

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE  
VALENCIA**

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS  
AGRÓNOMOS**

**DEPARTAMENTO DE ECOSISTEMAS AGROFORESTALES**



**Estudios epidemiológicos y de  
patogenicidad de  
*Monosporascus cannonballus*  
Pollack et Uecker**

**TESIS DOCTORAL**

Doctorando:

D. Roberto Beltrán Martínez

Directores:

Dr. José García Jiménez

Dr. Josep Armengol Fortí

Valencia, 2006

# I. INTRODUCCIÓN

# I. INTRODUCCIÓN

## I.1. EL CULTIVO DE CUCURBITÁCEAS: ORIGEN, USOS, NECESIDADES E IMPORTANCIA

### I.1.1. Origen y usos

Las plantas de esta familia fueron de las primeras que fueron cultivadas por los seres humanos (Esquinas-Alcázar y Gulick, 1983). Diversos estudios apuntan que muchas de las especies de cucurbitáceas cultivadas en la actualidad lo vienen siendo desde hace más de 10.000 años (Robinson y Decker-Walters, 1997; Maroto, 2002a). Sus centros de origen parecen ser muy variados: se han encontrado indicios de cultivo del calabacín en Florida desde hace más de 10.000 años, mientras que algunas especies de calabazas se cultivan en América desde el 5000 a.C. (Robinson y Decker-Walters, 1997). El pepino tuvo su origen en el África tropical y su cultivo fue extendido por Europa por griegos y romanos, que ya utilizaban ciertas técnicas de cultivo avanzadas (Maroto, 2002a). El melón tuvo varios centros de origen (África y oeste de Asia) en los que fue cultivado desde antiguo. En Europa su cultivo se remonta al final del Imperio Romano, aunque en España su cultivo fue reintroducido por los árabes (Zapata *et al.*, 1989; Maroto, 2002a). Respecto a la sandía, su centro de origen fue África, aunque otros estudios apuntan a que hubo también un centro de origen y/o diversificación en Asia; en cualquier caso, su cultivo data de antes del IV milenio a.C. (Maroto, 2002a; 2002b).

De entre las especies de interés agrícola de la familia de las cucurbitáceas en las zonas templadas, en cuanto a superficie cultivada y producción destacan el melón (*Cucumis melo* L.), la sandía (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai), el pepino (*Cucumis sativus* L.), el calabacín (*Cucurbita pepo* L.) y algunos tipos de calabaza, como *Cucurbita maxima* Duch., *Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret, *Cucurbita mixta* Pang, *Cucurbita ficifolia* Bouché, etc. (Robinson y Decker-Walters, 1997). Otras especies cultivadas, aunque de menor importancia, son: *Benincasa*

*hispida* (Thunb.) Cogn., *Cydanthera pedata* (L.) Schrad., *Lagenaria siceraria* Mol. Standl., *Luffa acutangula* (L.) Roxb., *L. cylindrica* M.J. Roem., *Momordica charantia* L., *Sicaria odorifera* (Vell.) Naud., *Telfairia occidentalis* Hook. F. y *Trichosantes cucumerina* L. (Esquinas-Alcázar y Gulick, 1983). En España se cultivan también, aunque en cantidades poco significativas, el chayote (*Sechium edule* (Jacq.) SW.) y el kiwano (*Cucumis metuliferus* E. Mey), de origen americano y africano, respectivamente (Maroto, 1994).

El principal uso de las cucurbitáceas es la alimentación, sobre todo los frutos, y en algunas zonas también las semillas de algunas especies (Maroto, 2002a). En otros países del mundo algunas especies se emplean para usos diversos: recipientes, botellas, pipas para fumar, instrumentos musicales, fundas para el pene, máscaras, flotadores en redes de pesca, etc. (Robinson y Decker-Walters, 1997).

Adicionalmente, algunas especies de calabazas o sus híbridos (sobre todo de *C. maxima* x *C. moschata*) se han venido utilizando en los últimos años como patrones de injerto, dada su capacidad para aumentar el rendimiento de los cultivos, al resultar tolerantes frente a algunos hongos patógenos (Lee, 1994; Cohen *et al.*, 2002; Miguel, 2002; Rivero *et al.*, 2003).

### **1.1.2. Condiciones de cultivo**

En general, las especies de cucurbitáceas necesitan temperaturas moderadas o altas para su desarrollo; su óptimo suele encontrarse entre 25-30°C, sobre todo en la época de nascencia, en las que una temperatura inferior a 15°C puede impedir su desarrollo (Robinson y Decker-Walters, 1997). La radiación solar también es un factor a tener en cuenta, por su relación con la fotosíntesis, que puede tener importancia en la fase de cuajado de los frutos (Odet, 1985). Asimismo, el exceso de temperatura o radiación solar también puede ser un factor de riesgo, al provocar quemaduras por planchado en frutos (Maroto, 2002a).

Las cucurbitáceas se adaptan bien a los suelos con pH neutros o ligeramente alcalinos, bien aireados y que no presenten problemas de encharcamiento. El cultivo del melón prefiere un pH entre 6 y 7,5 (Odet, 1985), mientras que la sandía o el pepino pueden aguantar los pH ligeramente ácidos, hasta 5,5 (Maroto, 2002a).

### 1.1.3. Importancia del cultivo de cucurbitáceas

El melón y la sandía son las dos especies de cucurbitáceas más cultivadas en todo el mundo (Robinson y Decker-Walters, 1997). Debido a sus condiciones climáticas, España es un importante productor de estos cultivos. En las **Tablas 1.1** y **1.2** se muestran los datos de producción y superficie cultivada para los cultivos de melón y sandía, respectivamente, en los años 2003 y 2004 de los principales países productores.

**Tabla 1.1:** Datos de superficie cultivada y producción en el cultivo de melón en el mundo.

PAÍS	AÑO 2003		AÑO 2004	
	SUPERFICIE	PRODUCCIÓN	SUPERFICIE	PRODUCCIÓN
	CULTIVADA (ha)	(tm)	CULTIVADA (ha)	(tm)
China	509.300	13.756.904	558.500	14.338.000
Turquía	115.000	1.700.000	115.000	1.700.000
Irán	68.000	990.000	80.000	1.230.000
Rumanía	52.000	1.000.000	37.816	765.076
USA	45.320	1.236.440	45.180	1.150.440
España	40.400	1.031.900	38.100	1.102.400
Egipto	37.000	860.000	37.000	860.000
India	31.500	645.000	31.500	645.000
México	31.500	510.000	31.500	510.000
Pakistán	30.000	400.000	30.000	400.000
Italia	26.019	579.626	27.900	608.200
Marruecos	24.000	500.000	24.810	665.000

(Fuente: FAO, 2005)

Para ambos cultivos, el principal país productor es China. España pasó en el año 2004 a ocupar el quinto lugar en cuanto a cultivo de melón, con 38.100 ha y una producción de 1.102.400 tm, presentando un ligero aumento de la superficie cultivada en los últimos años (**Tabla I.1**). Con respecto al cultivo de sandía, en el año 2004 España se situó en el vigésimo-octavo lugar, con una superficie cultivada de 15.600 ha (**Tabla I.2**). No obstante, en cuanto a producción, España ocupó el octavo lugar en el mundo (FAO, 2005), con un total de 764.600 tm producidas, lo cual da idea del elevado rendimiento de este cultivo.

**Tabla I.2:** Datos de superficie cultivada y producción en el cultivo de sandía en el mundo.

PAÍS	AÑO 2003		AÑO 2004	
	SUPERFICIE	PRODUCCIÓN	SUPERFICIE	PRODUCCIÓN
	CULTIVADA (ha)	(tm)	CULTIVADA (ha)	(tm)
China	2.019.000	66.434.289	2.015.500	68.300.000
Rusia	155.000	450.000	113.400	920.350
Turquía	140.000	4.250.000	160.000	4.300.000
Irán	91.000	1.902.000	100.000	2.150.000
Brasil	74.000	620.000	75.000	622.000
Ucrania	65.000	350.000	50.000	350.000
USA	60.700	1.745.600	57.140	1.669.940
Egipto	57.000	1.450.000	62.000	1.600.000
México	42.979	970.055	42.979	970.055
Kazajstán	41.900	607.400	43.300	666.900
Uzbekistán	35.000	460.000	35.000	460.000
Argelia	32.000	465.000	32.000	465.000
-	.	.	.	.
España	15.600	714.000	16.300	764.600

(Fuente: FAO, 2005)

Estas dos cucurbitáceas son las más importantes en España en cuanto a superficie y producción, seguidas del pepino y el calabacín y, en menor medida, algunas especies de calabaza. En la **Tabla I.3** se presentan

los datos de producción, superficie y exportación para los principales cultivos de cucurbitáceas en España en los últimos años. En el caso del melón, la superficie cultivada y la producción disminuyeron entre los años 1998 y 2001, aumentando ligeramente en 2002. En este periodo las exportaciones se mantuvieron entre 342.000 y 390.000 tm.

**Tabla I.3:** Datos de superficie cultivada, producción y exportaciones de varias especies de cucurbitáceas en España.

<b>Cultivo</b>	<b>Superficie (miles de ha)</b>	<b>Producción (miles de tm)</b>	<b>Exportaciones (toneladas)</b>
<b>Melón</b>			
1998	43,7	1020,0	386.311
1999	43,0	1149,8	390.417
2000	41,6	1068,0	342.650
2001	40,2	1038,0	390.557
2002	40,7	991,3	-
<b>Sandía</b>			
1998	19,7	757,4	336.314
1999	18,2	712,1	323.366
2000	18,3	717,4	293.307
2001	17,7	664,6	312.914
2002	16,5	608,8	-
<b>Pepino</b>			
1997	6,3	447,5	344.888
1998	6,4	138,3	321.146
1999	6,3	103,8	343.027
2000	6,6	416,5	343.734
2001	7,8	547,8	367.527
<b>Calabacín</b>			
1997	5,6	280,9	128.459
1998	5,8	285,5	135.911
1999	6,3	302,8	143.315
2000	6,2	297,0	167.922
2001	5,5	262,5	170.728

(Fuente: MAPA, 2002)

En el caso de la sandía, se observa una disminución tanto en la superficie cultivada como en la producción total. La superficie cultivada de pepino y calabacín se ha mantenido estable o ligeramente al alza, destacando el aumento en las exportaciones de pepino, llegando a superar a las de sandía.

## **1.2. ENFERMEDADES CAUSADAS POR HONGOS DE SUELO EN CUCURBITÁCEAS**

Las enfermedades causadas por hongos de suelo que afectan a cucurbitáceas poseen una amplia distribución mundial, y han llegado a ser factores limitantes para su cultivo en muchas de las principales zonas productoras, particularmente las enfermedades conocidas bajo la denominación de "vine decline" (Bruton, 1998). Se ha venido citando a muchos patógenos de suelo afectando a cucurbitáceas (Zitter *et al.*, 1996), aunque muchos de ellos poseen menor importancia, o una distribución geográfica restringida, por lo que han recibido un menor estudio. En este apartado, se propone mencionar las principales enfermedades de cucurbitáceas a nivel mundial según la clasificación propuesta por Bruton (1998).

### **1.2.1. Enfermedades vasculares**

-*Fusariosis vascular*: el agente causal de esta enfermedad es la especie *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr, que se caracteriza por poseer diversas formas especiales, algunas de las cuales afectan a cucurbitáceas. Entre las principales se hallan *F.o. f.sp. melonis* (Leach & Currence) Zinder et Hansen en melón, *F.o. f.sp. niveum* (E.F.Sm.) W.C. & H.N. Hans en sandía, *F.o. f.sp. cucumerinum* Owen en pepino, *F.o. f.sp. luffae* Kawai, Suzuki & Kawai en el género *Luffa* y *F.o. f.sp. lagenariae* Matuo & Yamamoto para *L. siceraria* (Armstrong y Armstrong, 1978; Messiaen *et al.*, 1991). De entre ellos, en España los más importantes son *F.o. f.sp. niveum*



fue citada por primera vez en sandía en 1977 y *F.o. f.sp. melonis* en melón en 1979 (González-Torres *et al.*, 1994). La fusariosis vascular de la sandía llega a constituir uno de los principales factores limitantes para su cultivo en el mundo; por este motivo, desde hace tiempo se han venido desarrollando diversas técnicas de control entre las que destaca el injerto sobre patrones de *Cucurbita* (Morra, 1998; Cohen *et al.*, 2002; Miguel, 2002) y *L. siceraria* (Messiaen *et al.*, 1991).

-*Verticilosis*: provocada por *Verticillium dahliae* Kleb. (Bruton, 1998; Pegg y Brady, 2002) y *V. albo-atrum* Reinke et Berth., si bien esta última especie es más propia de zonas frías, y casi no tiene relevancia en España (Blancard *et al.*, 1991). Se trata de un patógeno monocíclico, que completa su ciclo vital a lo largo de un ciclo del cultivo de cucurbitáceas (Gubler, 1996). Su síntoma característico es una marchitez de la parte aérea, causada por la necrosis de sus haces vasculares. Debido a que *V. dahliae* es una especie muy polífaga, y que los microesclerocios que produce como estructuras de resistencia pueden sobrevivir muchos años en suelo, la rotación de cultivos no es un método eficaz de control (Bruton, 1998).

### **1.2.2. Podredumbres de cuello**

-*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.: causa el "charcoal rot" o "decaimiento de ramas por *Macrophomina*", enfermedad que causa daños importantes en el cultivo de melón de los principales países productores del mundo (Reuveni *et al.*, 1982; Bruton *et al.*, 1987; García-Jiménez, 1994; Bruton y Wann, 1996; Nischwitz *et al.*, 2004).

-*Chancho gomoso de las cucurbitáceas*: causado por *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm. Se trata de una enfermedad cuyo síntoma más característico es la producción de exudaciones gomosas en la zona del cuello de la planta, aunque también puede afectar a hojas y frutos, llegando a provocar importantes pérdidas económicas (Bruton, 1998).

-*Fusarium solani* (Mart.) Sacc. f.sp. *cucurbitae* W.C. Snyder & H.N. Hans, que puede afectar a calabazas de las especies *C. maxima*, *C. pepo* y *C. moschata* (Champaco *et al.*, 1993; Nagao *et al.*, 1994; Martyn, 1996). En España se detectó por primera vez entre los años 1995 y 1996 en diversos campos de las provincias de Valencia y Castellón, afectando a *C. maxima* y *C. moschata* (Armengol *et al.*, 2000a).

-*Phomopsis sclerotioides* van Kesteren: causa la enfermedad denominada "Black root rot" y ataca a varias cucurbitáceas, como el melón o especialmente el pepino (Rodríguez, 1994; Bruton, 1996).

### **1.2.3. Podredumbres de raíz**

Los principales síntomas de estas enfermedades consisten en una marchitez de la parte aérea, por lo que también han sido englobadas bajo los nombres de "vine decline", "collapse" o "sudden wilt" (Martyn y Miller, 1996; Pivonia *et al.*, 1997; Bruton, 1998), y en España bajo los términos de "colapso" y "muerte súbita" (García -Jiménez *et al.*, 1989). Desde los años ochenta, el síndrome del "colapso" es uno de los problemas más graves a los que se ha enfrentado el cultivo de cucurbitáceas de las principales zonas productoras de España y otros países.

A nivel mundial, los principales agentes fúngicos implicados en el "vine decline" o "colapso" de las cucurbitáceas son *Monosporascus cannonballus* Pollack et Uecker y *Acremonium cucurbitacearum* Alfaró-García, W. Gams et J. García-Jiménez. Asimismo, existen diversas especies que también pueden ser consideradas como causantes de "vine decline", como *F. oxysporum* f.sp. *melonis*, *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm, *Fusarium solani* f.sp. *cucurbitae*, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffen et Maubl., *M. phaseolina*, *Myrothedum roridum* Tod: Fr., *Phomopsis cucurbitae* McKeen y *P. sclerotioides* (Bruton *et al.*, 1998a).

En España, el cultivo de melón ha descendido más de un 40% en los últimos diez años debido fundamentalmente a problemas asociados al síndrome de "colapso" (García-Jiménez *et al.*, 2000). Los principales agentes fúngicos involucrados en esta afección en nuestro país son: *M. cannonballus*, *A. cucurbitacearum*, *Rhizopycnis vagum* D.F. Farr y *Plectosporium tabacinum* (van Beyma) M.E. Palm, W. Gams et Nirenberg. Los dos primeros se consideran patógenos principales, de una importancia capital para el desarrollo de la afección. En cambio, el papel que por sí mismos tienen *R. vagum* y *P. tabacinum* en la marchitez y muerte de la planta es menor, si bien contribuyen en buena medida al deterioro de las raíces. Por otra parte, en algunas zonas del sureste de la Península Ibérica se ha detectado la presencia del virus del cribado del melón (MNSV) asociado a una sintomatología similar (García-Jiménez *et al.*, 2000).

En este apartado se realizará una descripción exhaustiva de *A. cucurbitacearum*, *R. vagum* y *P. tabacinum*, mientras que a *M. cannonballus* se le dedicará el apartado siguiente, dada su importancia creciente en el síndrome a lo largo de los últimos años y la ingente cantidad de trabajos publicados al respecto. *M. cannonballus* será asimismo el núcleo central de la presente tesis doctoral, en calidad de ser uno de los principales patógenos del cultivo de cucurbitáceas en nuestro país.

### **1.2.3.1. *Acremonium cucurbitacearum***

#### 1.2.3.1.1. Taxonomía y descripción

Este hongo es uno de los principales involucrados en el "colapso" o "muerte súbita" del melón (García-Jiménez *et al.*, 2000). Antes de su descripción como especie, ya se consideró a este género como uno de los causantes del "colapso" del melón en España, afección que había causado notables pérdidas de producción desde finales de la década de los ochenta (García-Jiménez *et al.*, 1994a; García-Jiménez *et al.*, 1994c).

*A. cucurbitacearum* es un deuteromiceto, perteneciente a la clase de los Hyphomycetes, de teleomorfo desconocido. Las hifas tienen un tamaño de 1-3  $\mu\text{m}$  de ancho. Los conidióforos son filídicos simples, raramente ramificados, de 25-45  $\mu\text{m}$  de longitud. Los conidios son unicelulares, alargados, elipsoides e hialinos, con tamaño comprendido entre 4,5-6,0  $\mu\text{m}$  de longitud y 1,5-3,0  $\mu\text{m}$  de anchura; estos conidios se agregan en cabezas viscosas, y su óptimo de esporulación ocurre entre 7 y 14 días. En diversos medios de cultivo (PDA, MEA, OA, PCA y SNA) presenta un micelio de color blanco y aspecto algodonoso, tomando el reverso de la colonia coloraciones amarillentas (Alfaro-García *et al.*, 1996).

Mientras que en España se estudiaba la etiología y patogenicidad de *A. cucurbitacearum* como agente causal de "colapso" en melón, en Japón se describió la especie *Nodulisporium melonis* Watanabe et Sato como causante de una enfermedad similar también afectando a melón (Sato *et al.*, 1995). Las características morfológicas observadas de *N. melonis* fueron muy similares a las de *A. cucurbitacearum*, aunque en el caso *N. melonis* se observaron conidióforos ramificados (Watanabe y Sato, 1995), algo no observado en *A. cucurbitacearum*. Estudios recientes de caracterización molecular llevados a cabo afirman que *A. cucurbitacearum* y *N. melonis* no presentan diferencias, y que deberían ser consideradas como la misma especie. Asimismo, tras el análisis filogenético se observó que *A. cucurbitacearum* se encuentra más cercano a la especie *P. tabacinum* que a otras especies del género *Acremonium* (Martínez-Culebras *et al.*, 2004).

#### 1.2.3.1.2. Etiología y dispersión mundial

Los términos "colapso" o "muerte súbita" son antiguos, ya que designan un síntoma final que puede estar causado por diversos agentes patógenos, por lo que se han propuesto los términos "acremoniosis" (García-Jiménez *et al.*, 1994a) y "Acremonium collapse" (Alfaro-García *et al.*, 1996) para designar la enfermedad causada específicamente por *A. cucurbitacearum*.

En estudios llevados a cabo por García-Jiménez *et al.* (1993), *A. cucurbitacearum* fue el único hongo detectado en ese momento en todas las zonas españolas en las que se presentó el síndrome de "colapso". La enfermedad comenzó a observarse desde principios de la década de los ochenta, si bien algunos agricultores comentaban que se venía observando una sintomatología similar desde los años sesenta (Armengol, 1997). *A. cucurbitacearum* se halla también presente en Estados Unidos (Aegerter *et al.*, 2000) e Italia (Infantino *et al.*, 2002a; Stravato *et al.*, 2002), con una sintomatología similar a la observada en España.

#### 1.2.3.1.3. Biología y genética

El óptimo de temperatura para el crecimiento de *A. cucurbitacearum* se encuentra en 25° C, bastando una temperatura en el suelo de alrededor de 20-30° C cerca del fin del ciclo de cultivo para que se produzca el "colapso" (Bruton *et al.*, 1999). *A. cucurbitacearum* no se ve afectado por contenidos altos de agua en suelo; de hecho, la conservación en agua es muy recomendable para su almacenamiento en colección (Armengol *et al.*, 1999a).

Respecto a la genética de la población de este patógeno, Vicente *et al.* (1999), agruparon los aislados españoles de *A. cucurbitacearum* en ocho VCGs diferentes. Posteriormente, Abad-Campos *et al.* (2000) aumentaron esta cifra a 10 VCGs.

#### 1.2.3.1.4. Hospedantes y patogenicidad

Este hongo afecta principalmente a melón y sandía, siendo tolerantes otras especies de cucurbitáceas como *C. maxima*, *L. acutangula*, *L. aegyptiaca*, *B. hispida*, *C. pedata*, *Cucumis miriocarpus* y algunos cultivares de pepino (Armengol, 1997; Armengol *et al.*, 1998; Bruton *et al.*, 2000b). En un estudio de patogenicidad efectuado por Sales *et al.* (2002), todos los cultivares de melón y sandía ensayados resultaron susceptibles a *A. cucurbitacearum*.

