

Evolución de los daños causados por *Acremonium cucurbitacearum* en raíz de melón en sus primeros estados de desarrollo

J. ARMENGOL, R. SALES Y J. GARCÍA-JIMÉNEZ

Acremonium cucurbitacearum es uno de los patógenos más importantes descritos en España asociado al colapso del melón. Este hongo se caracteriza por un ataque a las raíces de plantas de melón desde los primeros estadios de crecimiento. Se aprovecha esta característica para estudiar la evolución temporal de los daños en raíces de plantas de melón en presencia de diferentes niveles de inóculo de *A. cucurbitacearum*. Con la metodología seguida las condiciones óptimas para el estudio de patogenicidad de aislados de este hongo a plantas de melón cv. Piel de Sapo PS-1430 se dan a $50-100 \times 10^3$ U.F.C./g de suelo, realizando las observaciones a los 28 días de la inoculación.

J. ARMENGOL, R. SALES, J. GARCÍA-JIMÉNEZ. Unidad de Patología Vegetal, Dpto. de Producción Vegetal, E.T.S.I.A., Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n 46020, Valencia.

Palabras claves: Cucurbitáceas, hongos suelo, densidad de inóculo, *Cucumis melo*, colapso, muerte súbita.

INTRODUCCIÓN

Acremonium cucurbitacearum ALFARO-GARCÍA, W. GAMS et J. GARCÍA-JIMÉNEZ (ALFARO-GARCÍA *et al.*, 1996) es uno de los patógenos más importantes descrito en nuestro país asociado al colapso del melón y el único detectado en todas las zonas productoras de melón en las que se presenta este síndrome (GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.*, 1993; VELÁZQUEZ, 1993). Recientemente también ha sido descrito en Estados Unidos asociado a colapso de melón y sandía en California (BRUTON *et al.*, 1995a; GWYNNE *et al.*, 1997) y en Texas (BRUTON *et al.*, 1996) con idéntica sintomatología a la encontrada en España.

En la parte aérea el síndrome provocado por *A. cucurbitacearum* guarda grandes analogías con los provocados por otros diversos agentes patógenos (BRUTON, 1996; ZITTER, 1994; ZITTER *et al.*, 1996): el desarrollo aéreo

de la planta se presenta como normal hasta los estadios avanzados del cultivo, y en algunos casos aparece una desecación de las hojas más viejas con la presencia eventual de estrías necróticas en el tallo y ramas de la parte basal de la planta. En el momento del engorde de los frutos empieza a verse una flaccidez del extremo de los brotes que avanza hacia la base de los brazos provocando en unos pocos días la marchitez de la planta. La situación final en las parcelas afectadas suele ser de muerte más o menos generalizada de las plantas (GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.*, 1989; GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.*, 1994a).

En el caso de siembra directa los síntomas en la raíz son visibles a partir de la segunda o tercera semanas después de la siembra: se observa un amarilleamiento característico de la zona de unión del hipocotilo y la raíz de la plántula que poco a poco va tomando un color pardo, proceso que posteriormente se

extiende a toda la raíz. Desde sus primeros estadios de plántula reacciona emitiendo nuevas raicillas que a su vez se ven afectadas por el hongo (GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.*, 1989; GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.*, 1994a). Las zonas afectadas en las raíces principales e hipocotilo toman un aspecto acorchado y pardo, mientras que las raicillas se necrosan. Esta precocidad en la aparición de los síntomas en la raíz es una característica del ataque de *A. cucurbitacearum* y sirve para diferenciarlo del ataque de otros hongos productores de colapso (GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.*, 1994b).

Durante toda la vida de la planta se da un proceso continuo de emisión de nuevas raíces y su posterior destrucción. Al final aparecen zonas acorchadas y necróticas en las raíces principales que suelen comenzar en los puntos de inserción de antiguas raicillas, con podredumbres debidas al establecimiento de diversos invasores secundarios, principalmente *Fusarium* spp. (GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.*, 1989; GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.*, 1992; GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.*, 1994a).

Los estudios de patogenicidad realizados con *A. cucurbitacearum* se han llevado a cabo con diferentes técnicas de inoculación: en cultivo hidropónico (GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.*, 1991; GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.*, 1994b), en macetas con suelo estéril inoculado con un triturado del hongo tras crecer en PDA (GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.*, 1991; GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.*, 1994b), o con una mezcla de arena y salvado de avena en la que previamente había crecido el hongo (BRUTON *et al.*, 1995b). Con todas estas técnicas se demostró claramente la patogenicidad de este hongo a melón, y especialmente útil ha sido el método de cultivo hidropónico que permitió ensayar rápidamente gran cantidad de aislados y de material vegetal, aunque la técnica de inoculación mediante la mezcla de arena-salvado de avena se ha mostrado como la más eficaz debido al establecimiento previo del hongo en un sustrato similar al suelo y por permitir una mejor evaluación del número de propágulos viables utilizados en la inoculación.

La peculiaridad del ataque de *A. cucurbitacearum* afectando a melón desde los pri-

meros estadios de crecimiento de la planta podría ser aprovechado para un estudio rápido de la patogenicidad del hongo a melón en suelo. En este sentido, y en relación con lo expuesto anteriormente, el objetivo de este estudio es establecer la evolución temporal de los daños en raíz de plantas de melón en presencia de diferentes niveles de inóculo de *A. cucurbitacearum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamientos fúngicos utilizados. En el conjunto de las experiencias de este trabajo se han utilizado dos aislados de *A. cucurbitacearum* de melón: A-99, obtenido en 1987 en Sollana (Valencia) y A-462, aislado en 1991 en el Delta del Ebro (Tarragona).

Estos hongos se hicieron crecer en patata-dextrosa-agar (PDA) durante al menos 15-20 días a 26°C con un fotoperíodo alternante de 12 horas de oscuridad y 12 horas en luz día + ultravioleta cercana (Sylvania F-40 BLB), para que esporulasen y ser utilizados seguidamente en la producción de inóculo.

