

El virus de las manchas necróticas del melón (MNSV) en Almería. I. Importancia del MNSV como causa de la muerte súbita del melón

I. M. CUADRADO, J. GÓMEZ Y P. MORENO

En este artículo se describen los síntomas de la enfermedad, conocida en Almería como "muerte súbita" del melón, que se está convirtiendo en un factor limitante para el cultivo. Además se informa sobre la identificación por plantas indicadoras y serológica del virus cribado del melón, y se comprueba su poder patógeno sobre plantas adultas de melón, reproduciendo los síntomas observados en los invernaderos comerciales.

I. M. CUADRADO y J. GÓMEZ: Centro de Investigación y Desarrollo Hortícola de la Mojonera (Almería)

P. MORENO: Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Moncada (Valencia).

Palabras clave: melón, muerte súbita, sintomatología, virus, MNSV, *Olpidium radicale*.

INTRODUCCION

La especie hortícola melón (*Cucumis melo* L.) es ampliamente cultivada en la zona costera mediterránea andaluza. Según datos de la Delegación Provincial de la Consejería de Agricultura y Pesca de Almería, la superficie cultivada en el año 1989 en dicha provincia ascendía a 4.073 Has.

La enfermedad, conocida como "muerte súbita" del melón, causa estragos en gran parte de los invernaderos de la costa almeriense. Se manifiesta con necrosis de hipocotilo y marchitamiento de las plantas adultas (Fig. 1) al comienzo de la recolección o en fechas próximas a ésta, y limita actualmente el incremento e incluso el mantenimiento de la superficie dedicada a este cultivo.

Con síntomas similares, el colapso o muerte súbita del melón es el principal fac-

tor limitante para su cultivo en la Comunidad Valenciana (GARCÍA *et al.*, 1991). En dicha Comunidad se han señalado como causa de la enfermedad los hongos *Rhizoctonia solani* (CEBOLLA *et al.*, 1990) y *Acremonium* sp. (GARCÍA *et al.*, 1991), y también ha sido asociada a hongos del género *Monosporascus* (LOBO, 1990).

Probablemente, la causa de todo lo que se encierra bajo el nombre popular de muerte súbita en Almería, recientemente también denominado colapso del melón por su similitud con los síntomas observados en otras Comunidades Autónomas, no es única. De hecho, en casos concretos, se confunden con los daños ocasionados por otras enfermedades con síntomas diferentes y de etiología conocida como son: la fusariosis vascular del melón (TELLO *et al.* 1987; GONZÁLEZ *et al.*, 1987), la causada por *Rhi-*

zoctonia solani (TELLO *et al.*, 1991) y por *Thielaviopsis basicola* en cultivos sin suelo (GÓMEZ, datos no publicados).

La sandía (*Citrullus lanatus*) sufre también una enfermedad, similar en algunos aspectos a la del melón, consistente en un marchitamiento y muerte de las plantas pocos días antes o durante la recolección (Fig. 2), precedido a veces de un amarilleamiento de las hojas viejas y en ocasiones de necrosis del hipocotilo.

El virus de las manchas necróticas del melón (MNSV), también conocido como "virus del cribado del melón", causa una grave enfermedad en cultivos de melón y pepino de invernadero en varios países (GONZÁLEZ-GARZA *et al.*, 1979; BOS *et al.*, 1984; AVGELIS, 1985; HIBI & FURUKI, 1985; TOMLINSON & THOMAS, 1986).

Su detección en los cultivos de melón en invernaderos de Almería fue sugerida en 1984 (Luis Arteaga, comunicación personal, 1986, 1991).

El virus se transmite por la semilla, en porcentajes variables del 1 % al 22,5 % (GONZÁLEZ-GARZA *et al.*, 1979; AVGELIS, 1985), por coleópteros del género *Diabrotica* (COUDRIET *et al.*, 1979) y por el hongo *Ophiidium radicale* (TOMLINSON & THOMAS, 1986) el cual, ha sido encontrado en un porcentaje elevado de invernaderos de Almería (GÓMEZ, 1990).

La extensión de dicha enfermedad en Almería ha aumentado considerablemente, y en la actualidad se muestra como un posible factor limitante para el melón, tanto en cultivos sobre suelo como sobre sustratos inertes, siendo llamativa la ausencia de la enfermedad en los cultivos de pepino (GÓMEZ, 1990).