En otros estudios de patogenicidad se observó que los aislados españoles de *A. cucurbitacearum* fueron más virulentos atacando a melón, respecto a aislados norteamericanos procedentes de zonas productoras de cucurbitáceas de Texas (Bruton *et al.*, 2000a). Además, a partir de las conclusiones efectuadas en este estudio, se estimó que para la realización de cualquier ensayo de patogenicidad con este hongo, era necesario un valor de 10.000 UFC/g de suelo. Por otra parte, Armengol *et al.* (1998) inocularon con *A. cucurbitacearum* diversas especies de diferentes familias botánicas de interés agrícola, bien por ser plantas cultivadas, como por ser malas hierbas (amarantáceas, asteráceas, chenopodiáceas, fabáceas, malváceas, poáceas, portulacáceas, solanáceas, etc.), conduciendo que su papel en la perpetuación o propagación del hongo debía ser considerado como muy poco relevante.

En el mismo sentido, se han realizado algunas observaciones en campos con historial de "colapso" producido por *A. cucurbitacearum*, para estudiar el comportamiento de diversas especies adventicias en la propagación y supervivencia de este hongo en el suelo. En un trabajo realizado por García-Jiménez *et al.* (1990c) se aisló este hongo de las especies *Euphorbia serpens* Kunth., *Portulaca oleracea* L. y *Setaria adherens* (Forsk.) Chiov., aunque en muy baja proporción.

#### 1.2.3.1.5. Sintomatología y epidemiología

El principal síntoma de la enfermedad causada por *A. cucurbitacearum* es la marchitez de la parte aérea en la época de maduración de los frutos y recolección, a causa del estrés hídrico provocado en la planta por el deterioro del sistema radical (García-Jiménez *et al.*, 1989).

Este hongo puede infectar la raíz ya a los pocos días de la plantación (Armengol *et al.*, 1999b). En el caso de siembra directa, los síntomas son visibles a partir de la segunda o tercera semana; en cambio cuando se

procede al trasplante, los síntomas no aparecen hasta la tercera o cuarta semana (García-Jiménez *et al.*, 1994a). En un primer momento, los síntomas son necrosis y pardecimientos en la raíz principal y raíces secundarias, que van extendiéndose poco a poco, hasta afectar a toda la raíz. Se observan también acorchamientos en las zonas afectadas, tanto en las raíces principales como en el hipocotilo (Armengol, 1997). En un estadio avanzado de la enfermedad, la raíz queda sin pelos radicales, desnuda, siendo entonces incapaz de absorber agua (García-Jiménez *et al.*, 1992). Como respuesta, las plantas afectadas van emitiendo nuevas raíces, que a su vez son infectadas por el hongo (García-Jiménez *et al.*, 1989).

En un trabajo realizado para evaluar la frecuencia de aislamiento de *A. cucurbitacearum* respecto a las principales cucurbitáceas cultivadas en España, se observó que este hongo se aislaba con mayor frecuencia en melón que en sandía; en el caso del melón, fue posible aislar *A. cucurbitacearum* a los treinta días de cultivo, lo que da idea de la rapidez del ataque de este hongo (Sales *et al.*, 2001).

Se han llevado a cabo algunos estudios de histopatología en raíz de melón, para observar la secuencia del ataque de *A. cucurbitacearum*. Según Sales (1999), este hongo se comporta como un destructor de tejido parenquimático, dejando separados a los cuatro haces vasculares. Este autor observó también que *A. cucurbitacearum* circulaba en el interior de la raíz por los espacios intercelulares, sin detectar la presencia de hifas o tilosas en el interior de los haces vasculares. Posteriormente, Alfaro-Fernández (2004) comparó la infección de este hongo en raíces de melón y calabaza, viéndose que los primeros cambios en la raíz de melón tras el ataque de *A. cucurbitacearum* se observan a los 30 días, mientras que en calabaza no aparecen hasta los 42 días. En este trabajo sí se observaron tilosas en los vasos xilemáticos del melón, a los 42 días de la inoculación.

#### 1.2.3.1.6. Control

Se efectuaron diversos estudios acerca del control de esta enfermedad, incluyendo la lucha química, la resistencia varietal o el uso de portainjertos (García-Jiménez *et al.*, 1990a). Se realizaron algunos ensayos con varios grupos de fungicidas, llegando a la conclusión que uno de los más eficaces era el procloraz, aunque su efectividad se limitaba a suelos arenosos y aplicaciones localizadas mediante riego por goteo (García-Jiménez y Velázquez, 1990; Martínez-Ferrer *et al.*, 1991).

En estudios más recientes se han desarrollado variedades resistentes, buscando la obtención de un cultivar resistente a *A. cucurbitacearum* que además posea buenas características comerciales. De todas las variedades ensayadas, la accesión *C. melo* var. *agrestis* Pat 81 fue la que mostró mayor resistencia frente a este hongo (Iglesias *et al.*, 2000a; Iglesias *et al.*, 2000b; Dias *et al.*, 2001 y 2004).

Respecto al uso de portainjertos en el cultivo de melón, los primeros estudios indicaron una cierta resistencia al ataque de *A. cucurbitacearum* por parte de diversos híbridos de *C. moschata* y *B. hispida* (García-Jiménez *et al.*, 1990b). Por último, se han realizado también algunos ensayos preliminares de control biológico con *Trichoderma* spp., aunque sin resultados conducentes (Gomis *et al.*, 1996; Sanz *et al.*, 1998).

#### 1.2.3.2. *Rhizopycnis vagum*

##### 1.2.3.1.1. Taxonomía y descripción

*R. vagum* es un coelomiceto de reciente descripción (Farr *et al.*, 1998) que también está involucrado en el síndrome del "colapso" del melón contribuyendo al deterioro de la raíz, que culmina con la marchitez de la planta (García-Jiménez *et al.*, 2000).



*R. vagum* forma picnidios negros, esféricos, glabros y de pared gruesa, con un tamaño de entre 200 y 400  $\mu\text{m}$ . La conidiogénesis es enteroblástica, produciendo conidios hialinos, que pueden adquirir coloraciones marrones cuando maduran. Estos conidios presentan forma cilíndrica a fusiforme, con 1-3 septos, y un tamaño comprendido entre 18-25 x 4,5-6  $\mu\text{m}$ . Las colonias en PDA presentan un micelio denso, de aspecto afieltrado, con tonos marrones o grises oscuros y, a menudo, coloraciones rojizas. Forma cadenas de clamidosporas y microesclerocios (Farr *et al.*, 1998).

#### 1.2.3.1.2. Etiología, hospedantes y dispersión mundial

Las primeras citas de la aparición de este hongo proceden de Guatemala y Honduras, en las que se aisló *R. vagum* de raíces de melón con síntomas de "colapso", aunque en un principio se le tomó por una especie indeterminada relacionada con el género *Stagonospora* (Bruton *et al.*, 1996a; 1996b; Miller *et al.*, 1996). También ha sido aislado en raíces de caña de azúcar procedentes de Taiwán (Farr *et al.*, 1998).

*R. vagum* es un patógeno de reciente aparición en España, afectando a cucurbitáceas (Armengol *et al.*, 2000b). En cuanto a su distribución mundial, este hongo se ha encontrado asociado a síntomas de "colapso" de melón y sandía en Italia, junto con *A. cucurbitacearum* y *M. cannonballus* (Infantino *et al.*, 2002a). También se ha encontrado asociado a raíces de pino y romero (Ghignone *et al.*, 2002). Dada la importancia creciente que este patógeno ha adquirido en el país trasalpino en los últimos años, se han desarrollado primers específicos para su detección por PCR (Ghignone *et al.*, 2003). Existe también una cita de *R. vagum* asociado a raíces de tomate en Italia (Porta-Puglia *et al.*, 2001).

#### 1.2.3.1.3. Sintomatología

*R. vagum* provoca necrosis y podredumbre de raíz principal y secundarias, con presencia de coloraciones rosadas y microesclerocios en

las zonas afectadas (Armengol *et al.*, 2000b). Estas lesiones impiden la normal absorción de agua por parte de la planta, pudiendo ocurrir episodios de estrés hídrico que desemboquen en la marchitez y muerte de la planta por "colapso" en la época de maduración y recolección de los frutos.

#### 1.2.3.1.4. Patogenicidad

La patogenicidad de este hongo es menor a la de otros hongos causantes de "colapso", como *A. cucurbitacearum* y *M. cannonballus*, y frecuentemente se encuentra asociado a éstos. En España, se ha comprobado su patogenicidad a melón, y además se ha conseguido aislar en algunos híbridos de calabaza que, por otra parte, tendrían un carácter tolerante (Armengol *et al.*, 2003). Aegerter *et al.* (2000) compararon la patogenicidad de las principales especies fúngicas causantes de "colapso", *A. cucurbitacearum*, *M. cannonballus* y *R. vagum*. Este hongo produjo coloraciones rosadas en las raíces y decoloración del hipocotilo, y redujo el crecimiento de la parte aérea, en tests llevados a cabo en condiciones de invernadero. En otros ensayos comparativos de patogenicidad *R. vagum* causó los mismos daños en raíces que *A. cucurbitacearum*, y menores daños que *M. cannonballus*; *R. vagum* fue el que causó más lesiones en las raíces secundarias y terciarias (Biernacki y Bruton, 2001). A partir de estos estudios se determinó que la concentración de *R. vagum* necesaria para la realización de un ensayo de patogenicidad es de 1000 UFC/g (Miller *et al.*, 1996).

#### 1.2.3.3. *Plectosphaerella cucumerina*

##### 1.2.3.1.1. Taxonomía y descripción

*Plectosphaerella cucumerina* (Lindfors) W. Gams es la fase sexual o teleomorfo de *P. tabacinum*, un deuteromiceto que también se halla asociado al "colapso" del melón como patógeno menor, contribuyendo en el deterioro de la raíz (García-Jiménez *et al.*, 2000; Pérez-Piqueres, 2002).

Este nombre se creó para designar al antiguo *Fusarium tabacinum* (van Beyma) W. Gams.

*P. cucumerina* puede formar peritecios en PDA, teniendo éstos un diámetro de entre 100 y 200  $\mu\text{m}$ , y poseyendo una papila ostiolar por la que se liberan las ascas. Éstas son adaxiales y presentan un pequeño apéndice; su longitud oscila entre 55 y 65  $\mu\text{m}$ , y 6-9  $\mu\text{m}$  de anchura. En su interior contienen ocho ascoporas elipsoides, con un tamaño aproximado de 11-15 x 3-4  $\mu\text{m}$  (Booth, 1971; Palm *et al.*, 1995).

Las colonias de *P. cucumerina* en PDA pueden presentar micelio de color blanco o incluso ausencia de éste. Las hifas son lisas e hialinas, con un grosor que oscila entre 1,4 y 2,7  $\mu\text{m}$ . En su estado anamórfico, la conidiogénesis se produce en filíidas laterales o apicales. Los conidios son cilíndricos, con 0-1 septo, hialinos, con un tamaño de 8,2-13,5x2,2-3  $\mu\text{m}$ , que se pueden agregar en cabezas mucosas con un diámetro de 10-20  $\mu\text{m}$ . No forma apresorios ni produce clamidosporas. *P. cucumerina* es un hongo de elevada variabilidad morfológica, genética y molecular, debido probablemente a su condición heterocariótica (Palm *et al.*, 1995).

#### 1.2.3.1.2. Etiología, hospedantes y dispersión mundial

En España se encuentra asociado al "colapso" del melón, si bien su frecuencia de aislamiento en raíces es menor a la de *A. cucurbitacearum* y *M. cannonballus*, por lo que se considera como un patógeno secundario de esta afección (Pérez-Piqueres, 2002).

Ha sido descrito también en Italia junto con otros hongos asociados al "colapso", aislándose en raíces de melón, sandía y pepino (Infantino *et al.*, 2002a). En los últimos años, *P. cucumerina* también se ha citado provocando el "Plectosporium blight", una enfermedad de la parte aérea de la calabaza, en los estados norteamericanos de Illinois (Babadoost, 2002), Alabama (Mullen y Sikora, 2003) y Nueva York (Jiménez y Zitter, 2005).

*P. cucumerina* posee una alta adaptabilidad a diversos ambientes, pudiendo encontrarse en una alta gama de hospedantes: girasol y albahaca en Italia, cucurbitáceas en Estados Unidos, cacahuete en Nigeria, tomate en Australia y remolacha azucarera en Holanda (Palm *et al.*, 1995). Otras especies hospedantes son el pensamiento (Booth, 1971), el ranúnculo (Gullino y Garibaldi, 1984), el tabaco (Zizzerini y Tosi, 1987), *Arabisopsis thaliana* (Thomma *et al.*, 2000), *Ixodia achillaeoides* (Hall *et al.*, 1996), *Sorghum sudanense* y *Pennisetum glaucum* (Mansour *et al.*, 1990).

En recientes estudios aparecidos en la bibliografía, se presenta la posibilidad de utilizar a *P. cucumerina* como agente de control biológico frente a la mala hierba *Orobanche ramosa*, debido a que este hongo se ha conseguido aislar a partir de sus raíces (Abouzo *et al.*, 2004). Asimismo, se le considera responsable de la aparición de enrojecimientos en vainas de judía en los estados de Nueva York y Maryland (Dillard *et al.*, 2005).

#### 1.2.3.1.3. Sintomatología, biología y patogenicidad

Los síntomas producidos por *P. cucumerina* en raíz de melón son muy similares a los provocados por el ataque de *A. cucurbitacearum*: necrosis y pardeamientos en la raíz principal y raíces secundarias, que impiden la correcta absorción de agua por parte de la raíz. Este hecho, unido a la similitud de algunos aislados de ambos hongos llevó en un primer momento a la confusión entre ambos patógenos. Estudios posteriores de taxonomía y patogenicidad desembocaron en la delimitación de las dos especies (Palm *et al.*, 1995; Alfaro-García *et al.*, 1996) y, posteriormente, en la implicación de *P. cucumerina* dentro del síndrome del "colapso" del melón (García-Jiménez *et al.*, 2000). No obstante, Pérez-Piqueres (2002) afirmó que este hongo por sí solo no es capaz de desencadenar el "colapso" de la planta. En este mismo estudio, se determinó que son necesarias 150.000 UFC por gramo de suelo para realizar con éxito la inoculación de este hongo, con el fin de evaluar su patogenicidad. Por último, Abad-Campos *et al.* (2000) contabilizaron un total de cuatro VCGs diferentes para *P. tabacinum*.

### 1.3. *Monosporascus cannonballus* PATÓGENO EN CUCURBITÁCEAS

#### 1.3.1. Taxonomía y descripción de *M. cannonballus*

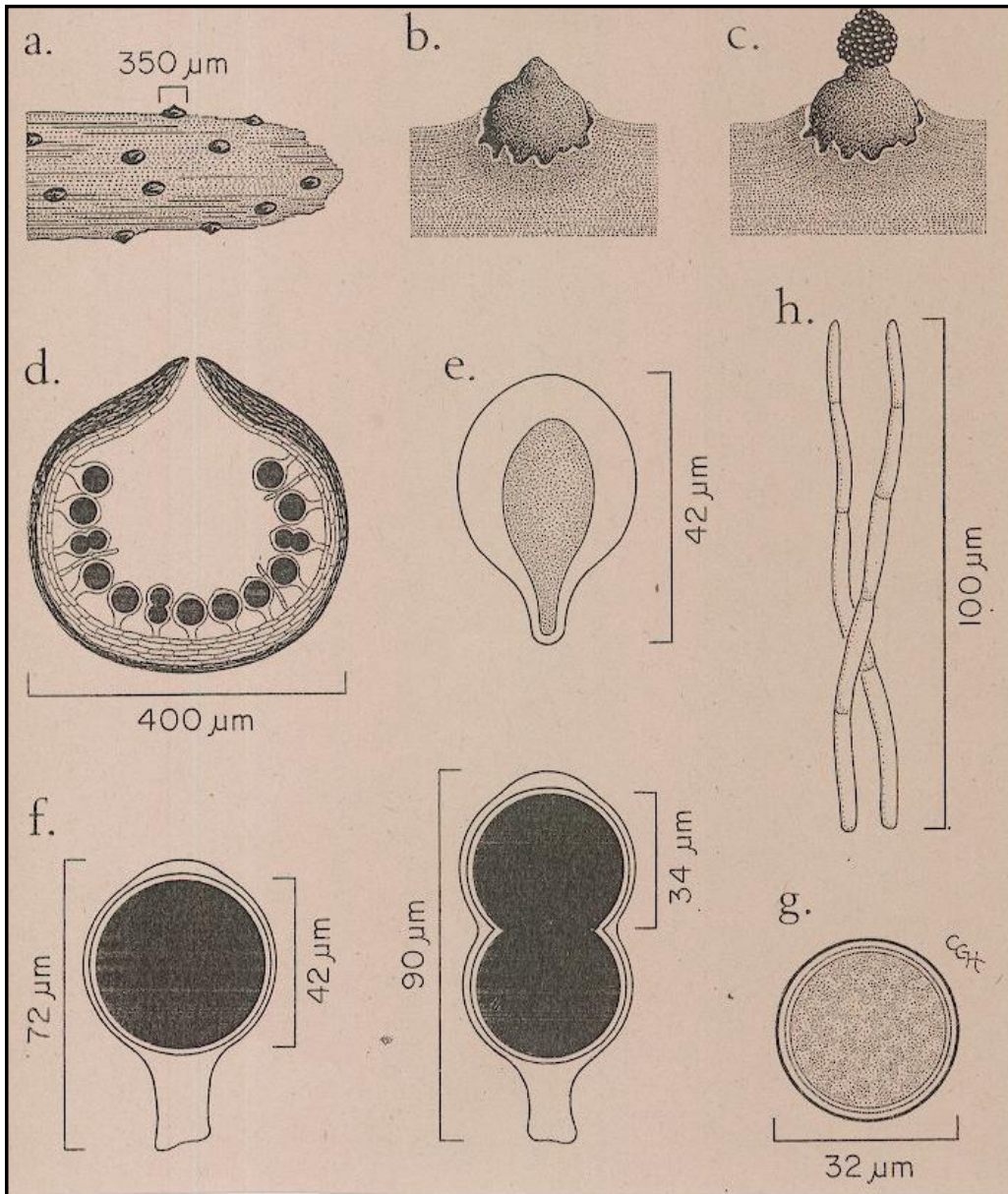
*M. cannonballus* es un ascomiceto perteneciente a la clase de los Pyrenomycetes, que forma peritecios globosos y de color negro, que se encuentran inmersos en el tejido de las raíces de las plantas que infecta (Figura 1.1).

Los peritecios presentan un diámetro de alrededor de 500  $\mu\text{m}$ , y poseen un anillo periapical no funcional pues, para expulsar las ascas al exterior, hacen uso de una grieta lateral, aunque ocasionalmente este hecho se produce a partir de un cuello ostiolar que puede medir más de 200  $\mu\text{m}$  de longitud (Uecker y Pollack, 1975). Las ascas son clavadas o piriformes, de pared gruesa, con tamaño de 56-90 x 30-55  $\mu\text{m}$ , y contienen de 1 a 2 ascosporas en su interior. Según algunos autores, este es uno de los caracteres diferenciales entre especies del género *Monosporascus*. Estas ascas son evanescentes, descomponiéndose su pared con rapidez, liberándose la ascosporas de esta manera. Las ascosporas no presentan septos, son esféricas y de color negro, teniendo coloraciones marrones antes de su maduración (Sivanesan, 1991a). Son multinucleadas, pudiendo contener de uno a seis núcleos cada una (Pollack y Uecker, 1974). Poseen un diámetro de entre 25 a 50  $\mu\text{m}$ . El aspecto de estas ascosporas se asemeja a una bola de cañón, de ahí el nombre de la especie. En el interior de los peritecios se encuentran los parafisos, filamentosos y de pared gruesa (Sivanesan, 1991a). Las hifas pueden ser hialinas o marrones, septadas y con una anchura que oscila entre 7,5 y 14  $\mu\text{m}$  (Watanabe, 1979). En PDA, *M. cannonballus* posee un crecimiento rápido, formando un micelio apretado, blanquecino, que puede tomar coloraciones grisáceas con el tiempo. Tras 20 ó 30 días de cultivo, forma los peritecios, negros, esféricos, observables a simple vista y a veces producidos en gran número "in vitro"; Martyn *et al.* (1992) llegaron a observar de 120 a 259 peritecios/ $\text{cm}^2$ .

Dentro del género *Monosporascus* se han descrito también otras especies. Una de ellas es *M. eutypoides* (Petraik) von Arx, cuyas características morfológicas son muy similares a las de *M. cannonballus*, con la única diferencia que las ascas de *M. eutypoides* pueden albergar de 1 a 3 ascosporas (Sivanesan, 1991b). Aun hoy en día existe una gran controversia acerca de la diferenciación entre *M. cannonballus* y *M. eutypoides*. Algunos autores opinan que se trata de la misma especie (Martyn *et al.*, 1993a; Lovic *et al.*, 1995a), mientras que estudios más recientes siguen alegando la diferencia entre especies, siguiendo otros criterios, como el número de tubos germinativos, etc. (Waugh *et al.*, 2001). En Israel, se pensó al principio que el hongo causante de la afección del "colapso" del melón era *M. eutypoides* (Reuveni *et al.*, 1983; Krikun, 1985), si bien en la actualidad ya se considera a *M. cannonballus* el agente causal de la enfermedad (Pivonia *et al.*, 1997).

Se pueden encontrar también citas de otra especie del género: *M. monosporus* (Malloch & Cain), que fue aislada de rizomas de *Iris* sp. procedentes de Irán (Malloch y Cain, 1971). Sus ascas únicamente presentan una ascospora. De todas formas, en la actualidad no existe ningún cultivo puro conocido de ella, por lo que se piensa que su identificación fue incorrecta (Martyn y Miller, 1996).

Recientemente (Collado *et al.*, 2002), ha sido descrita otra especie de este género; se trata de *M. ibericus* Collado, González, Stchigel, Guarro & Peláez (**Figura 1.2**), que fue aislado en España a partir de tallos y raíces de *Helichrysum stoechas*, *Lobularia maritima* y *Ononis natrix*, plantas nativas de los suelos arenosos y con elevada salinidad del Delta del Ebro. Su principal diferencia con las otras especies es un mayor número de ascosporas por asca, que pueden ir de 1 a 6 (Collado *et al.*, 2002). A diferencia de las otras especies del género, *M. ibericus* se comporta como saprofito en esas raíces; su patogenicidad a cucurbitáceas no se ha comprobado y, de momento no se ha descrito en los suelos donde éstas se cultivan.