Producción de inóculo. Se mezclaron arena lavada y salvado de avena en la proporción 1000:91,5 (V/P) poniendo 500 ml de la mezcla en recipientes de 1 litro. Se añadieron 75 ml de agua a cada recipiente, se agitaron y se esterilizaron al autoclave tres veces a 120°C durante 1 hora, dejando pasar al menos 24 h. entre las sucesivas operaciones de autoclavado.

Cada uno de los recipientes fue inoculado con dos fragmentos de PDA en el que había crecido el hongo y se dejaban crecer a 25-30°C hasta que la mezcla colonizada tenía unos 5 cm. de diámetro, momento en que se agitaba el recipiente para distribuir uniformemente el hongo por toda la mezcla. Posteriormente los recipientes se incubaron a 25-30°C durante 21-28 días.

El conteo de unidades formadoras de colonias (U.F.C.) por gramo de mezcla de arena-salvado de avena de cada recipiente se realizó mediante el método de las diluciones sucesivas utilizando una solución al 1% de

hidroxietil celulosa como diluyente (DHINGRA y SINCLAIR, 1985).

Influencia de la fecha de observación.

Se utilizaron macetas de 10 cm de diámetro y como sustrato una mezcla de tierra, turba y arena a partes iguales, que previamente había sido esterilizada en autoclave a 120°C 1 hora, y a las que se añadía la suficiente cantidad de inóculo para conseguir las densidades de inóculo (D.I.) deseadas. Dado que no se tenía conocimiento de la influencia de la densidad de inóculo sobre los daños, se ensayó una amplia gama de D.I.: 5.000, 10.000, 25.000, 50.000, 75.000, 100.000, 125.000 y 150.000 U.F.C./g de suelo.

Semillas de melón cv. Piel de Sapo PS-1430 se esterilizaron superficialmente con hipoclorito sódico (1,5% de cloro activo, durante 1 minuto) y tras un lavado en agua estéril para eliminar los restos del desinfectante se colocaron sobre papel humedecido para favorecer la germinación. Una vez pregerminadas se sembraron cinco semillas por maceta a 2 cm de profundidad. Se sembraron un total de dos macetas por aislado, nivel de inóculo y fecha de observación. También se prepararon los correspondientes controles negativos sin inocular, y como controles positivos se utilizaron macetas con dos muestras de suelo naturalmente infestado procedentes de las poblaciones de La Alcuja y Pueblo Nuevo (Valencia) en las que en ensayos previos se había detectado el hongo.

Las macetas se llevaron a un invernadero controlado con unas condiciones ambientales de 20-30°C y con alta humedad relativa.

Las plantas se arrancaron a los 14, 21, 28 y 35 días después de la siembra. Las raíces se lavaron cuidadosamente para evitar la pérdida de raicillas y se procedió a la observación visual de los síntomas de la enfermedad.

Los daños fueron evaluados en una escala de 0 a 4 en la que a cada síntoma se le asignaron los siguientes valores agrupados en daños en hipocotilo, raíz primaria y raicillas: **0** = El hipocotilo, la raíz primaria y las raicillas están sanas; **1** = El hipocotilo, la raíz primaria y las raicillas empiezan a mostrar un

ligero pardeamiento; **2** = El hipocotilo presenta un pardeamiento moderado y comienza a notarse una reducción del córtex alrededor del cilindro vascular. En la raíz primaria empiezan a observarse un pardeamiento moderado y se ven algunas pequeñas lesiones. Las raicillas también presentan un pardeamiento moderado y empieza a notarse una reducción de barbada; **3** = El hipocotilo presenta un pardeamiento severo y empiezan a estar expuestos los haces vasculares. En la raíz primaria se observa un pardeamiento severo y lesiones abundantes. Las raicillas también presentan un pardeamiento severo, y la reducción de barbada es del 25 al 50%; **4** = El hipocotilo está muy dañado, en algunos casos su consistencia es blanda, el córtex suele estar completamente ausente y los haces vasculares completamente expuestos. La raíz primaria está muy dañada y se ven áreas necróticas. Las raicillas están también muy afectadas, con necrosis abundantes, y la reducción de barbada es superior al 50%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los Cuadros 1 (para el aislado A-99) y 2 (para el aislado A-462) se muestra el nivel de daños en hipocotilo, raíz primaria y raíces secundarias para cada nivel de inóculo, y fecha de observación como media de los valores de la evaluación de 10 plantas. Con estos datos se han obtenido las Figuras 1 y 2 en las que se representa la evolución de daños según el nivel de inóculo para cada una de las cuatro fechas de arranque de las plantas. En estas figuras también se han separado los daños en hipocotilo, raíz primaria y raicillas.

Para ambos aislados (A-99 y A-462) se observa que a los 14 días, los daños se mantienen en general a niveles bajos (con excepción de los daños provocados en hipocotilo por el aislado A-462 que ya son intermedios). A los 21 días los daños han aumentado en las tres zonas analizadas siendo especialmente evidentes en el caso de las raicillas. En esta fecha los daños crecen en una progresión casi

Cuadro 1. - Daños en raíces de plantas de melón cv. Piel de Sapo PS-1430 a los 14, 21, 28 y 35 días tras la siembra en suelo infestado con diferentes niveles de inóculo de *A. cucurbitacearum* A-99

14 días

Zona de raíz	Nivel de inóculo (U.F.C./ g) × 1.000								
	0	5	10	25	50	75	100	125	150
Hipocotilo	0,0 ^a	0,0	0,6	0,2	0,4	0,2	2,0	0,6	1,2
Raíz primaria	0,0	0,0	0,2	0,2	0,2	0,2	1,0	0,8	1,4
Raicillas	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2	0,0	0,6	1,0	0,8
Media ^b	0,0	0,0	0,3	0,2	0,3	0,1	1,2	0,8	1,1

21 días

Zona de raíz	Nivel de inóculo (U.F.C./ g) × 1.000								
	0	5	10	25	50	75	100	125	150
Hipocotilo	0,0	0,3	0,0	1,0	1,0	1,4	1,4	1,4	1,0
Raíz primaria	0,0	0,0	0,0	0,8	0,8	1,0	1,0	1,4	1,6
Raicillas	0,0	0,5	0,4	1,0	1,2	1,8	1,8	2,4	2,4
Media	0,0	0,3	0,1	0,9	1,0	1,4	1,4	1,7	1,7