La similitud de algunos de los síntomas observados en los invernaderos con los descritos para el virus del cribado del melón (MNSV) (GONZÁLEZ-GARZA *et al.*, 1979); AVGELIS, 1985), y su asociación con una posterior presencia de muerte masiva de plantas adultas, nos hizo sospechar que todos los síntomas observados fueran ocasionados por el MNSV (GÓMEZ *et al.*, 1988).

El presente artículo tiene como objetivos la descripción de los síntomas de la enfermedad, conocida como "muerte súbita" del melón en Almería, la identificación por plantas indicadoras y serológica del MNSV en plantas de melón y sandía, la constatación de su poder patógeno y su asociación con la muerte súbita del melón en Almería.

MATERIAL Y MÉTODOS

Identificación del MNSV

Inoculación en plantas indicadoras

Se hicieron inoculaciones por transmisión mecánica sobre especies indicadoras. Para la preparación del inóculo se utilizó la zona del hipocotilo con necrosis y hojas, con síntomas de cribado, de plantas de melón de 4 invernaderos de los cvs. Galia y Arava, recolectadas durante los años 1986 y 1987. Para sandía se empleó la zona del hipocotilo de plantas del cv. Sugar Baby, procedentes de un invernadero en 1989. El material vegetal se trituró en mortero con Tampón fosfato 0,1 M pH 7,2, 0,5 % (p/v) y carbón vegetal.

Como plantas indicadoras se utilizaron distintas especies pertenecientes a las familias *Cucurbitaceae*, *Chenopodiaceae*, *Leguminosae*, *Amaranthaceae* y *Solanaceae*. Usualmente, cada fuente de virus se inoculó en tres o cuatro plantas de cada indicador y un número similar de plantas inoculadas con el tampón sirvieron como testigos. Las plantas indicadoras se cultivaron en macetas con sustrato esterilizado con vapor de agua y se mantuvieron en un invernadero de ambiente controlado, entre 20-30° C, para la observación de síntomas.

Pruebas serológicas

Para la obtención de las condiciones de uso del extracto vegetal y del antisuero, se utilizaron como antígenos extractos de la zona del hipocotilo de plantas de melón y



Fig.1. — Marchitamiento de plantas adultas de melón.

Fig. 2.— Marchitamiento de plantas adultas de sandía.



sandía y de hojas de melón con síntomas de cribado, en ambos casos de plantas inoculadas mecánicamente. Se ensayaron tres diluciones del extracto vegetal (Peso del material/volumen del Tampón): 1/10, 1/20 y 1/40 y 18 diluciones del antisuero MNSV: 1/500, 1/1000, 1/1.500, 1/2000, 1/3000, 1/3500, 1/4000, 1/5000, 1/6000, 1/7000, 1,8000, 1/10.000, 1/15.000, 1/20.000, 1/25.000, 1/30.000, y 1/50.000.

El material vegetal analizado se preparó de la siguiente manera:

Las hojas se lavaron con agua destilada y se dejaron secar sobre papel de filtro.

Los hipocotilos de melón y sandía, una vez lavados abundantemente con agua de grifo y después de un último aclarado con agua destilada, se seccionaron longitudinalmente en dos partes iguales. De una mitad se tomaron tres rodajas de aproximadamente 5 mm de grosor, una en la inserción de los cotiledones con el tallo, otra en el cuello y una tercera en el ápice de la raíz principal. De la otra mitad se tomó una tira de aproximadamente 1 mm de grosor que recorría longitudinalmente todo el hipocotilo y hasta el ápice de la raíz principal. Por este método se analizaron 101 muestras de melón y 9 de sandía.

El antisuero utilizado, que había sido obtenido en conejo, fue donado por el Dr. A. Avgelis. El análisis de las muestras se efectuó mediante el D.I.A. (Dot Immunobinding Assay) (HAWKES *et al.*, 1982) según el procedimiento descrito para TSWV (CUADRADO *et al.*, 1991). El método consiste en depositar 2 µl. del extracto vegetal preparado, mediante la homogeneización de la muestra —con polytron—, en Tris-ClNa (0,05 M, pH 7,2) con 4 % de sacarosa, sobre una membrana de nitrocelulosa Bio-rad de 0,45 micron, cuadrada de 0,7 cm de lado, y se bloquea durante toda la noche a 35° C en TBST con 3 % de gelatina y 2% de Triton X-100. A continuación la membrana se lava abundantemente con agua destilada y se transfiere a una dilución conveniente de antisuero y se incuba a 37° C durante 1,5 horas. Los anticuerpos no fijados se eliminan mediante tres lavados consecutivos de 5 minutos con TBST en agi-