**Figura 1.1:** Dibujo esquemático de *M. cannonballus*. Peritecios sobre raíces / **(a)** Peritecio sobresaliendo de la epidermis de la raíz / **(b)** Masa de ascosporas saliendo de un peritecio a través de un ostiolo / **(c)** Sección longitudinal de un peritecio mostrando las ascas sujetas a su pared interior / **(d)** Asca con ascospora inmadura / **(e)** Asca con una sola ascospora y asca con dos ascosporas / **(f)** ascospora esférica madura / **(g)** Parafisios / **(h)** Parafisios (Fuente: Hanlin, 1998).



**Figura 1.2:** Dibujo esquemático de *M. ibericus*. Ascis con ascosporas maduras (en número superior a 1) / (a) Ascis con ascosporas inmaduras y parafisios / (b) (Fuente: Collado *et al.*, 2002).

En la **Tabla 1.4** podemos observar la comparación entre las especies descritas dentro del género *Monosporascus*, atendiendo a sus características principales, como son: el diámetro de las ascosporas, la ornamentación de éstas, el número de ascosporas por asca y el tipo de cuerpo fructífero.

**Tabla 1.4:** Tabla comparativa de algunas características morfológicas de diferentes especies pertenecientes al género *Monosporascus*.

Especies	Ascoma	Ascosporas por asca	Ornamentación de las ascosporas	Diámetro de las ascosporas
				( $\mu\text{m}$ )
<i>M. cannonballus</i>	Peritecio	1-2	Lisa	35-50
<i>M. eutypoides</i>	Peritecio	1-3	Lisa	21-35
<i>M. ibericus</i>	Cleistotecio	1-6	Lisa	18-60
<i>M. monosporus</i>	Cleistotecio	1	Reticulada	43-58

(Fuente: Collado *et al.*, 2002)



Por último, en la **Figura 1.3** se muestran diferentes aspectos de la morfología de *M. cannonballus* en medio de cultivo y preparaciones microscópicas.

### **1.3.2. Etiología y dispersión mundial**

En el año 1970 tiene lugar la primera cita acerca del “colapso” en cucurbitáceas causado por *M. cannonballus* (Troutman y Matejka, 1970). Se trataba de plantas de melón cantalupo cultivadas en Arizona, que presentaron clorosis de hojas y posterior marchitez de la parte aérea coincidiendo con la época de maduración y recolección de los frutos. De las raíces se aisló un hongo que presentaba estructuras esféricas, pequeñas y negras, y que no pudo ser identificado. Posteriormente, dicho aislado fue descrito como la especie *M. cannonballus*, en lo que se considera la primera cita acerca de este hongo en la bibliografía (Pollack y Uecker, 1974).

Pocos años después, Hawksworth y Ciccarone (1978) obtuvieron una cepa de este hongo, aislado de *Triticum* sp. procedente de Libia. En 1979, *M. cannonballus* fue aislado en Japón, también en raíces de plantas de melón que presentaron marchitez en la época de recolección (Watanabe, 1979). A partir de entonces se fueron sucediendo las detecciones en cucurbitáceas de diferentes procedencias, en las que se coincidía en señalar una sintomatología común: amarilleamiento de hojas y posterior marchitez en la parte aérea, necrosis y pérdida de barbada en el sistema radical. La palabra “collapse” aparece por primera vez en Israel (Reuveni *et al.*, 1983).

En los Estados Unidos, el mismo problema detectado en Arizona volvió a aparecer años más tarde afectando al cultivo de melón en el Valle de Río Grande, una de las principales zonas productoras de cucurbitáceas. Es la primera vez que la afección recibe el nombre de “root rot” o “vine decline” (Mertely *et al.*, 1991).

A partir de este año, las citas de *M. cannonballus* en cucurbitáceas se fueron sucediendo en diversos países: en sandía procedente de Túnez

(Martyn *et al.*, 1994), en melón procedente de Taiwán (Tsay y Tung, 1995), de Guatemala (Bruton y Miller, 1996a), de Honduras (Bruton y Miller, 1996b), en India y Pakistán (Martyn y Miller, 1996), en sandía procedente de México (Martyn *et al.*, 1996a), y en melón procedente de Arabia Saudí (Karlatti *et al.*, 1997).

En Italia se aisló primeramente en sandía (Gennari *et al.*, 1999) y posteriormente en melón (Infantino *et al.*, 2002b) y pepino (Montuschi, 2002). Actualmente, el síndrome del "colapso" causado por *M. cannonballus* es uno de los principales problemas a los que se enfrenta el cultivo de cucurbitáceas en este país (Buzo *et al.*, 2004).

Los dos últimos países en los que ha sido descrito por primera vez son Corea (Kwon *et al.*, 2001) y, recientemente, Brasil (Sales *et al.*, 2004). En este país, la zona más afectada es el noreste, concretamente los estados de Rio Grande do Norte y Ceará (Marinho *et al.*, 2002; Sales *et al.*, 2003). Se puede afirmar, por tanto, que es una especie cosmopolita, distribuida preferentemente en las áreas cálidas y semiáridas del planeta (Martyn y Miller, 1996; Polizzi *et al.*, 2002).

En España, desde finales de los años ochenta comienza a observarse la misma sintomatología (García-Jiménez *et al.*, 1989; Lobo, 1990a), aunque todavía no se conoce el agente causal, apuntando los primeros trabajos a la implicación de *Acremonium* sp. en el síndrome (García-Jiménez *et al.*, 1989). En los siguientes estudios se asociará el "colapso" del melón y una alteración similar de la sandía a la presencia de *M. cannonballus* en el suelo (Lobo, 1990b; Lobo, 1991; García-Jiménez, 1991). Durante los primeros años de su identificación en España, la enfermedad causada por este hongo recibe la denominación de "puntos negros de las raíces de melón y sandía" (García-Jiménez *et al.*, 1994b). Desde finales de los años ochenta y hasta finales de los noventa, se detectó un aumento creciente en la incidencia de *M. cannonballus* en las principales zonas productoras de cucurbitáceas de nuestro país, tanto en número de campos afectados, como en porcentaje de aislamiento (García-Jiménez *et al.*, 2000). Este hecho

ocasionó graves pérdidas de producción y de superficie cultivada, sobre todo en el caso del cultivo del melón, y que han venido arrastrándose hasta la actualidad.

A lo largo de estos años, *M. cannonballus* ha venido asociado con *A. cucurbitacearum*; ambas especies son las más importantes en relación al síndrome de "colapso", y su patogenicidad ha sido contrastado en múltiples trabajos (García-Jiménez *et al.*, 2000; Sales *et al.*, 2001). En la **Tabla I.5** se observa la frecuencia de aislamiento de *M. cannonballus* y *A. cucurbitacearum* en España en los primeros años en los que aparecieron síntomas de "colapso". La frecuencia de aislamiento de *M. cannonballus* fue aumentando desde un 15,6% del total de puntos de aislamiento entre los años 1987 a 1989, hasta un 68,4% del total de puntos de aislamiento en los años 1994-96. Esta progresión da idea de la importancia de *M. cannonballus* en el síndrome del "colapso" en nuestro país en los últimos años.

**Tabla I.5:** aislamiento de *M. cannonballus* y *A. cucurbitacearum* en España, de diferentes campos, durante los años 1987 a 1986.

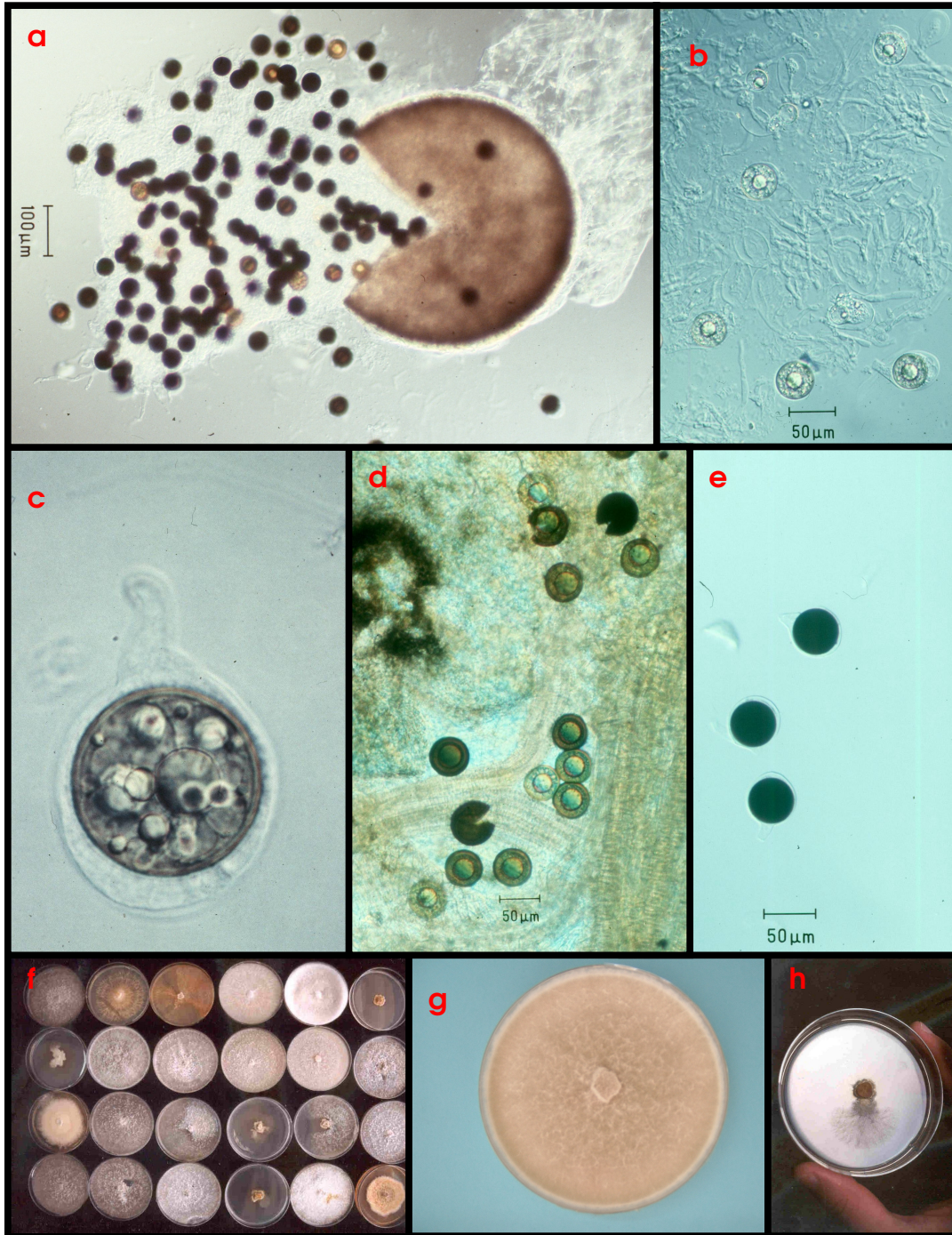
Años	N <sup>a</sup>	Campos con solo Ac <sup>b</sup>		Campos con solo Mc <sup>c</sup>		Campos con Ac y Mc		Campos totales con Ac		Campos totales con Mc	
		Total	%	Total	%	Total	%	Total	%	Total	%
		1987-89	32	27	84,4	0	0	5	15,6	32	100
1990-91	52	38	76,0	6	12,0	6	12,0	44	88,0	12	24,0
1992-93	68	49	72,1	1	1,5	18	26,5	67	98,5	19	27,9
1994-96	38	12	31,6	2	5,3	24	63,2	36	94,7	26	68,4
Total	188	126	67,0	9	4,8	56	28,2	179	95,2	62	33,0

<sup>a</sup>N: Número de campos muestreados

<sup>b</sup>Ac: *A. cucurbitacearum*

<sup>c</sup>Mc: *M. cannonballus*

(Fuente: García-Jiménez *et al.*, 2000)



**Figura 1.3:** Diversos aspectos morfológicos y culturales de *M. cannonballus*. **(a)** Peritecio y ascosporas / **(b)** Ascosporas y parafisias / **(c, d y e)** Ascos y ascosporas / **(f)** Variabilidad cultural de *M. cannonballus* / **(g)** Colonia de tipo "salvaje" en placa de cultivo PDA / **(h)** Colonia de tipo "degenerada" en placa de cultivo PDA.

Hoy en día, este síndrome se conoce bajo diferentes nombres, como "colapso", "muerte súbita", "collapse", "sudden death", "sudden wilt", "Monosporascus root rot and vine decline" (García-Jiménez *et al.*, 1989; Martyn y Miller, 1996), etc., pero en todos los casos se trata de una marchitez por estrés hídrico causada por el ataque de *M. cannonballus*, y cuya secuencia de síntomas será desarrollada en otro apartado.

### **1.3.3. Biología**

Uno de los rasgos principales de *M. cannonballus* es su carácter de hongo termófilo: su temperatura óptima de crecimiento oscila entre 25 y 35° C, mientras que el óptimo para la formación "in vitro" de los peritecios se encuentra entre 25 y 30° C (Martyn y Miller, 1996). El crecimiento de los aislados se detiene o ralentiza por debajo de 15° C (Martyn y Miller, 1996) y, a veces, según Pivonia *et al.* (2002b), por debajo incluso de 20° C. Un aislado de este hongo procedente de Libia presentó un óptimo de 45° C. Por tanto, *M. cannonballus* parece estar adaptado a climas cálidos (Martyn y Miller, 1996). Este hecho conlleva que algunas prácticas de cultivo comunes en las cucurbitáceas, como los acolchados plásticos, favorezcan el ataque del hongo, que alcanza mucho antes la temperatura idónea para su desarrollo (Krikun, 1985). Este carácter termófilo del hongo, hace que se considere que únicamente pueda ser patogénico en las regiones cálidas, mientras que persistiría de modo saprofito en áreas más frías (Pivonia *et al.*, 2002b).

El pH adecuado para el crecimiento in vitro de *M. cannonballus* oscila entre 6 y 7. No obstante, puede crecer incluso sometido a un pH 9 (Martyn y Miller, 1996). El crecimiento se reduce a pH 5, y se ve totalmente inhibido por debajo de pH 4. En definitiva, este hongo prefiere un pH neutro o ligeramente básico; por ejemplo, en el Sur de Texas, una de las zonas en las que esta especie afecta con mayor gravedad a las cucurbitáceas, el pH del suelo se sitúa en torno a 7,7 (Mertely *et al.*, 1991). La mayoría de estos suelos alcalinos se suelen dar en zonas de clima árido, por lo que *M. cannonballus* parece totalmente adaptado a ellas (Martyn y Miller, 1996).

Según Martyn y Miller (1996), las especies del género *Monosporascus* presentan una elevada tolerancia a la salinidad. En ensayos "in vitro" pueden tolerar concentraciones moderadamente elevadas de cloruro sódico y cloruro potásico, hasta soluciones de un 8-10% de estas sustancias. La presencia de *M. cannonballus* en diversas regiones áridas o semidesérticas con problemas de salinidad de suelos, demuestra su tolerancia ante este factor.

#### **1.3.4. Hospedantes**

El rango de hospedantes de *M. cannonballus* es muy elevado, pues además de haber sido aislado a partir de plantas de la familia de las cucurbitáceas, también ha sido encontrado en especies de otras familias (Mertely *et al.*, 1993a). En un principio, se consideró a *M. cannonballus* como patógeno de melón únicamente. En estudios posteriores se vio que también la sandía era altamente susceptible, pudiendo desarrollar también los síntomas de "colapso" (García-Jiménez *et al.*, 1994b; Martyn *et al.*, 1994). *M. cannonballus* también puede ser aislado de las raíces de otras cucurbitáceas, como el pepino, el calabacín y varias especies del género *Cucurbita* (Martyn y Miller, 1996). Según Mertely *et al.* (1993a), las distintas especies de la familia de las cucurbitáceas se podrían distribuir según una escala de susceptibilidad, en relación a la severidad de los síntomas de "colapso", siendo las especies del género *Cucurbita* las más tolerantes a la enfermedad causada por *M. cannonballus*. En un estudio llevado a cabo en Corea del Sur, Heo *et al.* (2001a) confirmaron la elevada susceptibilidad de melón, sandía y pepino frente a *M. cannonballus*, y añadió a la lista de hospedantes el melón oriental o cantalupo japonés (*C. melo* var. *makuwa* Makino).

En estudios recientes desarrollados en Italia se han observado plantas de pepino colapsadas, de las que se han aislado los principales patógenos fúngicos causantes del síndrome: *M. cannonballus*, *A. cucurbitacearum*, *R. vagum* y *P. tabacinum* (Infantino *et al.*, 2002a).

Asimismo, en Japón se observó que *M. cannonballus* causaba una sintomatología similar en *L. siceraria*, cucurbitácea empleada en aquel país como patrón de injerto para combatir la fusariosis vascular de la sandía (Uematsu *et al.*, 1992). Además de las citadas, otras especies susceptibles pertenecientes a la familia de las cucurbitáceas son *Cucurbita texana* (Scheele) A.Gray (Martyn *et al.*, 1993b), *L. aegyptiaca* (Martyn y Miller, 1996) y *B. hispida* (Tsay y Tung, 1997).

Otras plantas de las que se ha aislado *M. cannonballus* han sido *Iris* sp., *Triticum* sp. (Hawksworth y Ciccarone, 1978), *Achyranthes aspera* L., *Medicago sativa* L., *Phaseolus vulgaris* L., *Sesamum indicum* L., *Shorgum bicolor* L., *Trifolium pratense* L. (Mertely *et al.*, 1993a), y *Zea mays* L. (Martyn y Miller, 1996). Mertely *et al.* (1993a) observaron peritecios de *M. cannonballus* y reaclaron este hongo en plantas de trigo y maíz inoculadas en invernadero. En otros estudios se aisló *M. cannonballus* en bajo porcentaje de las raíces de pimiento, tomate, berenjena, brécol y repollo (Tsay y Tung, 1997). En el caso de la judía y del sorgo, llegaron a encontrarse peritecios de *M. cannonballus* en las raíces, aunque en ningún caso se observó una reducción significativa del crecimiento de la planta (Martyn y Miller, 1996). Tanto en los trabajos de Mertely *et al.* (1993a), como en los de Martyn y Miller (1996), se especula acerca de la posibilidad que *M. cannonballus* se sirva de estas plantas como segundo hospedante en las épocas del año en las que no exista cultivo de melón, sandía o algún otro hospedante típico.

### **1.3.5. Sintomatología**

La infección causada por *M. cannonballus* comienza en las raíces: al arrancar la raíz de una planta atacada se pueden observar necrosis y podredumbres, tanto en la zona de la raíz como en la zona del cuello (Martyn y Miller, 1996). Estas necrosis comienzan a producirse en las raíces secundarias, y van avanzando hasta alcanzar a la raíz principal y, en los casos más graves, al cuello. Con el paso del tiempo, amplias zonas de la raíz muestran un pardeamiento severo y se produce una pérdida

generalizada de raíces secundarias y barbada (García-Jiménez *et al.*, 1992). En estados más avanzados de la afección se observa una disminución del volumen del córtex alrededor del cilindro vascular del cuello de la planta, tomando estas lesiones un color marrón (Mertely *et al.*, 1991).

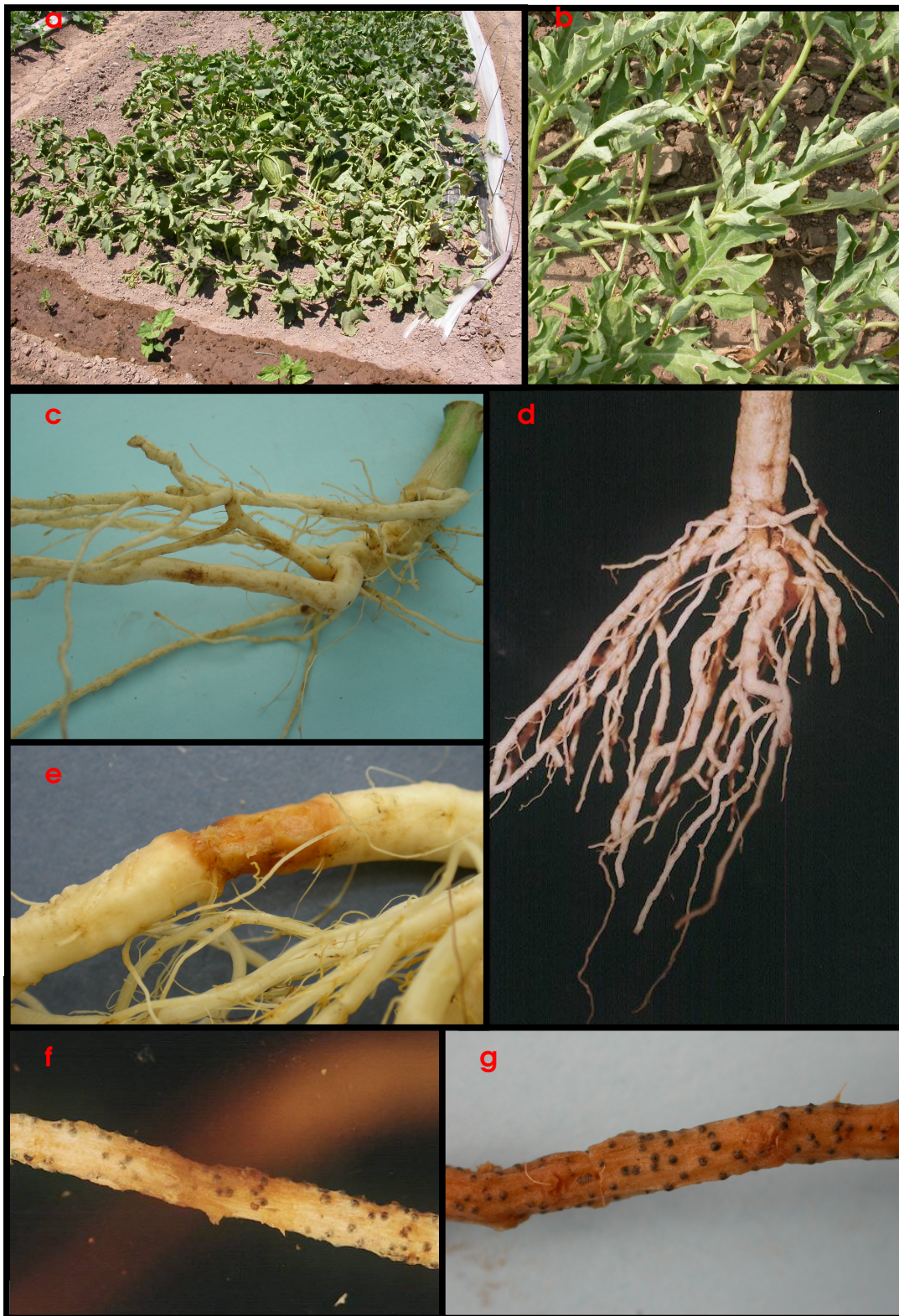
Estos daños en el sistema radical reducen la capacidad de absorber agua por parte de la planta, produciéndose un desequilibrio hídrico que provoca la falta de desarrollo y el decaimiento de ramas (Martyn y Miller, 1996). En la parte aérea, los primeros síntomas son el amarilleamiento gradual de las hojas más viejas, que van secándose a medida que se acerca la época de maduración y recolección de los frutos. Con el paso del tiempo, la necrosis va avanzando hacia las hojas más jóvenes, lo que acaba provocando finalmente la marchitez completa de la parte aérea; esto puede ocurrir en pocos días (Lobo, 1990; Mertely *et al.*, 1991).