28 días

Zona de raíz	Nivel de inóculo (U.F.C./ g) × 1.000								
	0	5	10	25	50	75	100	125	150
Hipocotilo	0,0	0,8	1,4	1,2	2,0	2,6	2,8	2,8	2,4
Raíz primaria	0,0	0,4	1,2	1,2	1,4	2,0	3,0	2,6	2,4
Raicillas	0,0	0,8	2,0	2,0	2,4	2,8	3,0	3,2	2,6
Media	0,0	0,7	1,5	1,5	1,9	2,5	2,9	2,9	2,5

35 días

Zona de raíz	Nivel de inóculo (U.F.C./ g) × 1.000								
	0	5	10	25	50	75	100	125	150
Hipocotilo	0,0	1,6	1,8	1,8	1,8	2,6	3,3	2,8	2,8
Raíz primaria	0,0	1,2	1,2	1,2	1,6	2,4	3,3	2,3	3,0
Raicillas	0,0	1,2	1,4	1,8	2,0	3,0	3,3	2,5	3,2
Media	0,0	1,3	1,5	1,6	1,8	2,7	3,3	2,5	3,0

^aMedia de 10 plantas; daños evaluados en una escala de 0 (sano) a 4 (muy afectado)

^bMedia de los daños en hipocotilo, raíz primaria y raicillas.

Cuadro 2. - Daños en raíces de plantas de melón cv. Piel de Sapo PS-1430 a los 14, 21, 28 y 35 días tras la siembra en suelo infestado con diferentes niveles de inóculo de *A. cucurbitacearum* A-462

14 días

Zona de raíz	Nivel de inóculo (U.F.C./ g) × 1.000								
	0	5	10	25	50	75	100	125	150
Hipocotilo	0,0 ^a	0,3	0,4	1,4	2	1,3	2,2	2,4	1,8
Raíz primaria	0,0	0,5	0,8	1,0	1,4	1,3	1,2	1,4	0,6
Raicillas	0,0	0,3	0,4	0,2	0,6	0,5	0,8	0,8	0,4
Media ^b	0,0	0,3	0,5	0,9	1,3	1,0	1,4	1,5	0,9

21 días

Zona de raíz	Nivel de inóculo (U.F.C./ g) × 1.000								
	0	5	10	25	50	75	100	125	150
Hipocotilo	0,0	0,4	1,0	2,0	2,6	2,6	3,4	3,0	3,0
Raíz primaria	0,0	0,8	0,8	1,6	2,0	2,2	3,2	2,8	2,8
Raicillas	0,0	1,2	1,8	2,0	2,4	3,0	3,8	3,4	3,3
Media	0,0	0,8	1,2	1,9	2,3	2,6	3,5	3,1	3,0

28 días

Zona de raíz	Nivel de inóculo (U.F.C./ g) × 1.000								
	0	5	10	25	50	75	100	125	150
Hipocotilo	0,0	1,2	1,8	2,2	2,3	2,8	3,0	3,0	2,8
Raíz primaria	0,0	1,2	2,0	2,2	2,8	3,2	2,4	3,0	2,8
Raicillas	0,0	1,2	2,0	2,6	3,0	3,0	3,0	3,5	3,2
Media	0,0	1,2	1,9	2,3	2,7	3,0	2,8	3,2	2,9

35 días

Zona de raíz	Nivel de inóculo (U.F.C./ g) × 1.000								
	0	5	10	25	50	75	100	125	150
Hipocotilo	0,0	0,8	1,4	2,8	3,2	3,2	3,0	3,0	3,4
Raíz primaria	0,0	0,6	1,6	2,5	3,4	3,2	3,4	2,6	3,4
Raicillas	0,0	1,2	1,8	3,0	3,4	3,4	3,4	3,2	3,6
Media	0,0	0,9	1,6	2,8	3,3	3,3	3,3	2,9	3,5

^aMedia de 10 plantas; daños evaluados en una escala de 0 (sano) a 4 (muy afectado)

^bMedia de los daños en hipocotilo, raíz primaria y raicillas.

