL INICIO DE LA SOLARIZACIÓN. VALORES SEGUIDOS DE LA MISMA LETRA NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES (P = 0,05).

Tratamientos	% O.b.	% + MNSV
Sin solarizar (testigo)	91,7 a	0,0 a
Solarización 30 días	50,0 a	0,0 a
Solarización 60 días	0,0 c	0,0 a
Control inoculado	100,0 a	0,0 a
Control no inoculado	0,0 a	20,0 a

Oliviero

..recolectar
olivas no es mas
un problema..



Puntos de ventas Espana

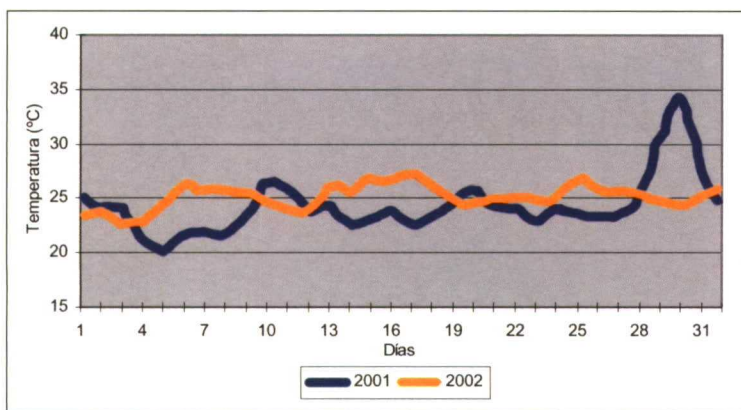
tel. 0039 010 666203 - 0039 0564 625131

fax 0039 0564 621960

info@innovazioneitcnologiche.com

FIGURA 2.

TEMPERATURAS MEDIAS REGISTRADAS EN EL EXTERIOR DE LOS INVERNADEROS, DURANTE LOS PRIMEROS 32 DÍAS DE LOS EXPERIMENTOS.



(Gómez *et al.*, 1993), y confirmada posteriormente en experimentos realizados con semillas libres de MNSV (Guirado *et al.*, datos no publicados). La conservación de MNSV en los esporangios de resistencia de *O. bormovanus* coincide con los obtenidos por algu-

nos 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. bormovanus* después de desecadas durante pocas semanas (Campbell *et al.*,

1991; Campbell y Sim, 1994). La detección de MNSV en un pequeño porcentaje de las plantas en las parcelas del testigo de los dos experimentos pone de manifiesto la transmisión del virus por las semillas de melón, ya demostrada por varios investigadores (González-Garza *et al.*, 1979; Avgelis, 1985; Campbell *et al.*, 1996).

Las diferencias observadas entre los resultados de ambos experimentos pudieron ser debidas, entre otros factores, a la utilización de invernaderos de distinto tipo, al film empleado para

la solarización y/o a las diferentes temperaturas del sustrato acumuladas (°C día) durante el proceso de solarización entre ambos años (figura 1), ya que los grados-día acumulados en los sacos solarizados durante el experimento de 2002 fueron superiores a los de 2001. Valores posiblemente debidos a que las temperaturas del ambiente exterior registradas durante el verano de 2002 (figura 2) fueron superiores a las del 2001, con excepción de tres días puntuales, durante el mismo período. ■

Bibliografía

Avgelis, A. 1985. Occurrence of Melon Necrotic Spot Virus in Crete. (Greece) *Phytopathol. 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 glasshouse cucumbers in the Netherlands and its control. *Neth. J. Pl. Path.* 90: 55-69.

Campbell, R. N.; Lecoq, H.; Wipf-Scheibel, C.; Sim, S. T. 1991. Transmission of cucumber leaf spot virus by *Ovipodium radicale*. *Journal of General Virology* 72, 3115-3119.

Campbell, R.N. y Sim, S.T. 1994. Host specificity and nomenclature of *Ovipodium bormovanus* (= *Ovipodium radicale*) and comparisons to *Ovipodium brassicae*. *Canadian Journal of Botany* 72:1136-1143.

Campbell, R.N., Wipf-Scheibel, C., y Lecoq, H. 1996. Vector-Assisted seed transmission of Melon Necrotic Spot Virus in melon. *Phytopathology* 86: 1294-1298.

Coudriet, D.L., Kishaba, A.N. y Carroll, J.E. 1979. Transmission of Melon Necrotic Spot Virus in muskmelons by cucumber beetles. *Journal of Economic entomology*. 72:560-561.

Cuadrado, I.M., Gómez, J. y Moreno, P. 1993. El virus de las manchas necróticas del melón (MNSV) en Almería. Importancia del MNSV como causa de la muerte súbita del melón. *Bol. San. Veg. Plagas*, 19: 93-106.

Furuki, 1981. *Tech. Bull. Shizuoka agric. Exp. Stn.* 14: 94 pp.

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. 1993. I.S.B.N.: 84-87564-80-1. (L)

González-Garza, R., Gumpf, D.J., Kishaba, A.N. y Bohn, G.W. 1979. Identification, seed transmission and host range pathogenicity of a California isolate of Melon Necrotic Spot Virus. *Phytopathology* 69:340-345.

Luis-Arteaga, M. 1994. Enfermedades producidas por virus pp 73-82. En: J.R. Díaz-Ruiz y J. García-Jiménez (eds). "Enfermedades de las cucurbitáceas en España". *Monografías de la S.E.F.* nº1.

MAPA 2004. *Anuario de Estadística Agroalimentaria 2002*. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Madrid.

Tomlinson, J.A. y Thomas, B.J. 1986. Studies on melon necrotic spot virus disease of cucumber and on the control of the fungus vector (*Ovipodium radicale*). *Ann. Appl. Biol.*, 108: 71-80.

LA BIBLIOTECA PARA PROFESIONALES

Manual de Agricultura y Ganadería Ecológica

Reedición actualizada

Coordinadores:
Juana Labrador
José Luis Porcuna
Antonio Bello

Coedición
EUMEDIA - MAPA - SEAE

416 páginas - PVP: 35 €

Precio: 35 €
Descuento
5%
a suscriptores

HAGA SU

eumedia

Formación e información
para el sector agroalimentario

Eumedia, S.A. Dpto. de Suscripciones. c/Claudio Coello, 16, 1º. 28001 Madrid
Tlf.: 91 426 44 30 - Fax: 91 575 32 97 - E-mail: suscripciones@eumedia.es