tación suave. Posteriormente la membrana se transfiere a una dilución de 1/500 de inmunoglobulinas de cabra anti-conejo conjugadas con fosfatasa alcalina en TBST y se incuba durante 1,5 horas a 37° C. Después la membrana se lava tres veces, como anteriormente se describió, y a continuación se mantiene en Tampón dietanolamida (1M, pH 9,8) durante 10 minutos en agitación suave. La reacción se revela transfiriendo la membrana a una solución sustrato formada por 0,1 ml de 5 bromo 4 cloroindoxil fosfato (5 mg/ml) + 20 µl de MgCl₂ (2M) + 9 ml de tampón veronal-acetato pH 9,6 y se deja a temperatura de laboratorio durante 5-15 minutos paralizando la reacción mediante el lavado con agua destilada cuando se ha desarrollado suficiente color.

Para los análisis de plantas de invernaderos comerciales de melón, se utilizó como fuente de virus la zona del hipocotilo, tallos, peciolo, pedúnculos y hojas con y sin síntomas de cribado recolectadas durante los años 1986 a 1989. Se analizaron 250 plantas procedentes de 18 invernaderos distribuidos por la zona del "Campo de Dalías", de los cvs. Galia, Gallicum, Arava, Makdimon y Polidor. De sandía se utilizó la zona del hipocotilo de 75 plantas de los cvs. Sugar Baby y Panonia, procedentes de 6 invernaderos con síntomas de marchitamiento y muerte de plantas.

Aislados de virus

Se compararon dos aislados, uno de Holanda procedente de plantas enfermas de pepino en el año 1988 y mantenido en plantas de pepino var. Gele Tros, con el código MNV-Cu 18, suministrado por el Research Institute For Plant Protection (Wageningen), y otro aislado sobre plantas enfermas de melón en Almería y codificado como MNSV-A1. Ambos aislados se inocularon mecánicamente sobre plántulas de melón cv. Galia, pepino cv. Pepinex, sandía cv. Sugar Baby y calabacín cv. Elite. Hojas e hipocotilos de las plántulas de pepino inoculadas con los dos aislados fueron posteriormente analizadas por serología y por retroinoculación sobre melón cv. Galia.

Comprobación de la patogenicidad del MNSV

Inoculación del MNSV sobre plantas adultas de melón en cultivo sobre maceta

La experiencia se realizó en el año 1991, en un invernadero de placas de PVC, de ambiente controlado con temperaturas de 20 a 35° C, situado en la finca del Centro de Investigación y Desarrollo Hortícola de la Mojenera (Almería).

La experiencia consistió en la inoculación mecánica con un aislado de melón de MNSV y en la inoculación con savia procedente de plantas de melón infectadas con el mismo aislado. Se utilizaron plantas de melón cv. Gallicum en dos sustratos, mezcla de turbas enriquecidas con abonos y vermiculita, ambos esterilizados con vapor de agua durante 30 min, tres días consecutivos. Los testigos fueron plantas sin inocular.

La siembra se realizó el 25 de marzo en macetas de 2 litros de capacidad, esterilizadas en autoclave durante 30 min a 120° C.

Las macetas se mantuvieron a una distancia de 40 cm para impedir el contacto entre las plantas, que se entutoraron y regaron con una solución nutritiva (García, comunicación personal) idónea para su desarrollo.

La inoculación sobre 20 plantas por tratamiento y sustrato, se realizó cuando las plantas se encontraban en estado de cotiledón y se iniciaba la formación de la primera hoja verdadera. La técnica que se utilizó es la descrita anteriormente en el apartado 2.1.1. para la inoculación mecánica. Para la inoculación con savia se homogeneizaron tejidos infectados, en relación 0,5 % (p/v) en mortero con agua destilada, filtrándose posteriormente por gasa estéril y regándose con 25 ml por maceta. Al término del cultivo, a los 102 días de la siembra, las hojas y el hipocotilo de todas las plantas se analizaron por serología.

Inoculación del MNSV sobre plantas adultas de melón en cultivo hidropónico

La experiencia se realizó en el año 1991, en un invernadero tipo túnel de 300 m², también situado en la finca del Centro de Investigación y Desarrollo Hortícola de la Mojenera.