Debido a la pérdida de la cubierta vegetal, los frutos de las plantas afectadas pueden presentar planchado solar, es decir, quemaduras y manchas en la corteza producidas por el sol (Martyn y Miller, 1996). Además, estos frutos presentan menor contenido en azúcares y un tamaño menor del habitual, perdiendo de esta forma todo el valor comercial (Mertely *et al.*, 1991; Martyn y Miller, 1996).

Al final del cultivo se puede detectar uno de los síntomas más característicos para el diagnóstico del "colapso" causado por *M. cannonballus*: la aparición en la raíz de los peritecios del hongo, que presentan el aspecto de unos puntos negros, redondos y algo emergentes (Watanabe, 1979). Por este motivo, este síndrome también ha recibido el nombre de "black spot root rot", "pepper spot" (Mertely *et al.*, 1991) y "puntos negros de las raíces" (García-Jiménez *et al.*, 1994b). La presencia de estos peritecios y la ausencia de decoloraciones vasculares sirve para distinguir esta enfermedad de otros casos de marchitez de la parte aérea provocados por otros hongos (Mertely *et al.*, 1991).

En las **Figuras 1.4 y 1.5** se muestran varios de los síntomas expuestos con anterioridad.





**Figura 1.4:** Sintomatología de *M. cannonballus*. **(a)**. Síntomas de marchitez y "colapso" de parte aérea en melón / **(b)** Hojas de sandía con abarquillamiento / **(c)** Necrosis en raíz de sandía / **(d y e)** Necrosis en raíces de melón / **(f)** Peritecios en raíz de melón / **(g)** Peritecios en raíz de sandía



**Figura 1.5:** Sintomatología de *M. cannonballus*. / **(a y b)** Plantas de melón con síntomas de "colapso" / **(c)** Plantas de sandía con síntomas de "colapso" / **(d)** Plantas de pepino con síntomas de "colapso" / **(e y f)** Frutos de melón con planchado solar

### 1.3.6. Patogenicidad

El primer estudio que confirmó la patogenicidad de *M. cannonballus* sobre plantas de melón fue realizado en Israel, en 1983 (Reuveni *et al.*, 1983). Desde la detección de este hongo como agente causal del "colapso" se han venido realizando diversos estudios de patogenicidad, entre los que destacan los ensayos realizados en Japón tomando al melón como hospedante (Uematsu *et al.*, 1985; Uematsu y Sekiyama, 1990). Algunos de estos estudios iban encaminados a hallar la concentración óptima de UFC/g de suelo capaz de infectar a las raíces de melón, resultando ser de 20 UFC/g de suelo (Bruton, 1995; Bruton *et al.*, 2000a). En otros trabajos, se ha comparado la patogenicidad de *M. cannonballus* respecto a la de otros hongos implicados en el "colapso", como *A. cucurbitacearum* y *R. vagum*, observando que los daños más graves en las plantas de melón inoculadas eran los producidos por *M. cannonballus* (Aegerter *et al.*, 2000; Biernacki y Bruton, 2001).

En España, la controversia ha venido dada por la mayor o menor implicación de *M. cannonballus* en el síndrome del "colapso" del melón. En algunos estudios, se ponía de manifiesto la importancia de *A. cucurbitacearum* como agente causal de la afección (García-Jiménez *et al.*, 1991; García-Jiménez *et al.*, 1994c). La primera cita en España de *M. cannonballus* es de Lobo (1990), aunque en este trabajo no se efectuó ningún ensayo de patogenicidad. Posteriormente, García-Jiménez *et al.* (1993) aislaron *Monosporascus* spp. de raíces de plantas de melón afectadas; no obstante, tanto en cultivo hidropónico como en maceta *M. cannonballus* no fue capaz de desarrollar la enfermedad. Pocos años después, se constata definitivamente la patogenicidad de los aislados españoles de *M. cannonballus* (Lovic *et al.*, 1996).

Martyn y Miller (1996) afirmaron que *M. cannonballus* debía contribuir en gran manera al deterioro de la raíz, culminando en la "muerte súbita". Posteriores estudios señalaron que tanto *M. cannonballus* como *A. cucurbitacearum* debían ser considerados como los principales agentes

causales del "colapso" en España, mientras que otros hongos como *R. vagum* y *P. tabacinum* tendrían un papel secundario, contribuyendo al deterioro de la raíz (García-Jiménez *et al.*, 2000).

Otros trabajos han comparado la patogenicidad de aislados de diversa procedencia. Lovic *et al.* (1996) destacaron que un aislado español de *M. cannonballus*, procedente de la Colección Española de Cultivos Tipo, presentaba una agresividad más alta que los aislados japoneses y americanos, procedentes de Texas, Arizona y California. En contraposición, Bruton *et al.* (2000a) afirmaron en un estudio similar que los aislados españoles de *M. cannonballus* procedentes de raíces de melón infectadas eran menos agresivos que los procedentes de las zonas de cultivo de cucurbitáceas en Texas y California; a los aislados de *A. cucurbitacearum* les ocurría lo contrario, siendo más agresivos los españoles, obtenidos de plantas de melón que mostraron síntomas de "colapso" en campo.

En Italia también se han realizado ensayos de patogenicidad, demostrando que los aislados de *M. cannonballus* del país trasalpino son patogénicos no sólo en melón y sandía, sino también en pepino y calabaza (Minuto *et al.*, 2002). En Brasil, Andrade *et al.* (2005) efectuaron un ensayo de patogenicidad en melón de *M. cannonballus*, probando diferentes densidades de inóculo y evaluando diversos parámetros, no encontrándose coeficientes de correlación significativos entre la severidad de los síntomas y las variables referentes al peso de la parte aérea de la planta.

Ya desde un primer momento se constató la existencia de diferentes tipos de aislados, patogénicos y no-patogénicos, dentro de *M. cannonballus* (Lovic *et al.*, 1993). Se observó asimismo una variación en estos aislados, respecto a la morfología del cultivo, producción de peritecios, pigmentación y, sobre todo, degeneración y muerte del cultivo (Martyn y Miller, 1996). El desarrollo de los primeros estudios moleculares con *M. cannonballus*, para la detección e identificación del hongo mediante PCR abrió el camino para el estudio de dichos cambios morfológicos (Lovic *et al.*, 1995a y b). Lo primero que se observó fue la implicación de un fragmento de RNA de doble cadena (dsRNA) en la virulencia de los aislados de *M. cannonballus* (Martyn *et al.*,

1996b), cuya transferencia al material genético del hongo se traduce en una hipovirulencia, o pérdida notable de la agresividad del aislado, que se ve incapaz de provocar la sintomatología típica. La hipovirulencia va unida a ciertos cambios culturales en los aislados: producción de pigmentos amarillos, reducción de la tasa de crecimiento y formación de peritecios, y aspecto mucoso de los cultivos, en un proceso que recibe el nombre de "degeneración" (Martyn y Miller, 1996). Posteriormente, se diseñó una metodología capaz de identificar los fragmentos de RNA de doble cadena asociados al fenotipo hipovirulento, utilizando sondas de cDNA (Batten *et al.*, 2000b).

En relación con esto, algunos de los últimos trabajos publicados sobre *M. cannonballus* han ido encaminados a identificar los pigmentos que producen los aislados "degenerados" de este hongo. Estos pigmentos varían desde el color amarillo a colores más rojizos o marrones, y aparecen en el medio después de que los aislados llevan largo tiempo almacenados. Los primeros pigmentos identificados fueron la monosporascona y la dihidroxiartrinona, ambos ya aislados de otras especies fúngicas (Stipanovic *et al.*, 2004). De forma novedosa, se identificó también la dimetilcerdarina, el monosporascol A y la azamonosporascona. Por otro lado, Wheeler *et al.* (2004) identificaron a la melanina 1,8-dihidroxi-naftaleno, en el análisis de los metabolitos desarrollados por los "tipos salvajes" del hongo. La finalidad de estos trabajos es encontrar las posibles relaciones existentes entre la pigmentación y la hipovirulencia del aislado, motivo de posteriores investigaciones (Stipanovic *et al.*, 2004).

### **1.3.7. Epidemiología**

*M. cannonballus* es un patógeno monoácido (Martyn y Miller, 1996), es decir, que completa su ciclo vital a lo largo de un ciclo de cultivo del hospedante, en este caso las especies de la familia de las cucurbitáceas (**Figura 1.6**).

Las ascosporas son el inóculo primario, y se hallan en el suelo. Éstas germinan e infectan las raíces de las cucurbitáceas susceptibles produciendo

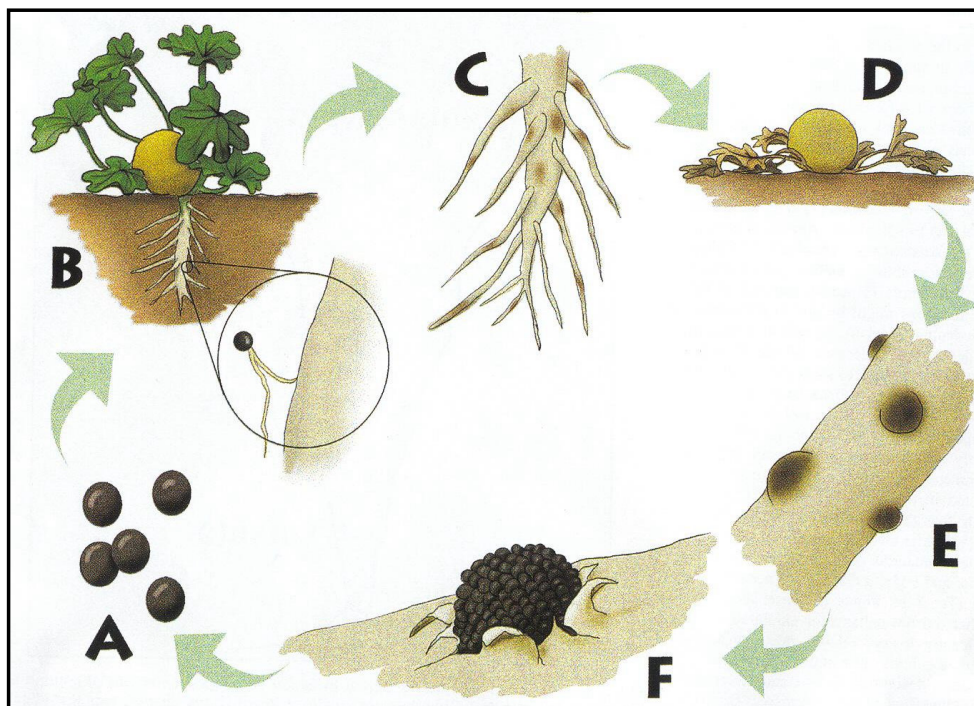
los síntomas comentados anteriormente. La germinación de las ascosporas se ve favorecida por los exudados del sistema radical de las plantas, así como por temperaturas de entre 25 y 30° C. Finalmente, la planta acaba muriendo a consecuencia del estrés hídrico en la época de maduración de los frutos, al no poder suministrar la deteriorada raíz el agua necesaria. Los peritecios del hongo se forman sobre las raíces afectadas cuando la temperatura del suelo es idónea o en la raíz muy deteriorada, en los estados avanzados de la enfermedad (Waugh *et al.*, 2003; Stanghellini *et al.*, 2004a). En ellos se forman las ascosporas, que acaban incorporándose al suelo, cerrándose de esta forma el ciclo. Se ha estimado que las raíces de una única planta de melón infectada por *M. cannonballus* son capaces de producir cerca de 400.000 ascosporas (Waugh *et al.*, 2003).

Además de su implicación para el desarrollo del hongo en sí, la temperatura ambiental juega un papel primordial en el "colapso" o "muerte súbita" del melón. Las temperaturas medias diarias de entre 20 y 35° C parecen estar asociadas a la marchitez del melón causada por *M. cannonballus*. Este resultado contrasta con el encontrado para *A. cucurbitacearum*, pues en este caso es suficiente alcanzar temperaturas de entre 20-30° C cerca del final de la estación de crecimiento para que se presenten los mismos problemas (Bruton *et al.*, 1999).

Estudios realizados recientemente indican que es necesaria al menos una temperatura en suelo igual o superior a 25° C para que tenga lugar la formación de peritecios (Waugh *et al.*, 2003). Este hecho es muy importante para la reproducción y supervivencia de *M. cannonballus* en el suelo, pues descarta que los peritecios del hongo puedan formarse en invierno en las raíces de otras plantas, y señala al cultivo de cucurbitáceas (que en nuestra zona se centran en los meses primaverales y estivales) como principal factor en el aumento del inóculo en suelo del hongo.

En este sentido, Pivonia *et al.* (1997) determinaron que *M. cannonballus* era el principal agente causante de "colapso" en el valle de Arava (Israel), donde la temperatura media estival se sitúa en 23° C durante la noche y 38° C durante el día. En esta misma zona, se vio que la muerte

por estrés hídrico sobrevinía en los cultivos desarrollados durante el verano y no en los cultivos primaverales. En el mismo orden de cosas, en el estudio de Stanghellini *et al.* (2004a) se establece que cuando el ciclo de cultivo se desarrolla en la época estival o a principios del otoño, la infección de la raíz puede producirse entre los 9 y los 17 días de la fecha de plantación. En cambio, si el cultivo tiene lugar entre invierno y principios de primavera, en zonas en las que la climatología no sea demasiado adversa, la infección no comienza hasta los 35-37 días de la plantación, o bien entre 47 y 65 días después de la plantación, si ésta tiene lugar a principios del invierno. Todos estos resultados apuntan al carácter termófilo de *M. cannonballus*. Además, según estos autores, el "colapso" de las plantas se produjo únicamente en el cultivo de invierno-primavera, mientras que no ocurrió en el cultivo efectuado en verano-otoño.



**Figura 1.6:** Ciclo de *M. cannonballus* (Fuente: Cohen *et al.*, 2002)

El número de frutos cuajados es también un importante factor para que una planta infectada por *M. cannonballus* acabe sufriendo marchitez o "colapso". Así, las plantas con un gran número de frutos, son más propensas a sufrir estrés, debido a que la demanda hídrica es superior y las

raíces afectadas son incapaces de suministrarla, debido a la pérdida de raíces. Aquí la temperatura vuelve a jugar un papel importante, pues las temperaturas bajas reducen la evapotranspiración y pueden evitar el estrés hídrico, a pesar de que la planta presente una elevada carga de frutos (Pivonia *et al.*, 2002a). Además de la temperatura y la carga de frutos, el genotipo es el tercer factor interrelacionado, y los tres deberán ser tenidos en cuenta a la hora de elaborar estrategias de control frente a *M. cannonballus* (Wolf, 1996).

Asimismo, hay que tener en cuenta que la baja cantidad de agua que recibe la parte aérea de la planta, no sólo es consecuencia del deterioro de las raíces, ya que el ataque de *M. cannonballus* provoca también como respuesta la formación de tilosas en el xilema. La consecuencia de este proceso puede ser la oclusión parcial o total de algunos vasos, que reducen la capacidad de transportar agua por la planta y colaboran en el aceleramiento del estrés hídrico (Alcantara *et al.* 1995; 1998).

Como se observa, es la demanda de agua uno de los factores principales en la expresión del principal síntoma de la afección; de esta manera, el régimen de irrigación juega también un importante papel. En las parcelas sometidas a baja irrigación, la marchitez o "colapso" de la parte aérea se retrasa; esto se debe a la menor carga de frutos y al desarrollo de un sistema radical más profundo, que pueda aportar con mayor facilidad toda la demanda de agua por parte de la planta. Por el contrario, el rendimiento que poseen estas plantas que reciben una dosis de agua más baja, es menor que el de las plantas bajo el régimen de irrigación habitual (Pivonia *et al.*, 2004).

El inóculo primario de *M. cannonballus* son las ascosporas, que se hallan en el suelo, y que tras la implantación del cultivo, comienzan a germinar infectando la raíz y provocando los síntomas ya conocidos (Stanghellini *et al.*, 1996; Stanghellini *et al.*, 2004b). Se estima que la capacidad del micelio vegetativo para actuar como inóculo es inferior a la de las ascosporas (Tsay *et al.*, 1999). Se han realizado numerosos estudios destinados a conocer el nivel de ascosporas existente en el suelo. Los más



relevantes han sido los trabajos de Mertely *et al.* (1993b) en Texas, Stanghellini *et al.* (1996) en Arizona, y Aegerter *et al.* (2000) en California. De estos estudios se desprenden algunas ideas importantes, por ejemplo, que la distribución de las ascosporas en el suelo es bastante uniforme, tanto horizontal como verticalmente. Por su parte Waugh *et al.* (2000) constataron que el sistema radical del melón puede llegar a soportar una producción de  $395.000 \pm 115.000$  ascosporas; esta población, uniformemente distribuida en el terreno en una profundidad de entre 10 y 20 centímetros puede equivaler a un incremento de 10,3 ags (ascosporas/g de suelo). En estudios posteriores, Waugh *et al.* (2003) indicaron que los campos con un nivel de 2 ags son altamente susceptibles de presentar problemas de "colapso" en un futuro.

Sin embargo, el estímulo que deben recibir las ascosporas para germinar todavía es desconocido. Se sabe que la microflora propia del suelo juega un papel muy importante; según algunos estudios, las ascosporas de *M. cannonballus* germinan perfectamente en la rizosfera de melón plantado en suelo de campo, no obstante, no pueden germinar las que se encuentran en un sustrato autodavado (Stanghellini *et al.*, 2000). Estos autores, tras añadir a varias muestras de suelo de campo distintos tipos de antibióticos (estreptomidina, penicilina), afirmaron que la germinación de ascosporas de *M. cannonballus* se veía favorecida por la presencia de actinomicetos y bacterias gram-positivas junto con exudados de raíces de melón.

La secreción de enzimas es un proceso típico de la mayoría de hongos fitopatógenos, que se ayudan de estas sustancias para poder penetrar en el tejido del hospedante. Estas enzimas suelen actuar sobre las moléculas o polímeros que forman la pared celular (celulosa, pectinas y hemicelulosa) y algunas cubiertas (proteínas, cutina y lignina) (Agrios, 1996). En el caso de *M. cannonballus* solamente se ha encontrado la producción de celulasa; en cambio, otro hongo causante de "colapso" como *A. cucurbitacearum* segrega celulasa y poligalacturonasa, lo cual le proporciona mayor poder de penetración en el hospedante (Bruton *et al.*, 1996a). Por otro lado, algunas plantas segregan determinados metabolitos en respuesta al ataque de hongos fitopatógenos. En el caso de las cucurbitáceas, la respuesta al

ataque de *M. cannonballus* es la secreción de ciertas sustancias denominadas cucurbitacinas (Peterek, 1998), que podrían tener cierta función defensiva, como las fitoalexinas (Agrios, 1996).

Por último, se han realizado algunos trabajos previos de histopatología en raíz de melón, para ver cual es la secuencia del ataque de *M. cannonballus* (Gálvez, 2000). En los últimos estudios efectuados, se ha comparado la infección de este hongo en raíces de melón y calabaza. *M. cannonballus* es capaz de invadir las células del parénquima del córtex tanto en calabaza como en melón, encontrándose en este caso circulación longitudinal y transversal, por el interior de las células o por los espacios intercelulares. En este trabajo se observó de forma muy clara la presencia de tilosas en vasos xilemáticos, procedentes de plantas de melón y calabaza afectadas por *M. cannonballus* (Alfaro-Fernández, 2004). Posteriormente, Waugh *et al.* (2005), observaron también presencia y crecimiento de hifas en el interior de las células y en xilema. Estos autores afirmaron que el comportamiento de *M. cannonballus* se parece más al de un patógeno causante de marchitez vascular en su modo de parasitismo, aunque no se extiende a través del sistema vascular hacia los tejidos de la parte aérea de la planta.

### **1.3.8. Control**

En la lucha contra el síndrome del "colapso" causado por *M. cannonballus* caben varias estrategias: control químico, que incluye uso de fungicidas y fumigantes de suelo; métodos culturales, como el manejo del riego o el injerto; estrategias relacionadas con la mejora genética, como la búsqueda de variedades resistentes y, por último, el control biológico, campo en el cual existen todavía pocos trabajos.