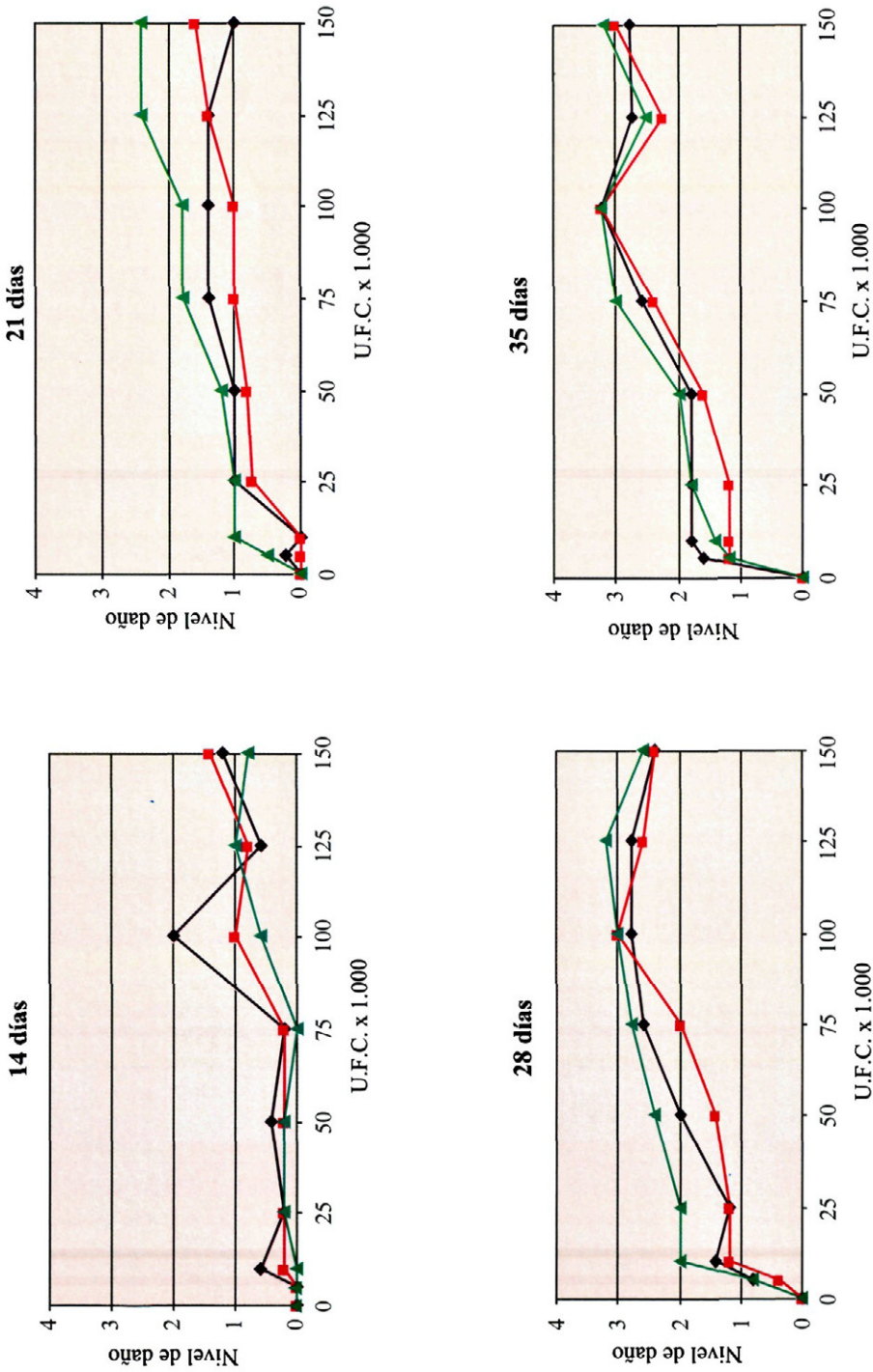


Fig. 1. - Daños en hipocotilo ◆, raiz primaria ■ y raicillas ▲ y melón cv. Piel de Sapo PS 1430 a los 14, 21, 28 y 35 días después de la siembra en suelo infestado con diferentes niveles de inóculo de *A. cucurbitacearum* A-99 evaluados en una escala de 0 (sano) a 4 (muy afectado).

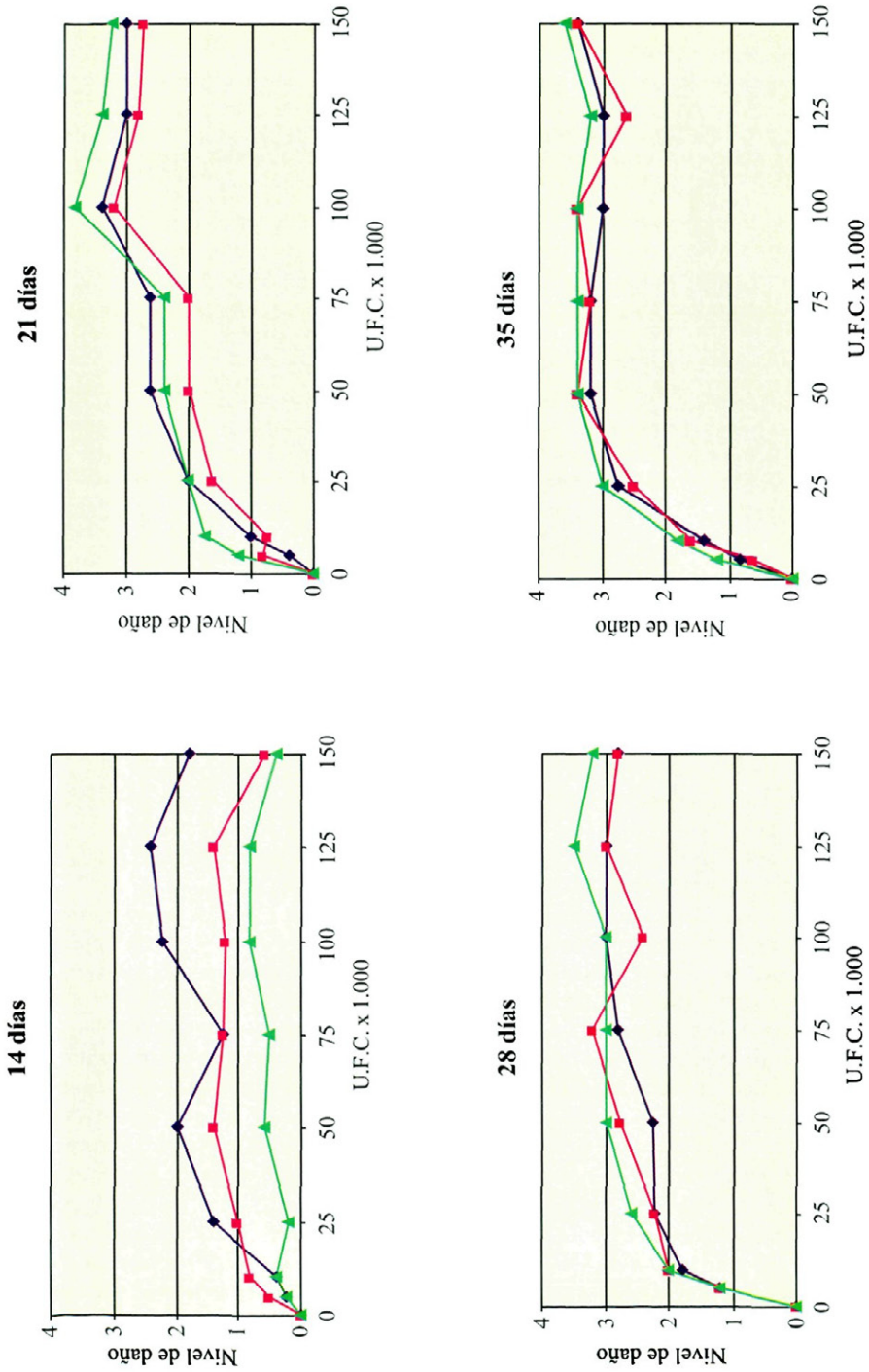


Fig. 2. - Daños en hipocotilo ◆, raiz primaria ■ y raicillas ▲ de melón cv. Piel de Sapo PS 1430 a los 14, 21, 28 y 35 después de la siembra en suelo infestado con diferentes niveles de inóculo de *A. cucurbitacearum* A-462 evaluados en una escala de 0 (sano) a 4 (muy afectado).