El diseño estadístico utilizado fue de bloques al azar con tres repeticiones. Los niveles comprobados fueron: Inoculación mecánica con un aislado de melón de MNSV, inoculación con *Olpidium radicale*, procedente de raíces de plantas de melón infectadas por el virus, y plantas sin inocular.

La siembra de melón cv. Gallicum se realizó el 26 de agosto, sobre tacos de 4×4 cms de lana de roca colocados en un invernadero de ambiente controlado, con temperaturas de 20 a 35° C. Posteriormente se transplantaron al invernadero el 12 de septiembre.

El cultivo de melón se realizó sobre tablas de lana de roca de 100 × 10 × 10 cms. El número de plantas de melón por parcela elemental fue de 10, con un marco de plantación de 2 × 0,5 m en líneas pareadas, y colocando dos plantas por tabla.

Las inoculaciones se realizaron 25 días después del trasplante, cuando las plantas tenían de 11 a 15 hojas verdaderas. La inoculación con *O. radicale* se realizó regando cada planta con 60 ml. de un triturado de raíces de siete plantas de melón con el hongo. Estas plantas crecieron durante un período de 70 días en contenedores de 1 litro de capacidad con vermiculita. La inoculación mecánica se realizó sobre dos hojas por planta, la cuarta por encima de los cotiledones y la cuarta por debajo del ápice.

Al término del cultivo, las raíces, el ápice y la zona del hipocotilo de todas las plantas se analizaron para detectar la presencia o ausencia de *Olpidium* y de MNSV, respectivamente.

RESULTADOS

Síndrome de la enfermedad

El síndrome que se presenta en los invernaderos de Almería es el siguiente: Sobre las hojas jóvenes de la planta se observan pequeñas manchas cloróticas de 0,5 a 2 mm de diámetro, que posteriormente se necrosan (Cribado) (Fig. 3). A la vez, en el tallo aparecen estrías necróticas (Fig. 4) de longitud muy variable, desde escasos milímetros hasta incluso más de 70 cms, observables también en los peciolo de las hojas y en los pedúnculos del fruto. Sobre las hojas inferiores e intermedias se aprecian, en algunos casos, necrosis de los nervios (Fig. 5) de extensión variable, síntoma que aquí se conoce bajo el nombre de "enrejado". Asimismo, sobre la base del tallo aparece una necrosis (Fig. 6) de color marrón oscuro o claro que parece afectar sólo a la epidermis y con mucha frecuencia constituye el único síntoma de la enfermedad. Las plantas que muestran precozmente los síntomas crecen más lentamente que las sanas normalmente permanecen vivas y no productivas y las hojas formadas con posterioridad son de pequeño tamaño, de color verde oscuro, con o sin el síntoma del cribado. Por el contrario, las plantas sintomáticas después del cuajado de los frutos suelen marchitarse y morir. Ocasionalmente, en porcentajes variables del 1 al 15 %, las plantas mueren sin mostrar ninguno de los síntomas aéreos antes descritos.

Al cortar el tallo transversalmente, unas veces el sistema vascular aparece con tintes marrones y otras, las más numerosas, completamente deshidratado.

Cuando se extraen las plantas del suelo, el sistema radicular, sobre todo las raíces principales y secundarias, en ocasiones tienen una apariencia de sanos, y, sin embargo, en otras, poseen un aspecto marrón con o sin podredumbre. En ambos casos las plantas, sobre todo las que han sido transplantadas, presentan un sistema radicular

escaso y se desprenden del suelo con bastante facilidad.

Normalmente la enfermedad comienza con una distribución por líneas y en algunos casos llega a afectar a la totalidad del invernadero. Se manifiesta tanto en cultivos de siembra directa como de transplante con cepellón, en cultivos entutorados y sin entutorar, en otoño y sobre todo en primavera, ya sean siembras tempranas o tardías, en suelos desinfectados con bromuro de metilo o metam-Na y en suelos sin desinfectar e incluso en cultivos sin suelo, en riego por goteo y a pie, e independientemente de la calidad del agua. Afecta al melón de tipo amarillo, cantaloup y sobre todo a los de tipo Galia. Con respecto al estado vegetativo de la planta, la enfermedad aparece principalmente durante la maduración y recolección de los primeros frutos, aunque a veces se presenta incluso antes del cuajado de éstos.