#### **1.3.8.1. Control químico**

Respecto al empleo de tratamientos químicos para combatir a *M. cannonballus*, de los diferentes ensayos que se han hecho hasta hoy día se

desprende que el fungicida más efectivo frente a este hongo es el fluazinam (Cohen *et al.*, 1997; Cohen *et al.*, 1999). De un total de 29 fungicidas ensayados "in vitro", solamente el fluazinam y el kresoxim-metil consiguieron inhibir en un 100% el crecimiento micelial de *M. cannonballus*. Además el fluazinam fue probado en ensayos de campo, en aplicaciones a los 2 y a los 64 días tras la plantación, observando la reducción de hasta un 87% en el número de plantas de melón con síntomas de marchitez (Cohen *et al.*, 1999). En otros estudios similares encaminados a probar la eficacia de otros fungicidas frente a *M. cannonballus*, Miller y Amador (2001) realizaron aplicaciones de fludioxonil en melón, comprobando que se obtenía menor severidad de síntomas tanto en parte aérea como en raíces, y un mayor rendimiento de las plantas, respecto a los controles no tratados. Estos mismos resultados fueron corroborados por Kim *et al.* (2001).

De los fumigantes de suelo utilizados en la lucha contra el síndrome del "colapso" causado por *M. cannonballus*, el bromuro de metilo es el más efectivo (Stanghellini *et al.* 2001). En algunas zonas productoras de cucurbitáceas del mundo, como el valle de Arava en Israel, la ubicuidad de *M. cannonballus* ha hecho que durante muchos años el bromuro de metilo sea la única técnica de control eficaz. Asimismo, el uso de bromuro de metilo a dosis bajas combinado con otras técnicas de cultivo como el injerto sobre *C. maxima* se ha mostrado muy eficaz, llegando a reducir en un 100% la incidencia de la enfermedad (Edelstein *et al.*, 1999). No obstante, su reciente prohibición en los países desarrollados ha llevado a muchos investigadores a la búsqueda de otras alternativas en la lucha química.

En algunos trabajos se ha probado el uso de técnicas combinadas: fumigación de suelo y solarización. Con esta combinación se han conseguido resultados similares al uso de bromuro de metilo en solitario (Cohen *et al.*, 2000), consiguiendo de esta manera aumentar el rendimiento de la solarización. Teniendo en cuenta el carácter termófilo de *M. cannonballus*, ya que algunos de sus aislados pueden soportar temperaturas superiores a 45° C (Martyn y Miller, 1996), es necesario alcanzar elevadas temperaturas en el suelo durante la solarización para que ésta sea eficaz. En este sentido, se encuentran los estudios de Pivonia *et al.* (2002c), que observaron cómo

el rendimiento de la solarización aumentaba notablemente al cultivar la planta en contenedores artificiales poco profundos, debido a que la temperatura alcanzada en el sustrato es muy superior a la obtenida directamente sobre suelo de campo.

Otros fumigantes que han dado buen resultado son el metam-sodio, el 1,3-dicloropropeno y la combinación 1,3-dicloropropeno y cloropicrina. No obstante, el incremento en el rendimiento del cultivo después de la aplicación de estas sustancias es mucho menor que en el caso del bromuro de metilo (Miller *et al.*, 1992). En un estudio más reciente (Stanghellini *et al.*, 2003), el yoduro de metilo también ha dado buenos resultados, aunque la novedad en este caso es la aplicación del fumigante mediante el sistema de riego, lo cual aumenta también su eficacia. La cloropicrina también fue ensayada en este estudio, obteniéndose buenos resultados.

#### 1.3.8.2. Métodos culturales

En el apartado 1.3.7. se comentó la relación que existe entre la carga de frutos y la marchitez de la planta por estrés hídrico. Se han realizado algunos estudios acerca del adareo de frutos como posible método de control de esta afección, sin que dieran resultados demasiado optimistas. Cuando la planta posee menor número de frutos se consigue retrasar el "colapso" de la parte aérea, aunque finalmente éste acaba produciéndose (Pivonia *et al.*, 2002a). Además, el adareo de frutos no impide la formación de filosas en los vasos en ningún caso, que como se ha visto, es también otra de las consecuencias de la infección por *M. cannonballus*. Por otro lado, Lee (2003) efectuó un estudio similar, señalando que existía un descenso en la severidad de síntomas en raíces en las plantas con adareo de frutos, junto a un incremento en la concentración de carbohidratos (glucosa, fructosa, estaquiosa y rafinosa) en la raíz. Esta concentración de azúcares se hallaba ligada al progreso y eficacia de la infección de *M. cannonballus*, puesto que las raíces con mayor concentración de carbohidratos mostraron menor número de peritecios.

Asimismo, ya se ha comentado en el apartado 1.1. el uso de algunas especies del género *Cucurbita* como patrones de injerto. Esta técnica ha sido utilizada en cucurbitáceas sobre todo para luchar contra la fusariosis vascular (Cohen *et al.*, 2002). Los buenos resultados obtenidos han servido para que algunos investigadores hayan trabajado en el uso del injerto para combatir el "colapso" producido por *M. cannonballus*.

El primer trabajo de esta índole fue realizado en Israel, comparando el comportamiento de plantas de sandía injertadas sobre *Cucurbita* spp. y plantas no injertadas, aunque no dio resultados concluyentes (Pivonia *et al.*, 1997). Posteriormente se procedió a injertar melón sobre *C. maxima*, mostrándose este método muy eficaz, puesto que se consiguió una importante reducción en la incidencia del síndrome (Edelstein *et al.*, 1999). En este mismo trabajo se combinó el uso del injerto con el bromuro de metilo, con muy buenos resultados, como se dijo anteriormente.

Cohen *et al.* (2000) afirmaron que es necesario tener en cuenta la compatibilidad entre patrón de injerto y variedad de cultivo, pues en caso contrario puede ocurrir una notable bajada del rendimiento; de esta forma, el injerto deja de ser una práctica rentable, a pesar de la ventaja que supone injertar sobre patrones de *Cucurbita* para disminuir los daños causados por los patógenos de suelo. A pesar de que en la mayoría de ensayos efectuados el injerto ha dado muy buenos resultados, en Italia se ha visto que no es una técnica suficiente en la lucha contra *M. cannonballus*, pues en estos estudios los híbridos de *Cucurbita* empleados se comportaron como parcialmente tolerantes a la enfermedad (Polizzi *et al.*, 2002). Estos autores proponen por tanto la integración del injerto con otros métodos de lucha.

Por último, partiendo de la base que el injerto de melón y sandía sobre *Cucurbita* spp. es un eficaz método de control, los estudios más recientes han ido encaminados a buscar qué patrón de injerto es más eficaz, según sus características anatómicas y genéticas. Las especies probadas han sido *C. maxima*, *C. moschata*, *C. argyrosperma* y sus híbridos, que en líneas generales no han presentado mucha variación entre

ellos (Edelstein *et al.*, 2004). Asimismo, según Cohen *et al.* (2005), el cultivo de melón tipo Galia sobre portainjertos de *Cucurbita*, obtuvo muy buenos resultados en suelos infestados de *M. cannonballus*. Estos autores afirman que la variabilidad en el rendimiento encontrada en los estudios anteriores podría deberse más bien a las condiciones ambientales, y sostienen que el injerto es uno de los mejores métodos que existen en la actualidad en la lucha contra este patógeno.

Como ya se ha dicho en los apartados anteriores, el inóculo principal de *M. cannonballus* son las ascosporas, que se forman en los peritecios presentes en las raíces del cultivo infectado. Desde hace años ya se han realizado algunos estudios que inciden en el hecho de conseguir densidades de población bajas mediante la inhibición de la producción de ascosporas (Radewald *et al.*, 2001). Todos aquellos procesos que favorezcan la rápida descomposición de las raíces del cultivo, por ejemplo la aplicación de herbicidas foliares como el glifosato, o la destrucción mecánica de la parte aérea del cultivo, sólo sirven para incrementar el número de peritecios formados, elevando así el inóculo en suelo. Debido a ello, se recomienda permitir que el cultivo siga su descomposición natural, después de la recolección, y evitar la aceleración artificial de este proceso, o bien proceder a la eliminación de las raíces mediante arrancado de las plantas al final del cultivo (Stanghellini *et al.*, 2004b). Otra forma de evitar la producción de nuevas ascosporas es procurar la destrucción de las hifas del hongo poco después del fin del cultivo. Esto puede conseguirse mediante una aplicación post-cosecha de metam-sodio, o bien mediante el "laboreo", para dejar las raíces afectadas sobre la superficie del suelo y lograr su rápida desecación (Radewald *et al.*, 2004).

#### 1.3.8.3. Mejora genética

Diversos estudios han insistido en la importancia del genotipo en la expresión de síntomas en el síndrome del "colapso" (Nuez y Esteva, 1994; Wolf, 1996). En estos primeros estudios, se clasificó a los cultivares de melón según la tolerancia que presentaban a la afección. El cultivar "Deltex", híbrido del tipo Ananas fue el que mostró la mayor tolerancia al

“colapso”. Los tipos Charentais y Galia también presentaron un buen comportamiento, mientras que los tipos Honeydew y Cantalupo fueron los más sensibles (Wolf y Miller, 1998). Anteriormente, y ante los problemas de marchitez en los campos de melón de las principales zonas productoras de Israel, Cohen *et al.* (1995) buscaron algunas fuentes de resistencia, encontrándola en el “melofon”, una variedad desarrollada por la industria de encurtidos, que mostró también resistencia a otros patógenos típicos del melón, como mildiu, oidios y la fusariosis. En siguientes trabajos, estos mismos autores sugirieron que los genes que determinan la resistencia en los diversos cultivares de melón presentan un modo de acción aditivo (Cohen *et al.*, 1996).

Otros estudios de mejora genética han ido encaminados a desarrollar variedades resistentes, mediante cruces con algunos cultivares que hayan dado buenos resultados. La variedad *C. melo* var. *agrestis* (Naud.) Pangalo es la que presenta mejor comportamiento (Dias *et al.*, 2004), sin embargo, sus frutos son de pequeño tamaño y poco dulces. Los cruces tienen como fin obtener un cultivar con resistencia al patógeno, pero sus frutos deben tener interés comercial. Estudios llevados a cabo por Iglesias *et al.* (1999; 2000b) encontraron que la accesión *C. melo* var. *agrestis* Pat 81 fue la que mostró mayor resistencia, mientras que los híbridos F1 resultantes del cruce Pat 81 x *C. melo* presentaron un nivel intermedio. Trabajos realizados con este cultivar señalaron que el control de la resistencia al “colapso” viene dado por un único gen (Iglesias *et al.*, 2000a). Los trabajos más recientes al respecto han ido encaminados a estudiar la progenie de este cultivar (Dias *et al.*, 2004).

Otra vía de trabajo dentro de la mejora genética es la que va destinada a elegir la variedad de melón que tenga mayor desarrollo radical. Por las características de este síndrome, un cultivo cuyo sistema radical sea fuerte y tenga una gran extensión por el suelo, sufrirá mucho menos estrés hídrico que, recordemos, es la causa de la marchitez o “muerte súbita” de la planta. En varios trabajos se compararon los sistemas radicales de varios cultivares de melón, teniendo en cuenta diversos parámetros, como la longitud de la raíz principal, el área total de la raíz y, relacionado con estos,

la longitud total de la parte aérea (Crosby, 2000). En uno de estos trabajos se conduyó que el cultivar "Deltex", tolerante, fue el que presentó mayor longitud de raíces, tanto principales como secundarias, en comparación con los cultivares susceptibles, "Doublon" y "Caravelle" (Crosby *et al.*, 2000). En otros estudios se comparó la estructura de la raíz del anteriormente citado Pat 81 con la del cultivar susceptible Amarillo Canario, y se intentó modificar la de este último, mediante el cruzamiento (Dias *et al.*, 2002).

#### 1.3.8.4. Control biológico

Respecto al control biológico de *M. cannonballus*, hasta la fecha son pocos los ensayos realizados en este campo, pero ante la prohibición del bromuro de metilo, así como la implantación que la "protección integrada" está teniendo a lo largo de estos últimos años, se está potenciando su investigación. Se ha realizado algún estudio preliminar de la eficacia de *Trichoderma virens* (Miller, Giddens & Foster) Arx, así como otras especies del mismo género, frente a *M. cannonballus*, llegando a la conclusión que es capaz de atenuar la infección de la planta (Bruton *et al.*, 1998b; Sanz *et al.*, 1998). Otra de las estrategias de control biológico es el uso de aislados "degenerados" hipovirulentos, que se detallaron en el apartado 1.3.6.: mediante la introducción de un fragmento de dsRNA a aislados de *M. cannonballus* es posible obtener una cepa con menor capacidad patogénica (Batten *et al.*, 2000a). Las plantas inoculadas conjuntamente con un aislado patogénico normal y un aislado hipovirulento, mostraron mejor comportamiento frente a la enfermedad. La vitalidad y el crecimiento de estos aislados hipovirulentos es mucho menor, comparada con los aislados de "tipo salvaje", por lo que los autores propusieron añadir mayor cantidad de inóculo cuando se tratara de los aislados hipovirulentos.

Por otra parte, Park *et al.* (2000) realizaron un estudio "in vitro", utilizando quitosanos (teniendo en cuenta que este grupo de sustancias son capaces de bloquear a la enzima quitinasa) frente a varios hongos fitopatógenos para evaluar su actividad antifúngica. En este caso, *M. cannonballus* fue uno de los hongos más susceptibles a su aplicación, viéndose inhibido su crecimiento (Park *et al.*, 2000).



## **II. OBJETIVOS**

## II. OBJETIVOS

Los objetivos planteados para la realización de esta tesis son los siguientes:

- 1) Estudiar la dinámica poblacional de las ascosporas de *M. cannonballus* en suelo, en diferentes condiciones hídricas y culturales.
- 2) Evaluar el nivel de ascosporas de *M. cannonballus* existente en suelo en las principales zonas productoras de melón de la Comunidad Valenciana.
- 3) Estudiar el ciclo vital de *M. cannonballus* y el nivel de ascosporas en suelo a lo largo de un ciclo de cultivo de cucurbitáceas.
- 4) Comparar el comportamiento de distintas especies de la familia de las cucurbitáceas en suelos infestados de *M. cannonballus*.
- 5) Realizar un estudio comparativo de patogenicidad entre los principales hongos causantes del síndrome de "colapso" en melón.



**III. DINÁMICA POBLACIONAL DE LAS  
ASCOSPORAS DE *M. cannonballus* EN  
SUELOS DE MARJAL**

### III. DINÁMICA POBLACIONAL DE LAS ASCOSPORAS DE *M. cannonballus* EN SUELOS DE MARJAL

#### III.1. Introducción

La enfermedad causada por *M. cannonballus* se halla ampliamente distribuida en las principales zonas productoras de cucurbitáceas en España. Hasta la fecha, este hongo ha sido detectado en Andalucía, Castilla-La Mancha, Comunidad Valenciana y Murcia (García-Jiménez *et al.*, 1993; García-Jiménez *et al.*, 2000). Dentro de la Comunidad Valenciana, las comarcas con una mayor incidencia de este ascomiceto son L'Horta Nord (Valencia) y la Plana Baixa (Castellón), en las cuales se centra un elevado porcentaje del total de producción de melón y sandía, entre los meses de primavera y verano.

Destaca especialmente la presencia de *M. cannonballus* en los términos municipales de Almenara, Xilxes y La Llosa (Castellón), zonas de marjal que, habitualmente, presentan encharcamiento invernal. El cultivo de melón se realiza entre abril y septiembre, los meses del año en los que el suelo se halla seco; durante los meses invernales es posible proceder a la inundación de los campos, que puede ser regulada por los agricultores, según su preferencia.

Esta práctica de la inundación invernal contrasta con la descripción del hábitat natural de este hongo, que se supone característico de zonas secas, áridas o semiáridas de cultivo de cucurbitáceas (Bruton *et al.*, 1999; Pivonia *et al.*, 2002b) como Túnez, el valle del Río Grande en Texas (Martyn y Miller, 1996), Arabia Saudita o el valle de Arava en Israel (Cohen *et al.*, 2000). Se considera a *M. cannonballus* como un hongo termófilo, que posee un óptimo de crecimiento entre 30 y 35°C, e incluso se ha efectuado su aislamiento a partir de suelos nativos de desierto en Arizona, como el desierto de Sonora (Stanghellini *et al.*, 1996); asimismo, hace años se describió un aislado procedente de Libia que alcanzó un óptimo de temperatura de crecimiento de 45°C (Hawksworth y Ciccarone, 1978).

En la introducción de esta tesis se comentó que las ascosporas de *M. cannonballus* constituyen el inóculo primario de este hongo. Estas ascosporas pueden sobrevivir en el suelo durante varios años, por lo que las rotaciones de cultivos de corta duración carecen de eficacia para el posible control de la enfermedad (Martyn y Miller, 1996).

Se han efectuado diversos estudios encaminados a determinar la concentración de ascosporas en suelo de campos destinados al cultivo de cucurbitáceas que tuvieran un historial conocido de problemas por "colapso"; entre los más relevantes se hallan los de Mertely *et al.* (1993b) en Texas, Stanghellini *et al.* (1996) en Arizona y Aegerter *et al.* (2000) en California. En todos ellos se hace uso de la técnica puesta a punto por Stanghellini y Rasmussen (1992), que se basa en un proceso físico para conseguir la extracción del suelo de las ascosporas. Este método será explicado con mayor profundidad posteriormente.

Por otra parte, altas humedades en suelo o condiciones de encharcamiento, pueden ayudar a mitigar los efectos que producen algunos hongos, como *M. phaseolina* atacando a melón (Bruton *et al.*, 1987) y otras especies fúngicas patogénicas de otros cultivos. De esta manera, el ensayo planteado en el presente apartado pretende estudiar la influencia del encharcamiento estacional, el cultivo de melón y los periodos de no cultivo en la evolución de la población de ascosporas de *M. cannonballus* en suelo.

## **III.2. Materiales y Métodos**

### III.2.1. Campos experimentales

Las muestras de suelo se recolectaron mensualmente en cuatro campos (Campos A, B, C y D) durante un periodo de tres años, entre julio de 1999 y junio de 2002. Estos campos estaban localizados en el termino municipal de Almenara (Castellón) y se seleccionaron por su historia previa de "colapso" del melón. En esta área, el suelo fue clasificado como Gleysol (Rubio *et al.*, 1995; FAO, 1998). Después de efectuar un análisis de suelo de los cuatro campos estudiados, se clasificó la textura de todos ellos como

franca, poseyendo un elevado contenido de materia orgánica. En la **Tabla III.1** se pueden observar algunas de las características de estos suelos.

**Tabla III.1:** Características físico-químicas de las parcelas.

Carácter		Campos 1 y 2	Campos 3 y 4
Textura	% arena	36,3	35,4
	% limo	48,6	40,4
	% arcilla	15,1	24,2
	pH (agua)	7,92	8,02
	CE <sup>a</sup> (S/m)	0,524	0,512
	% Materia orgánica	9,99	8,58

<sup>a</sup>CE: Conductividad eléctrica

Con anterioridad al periodo de estudio, los cultivos mayoritarios en estos campos habían sido cucurbitáceas (fundamentalmente melón y sandía) alternadas con tomate y alcachofa. En la **Tabla III.2** se puede observar el historial detallado de todos estos campos desde 1988: durante el periodo de estudio, en el campo A se cultivó melón en los años 1999 y 2001, mientras que en 2000 y 2002 permaneció sin cultivo. En el campo B se cultivó melón los años 1999 y 2000, permaneciendo sin cultivo de melón los años 2001 y 2002. En cambio los campos C y D permanecieron sin cultivo durante los tres años de estudio y presentaron extensos periodos de encharcamiento. En todos los cultivos de melón efectuados en las parcelas de estudio se empleó el riego localizado.

### III.2.2. Muestreo y procesado de suelo

En los campos A y B, la plantación del cultivo de melón tuvo lugar en el mes de mayo de 1999. Poco después se dio inicio a este estudio, en julio de 1999, realizando en ese momento la primera toma de muestras.

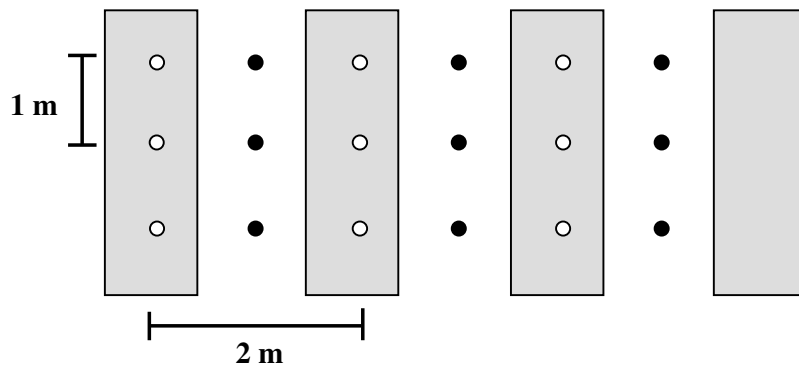
Se efectuaron un total de 35 muestreos en cada uno de los campos estudiados, entre julio de 1999 y junio de 2002, con una periodicidad mensual (oscilando entre 25 y 40 días, en algunos casos, por motivos meteorológicos y de programación).

**Tabla III.2:** Historial de cultivo y secuencia de encharcamiento y cultivo de melon en los campos A, B, C y D durante el periodo de tres años de estudio.

Año	Campo A	Campo B	Campo C	Campo D
1988	Melón	Melón	Tomate	Tomate
1989	Tomate	Tomate	Melón	Melón
1990	Melón	Melón	Melón	Melón
1991	Tomate	Tomate	Melón	Melón
1992	Melón	Melón	Tomate	Tomate
1993	Sandía	Melón	Tomate	Tomate
1994	Alcachofa	Alcachofa	Tomate	Tomate
1995	Alcachofa	Alcachofa	Melón	Melón
1996	Sandía	Sandía	Melón	Sandía
1997	Melón	Melón	Melón	Melón
1998	Tomate	Melón	Melón	Melón
<b>Periodo de estudio (jul 1999-jun 2002)</b>				
Encharcamiento			nov 1999-mar 2000 oct 2000-mar 2001 oct 2001-jul 2002	nov 1999-mar 2000 oct 2000-mar 2001 oct 2001-jul 2002
Cultivo de melón	may 1999-sep 1999 jun 2001-sep 2001	may 1999-sep 1999 jul 2000-sep 2000		



Tanto para el campo A como para el campo B, se escogió un área de aproximadamente 8 metros de anchura (que abarcó un total de 4 líneas de cultivo) por 3 metros de longitud. En esta área se tomaron en cada muestreo nueve muestras de suelo de la hilera de plantas de cultivo y otras nueve muestras de la zona de la entrelínea. De este modo, se obtuvieron un total de 18 muestras por cada momento de muestreo, distribuidas como se muestra en la **Figura III.1**.