constante en el aislado A-99 desde el valor 0 de D.I. hasta 150×10^3 U.F.C./g y en el aislado A-462 con una progresión constante hasta 100×10^3 U.F.C./g, estabilizándose a partir de esa cantidad, en una evolución similar a la que se verá para los dos aislados a los 28 y 35 días. A partir de los 28 días los daños aumentan rápidamente de 0 a $50-100 \times 10^3$ U.F.C./g para estabilizarse alrededor del nivel 3 de daño, no encontrándose diferencias notables entre las tres zonas de la raíz analizadas. Similar comportamiento se observa a los 35 días.

En general se observa que a D.I. bajas, el nivel de daños crece con la D.I. para todas las fechas. A partir de los 28 días después de la siembra este crecimiento es muy rápido incluso a bajas D.I. y se estabiliza en daños altos con niveles alrededor de $50-75 \times 10^3$ U.F.C./g a partir de los cuales no se aprecian diferencias claras.

En general, a partir de los 21 días los daños son algo mayores para las raicillas que en el hipocotilo o en la raíz primaria aunque el comportamiento es muy similar para las tres zonas.

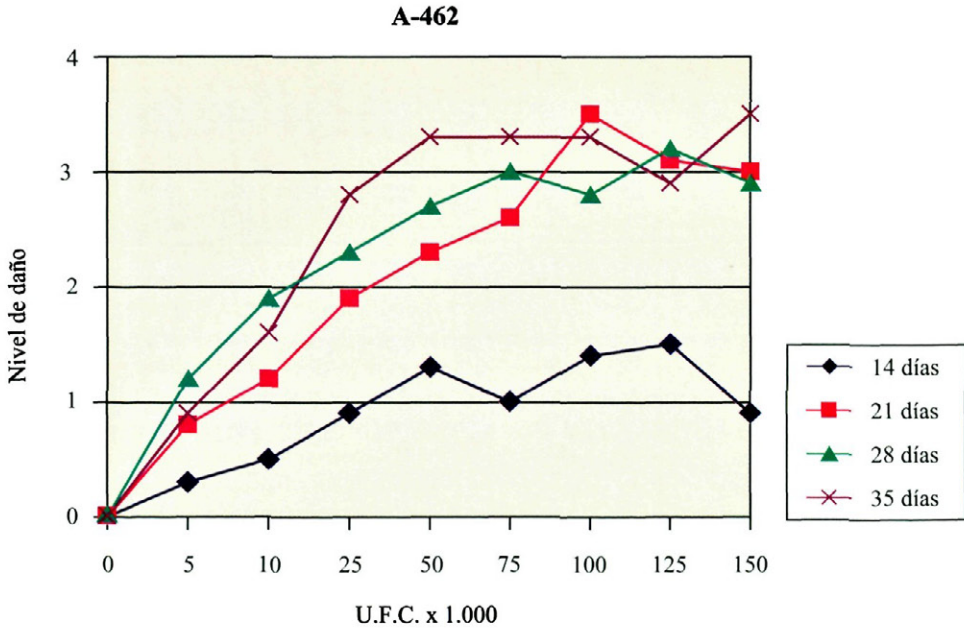
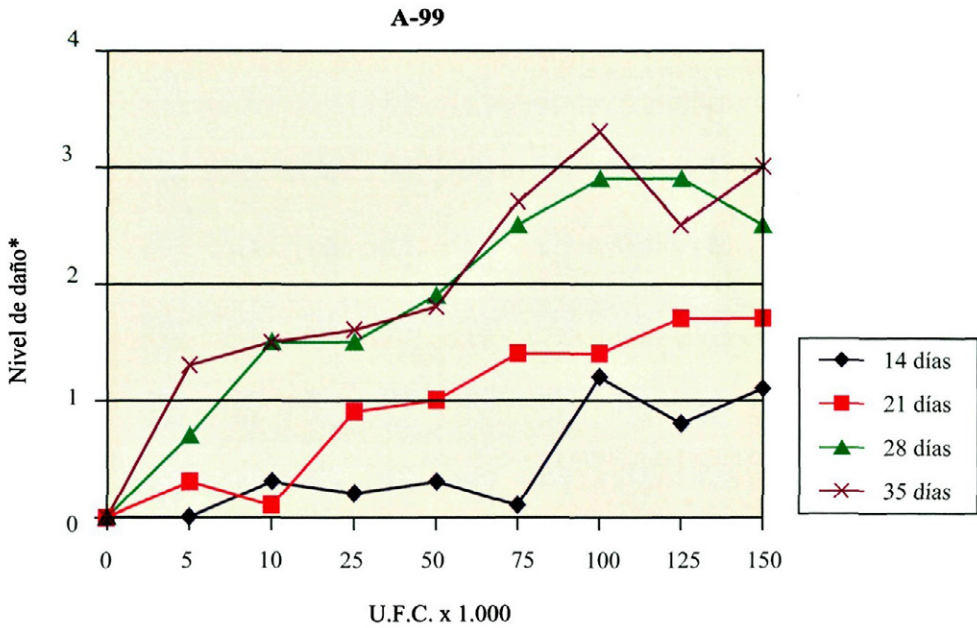
En la Figura 3 se representa la evolución de la media de los daños en hipocotilo, raíz primaria y raicillas para los dos aislados estudiados en las distintas fechas de lectura tras la inoculación. En esta figura, que resume lo mostrado en las dos figuras anteriores, se ve más claramente la evolución de los daños con las fechas. Para el aislado A-99 las curvas a los diferentes niveles de inóculo se ordenan de menor a mayor desde 14 días hasta 35 días en que los daños son mayores para casi todos los niveles de inóculo. Para el aislado A-462 esta gradación no es tan clara ya que se solapan las curvas de daños a los 21, 28 y 35 días, pero todas ellas quedan por encima de los daños observados a los 14 días. Se observa también cómo el daño crece con el nivel de inóculo estabilizándose a partir de $75-100 \times 10^3$ U.F.C./g para el aislado A-99, y de $50-75 \times 10^3$ para el aislado A-462.