Identificación del virus

Inoculación en plantas indicadoras

En las inoculaciones realizadas se observaron síntomas en cuatro especies de la familia de las Cucurbitáceas. En melón cv. Galia se observaron lesiones locales necróticas de 3 a 4 mm (Fig. 7) de diámetro en los cotiledones inoculados que posteriormente se secaron y, a veces, síntomas sistémicos consistentes en necrosis del hipocotilo y de los nervios de las hojas, estrías necróticas en los tallos y peciolo y manchas necróticas sobre las hojas del ápice (Fig. 8). Algunas de las plantas se marchitaron y murieron.

En pepino cv. Pepinex se observaron pequeñas lesiones locales necróticas blancas de 1 mm. de diámetro en los cotiledones y sobre sandía cv. Sugar Baby lesiones locales necróticas de 3 a 4 mm de diámetro, colapso de los cotiledones y necrosis del hipocotilo.



Fig. 3.— Manchas necróticas sobre las hojas (cribado).

Fig. 4.— Estrías necróticas sobre los tallos.





Fig. 5.— Necrosis de los nervios (enrejado).

Fig. 6.— Necrosis de la base del tallo.





Fig. 7.— Lesiones locales necróticas causadas por el MNSV en inoculación mecánica sobre cotiledones de melón.

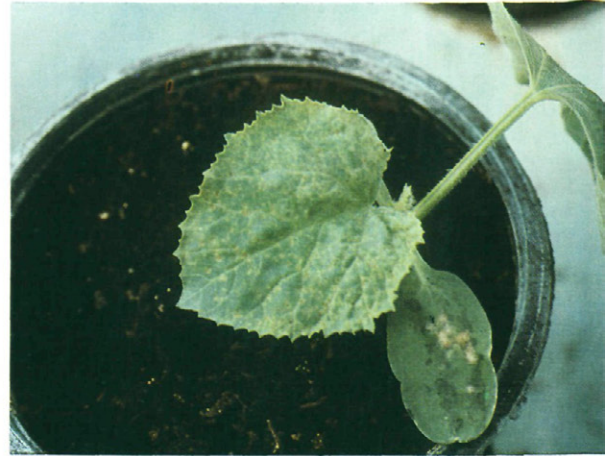


Fig. 8.— Lesiones necróticas sistémicas en la primera hoja verdadera, causadas por el MNSV en inoculación mecánica sobre cotiledones de melón.

Sobre *Luffa acutangula* se observó un moteado clorótico sobre las hojas no inoculadas.

No presentaron ningún tipo de síntomas las siguientes especies: *Cucurbita pepo* cv. Elite, *Datura stramonium*, *Gomphrena globosa*, *Chenopodium quinoa*, *Ch. amaranticolor*, *Vigna unguiculata*, *Petunia hybrida*, *Nicotiana tabacum* Xanthi, Samsun y White Burley, *N. clevelandii*, *N. glutinosa*, *N. benthamiana* y *N. rustica*.

Pruebas Serológicas

Las diluciones del extracto vegetal más adecuadas para distinguir entre plantas

infectadas por el virus y controles sanos fueron de 1/20 para los análisis realizados a partir de hojas y 1/10 para los realizados a partir de la zona de los hipocotilos.

La mejor dilución del antisero MNSV fue de 1/25.000 en ambos casos.

El virus, analizado a partir de rodajas de melón y sandía, se detectó en el 73,90 % en las tres zonas analizadas, y en el 26,10 % restante, solamente, en alguna de ellas. Sin embargo, cuando el análisis se realizó a partir de tiras longitudinales, el MNSV se detectó en el 100 % de las muestras de melón y de sandía. Los resultados por zonas y cultivos se reflejan en el Cuadro 1.

Cuadro 1.— Rendimiento de análisis serológicos de plantas de melón y sandía con MNSV. Se expresa en porcentaje de plantas con reacción positiva sobre cada una de las zonas analizadas, sobre las tres zonas y sobre lonchas.

Nº de plantas analizadas	Especie analizada	Apice de la raíz	Zona intermedia	Inserción cotiledones	En todas las zonas	Lonchas
102	Melón	93,10	88,20	83,30	75,50	100,0
9	Sandía	88,80	77,70	66,70	55,60	100,0



Fig. 9.— Lesiones locales necróticas blancas causadas por el MNSV-A1 en inoculación mecánica sobre cotiledones de pepino.



Fig. 10.— Lesiones locales necróticas causadas por el MNSV en inoculación mecánica sobre hojas de plantas de melón en cultivo hidropónico.