**Figura III.1** Representación del área muestreada en cada uno de los campos

- = Puntos de muestreo en la línea de cultivo
- = Puntos de muestreo en las entrelíneas

Las muestras fueron tomadas utilizando un taladro de suelo, a intervalos de 1 metro y una profundidad de entre 10 y 20 centímetros, donde se encuentra la población de ascosporas más elevada (Mertely *et al.*, 1993b).

Este patrón de muestreo fue también adoptado para los campos C y D, que se encontraban sin cultivo cuando comenzó este estudio (julio de 1999), y se mantuvo para los cuatro campos a lo largo de todo el periodo de estudio, incluso cuando la zona permanecía encharcada o sin cultivo. En la **Figura III.2** aparecen diferentes imágenes de los campos

experimentales, tanto en época de encharcamiento como durante el cultivo de melón, así como diversas instantáneas de la toma de muestras.

Las ascosporas de *M. cannonballus* se extrajeron del suelo mediante un método adaptado de Stanghellini y Rasmussen (1992), que es el que se describe a continuación, y que se encuentra representado en la **Figura III.3**. Las adaptaciones realizadas del método original consistieron en cambiar el cedazo de 38  $\mu\text{m}$  por el de 30  $\mu\text{m}$ , con el fin de conseguir la extracción del suelo de un mayor número de ascosporas de *M. cannonballus*.

Ya en el laboratorio, las muestras de suelo se secaron a temperatura ambiente, se golpearon con una maza para desmenuzar los terrones, y posteriormente se hicieron pasar a través de un cedazo de 2 milímetros de luz con el fin de eliminar los elementos gruesos. A continuación, se hicieron pasar a través de un cedazo de 250  $\mu\text{m}$  para eliminar todos aquellos elementos gruesos (partículas de suelo, etc.) que pudieran ser molestos en la extracción de las ascosporas. Se tomó después una submuestra de 20 gramos, que se mezcló con 200 ml de agua destilada. Dicha submuestra fue homogeneizada en un agitador durante 5 minutos, y a continuación se hizo pasar a través de dos cedazos de 75 y 30  $\mu\text{m}$  respectivamente, recogiendo el material que pasó el cedazo de 75  $\mu\text{m}$  y no el de 30  $\mu\text{m}$ . La utilización de estos dos cedazos se debe precisamente a que las ascosporas de *M. cannonballus* presentan un diámetro medio de entre 50 y 35  $\mu\text{m}$  (Martyn y Miller, 1996).

El material recogido se lavó con agua y se sometió a tres centrifugaciones sucesivas. En la primera centrifugación se pretende separar las partículas de terreno más finas, que podrían perturbar la futura visualización de las ascosporas; esta primera centrifugación se realiza sólo con agua. En las otras dos centrifugaciones se empleó una disolución de sacarosa al 50% para obtener un gradiente de densidad, con el fin de conseguir la separación entre las partículas de terreno y las ascosporas. Las tres centrifugaciones se efectuaron a una velocidad de 2.000g, aproximadamente 3.000 revoluciones por minuto (r.p.m.).

La primera centrifugación se efectuó durante 4 minutos. Posteriormente se descartó el sobrenadante, que tan solo contenía elementos de pequeño tamaño (partículas de suelo de un diámetro inferior a 30  $\mu\text{m}$ ). La pastilla obtenida en esta centrifugación se resuspendió añadiendo 30-40 ml de la disolución de sacarosa, y se realizó una segunda centrifugación, esta vez durante 2 minutos, al cabo de los cuales se pasaba el sobrenadante por un cedazo de 30  $\mu\text{m}$ , lavando con agua el material retenido y recogéndolo en una placa Petri.

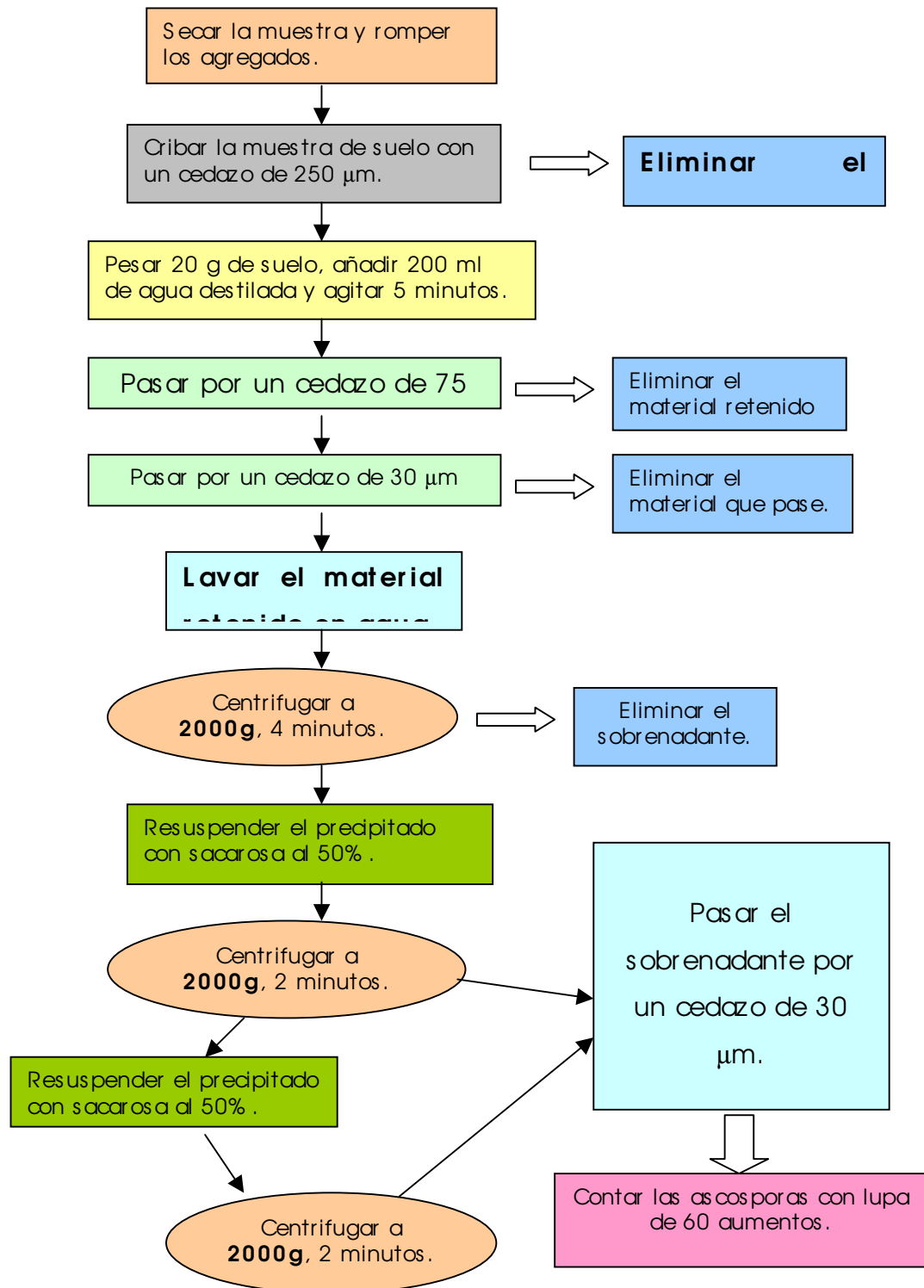
Por último, se realizó una tercera centrifugación, repitiendo el proceso citado en el párrafo anterior sobre la pastilla de suelo residual que quedó de la segunda centrifugación (la primera extracción con sacarosa). El sobrenadante de esta tercera centrifugación se hizo pasar igualmente por la malla de 30  $\mu\text{m}$ , tras lo cual el material retenido se lavaba con agua y se recogía en la misma placa Petri donde se había recogido el sobrenadante de la segunda centrifugación.

Esta suspensión se almacenó en una pequeña cantidad de agua a 4<sup>º</sup> C hasta el momento del conteo de ascosporas. Este conteo se realizaba vertiendo cada muestra en una placa Petri y observando bajo lupa con transiluminador a 60-80 aumentos. Las ascosporas se distinguen del resto de partículas por su forma esférica y color negro brillante característico. En la **Figura III.4**, se puede apreciar el aspecto de estas ascosporas.

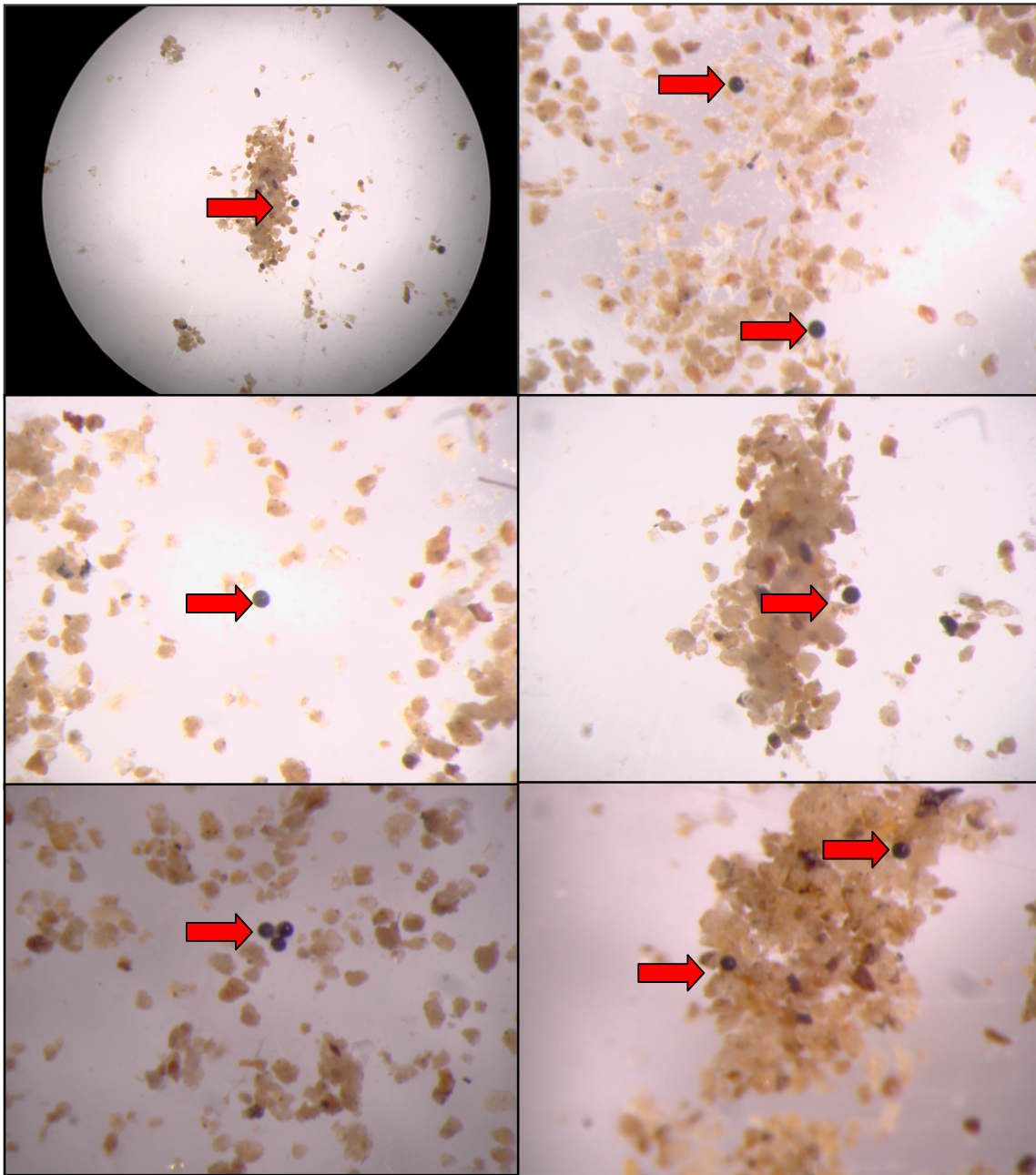
Paralelamente al muestreo y procesado de suelo, se efectuó un seguimiento de los cultivos de melón en el caso de los campos A y B, observándose la aparición de síntomas de "colapso".



**Figura III.2:** Diferentes imágenes de los campos experimentales, en época de encharcamiento y durante el cultivo de melón. **(a)**: Aspecto de la marjal de Almenara en época de cultivo de melón **(b y c)**: época de encharcamiento invernal **(d)**. parcela de melón con síntomas de "colapso" **(e y f)**. momentos de la toma de muestras de suelo.



**Figura III.3.** Proceso de extracción de ascosporas de *M. cannonballus* del suelo (de Stanghellini y Rasmussen, 1992, modificado).



**Figura III.4.** Aspecto de las ascosporas de *M. cannonballus* en placa Petri, bajo la lupa a diferentes aumentos.

### III.2.3. Bioensayo de *M. cannonballus* a partir de muestras de suelo

De forma complementaria al conteo de ascosporas en suelo, se realizó un bioensayo para verificar la supervivencia de *M. cannonballus* en todos los campos al final del periodo de tres años de estudio, y comprobar si estas ascosporas detectadas seguían conservando su capacidad infectiva a raíces de melón.

A tal efecto se usaron muestras de suelo tomadas entre los meses de marzo a junio de 2002. Se utilizó parte del suelo recogido en cada uno de los campos estudiados para rellenar macetas de plástico de 14 centímetros de diámetro. Se usaron un total de seis macetas por cada mes y campo.

Se emplearon semillas de melón cv. Piel de Sapo PS-1430, que se desinfectaron superficialmente con una solución de hipodlorito sódico (1,5% de cloro activo) durante un minuto. A continuación se lavaron en agua estéril para eliminar el exceso de hipodlorito.

Se sembraron un total de cinco semillas por cada maceta. Al cabo de varios días, se aclararon las plantas, dejando sólo una por maceta, procurando que todas las plantas seleccionadas presentaran el mismo desarrollo.

Las plantas crecieron en un invernadero a temperatura controlada (25-30° C), y fueron fertilizadas dos veces, añadiendo 150 ml de solución Hoagland por maceta. Las macetas fueron ubicadas en el invernadero realizando un diseño completamente al azar.

A los 45 días, se extrajeron las raíces, que fueron lavadas cuidadosamente. Para la realización de los aislamientos, se procedió a la esterilización superficial de varios fragmentos de la raíz, lavándolas durante un minuto en una solución de hipodlorito sódico (1,5% de cloro activo); posteriormente, los fragmentos esterilizados se lavaron dos veces con agua estéril para eliminar los restos de hipodlorito. Los aislamientos se realizaron a partir de catorce segmentos de la raíz por cada planta, escogiendo

aquellas zonas del tejido radical que aparentemente se encontraban afectadas (áreas necróticas, etc.). La siembra se realizó en medio patata dextrosa agar (PDA), al que se le añadió  $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$  de sulfato de estreptomicina (PDAS). Las placas petri se examinaron diariamente a lo largo de una semana para observar el crecimiento fúngico. De las distintas colonias fúngicas observadas se repicaron los ápices hifales a medio PDA, para su posterior identificación.

#### III.2.4. Análisis de los datos

Los datos se analizaron usando el software Statgraphics Plus 5.1 (Statistical Graphics Corp., Englewood Cliffs, NJ, USA). Se calculó la media de los conteos de las 18 muestras de suelo de cada campo, para así obtener el nivel medio mensual de ascosporas por gramo de suelo. A partir de estos datos se realizó un análisis de la varianza (ANOVA).

También se utilizaron análisis de regresión para mostrar la relación existente entre el número medio de ascosporas por gramo de suelo y las variables temporales a lo largo de todo el periodo de estudio.

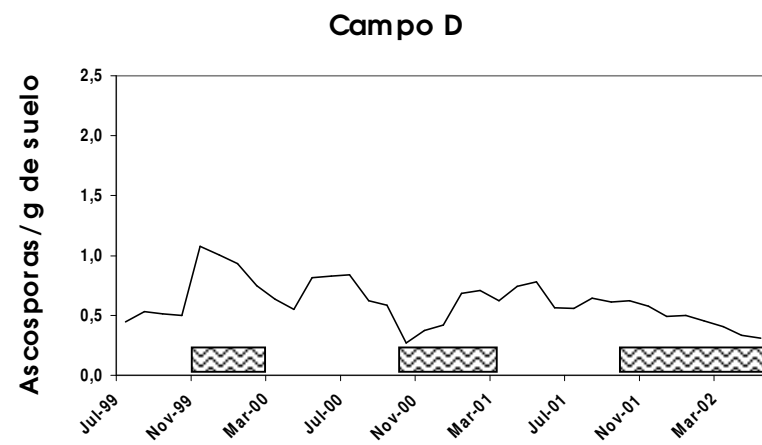
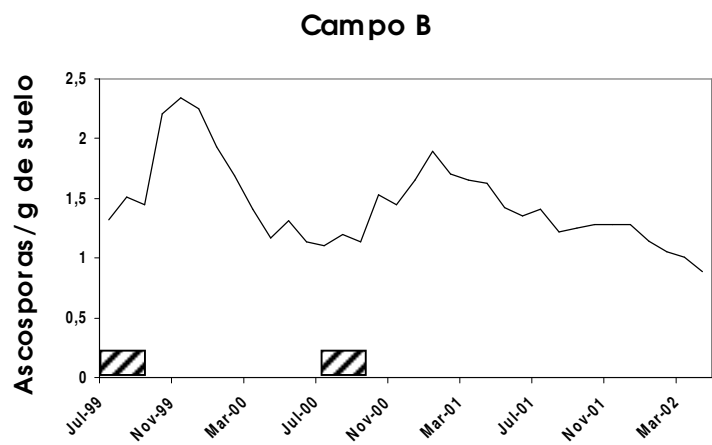
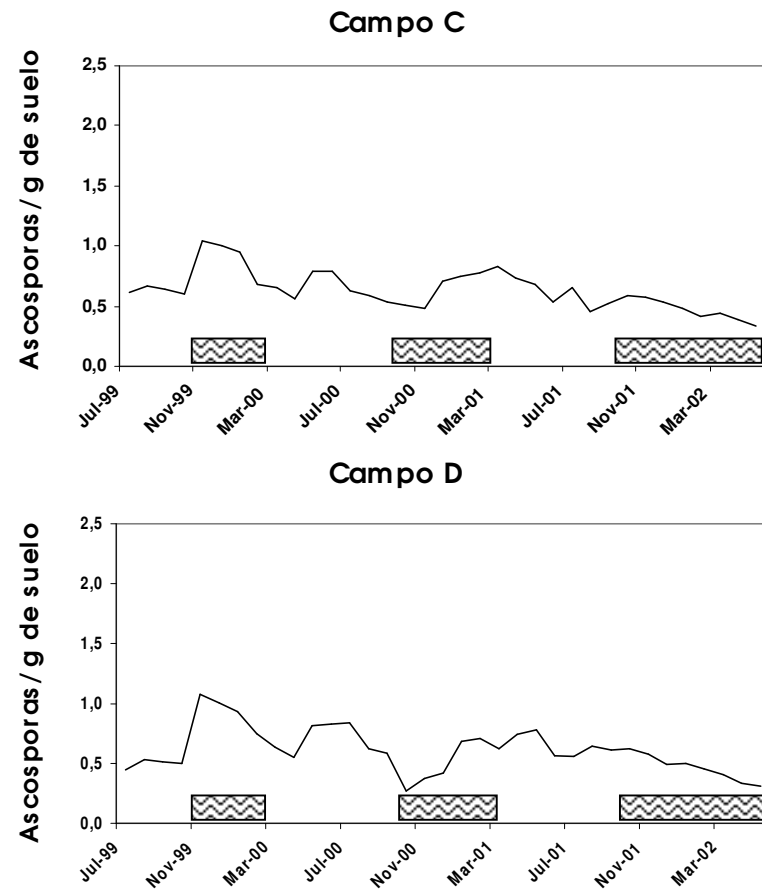
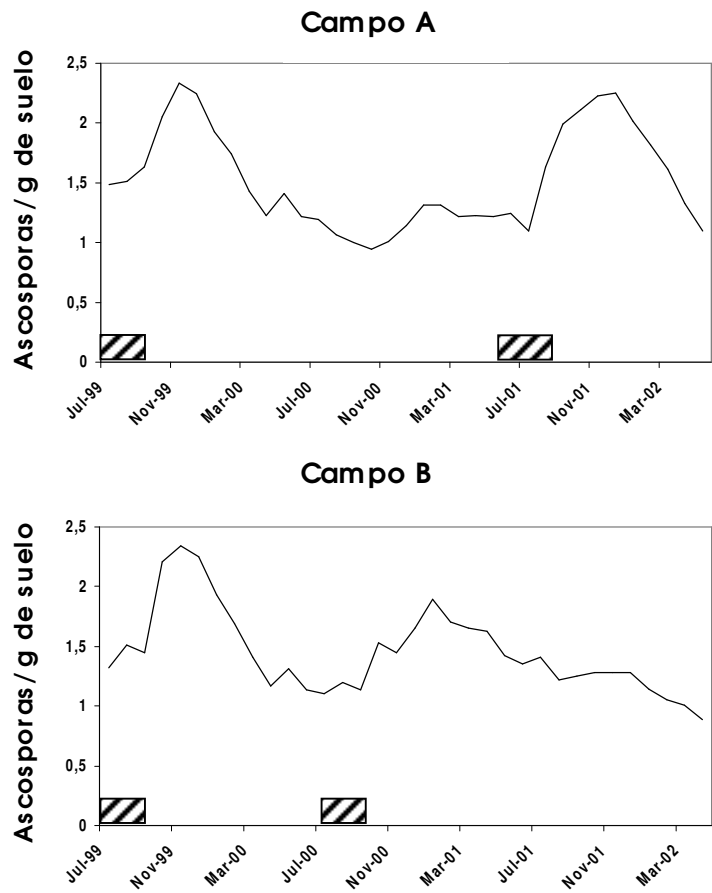
Adicionalmente, dentro de los periodos en los que se cultivó melón en los campos A y B, se utilizaron los datos de los conteos de ascosporas para realizar un ANOVA, con el fin de comparar las poblaciones mensuales de ascosporas en las zonas de línea de cultivo y entrelínea. La comparación de las medias se efectuó usando el test de Tukey HSD ( $P < 0.05$ ).