Respecto a la evolución en el tiempo de los daños causados por *A. cucurbitacearum* en plantas de melón se observan claramente dos

tendencias en los síntomas observados en las raíces. En primer lugar los daños se producen rápidamente a los pocos días después de la siembra en el suelo artificialmente infestado, del mismo modo que se ha descrito para este hongo en suelos naturalmente infestados (GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.*, 1989; GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.*, 1994b). Ya a los 14 días se pueden ver daños, que en ese momento son más importantes en la zona del hipocotilo, posiblemente debido a que se trata de la zona que más tiempo está en contacto con el inóculo. Más tarde, a partir de los 21 días, esos daños son, en general, ligeramente mayores en raicillas manifestándose como pardeamientos y reducción de masa radicular. Entre los síntomas observados destaca también la reducción de córtex alrededor de la zona del hipocotilo que deja expuestos, y en algunos casos completamente separados, los haces vasculares. Esta sintomatología puede observarse también muchas veces en el cuello de plantas de melón afectadas en campo. En estudios preliminares sobre la histopatología del ataque de *A. cucurbitacearum* a melón (ARMENGOL *et al.*, 1996; Sales *et al.*, 1998) se ha indicado que esta sintomatología se debería a un proceso de destrucción del córtex de esa zona debido a la invasión del hongo. Finalmente, a los 28 y 35 días después de la siembra es cuando se alcanza un mayor nivel de daños en raíces.

A un nivel fijo de D.I. se ve claramente que los daños son mayores a medida que las lecturas avanzan en el tiempo, sobre todo de los 14 a los 28 días, no variando mucho los daños entre esta fecha y los 35 días.

Estos resultados son similares a los encontrados en otras enfermedades causadas por hongos del suelo en cucurbitáceas: MARTYN y McLAUGHLIN (1983) encontraron que la mayoría de cultivares de sandía ensayados frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, mostraban poca enfermedad a niveles bajos de inóculo (10^3 conidios/ml) pero resultaron afectados cuando los niveles de inóculo se incrementaron a valores altos (10^5 y 10^6 conidios/ml). Se ha descrito también una relación entre la densidad de inóculo y el



* Media de los daños observados en hipocotilo, raíz primaria y raicillas en una escala de 0 (sano) a 4 (muy afectado).

Fig. 3. - Daños en raíz de melón cv. Piel de Sapo PS-1430 provocados por los aislados de *A. cucurbitacearum* A-99 y A-462 en función de la densidad de inóculo y la fecha de observación.

tiempo en que tardan en manifestarse los síntomas: en sandía, SUMMER (1972) señaló que los cultivares de sandía enfrentados a diferentes densidades de inóculo de *F. oxysporum* f.sp. *niveum* mostraban marchitez severa de plantas a los 28 días de la siembra en suelos con $10^2 - 10^3$ propágulos fúngicos/g de suelo mientras que estos síntomas aparecían a los 16 días con niveles de $10^4 - 10^5$ propágulos/g. Asimismo los cultivares resistentes necesitaron de una mayor densidad de inóculo que los sensibles para que se manifestara la marchitez.

En el Cuadro 3 se muestran los resultados obtenidos en las plantas sembradas en suelo naturalmente infestado procedente de parcelas de La Alcudia y Pueblo Nuevo como media para hipocotilo, raíz primaria y raicillas de 10 plantas. Esos datos se han representado en la Figura 4.

En ambos suelos las plantas mostraron daños en raíces desde la primera fecha de arranque, 14 días, similares a los obtenidos en la inoculación artificial. Estos fueron más acusados en las plantas sembradas en tierra de La Alcudia que en la de Pueblo Nuevo. En la primera los niveles de daño fueron a los 28-35 días similares a los obtenidos en las inoculaciones artificiales a partir de 75.000 U.F.C./g, variando de 3,0 para hipocotilo y raíz primaria a 3,8 para raicillas. Con la tierra de Pueblo Nuevo los daños fueron menores aunque también siguieron una evolución ascendente con el tiempo.

Los valores obtenidos son similares a los del estudio con inoculación artificial, sobre todo para la tierra de La Alcudia, e inferiores para la tierra de Pueblo Nuevo. En ambos casos se comprobó el aislamiento de *A. cucurbitacearum* desde el primer arranque, pero además otros hongos saprofitos empezaron a aislarse sobre esas lesiones, pudiendo alterar o exacerbar el daño causado por *A. cucurbitacearum* tal como describieron GARCÍA-JIMÉNEZ *et al.* (1992).

En la inoculación artificial, para todas las fechas, a niveles bajos de D.I. crecen a medida que crece el nivel de inóculo. Sin embargo se ve claramente que a partir de determina-

Cuadro 3. - Daños en raíces de plantas de melón cv. Piel de Sapo PS-1430 a los 14, 21, 28 y 35 días tras la siembra en un suelo infestado naturalmente con *A. cucurbitacearum*

La Alcudia

Zona de raíz	Días tras la siembra			
	14	21	28	35
Hipocotilo	0,2 ^a	1,4	2,4	3,0
Raíz primaria	1,8	1,2	3,0	3,0
Raicillas	1,6	2,4	3,2	3,8

Pueblo Nuevo

Zona de raíz	Días tras la siembra			
	14	21	28	35
Hipocotilo	0,0	0,2	0,8	1,2
Raíz primaria	0,5	0,6	1,3	1,8
Raicillas	1,0	1,0	2,2	1,8

^aMedia de 10 plantas; daños evaluados en una escala de 0 (sano) a 4 (muy afectado)

dos niveles (50.000-100.000 U.F.C./g según el aislado o fecha de arranque) ya no hay un crecimiento efectivo de daños. BAKER (1971) describió la curva teórica que mostraba las relaciones entre la densidad de inóculo y la enfermedad. En ella, tras un incremento rápido de la enfermedad a niveles bajos de D.I., se produce un efecto de saturación a niveles altos de D.I. en que por competición de propágulos un incremento de D.I. no se traduce en un incremento de enfermedad. Esta última es la denominada zona de pendiente de transición. Ese mismo efecto se ha puesto de manifiesto en esta experiencia con un rápido incremento de la enfermedad a niveles bajos de D.I. hasta llegar a ese momento en que ya no se produce un incremento real de daños en las raíces.