En los análisis realizados sobre plantas procedentes de cultivos comerciales, el virus se detectó en los 18 invernaderos de melón y en los 6 de sandía.

En 61 plantas de melón con síntomas de marchitez, necrosis de hipocotilo y sin síntomas de cribado en hojas del ápice, el virus se detectó en todas las plantas en la zona del hipocotilo, y sólo en el 39 % de las muestras cuando el análisis se realizó sobre hojas asintomáticas.

El virus se detectó siempre en hojas con síntomas de cribado o necrosis de los nervios y en las estrías necróticas sobre los tallos, peciolos y pedúnculos. Ocasionalmente, el virus se detectó en plantas muertas asintomáticas.

Con respecto a los análisis de sandía, el virus se detecta en porcentajes superiores al 90 % en la zona del hipocotilo y nunca de las hojas apicales.

Comparación de aislados

El aislado MNV-Cu 18 produjo sobre los cotiledones de pepino grandes lesiones locales necróticas de 3 a 4 mm de diámetro,

necrosis del hipocotilo y cribado en las hojas jóvenes no inoculadas, mientras que MNSV-A1 sólo produjo pequeñas lesiones locales necróticas blancas (Fig. 9) de 1 mm de diámetro sobre los cotiledones. Ambos aislados ocasionaron sobre melón síntomas similares a los descritos en el apartado de plantas indicadoras, no originando ningún síntoma sobre calabacín. Sobre sandía, los dos aislados produjeron grandes lesiones locales necróticas en los cotiledones.

El virus, en las plantas de pepino inoculadas en el MVNV-Cu 18, se detectó en los cotiledones e hipocotilos por serología y por retroinoculación sobre melón, mientras que en las inoculadas con MNSV- A1 ambos análisis fueron negativos.

Patogeneidad del MNSV

Sintomatología de plantas adultas de melón cultivadas en maceta e inoculadas con MNSV

Los resultados sobre los síntomas aparecidos en las plantas a lo largo de la experiencia se recogen en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Sintomatología de plantas de melón inoculadas con MNSV. Se expresa en porcentaje sobre el total de plantas inoculadas.

Sustrato	Tratamiento	Lesiones locales	Muerte Plantula	Cribado	Enrejado	Necrosis hipocotilo	Estría	Muerte Adultas	Detección MNSV
Vermiculita	Inoculación mecánica	100	15	45	45	85	85	45	100 100
	Inoculación savia	—	0	0	0	15	0	0	5 15
Sustrato	Inoculación mecánica	100	20	75	0	80	45	55	95 100
	Inoculación savia	—	0	0	0	25	0	0	10 25

Cuadro 3. Porcentaje de plantas con síntomas causados por el MNSV en inoculación mecánica y a través de un aislado virulífero de *O. radiale*.

Tratamiento	Lesiones locales	Cribado	Enrejado	Necrosis hipocotilo	Estría	Muerte Plantas	Detección MNSV
Inoculación mecánica de MNSV	100	86,7	63,3	0	90,0	86,7	100
Inoculación con <i>Olpidium</i> MNSV	—	6,7	26,7	93,3	60,0	76,7	100

Todas las plantas inoculadas mecánicamente mostraron reacción en forma de manchas necróticas sobre las hojas inoculadas; sin embargo, los porcentajes de infección sistémica fueron variables según el síntoma observado. Dichas reacciones fueron más precoces en las plantas cultivadas sobre vermiculita, en las cuales aparecieron entre 5 y 7 días antes que en el sustrato de turba. Algunas plantas, con el síntoma de cribado en las hojas, comenzaron a marchitarse y morir a partir de los quince días de la inoculación. Cabe resaltar que durante los 92 días que se mantuvo la experiencia, después de la inoculación, murieron el 50 % y el 75 % de las plantas cultivadas sobre vermiculita y

sustrato, respectivamente. Las plantas sin inocular no mostraron ningún tipo de síntomas.

Sintomatología de plantas adultas de melón en cultivo hidropónico inoculadas con MNSV

Los resultados sobre los síntomas locales y sistémicos aparecidos en las plantas a lo largo de la experiencia se muestran en el Cuadro 3. Fueron patentes las diferencias entre los síntomas producidos por el MNSV inoculado mecánicamente e inoculado mediante *Olpidium radiale*. Existieron dife-

rencias significativas con respecto a los síntomas de cribado en hojas, necrosis de los nervios de las hojas y necrosis del hipocotilo. Sin embargo, no hubo diferencias con respecto al número de plantas muertas. Sólo una de las treinta plantas inoculadas con *O. radiale* murió sin mostrar síntomas visibles. Las plantas testigos no mostraron ningún síntoma y los análisis para la detección de MNSV y de *O. radiale* fueron negativos.