### III.3. Resultados

#### III.3.1. Dinámica poblacional de las ascosporas de *M. cannonballus*

La dinámica poblacional de las ascosporas de *M. cannonballus* en cada uno de los campos estudiado a lo largo del periodo de tres años se muestra en la **Figura III.5**.





**Figura III.5:** Dinámica de la población de ascosporas de *Monosporascus cannonballus* en los distintos campos en el periodo de estudio (julio 1999-junio 2002).

Cultivo de melón  Encharcamiento 

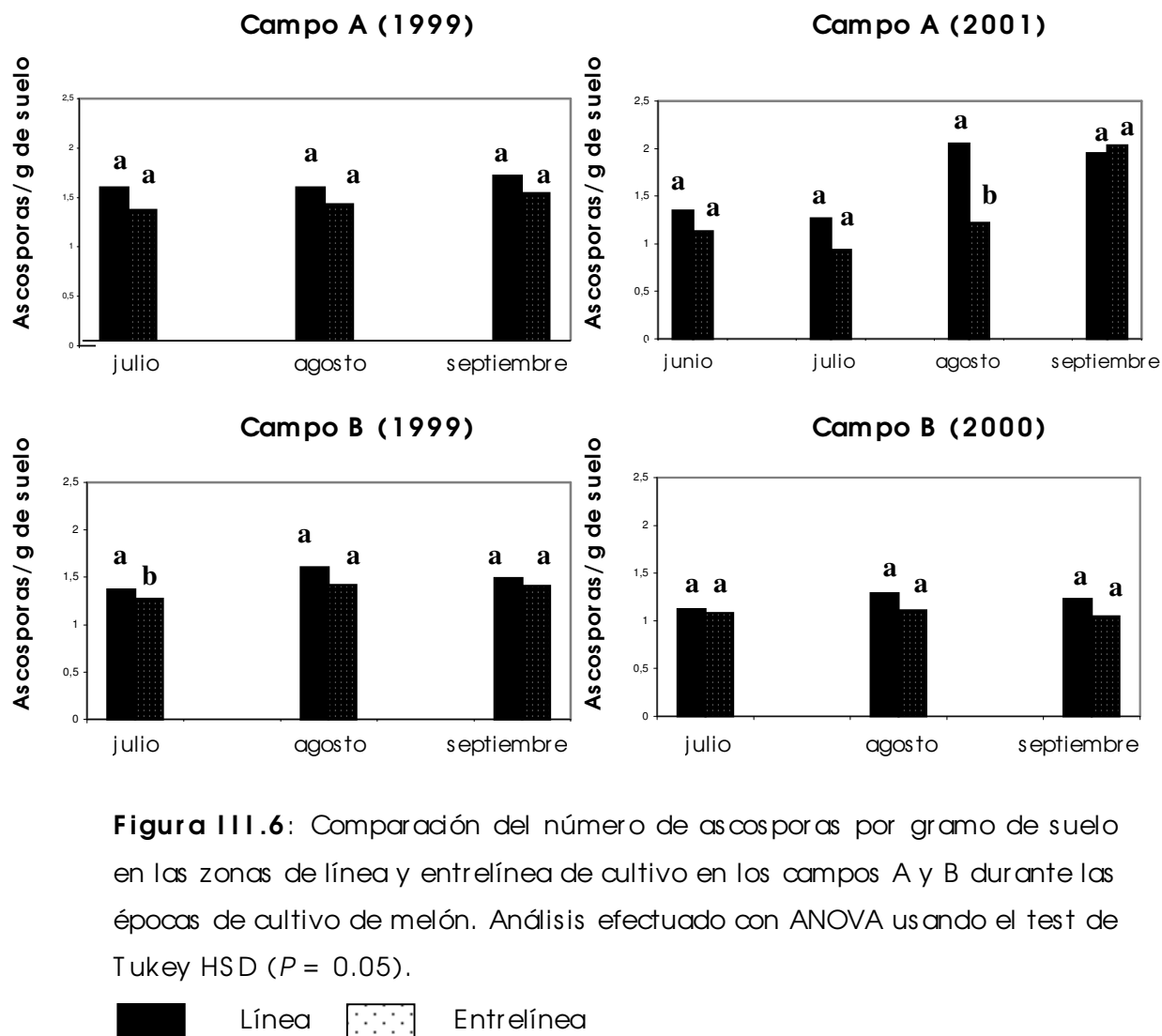
Al comienzo del estudio (julio de 1999) los niveles de ascosporas en suelo fueron más elevados en los campos en los que ya se estaba cultivando melón desde el mes de mayo. Así, los valores de ascosporas por gramo de suelo (ags) para los campos A y B fueron de 1,49 y 1,32 respectivamente, mientras que en los campos C y D, sin cultivo de melón desde el otoño de 1998, fueron de 0,62 y 0,45 ags respectivamente.

En los campos A y B, se observaron síntomas de "colapso" en todos los cultivos de melón realizados, durante los años 1999 y 2001 (Campo A) y 1999 y 2000 (Campo B). En estos campos, el nivel medio de ags aumentó progresivamente en los primeros meses de observación, alcanzando un máximo siete meses después de la plantación del melón (de entre dos a cuatro meses después del final del cultivo). Así, en el campo A se obtuvo un nivel medio de 2,34 ags en noviembre de 1999, dos meses después del final del cultivo. Resultados similares se observaron en este mismo campo durante el segundo periodo de cultivo, con 2,25 ags en diciembre de 2001, tres meses después del final del cultivo. En el campo B, se obtuvo un valor de 2,34 ags en noviembre de 1999, siete meses después de la plantación y dos meses después del final del cultivo. En el segundo periodo de cultivo de este mismo campo se obtuvo un nivel medio de 1,89 ags en enero de 2001, siete meses después de la plantación y cuatro meses después del final del cultivo de melón.

En ambos campos se observó también un descenso progresivo de los niveles de ascosporas en suelo en los periodos sin cultivo, alcanzando un valor mínimo de 0,94 ags en octubre de 2000 en el campo A, entre dos cultivos de melón, y un valor de 0,88 ags en abril de 2002 para el campo B, después de dos años sin cultivo de melón.

Los datos de las muestras de suelo tomadas mensualmente en los campos A y B durante la época de cultivo de melón, se emplearon para comparar el nivel de ags en las zonas de línea de cultivo y las zonas de entrelínea (**Figura III.6**). Aunque en general la media de ags fue mayor en las líneas que en las entrelíneas, no se hallaron diferencias significativas entre las dos zonas. Las únicas excepciones fueron los meses de julio de

1999 en el campo B y agosto de 2001 en el campo A, en los que sí se encontraron diferencias significativas.



**Figura III.6:** Comparación del número de ascosporas por gramo de suelo en las zonas de línea y entrelínea de cultivo en los campos A y B durante las épocas de cultivo de melón. Análisis efectuado con ANOVA usando el test de Tukey HSD ( $P = 0.05$ ).

En los campos C y D (sin cultivo de melón y con encharcamiento periódico), se observó un descenso progresivo en el valor de ags a lo largo de todo el estudio, descendiendo en más de 1,0 ags, hasta un valor de 0,33 ags en ambos campos en junio de 2002, al final del periodo de tres años.

El análisis de la varianza reveló que la media de la población de ascosporas entre los campos A y B ó C y D no presentó diferencias significativas ( $P = 0,337$  y  $P = 0,590$  respectivamente). Por tanto, se procedió a la combinación de los datos de esos campos para su posterior análisis de regresión.

Para los campos A+B, se estudió la relación entre la media de la población de ags y los meses tras la plantación (**Tabla III.3; Figura III.7**). El mejor ajuste correspondió a la ecuación  $y = a + bx + cx^3$  en la cual  $a$ ,  $b$  y  $c$  son parámetros. El valor de  $P$  ( $< 0.01$ ) indicó una correlación significativa y el porcentaje de variabilidad explicado por el modelo fue de un 70,5%. El modelo mostró un aumento progresivo del nivel de ags tras la plantación del melón, alcanzando los valores más altos siete meses después de la plantación (2-4 meses después del final del cultivo), y un posterior descenso del valor de ags.

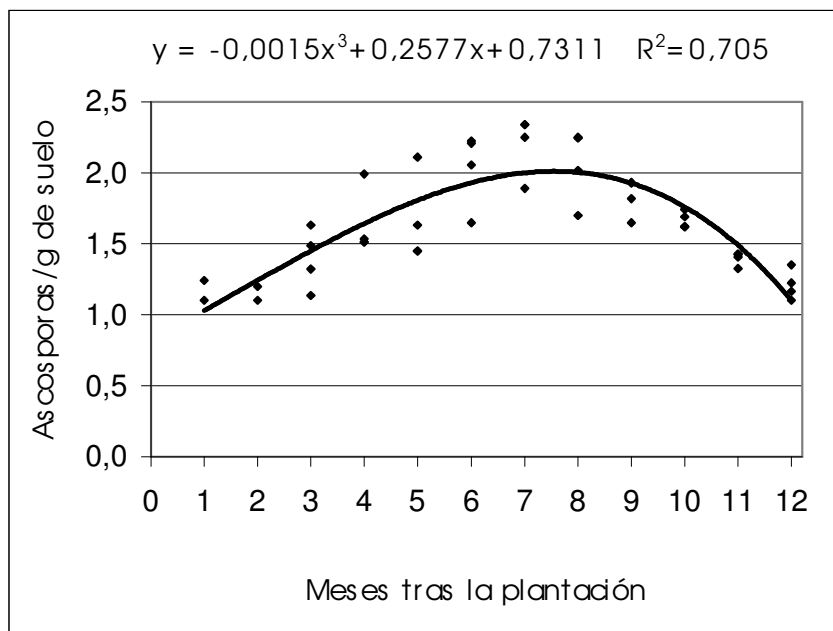
**Tabla III.3:** Datos de la regresión sobre la relación entre variables temporales ( $x$ ) y ascosporas por gramo de suelo ( $y$ ) en los campos A+B y C+D.

Campos, modelo de regresión y variable independiente	Datos de la regresión <sup>a</sup>				
	a	b	c	$r^2$	P
<b>Campos A+B (<math>y = a + bx + cx^3</math>)</b>					
Meses tras la plantación	0,73114	0,25770	-0,00156	0,705	0,000
<b>Campos C+D (<math>y = a + bx</math>)</b>					
Meses tras el inicio del muestreo	0,78644	-0,00941	-	0,293	0,000

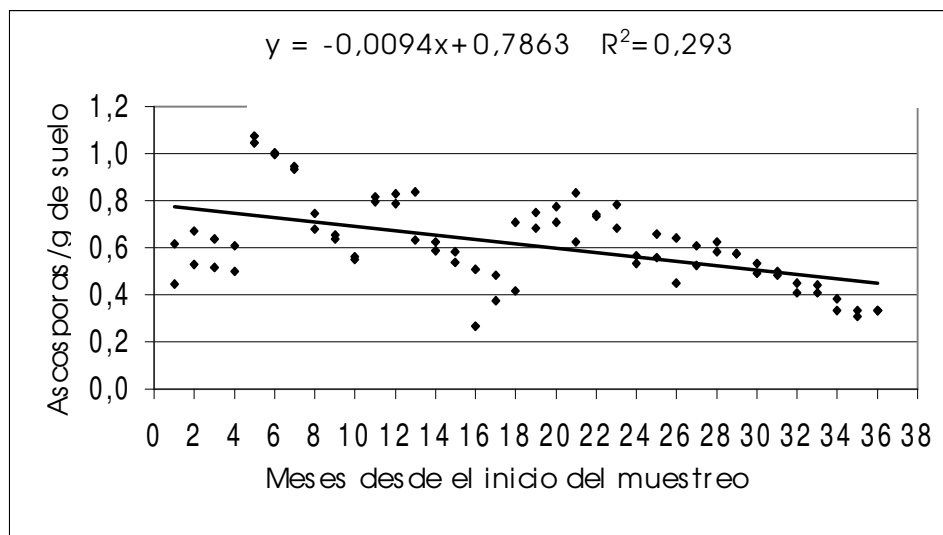
<sup>a</sup> $a$ ,  $b$ ,  $c$ , coeficientes de regresión;  $r^2$ , proporción de variación explicada;  $P$ , probabilidad ANOVA para la ecuación de regresión

Un estudio similar se llevó a cabo con los campos C+D, aunque en este caso el estudio de la evolución se amplió a los tres años de muestreo (**Tabla III.3; Figura III.8**). El mejor ajuste correspondió a la ecuación  $y =$

$a + bx$ . El valor de  $P (< 0.01)$  indicó una correlación significativa, aunque el porcentaje de variabilidad explicado por el modelo fue sólo del 29,3%. El modelo mostró un descenso progresivo del nivel de ascosporas por gramo de suelo en estos campos sin cultivo de melón y con encharcamiento estacional a lo largo de todo el periodo de estudio.



**Figura III.7:** Relación entre los meses tras la plantación de melón y ascosporas por gramo de suelo en los campos A + B.



**Figura III.8:** Relación entre los meses desde el inicio de muestreo del suelo y ascosporas por gramo de suelo en los campos C + D.

Por último, respecto al seguimiento de los campos experimentales plantados con melón, en todos ellos y durante los tres años de duración del estudio, se observaron síntomas de "colapso", con resultado final de marchitez y muerte de las plantas.

### III.3.2. Bioensayo de *M. cannonballus* a partir de muestras de suelo

Se consiguió aislar *M. cannonballus* de las plantas de melón sembradas en todas las muestras de suelo tomadas desde marzo hasta junio de 2002 en los campos A, B y C. En el suelo del campo D, el hongo se aisló sólo de las muestras recogidas en junio de 2002 (**Tabla III.4**). El número de plantas de las cuales se aisló *M. cannonballus* fue variable, y la frecuencia de aislamiento osciló desde 1,2% con suelo del campo C recogido en marzo y mayo y suelo del campo A recogido en mayo, hasta el 38,1% en suelo del campo B recogido en junio. Cabe destacar que, a pesar de los largos periodos sin cultivo y de encharcamiento que presentaron los campos, las ascosporas de *M. cannonballus* se hallaban todavía presentes al final del periodo de tres años, y eran todavía capaces de producir la infección de las raíces de las plantas de melón.

### III.4. Discusión

Esta es la primera vez que se realiza un estudio de la dinámica poblacional en suelo de las ascosporas de *M. cannonballus*, en campos de melón y durante un largo periodo de tiempo. Hasta la fecha, todos los estudios en los que se evaluó el nivel de ascosporas de este hongo por gramo de suelo habían sido muestreos puntuales (Mertely *et al.*, 1993b; Stanghellini *et al.*, 1996; Aegerter *et al.*, 2000). El problema de estos trabajos reside en que los muestreos puntuales pueden ser realizados en diferentes momentos del ciclo vital de *M. cannonballus*, a lo largo del cual pueden existir diversas situaciones.

**Tabla III.4:** Aislamiento de *Monosporascus cannonballus* de raíces de plantas de melón cv. Piel de Sapo PS-1430, sembrado en macetas con muestras de suelo tomadas entre marzo y junio de 2002 en los campos A, B, C y D.

Campo	Marzo		Abril		Mayo		Junio	
	Nº de Plantas <sup>a</sup>	Frecuencia de aislamiento (%) <sup>b</sup>	Nº de Plantas	Frecuencia de aislamiento (%)	Nº de Plantas	Frecuencia de aislamiento (%)	Nº de Plantas	Frecuencia de aislamiento (%)
<b>A</b>	2	3,6	6	17,9	1	1,2	5	22,6
<b>B</b>	2	2,4	3	6,0	3	10,7	5	38,1
<b>C</b>	1	1,2	2	7,1	1	1,2	5	14,3
<b>D</b>	0	-	0	-	0	-	2	4,8

<sup>a</sup>Número de plantas de las cuales se aisló *M. cannonballus* (los aislamientos se hicieron de 6 plantas)

<sup>b</sup>Porcentaje de aislamiento de *M. cannonballus* de un total de 84 fragmentos de raíz (6 plantas de las que se efectuaron 14 puntos de aislamiento en cada una de ellas)

La variación temporal encontrada en este apartado, sobre todo en los campos donde se cultiva melón, justifica la sustitución de los muestreos puntuales por muestreos secuenciales (cada mes, en este caso) que, a pesar de representar una mayor carga de trabajo, pueden proporcionar una información más fiable.

Respecto a la particularidad del campo escogido para la ejecución de este estudio, los Gleysoles de esta área de marjal se caracterizan por mantener un alto nivel de agua durante la época de cultivo de primavera-verano, y además pueden ser inundados varios meses cada año. Esta inundación es regulada por los propios agricultores, que deciden inundar o no las parcelas, para dejar sin cultivo de melón el campo o proceder a su cultivo durante los meses invernales (alternando así con los cultivos de cucurbitáceas). Los resultados obtenidos en los campos A y B mostraron el incremento de población de este ascomiceto del suelo, alcanzando un máximo siete meses después de la plantación del melón (2-4 meses después de la muerte de las plantas). Esto coincide con lo anteriormente señalado por Waugh *et al.* (2003), que en un estudio del potencial reproductivo de *M. cannonballus* encontraron que el sistema radical de una planta adulta de melón cantalupo infectada por este patógeno es capaz de soportar la producción de hasta aproximadamente 400.000 ascosporas. Estas raíces permanecen en el suelo al final del cultivo, acaban descomponiéndose y las ascosporas que habían producido se incorporan al suelo de un modo uniforme.

Asimismo, Lobo (1991) observó la producción de peritecios de *M. cannonballus* en cultivos de melón en España durante la primavera y el verano, indicando que se podían hallar los peritecios en las raíces secundarias y terciarias de las plantas afectadas antes de que se produjera la marchitez de la parte aérea. Este hecho podría explicar el progresivo incremento de la población de ascosporas en suelo, si bien los valores más elevados de ags aparecieron después de la muerte de las plantas. En Israel, Pivonia *et al.* (2002b) demostraron que un cincuenta por cien de las raíces de melón examinadas en campos con síntomas estaban infectadas por *M. cannonballus*, a los 42 y a los 67 días después de la plantación, en los



cultivos de otoño y de invierno, respectivamente. Se observaron peritecios de *M. cannonballus* con ascosporas en raíces secundarias y terciarias muertas, también antes de la maduración de los frutos. En Arizona y California la inducción de la esporulación de *M. cannonballus* en condiciones de campo coincide con la muerte del sistema radical y, en consecuencia, tiene lugar una reproducción significativa del patógeno justo después del final del cultivo (Stanghellini et al., 2004a).

Para todos los campos en los que se cultivó melón, siempre se alcanzó el máximo de población de ascosporas unos siete meses después de la plantación. De hecho, la inducción de la esporulación de *M. cannonballus* bajo condiciones de campo parece coincidir con la muerte y descomposición de la raíz y, como consecuencia, ocurre una reproducción significativa del patógeno, preferentemente después de que el cultivo haya terminado (Waugh et al., 2003; Stanghellini et al., 2004a). Este retraso podría deberse a la descomposición progresiva del sistema radical. En este sentido, Waugh et al. (2003) y Stanghellini et al. (2004b) indicaron que la eliminación de las raíces de melón infectadas al final del cultivo sería un buen método para prevenir el incremento del nivel de inóculo en suelo.

En los campos A y B, cuando se comparó durante el cultivo de melón los valores de ags en las zonas de línea y de entrelínea, en general, no se encontraron diferencias significativas, aunque la media de la población de ascosporas en suelo en las líneas fue ligeramente mayor. Mertely et al. (1993b) obtuvieron un resultado similar cuando cuantificaron el número de ascosporas de *M. cannonballus* en suelo de un campo de melón con cultivo intensivo, en el Sur de Texas. Estos autores encontraron que el número de ascosporas en suelo en las zonas de la línea era mayor, aunque no significativamente, que el nivel de ascosporas en suelo de las entrelíneas, obteniendo en uno de los campos estudiados valores de 3,7 y 3,4 ags para las líneas y las entrelíneas, respectivamente.

Los niveles de ags de *M. cannonballus* en los campos A y B 12 meses después de la plantación del melón fueron similares a los conteos iniciales, entre 1 y 1,5 ascosporas por gramo de suelo; esto fue confirmado mediante

el estudio de regresión. La curva obtenida para esos campos fue no-monotónica, mostrando un incremento en la densidad de ascosporas hasta alcanzar un máximo, seguido de una disminución en el nivel hasta casi llegar al nivel inicial. Esta dinámica sugiere interacciones antagónicas entre patógenos y otros microorganismos, algunos de ellos propios de la micoflora del suelo (Gilligan, 1994).

La fluctuación en el nivel de inóculo en suelo de las especies fúngicas patógenas a cultivos es un proceso natural que ha sido objeto de diversos estudios. Bockus y Webster (1979) observaron que la población de esclerocios de *Sclerotium oryzae* Cattaneo incorporados al suelo descendía rápidamente debido a la pérdida de capacidad de estos esclerocios para germinar; a pesar de esto, observaron que la población total de esclerocios en un periodo largo de tiempo descendía ligeramente. En algunos trabajos se observó cómo la supervivencia del hongo *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzpatrick en suelo pasaba por un máximo entre los meses de noviembre y enero, descendía progresivamente, hasta alcanzar las cotas mínimas de nivel en abril y mayo, y después se iba recuperando desde julio hasta octubre (Hall *et al.*, 1980).