BRUTON *et al.* (1995b) determinaron como óptimo para la evaluación de la patogenicidad de *A. cucurbitacearum* un nivel de 10.000 U.F.C./g pero en su trabajo utili-

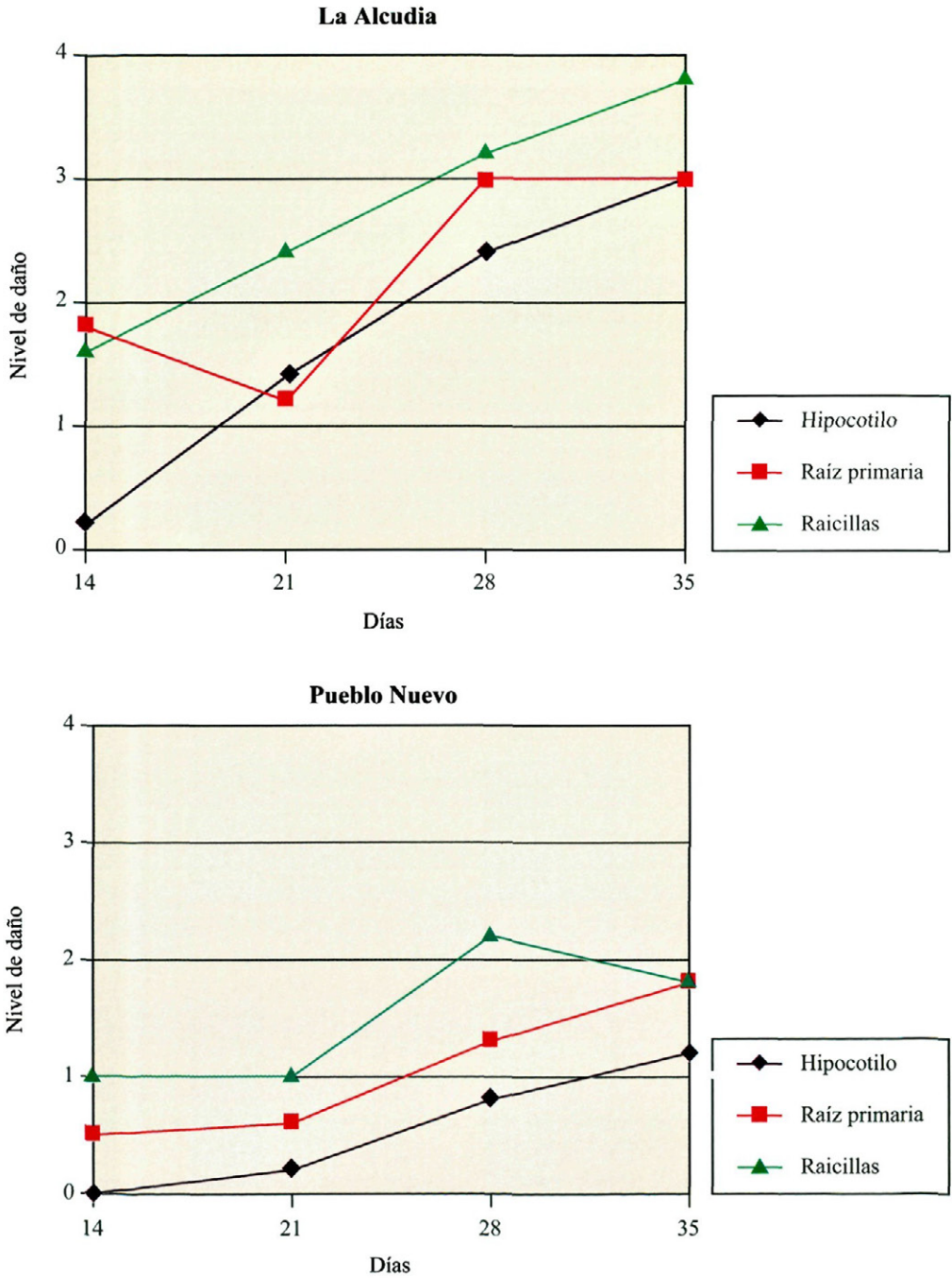


Fig. 4. - Daños en hipocotilo, raíz primaria y raicillas de melón cv. Piel de Sapo PS-1430 a los 14, 21, 28 y 35 días después de la siembra en suelo naturalmente infestado evaluados en una escala de 0 (sano) a 4 (muy afectado).

zaron aislados procedentes de California y las pruebas se realizaron con el cultivar tipo «Cantalupo» Magnum 45 con lo que sus resultados no son comparables a los aquí obtenidos. Además, en su estudio indican que con esa densidad de inóculo algunos de los aislados menos virulentos de *A. cucurbitacearum* pueden aparecer como no patógenos.

En función de los resultados obtenidos en este trabajo se puede concluir que, con la metodología seguida, una D.I. de $50-100 \times$

10^3 U.F.C./g de suelo y observaciones a los 28 días resultan las condiciones óptimas para estudiar la patogenicidad de los aislados de *A. cucurbitacearum*.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se enmarca dentro de los Proyectos de Investigación AGF94-0520 y AGF97-1208-C03-01 financiados por la CICYT.

ABSTRACT

ARMENGOL J., R. SALES Y J. GARCÍA-JIMÉNEZ, 1999: Evolución de los daños causados por *Acremonium cucurbitacearum* en Raíz de Melón en sus primeros estados de desarrollo. *Bol. San. Veg. Plagas*, 25 (3): 265-277.