Las producciones comerciales fueron de 4,6; 0,72 y 0,70 Kg./m² para respectivamente, las plantas testigos, las inoculadas mecánicamente con el MNSV y las inoculadas a través de su vector.

CONCLUSIONES

Se ha establecido la presencia del MNSV, en plantas de melón y sandía de los invernaderos de la provincia de Almería, por el método de plantas indicadoras y por serología. Las plantas de melón que mostraron manchas necróticas o necrosis de hojas, tallos y de la zona del hipocotilo, indujeron por inoculación mecánica en melón, pepino y sandía, manchas locales necróticas en las hojas noculadas y a veces, síntomas necróticos sistémicos sobre melón y moteado clorótico sistémico sobre *Luffa acutangula*, típicos de MNSV (GONZÁLEZ-GARZA *et al.*, 1979; BOS *et al.*, 1984; AVGELIS, 1985; HIBI & FURUKI, 1985; TOMLINSON & THOMAS, 1986).

Los diferentes síntomas inducidos sobre las plantas de pepino por el aislado holandés de pepino y por el aislado español de melón, unido a la ausencia de síntomas en las plantas de pepino cultivadas en los mismos invernaderos donde se infecta el melón (GÓMEZ, 1990), parece sugerir que los dos aislados son cepas con diferentes capacidades para inducir síntomas de un mismo virus.

El D.I.A. para el análisis de las muestras se ha mostrado rápido y fiable cuando se han utilizado tejidos adecuados para preparar los extractos de plantas. Los cor-

tes longitudinales del hipocotilo dieron, consistentemente, una reacción positiva, cuando las plantas infectadas no mostraron lesiones necróticas en hojas o tallos. Los extractos de hojas, tallos, peciolos, frutos y pedúnculos, con lesiones necróticas, dieron usualmente una reacción positiva, mientras que en órganos asintomáticos la reacción fue variable. En sandía sólo se obtuvo una reacción positiva en la zona del hipocotilo.

El MNSV inoculado en plantas de melón, cultivadas en macetas durante tres meses, causó el marchitamiento y muerte del 50 % de las plantas. El porcentaje de plantas muertas fue todavía mayor, en melón inoculado en estado adulto en cultivo hidropónico. La mayoría de las plantas inoculadas con *Olpidium radiale* mostraron necrosis del hipocotilo, siendo en ocasiones el único síntoma de la enfermedad, marchitamiento y muerte. Una de estas plantas murió sin mostrar ningún síntoma visible.

Esta es básicamente la situación en los invernaderos comerciales de melón, en los que algunas plantas muestran manchas necróticas o estrias típicas de MNSV y la mayoría se marchitan y mueren mostrando necrosis del hipocotilo, e incluso en pequeño porcentaje mueren sin que se observe ningún síntoma.

Los resultados indican que el síndrome de muerte súbita puede ser causado o estar estrechamente asociado a la infección por MNSV. La variabilidad de los síntomas observados quizás dependa de las condiciones ambientales y del estado vegetativo en el que se realice la infección, o incluso de la forma en que ésta suceda.

La presencia del MNSV o virus del cribado del melón en plantas enfermas de sandía en Almería, con síntomas distintos a los originados en Grecia por un aislado de MNSV obtenido de sandía (AVGELIS, 1989), deberá ser estudiada en un futuro para conocer la implicación parasitaria del virus y su proyección sobre una muerte súbita cada

vez más frecuente en la zona cuya etiología nos es hoy por hoy desconocida.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se ha realizado dentro de los proyectos de investigación "Estudio de los virus que afectan a las Cucurbitáceas en los cultivos intensivos de Almería", financiado por el I.N.I.A. y

"Enfermedades causadas en melón y pepino por hongos de suelo en cultivo hidropónico" financiado por la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.

Deseamos expresar nuestro agradecimiento al Dr. Avgelis (Plant Protection Institute, Herklion, Crete, Greece) por la donación del suero del MNSV y a D. Matías García Lozano por su asistencia técnica en el manejo de los cultivos hidropónicos.