Acremonium cucurbitacearum is one of the most important pathogens described in Spain associated to melon vine decline. A characteristic of this fungus is the early attack to the roots of melon plants since the first growing stages. In this sense, disease development related to the time and different inoculum densities of *A. cucurbitacearum* is studied. $50-100 \times 10^3$ C.F.U/g of soil and observations 28 days after inoculation are the best conditions to set up pathogenicity tests of *A. cucurbitacearum* isolates.

Key words: Cucurbits, soil fungi, inoculum density, *Cucumis melo*, vine decline, collapse, sudden death.

REFERENCIAS

- ALFARO-GARCÍA, A.; ARMENGOL, J.; BRUTON, B. D.; GAMS, W.; GARCÍA-JIMÉNEZ, J., and MARTÍNEZ-FERRER G., 1996: The taxonomic position of the causal agent of Acremonium collapse of muskmelon. *Mycologia* 88 (5): 804-808.
- ARMENGOL, J.; SANZ, E.; MARTÍNEZ-FERRER, G.; SALES, R.; BRUTON, B. D., and GARCÍA-JIMÉNEZ J., 1998: Host range of *Acremonium cucurbitacearum*, cause of Acremonium collapse of muskmelon. *Plant Pathology* 47 (1): 29-35.
- ARMENGOL, J.; MARTÍNEZ-FERRER, G.; SALES JUNIOR, R., y GARCÍA-JIMÉNEZ, J., 1996: Estudios preliminares sobre la histopatología del ataque de *Acremonium cucurbitacearum* a melón. Resúmenes del VIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología: 156. Córdoba. Septiembre 1996.
- BAKER, R., 1971: Analyses involving inoculum density of soil-borne plant pathogens in epidemiology. *Phytopathology* 61 (12): 1280-1292.
- BRUTON, B. D., 1996: Una perspectiva histórica del decaimiento de cucurbitáceas en los Estados Unidos. Resúmenes VIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología: 30. Córdoba. Septiembre 1996.
- BRUTON, B. D.; DAVIS, R. M., and GORDON, T. R., 1995a: Occurrence of *Acremonium* sp. and *Monosporascus cannonballus* in the major cataloupe and watermelon growing areas of California. *Plant Disease* 79 (7): 754.
- BRUTON, B. D.; GORDON, T. R. and DAVIS, R. M., 1995b: Optimum CFU concentrations for testing pathogenicity of California cucurbit isolates of *Monosporascus cannonballus* and an *Acremonium* sp. *Phytopathology* 85(10): 1119.
- BRUTON, B. D.; MILLER, M. E., and GARCÍA-JIMÉNEZ, J., 1996. Comparison of *Acremonium* sp. from the lower Rio Grande Valley of Texas with *Acremonium* sp. from Spain. *Phytopathology* 86 (11) (Supplement): 3.

- DHINGRA, O. D., and SINCLAIR J. B., 1985: Basic plant pathology methods. Ed. CRC Press, Inc. Boca Raton. Florida (USA) (355pp).
- GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; VELÁZQUEZ, M.^a T., y ALFARO-GARCÍA, A., 1989: Secuencia de síntomas en el colapso del melón. Boletín de Sanidad Vegetal Plagas 4: 333-342.
- GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; VELÁZQUEZ, M.^a T., y ALFARO-GARCÍA, A., 1991: *Acremonium* sp. agente causal del colapso del melón en el Levante Español. En: Estudios de Fitopatología: 68-72. D.G.I.E.C.A., Junta de Extremadura. Badajoz.
- GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL, J., MARTÍNEZ-FERRER, G., VELÁZQUEZ, M.^a T., y ALFARO-GARCÍA, A., 1992: Evolución del aspecto de la raíz de melón y su micoflora asociada en una parcela afectada de muerte súbita. Phytoma España 41: 13-18.
- GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; MARTÍNEZ-FERRER, G.; ARMENGOL, J.; VELÁZQUEZ, M.^a T.; ORTOS, M.; JUÁREZ, M.; ORTEGA, A.; JORDÁ, C., y ALFARO-GARCÍA, A., 1993: Agentes asociados al «colapso» del melón en distintas zonas españolas. Boletín de Sanidad Vegetal Plagas 19: 401-423.
- GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL, J., y MARTÍNEZ-FERRER 1994a: Acremoniosis (*Acremonium* sp.). En: DÍAZ RUIZ, J. R. y GARCÍA-JIMÉNEZ, J. (Ed.): Enfermedades de las cucurbitáceas en España: 32-38. S.E.F. – Phytoma España Valencia (155pp).
- GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; VELÁZQUEZ, M.^a T.; JORDÁ, C., and ALFARO-GARCÍA, A., 1994b: *Acremonium* species as the causal agent of muskmelon collapse in Spain. Plant Disease 78 (4): 416-419.
- GWYNNE, B. J.; DAVIS, R. M. and GORDON, T. R., 1997: Occurrence and pathogenicity of fungi associated with melon vine decline in California. Phytopathology 87 (6): S37.
- MARTYN, R. D. and MCLAUGHLIN, R. J., 1983: Effects of inoculum concentration on the apparent resistance of watermelons to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. Plant Disease 67 (5): 493-495.
- SALES, R.; GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; MOYA, M. J.; ARMENGOL, J., y GARCÍA-LUÍS, A., 1998: Histopatología de las primeras fases del ataque de *Acremonium cucurbitacearum* ALFARO-GARCÍA, W. GAMS et J. GARCÍA-JIMÉNEZ a melón. Resúmenes del IX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología: 237. Salamanca. Octubre 1998.
- SUMMER, D. R., 1972: The effect of inoculum density on severity of *Fusarium* wilt of watermelon. Phytopathology 62 (7): 807.
- VELÁZQUEZ, M.^a T., 1993: Etiología y control del colapso o muerte súbita del melón. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- ZITTER, T. A., 1994: Sudden wilts of melons from a North-eastern U. S. perspective: 44-47. En: Cucurbitaceae'94. G. Lester and Dunlap, Eds. Gateway Printing, Edimburg, TX.
- ZITTER, T. A.; HOPKINS, D. L., and THOMAS, C. E., 1996: Compendium of cucurbit diseases. APS Press. St. Paul-Minnesota USA (87pp).

(Recepción: 16 noviembre 1998)
(Aceptación: 23 mayo 1999)