ABSTRACT

CUADRADO, I. M.; GÓMEZ, J. y 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

This papers describe the symptoms of the disease known in the south east of Spain as "sudden death" (muerte súbita). This disease is the most important problem for growing melon in this area. Information about the identification of MNSV by indicator plants and serology is given in this study. The parogenicity of the mentioned virus is verified on adult plants of melon. The symptoms observed in our experiment and those in comercial plastics houses are similar.

Key words: melon, sudden death, symptomatology, virus, MNSV, *Olpidium radicale*.

REFERENCIAS

- AVGELIS, A., 1985. Occurrence of melon necrotic spot virus in Crete (Greece). *Phytopath. Z.* **14**: 365-372.
- AVGELIS, A., 1989. Watermelon necrosis caused by a strain of melon necrotic spot virus. *Plant Pathology* **38**, 618-622.
- 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.
- CEBOLLA V.; CAMPOS T.; GARCÍA M., 1990. *Rhizoctonia solani* causante del colapso del melón en el país valenciano. *Actas de Horticultura del III Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas*.
- COUDRIET D. L.; KISHABA, A. N., and CARROLL, J. E., 1979. Transmission of muskmelon necrotic spot virus in muskmelon by cucumber beetles. *Journal of Economic Entomology* **72**:560-561.
- CUADRADO I. M.; MORENO P., 1987. Detection of viruses by dot-immunobinding assay in cucurbit plants grown under plastic cover in Almería (Spain). *Procc.7th. Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*. Granada (Spain).
- CUADRADO I. M.; DE JUAN E.; MORENO P.; SAEZ E., 1991. Detección del Virus del Bronceado del tomate (TSWV) en cultivos de pimiento y tomatón del Virus del Bronceado del tomate (TSWV) en cultivos de pimiento y tomate bajo invernadero en el poniente almeriense. *Estudios de Fitopatología de la S.E.F.*: 216-221.
- GARCÍA J.; VELAZQUEZ M. T.; ALFARO A., 1991. *Acremonium sp.* Agente causal del colapso del melón en el Levante español. *Estudios de Fitopatología de la S.E.F.* : 68-72.
- GÓMEZ J., 1990. Presencia de *Olpidium brassicae y radicale* en Almería. *Actas de horticultura del III Congreso de la S.E.C.H.*
- GÓMEZ J.; CUADRADO I. y JUAN E., 1988: Muerte súbita del melón. *Poniente* **152**: 22-23.
- GÓMEZ J.; VELASCO V., 1991. Profundidad de conservación de *Olpidium radicale* en suelo. *Estudios de Fitopatología de la S.E.F.* : 244-248.

- GONZÁLEZ-GARZA, R.; GUMPF, D. J.; KISHABA A. N., and BOHN G.W., 1979. Identification, Seed Transmission, and Host Range Pathogenicity of a California Isolate of Melon Necrotic Spot Virus. *Phytopatology* **69**: 340-345.
- 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 7th. Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*. septiembre 1987.
- HAWKES, R.; NIDAY, E.; GORDON, J., 1982: A dot-immunobinding assay for monoclonal and other antibodies. *Anal. Biochem.* **119**: 142-147.
- HIBI T.; Furuki I. Melon Necrotic Spot Virus, 1985. *AAB Descriptions of plant Viruses* n° 302.
- LUIS, M., 1986. Virosis de cucurbitáceas. I Jornadas Nacionales de cultivos protegidos. Almería, 20 pp.
- LUIS, M., 1986. Virosis de cucurbitáceas en España. *Phytoma España* **25**: 9-16 (España). 20 pp.
- LOBO M., 1990. Colapso del melón producido por hongos del género *Monosporascus*. *Bol. San. Veg. Plagas*, **16**: 701-707.
- TELLO J. C.; GOMEZ J.; SALINAS J.; LACASA A., 1987. La fusariosis vascular del melón en los cultivos de Almería. *Cuadernos de fitopatología*, **10**.
- TELLO J. C.; GÓMEZ J.; CAMPOROTA P.; LACASA A., 1991. Capacidades parasitarias de *Pythium aphanidermatum* y de *Rhizoctonia solani* sobre pepino y melón. *Estudios de Fitopatología de la S.E.F.*: 102-108.
- 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 radicale*). *Ann. appl. Biol.*, **108**: 71-80.

(Aceptado para su publicación: 16 septiembre 1992)