En este orden de cosas, un elevado incremento de la densidad de inóculo de *M. cannonballus* podría estar asociado a una mayor intensidad de las prácticas de cultivo, como han apuntado diversos autores (García-Jiménez *et al.*, 1994a; Martyn y Miller, 1996). Mertely *et al.* (1993b) hallaron una media de 11,1 ags en un campo de cultivo de Texas con cultivo intensivo. Asimismo, según Campbell y van der Gaag (1993), el aumento del número de repeticiones de un mismo cultivo está directamente relacionado con el incremento en el nivel de inóculo en suelo de *M. phaseolina*, en zonas de Arizona destinadas a diversos cultivos (maíz, algodón, tabaco y soja). Esto coincide con las prácticas al uso en la zona en que se llevó a cabo el presente estudio, pues en pocos años se pasó de una producción de corte tradicional, riego "a manta" o subirrigación y rotaciones continuas, a una producción intensiva, basada principalmente en el cultivo de cucurbitáceas.

Otros autores apuntan al uso del riego localizado como otro de los factores a tener en cuenta, pues modifica la estructura de la raíz y deja a la planta más sensible frente al "colapso" causado por *M. cannonballus* (Pivonia *et al.*, 2004). De esta forma, la incidencia de la enfermedad es mayor, redundando en un aumento del nivel de inóculo en suelo.

En los campos C y D, que se encontraban sin cultivo y tuvieron extensos periodos de encharcamiento, la dinámica encontrada fue un progresivo descenso de la media de población de ascosporas de *M. cannonballus* en suelo, que fue de 0,33 ags para ambos campos al final de los tres años de estudio.

En este ensayo, se utilizó el aislamiento de *M. cannonballus* a partir de plántulas de melón sembradas en muestras de suelo para verificar si esas ascosporas eran viables y capaces de infectar la raíz del cultivo al final del periodo de estudio. No hay que olvidar que las ascosporas de *M. cannonballus* son consideradas como el inóculo primario para la infección del sistema radical del melón (Stanghellini *et al.*, 1996; Stanghellini *et al.*, 2000). Aunque las ascosporas son fácilmente extraídas del suelo, es difícil determinar su viabilidad a causa de que no germinan, o germinan muy raramente, bajo condiciones de laboratorio (Mertely *et al.*, 1993b). Stanghellini *et al.* (1996; 2000), estudiaron la germinación en suelo de las ascosporas de *M. cannonballus* producidas naturalmente o en medio de cultivo artificial y demostraron el papel de los actinomicetos y el resto de la microflora propia de suelo en este proceso, pero señalaron que es difícil determinar cuantitativamente la viabilidad de las poblaciones de ascosporas nativas de los suelos.

En este trabajo se obtuvo la colonización de *M. cannonballus* en los bioensayos efectuados con todas las muestras de suelo tomadas desde marzo hasta junio de 2002 para los campos A, B y C, y sólo de las muestras de suelo recogidas en junio de 2002 para el campo D. Uno de los resultados más destacables de este trabajo fue la constatación de la supervivencia de las ascosporas de *M. cannonballus* en los campos C y D, en los cuales no se cultivó melón durante un periodo de tres años, estando

estos campos bajo régimen de encharcamiento por un total de 21 meses cada uno. Esto demuestra que las ascosporas de *M. cannonballus* pueden sobrevivir manteniendo su infectividad por largos periodos de tiempo en ausencia de hospedantes propicios, y también que este hongo parece estar bien adaptado a sobrevivir conservando su capacidad de infección en suelos que mantienen un alto nivel de agua durante el cultivo, o incluso bajo condiciones de encharcamiento.

Por otra parte, no se puede descartar que las especies de malas hierbas que se encuentran en estos campos puedan jugar algún papel en la perpetuación de *M. cannonballus*. Existen algunas evidencias que este hongo puede infectar y reproducirse en algunos hospedantes de familias diferentes a las cucurbitáceas (Hawksworth y Ciccarone, 1978; Mertely *et al.*, 1993a; Martyn y Miller, 1996), pero, de hecho, no fueron observados peritecios de *M. cannonballus* en raíces de malas hierbas que crecieron en el área de estudio. En la Unidad de Patología Vegetal se han venido realizando sistemáticamente observaciones y aislamientos a partir de especies de malas hierbas representativas de todos estos campos de cultivo (*Amarantus blitoides*, *A. hybridus*, *A. viridis*, *Chenopodium album*, *C. murale* y *Portulaca oleracea*), no observándose la presencia de peritecios ni pudiendo aislar el hongo de las raíces de ninguno de estos hospedantes (datos no mostrados).

En este estudio se confirma la supervivencia de las ascosporas de *M. cannonballus* durante un largo periodo de tiempo, pero al mismo tiempo, se observó el descenso de las poblaciones de ascosporas en suelo en los campos A y B, entre las épocas de cultivo, y también en los campos C y D, que se encontraban sin cultivo de melón y bajo encharcamiento durante varios meses. El papel del no cultivo y del encharcamiento como métodos culturales para el manejo y control de los patógenos de suelo se ha puesto de manifiesto por diversos autores (Katan, 2000). Según Bruton *et al.* (1987), el encharcamiento podría ser una buena técnica de control frente a *M. phaseolina* cuando afecta a melón cantalupo, ya que elevados niveles de humedad en el suelo consiguieron reducir el porcentaje de plantas infectadas. Esto ya fue apuntado en un estudio anterior efectuado por Dhingra y Sindair (1974), con este mismo hongo. Bell y Sumner (1987)

demonstraron que el no cultivo a lo largo de cuarenta semanas podría ser efectivo para reducir las poblaciones de *Rhizoctonia solani* Kühn y otros basidiomicetos patógenos de suelo. La verticilosis del algodón, causada por *V. dahliae*, se controló de forma eficaz cuando se procedió al encharcamiento del suelo durante el verano en California (Pullman y De Vay, 1981). Cintas y Webster (2001) recomendaron el encharcamiento invernal como la mejor alternativa a la práctica de quemar la paja de arroz utilizada en California para reducir el inóculo de *S. oryzae*, agente causal de la podredumbre del tallo de arroz.

Sin embargo, de acuerdo con los resultados de nuestro estudio, el no cultivo y el encharcamiento de los campos de melón no parece ser un método totalmente eficaz para la disminución o eliminación del inóculo de *M. cannonballus* a corto plazo, pues las ascosporas de este hongo pueden sobrevivir en el suelo al menos por un periodo de tres años.

### **III.5. Conclusiones**

1) Se ha caracterizado la dinámica poblacional de ascosporas de *M. cannonballus* en suelo de marjal con cultivo de melón. El nivel de estas ascosporas alcanza un máximo a los siete meses después de la plantación del melón, dos o tres meses después de la finalización del cultivo. Este nivel desciende progresivamente hasta alcanzarse, a los 12 meses de la plantación, valores similares a los originales.

2) En campos con encharcamiento y en ausencia de cultivo de melón, se ha observado un descenso lento y progresivo en el nivel de ascosporas de *M. cannonballus* en suelo.

3) Se ha comprobado que las ascosporas *M. cannonballus* pueden sobrevivir en suelo, conservando su infectividad, en condiciones de encharcamientos prolongados o periódicos al menos durante tres años en ausencia de cultivo de melón.

Los resultados obtenidos en este apartado denotan que la población de ascosporas de *M. cannonballus* va sufriendo una serie de variaciones a medida que avanza el ciclo de cultivo de melón. Estas oscilaciones pueden ser inherentes al mismo ciclo vital del hongo (germinación de ascosporas, formación de peritecios), pero también podrían deberse a otros factores, como presencia de plantas con síntomas o posición en el surco. La toma de muestras cuantificando los niveles de ascosporas en suelo en campos de diferentes áreas geográficas y con diversas condiciones de cultivo, podría aportar nuevos datos sobre la epidemiología de *M. cannonballus* y su ciclo vital; estos aspectos serán abordados en el siguiente apartado.

**IV. CUANTIFICACIÓN DE  
ASCOSPORAS DE *M. cannonballus* EN  
SUELOS DE CAMPOS DE MELÓN DE LA  
COMUNIDAD VALENCIANA**

## IV. CUANTIFICACIÓN DE ASCOSPORAS DE *M. cannonballus* EN SUELOS DE CAMPOS DE MELÓN DE LA COMUNIDAD VALENCIANA

### IV.1. Introducción

Hasta la fecha se han efectuado diversos estudios encaminados a cuantificar el nivel de ascosporas de *M. cannonballus* en campos afectados de "colapso". Entre ellos, destaca el estudio realizado por Mertely *et al.* (1993b) en Texas, que fue el primero en el que se efectuó una cuantificación del nivel de ascosporas por gramo de suelo (ags) en varios campos de cultivo de melón, utilizando la técnica de extracción de ascosporas del suelo descrita por Stanghellini y Rasmussen (1992). En este estudio, se observaron niveles de entre 3,1 a 14,8 ags. Posteriormente, Stanghellini *et al.* (1996) en un trabajo realizado en Arizona, en el que se comparaba la distribución de ascosporas en suelo en campos de cultivo de cucurbitáceas y de zonas desérticas, observaron rangos de 1 a 4,3 ags en campos de melón, mientras que en las zonas desérticas, se halló una media de entre 1,1 a 1,7 ags. Por su parte, Aegerter *et al.* (2000) realizaron una cuantificación del nivel de ags en campos de melón en California con síntomas de "colapso" asociado a *M. cannonballus*, *A. cucurbitacearum* y *R. vagum*, obteniendo un rango de 0,15 a 5,85 ags de *M. cannonballus*. Más recientemente, en Corea del Sur Heo *et al.* (2001b) cuantificaron el nivel de ascosporas en suelo de campos cultivados con diversas especies de cucurbitáceas, obteniendo un rango de 1,7 a 14,6 ags. Asimismo, existen otros trabajos en los que, de forma secundaria y como parte de estudios sobre la biología y el control de *M. cannonballus*, se realizaron conteos de ascosporas de este hongo en suelo, como los de Waugh *et al.* (2003), Radewald *et al.* (2004) y Stanghellini *et al.* (2004a; 2004b).

En España, todavía no se ha realizado una cuantificación del nivel de ags en campos de cultivo de melón, a pesar de que los problemas de "colapso" asociado a *M. cannonballus* se han venido incrementando desde la década de los ochenta (García-Jiménez *et al.*, 1989; García-Jiménez *et al.*, 2000). Por tal motivo, el objetivo de este ensayo es evaluar el nivel de ags existente en campos de melón de las principales zonas productoras de la



Comunidad Valenciana, estudiando en alguno de ellos su evolución a lo largo de un ciclo de cultivo.

## **IV.2. Materiales y Métodos**

### IV.2.1. Parcelas estudiadas y toma de muestras de suelo

Durante el mes de julio de 2002 se tomaron muestras de un total de ocho campos (**campos 1 a 8**) en los que se cultivaba melón, distribuidos entre diversos municipios de las principales zonas productoras de cucurbitáceas de la Comunidad Valenciana. Por un lado estaban las zonas de marjal de la Plana Baixa (Castellón), que comprenden los municipios de Almenara, Xilxes y La Llosa. Se trata de campos de cultivo de melón que en ocasiones sufren amplios periodos de encharcamiento durante el invierno y que, en general, poseen la capa freática muy elevada. Por otra parte, se halla la zona tradicional del municipio de Puçol (Valencia), próxima al Camp de Morvedre, y en la cual se concentran numerosos campos de cultivo de melón; se trata de un área cercana también a zonas de marjal (Marjal del Moro), y que también presenta una capa freática elevada. En tercer lugar se encuentra la zona de L'Horta Nord, próxima a la ciudad de Valencia, que engloba entre otros a los municipios de Alboraya y Meliana. En la **Tabla IV.1** se indica la localización geográfica de cada uno de los campos considerados.

En todas estas zonas hubo historial de "colapso" en los años anteriores a la ejecución de este estudio, y ya desde los primeros días del mes de julio de 2002 se observaron parcelas con síntomas de la afección. Las plantas afectadas mostraban síntomas típicos de estrés hídrico: desecación de la parte aérea que empezaba en las hojas jóvenes para luego extenderse a las partes más viejas. En todos estos campos se realizó una única toma de muestras en el momento en que empezaron a detectarse con mayor severidad estos síntomas. Se decidió efectuar el muestreo en este momento, al final del ciclo de cultivo en el mes de julio, dado que ésta había sido la práctica habitual en los estudios de cuantificación realizados

con anterioridad (Mertely *et al.*, 1993). En la **Tabla IV.1** se indican las fechas exactas de la toma de muestras en 2002.

Al año siguiente, se decidió ampliar el estudio, escogiendo seis campos más de cultivo de melón (**campos 9 a 14**), en las mismas zonas productoras consideradas anteriormente. En estos campos se realizaron un total de tres muestreos, en los meses de mayo, julio y octubre de 2003. Se decidió aumentar el número de muestreos para obtener más información acerca de la posible variación del nivel de ags de *M. cannonballus* a lo largo de un ciclo de cultivo. El primer muestreo se hizo pocos días antes de la implantación del cultivo para, de esta manera, poder conocer el nivel inicial de infestación de los campos estudiados. El segundo muestreo se realizó coincidiendo con la aparición de los síntomas de "colapso" en la parte aérea, teniendo lugar alrededor de las dos semanas (última quincena de julio) en las que se realizó la recolección del melón, al igual que en los campos del año anterior. Por último, el tercer muestreo se efectuó entre 2 y 3 meses después de la finalización del cultivo, cuando se hubo rototariado los campos, dejándolos preparados para las plantaciones posteriores. Esta última toma de muestras fue llevada a cabo con el fin de comparar el nivel de ascosporas de *M. cannonballus* en el suelo en este momento con el inicial, y así estudiar la influencia del cultivo de melón. En la **Tabla IV.1** se indica la fecha exacta de cada uno de los muestreos efectuados en estos seis campos durante el año 2003. En el apartado de Anexos se pueden ver las coordenadas geográficas de todos estos campos.

En los catorce campos estudiados, la toma de muestras de suelo en el mes de julio (con síntomas de "colapso" al final del cultivo) se efectuó con un recorrido en W. A medida que se iba avanzando a lo largo de este recorrido, se iban tomando las muestras de suelo, según si la zona era considerada con síntomas (S) o asintomática (A). Por cada muestra tomada junto a la línea de cultivo (L), se realizó la toma de suelo de su correspondiente entrelínea (E) adyacente.

**Tabla IV.1:** Ubicación de los campos de melón muestreados y fechas de toma de muestras durante los años 2002 y 2003.

Campo	Localidad	Provincia	Zona	Momentos de muestreo		
				Plantación del cultivo	Síntomas de “colapso”	Después del cultivo
1	Almenara	Castellón	Marjal de Almenara	-	19/07/2002	-
2	Almenara	Castellón	Marjal de Almenara	-	19/07/2002	-
3	Xilxes	Castellón	Marjal de Xilxes	-	19/07/2002	-
4	Xilxes	Castellón	Marjal de Xilxes	-	19/07/2002	-
5	Meliana	Valencia	L’Horta Nord	-	19/07/2002	-
6	Meliana	Valencia	L’Horta Nord	-	19/07/2002	-
7	Puçol	Valencia	Marjal del Moro	-	25/07/2002	-
8	Puçol	Valencia	Marjal del Moro	-	25/07/2002	-
9	Alboraya	Valencia	L’Horta Nord	26/05/2003	22/07/2003	29/10/2003
10	Almenara	Castellón	Marjal de Almenara	26/05/2003	22/07/2003	29/10/2003
11	La Llosa	Castellón	Marjal de Almenara	26/05/2003	22/07/2003	4/11/2003
12	Meliana	Valencia	L’Horta Nord	-	22/07/2003	29/10/2003
13	Puçol	Valencia	Marjal del Moro	26/05/2003	22/07/2003	4/11/2003
14	Xilxes	Castellón	Marjal de Xilxes	26/05/2003	22/07/2003	29/10/2003

Para cada campo, en la zona con síntomas se tomó un total de seis muestras de línea y seis de entrelínea (6 muestras de SL y seis muestras de SE); de la misma forma, se tomó un total de seis muestras de línea y seis de entrelínea de las zonas asintomáticas (6 muestras de AL y seis muestras de AE).

En el primer y el tercer muestreo realizado sólo en los campos 9 a 14 (año 2003) se tomaron un total de 24 muestras para cada uno de ellos, siguiendo también un recorrido en W, pero sin considerar la diferencia entre la posición en relación a la línea de cultivo, es decir, las zonas de línea de cultivo (L) y las zonas de entrelínea (E). Lógicamente, tampoco se consideró en estos casos la diferencia entre zonas con síntomas de "colapso" (S) y zonas asintomáticas (A), puesto que esto sólo puede observarse al final del cultivo, en la época de recolección de los frutos.

Con todo ello, por cada campo y momento de muestreo se obtuvo un total de 24 muestras de suelo, de un peso aproximado de 250 gramos cada una. La toma de muestras se efectuó con un taladro de suelo; la tierra fue extraída a una profundidad de entre 10 y 20 centímetros, donde se encuentra la máxima población de ascosporas (Mertely *et al.*, 1993b), tal y como se comentó en el apartado anterior. En el campo 12 (Meliana) sólo se realizaron los dos últimos muestreos (momento de "colapso" y final del cultivo), debido a que fue localizado cuando ya se había efectuado la plantación de melón.

#### IV.2.2. Toma de muestras de material vegetal

Adicionalmente, en los muestreos realizados en julio, se arrancaron 5 plantas de cada campo que mostraban síntomas de "colapso". Esto se hizo con sumo cuidado ya que muchas de las raíces se desprendían al ser arrancadas debido a su avanzado estado de deterioro. Las plantas se cortaron por la base del tallo, recolectando sólo el cuello y las raíces, que se almacenaron en frigorífico a unos 5° C, procediendo posteriormente a su procesado en laboratorio.

En primer lugar se realizó una observación bajo lupa de todas las raíces muestreadas para determinar la presencia o ausencia de peritecios de *M. cannonballus*. A continuación, las raíces se lavaron cuidadosamente para eliminar los restos de suelo. Después se realizó una esterilización superficial, sumergiéndolas durante un minuto en una disolución de hipoclorito sódico (1,5% de cloro activo), y efectuando después dos lavados en agua estéril. Los aislamientos se realizaron depositando en medio de cultivo PDAS catorce fragmentos de raíz por cada planta, seleccionadas de las zonas que aparentemente presentaban síntomas, tales como necrosis, pardeamientos y pérdida de raíces secundarias.

Tras 5-7 días de incubación en oscuridad a 26° C se repicaron las colonias fúngicas crecidas individualmente a placas con medio PDA y se incubaron a 26° C con un fotoperiodo de 12 horas de luz día + luz ultravioleta cercano (Silvania F-40 BLB) y 12 horas de oscuridad, hasta la formación de estructuras reproductoras.

#### IV.2.3. Procesado de suelo

El procesado de estos suelos se efectuó mediante la metodología descrita en el apartado III.2.2.

#### IV.2.4. Análisis de los datos

Se efectuó un análisis de la varianza (ANOVA) para todos los datos de ags obtenidos en cada momento de muestreo de cada año de estudio. Se realizó también un ANOVA para comparar los datos de ags entre el primer y el tercer muestreo, en el segundo año de estudio. Adicionalmente, en las muestras de suelo tomadas en julio en ambos años de estudio, se analizaron los efectos en el número de ascosporas en suelo de los factores campo, presencia de síntomas de "colapso" ("Síntoma") y posición en relación a la línea de cultivo ("Posición"), así como sus interacciones. Para ello se realizó un análisis de la varianza multifactorial. En ambos casos se utilizó el software Statgraphics Plus 5.1 (Statistical Graphics Corp.,

Englewood, NJ, USA). Asimismo, para la separación de las medias se empleó el test de rango múltiple de Tukey ( $P < 0,05$ ).

### **IV.3. Resultados**

#### IV.3.1. Aislamiento de hongos

En todos los campos estudiados se observaron peritecios de *M. cannonballus* en las raíces de las plantas muestreadas.

En las **Tablas IV.2** a **IV.15** aparecen los resultados de los aislamientos de las cinco plantas recogidas en cada uno de los catorce campos. También se muestran los porcentajes de otros hongos de suelo asociados a problemas de "colapso", tales como *A. cucurbitacearum* y *P. tabacinum*, como ya se comentó en el apartado 1.2.3. de esta tesis. Además de éstos, también aparecen en las tablas otros hongos aislados en las raíces, muchos de ellos propios de los suelos en los que se cultiva melón en la Comunidad Valenciana, como *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *M. phaseolina* y *Chaetomium* spp. En todas ellas se muestra el porcentaje de cada especie fúngica aislada (de un total de catorce puntos de aislamiento por planta), así como el porcentaje total de cada hongo, y el número total de plantas en las que fue aislado cada hongo, de las 5 plantas por campo de las que se realizó el aislamiento.

En el **campo 1 (Tabla IV.2)** se observa que el porcentaje de aislamiento para *M. cannonballus* alcanzó un 38,6% sobre el total, seguido de *Fusarium* spp. con un 24,3%. En menor proporción también se aislaron *A. cucurbitacearum* (4,3%) y *Alternaria* spp. (1,4%). *M. cannonballus* se aisló de todas las plantas muestreadas.

En el **campo 2 (Tabla IV.3)**, el porcentaje de aislamiento de *M. cannonballus* fue del 24,3%, siendo únicamente superado por *Pythium* spp. con un 28,6%. También se aislaron otros hongos como *A. cucurbitacearum* (14,3%), *Fusarium* spp. (8,6%), *Rhizoctonia* spp. (5,7%) y *M. phaseolina*

(2,8%). En este caso, *M. cannonballus* se aisló de cuatro de las cinco plantas muestreadas.

Los resultados para el **campo 3 (Tabla IV.4)** también indican un predominio de *M. cannonballus* con un aislamiento del 28,6% sobre el total, seguido de *Fusarium* spp. con un 20% y, en menor proporción, *Pythium* spp. (8,6%). *M. cannonballus* se aisló de tres de las cinco plantas estudiadas.

En el **campo 4 (Tabla IV.5)** solamente se aisló *Pythium* spp. en un 20% del total de aislamientos realizados, encontrándose este hongo en todas las plantas recogidas. En ninguna de las plantas muestreadas se consiguió aislar *M. cannonballus*.

En el **campo 5 (Tabla IV.6)** se obtuvo un aislamiento del 7,1% sobre el total para *M. cannonballus*, encontrándose éste en tres de las cinco plantas arrancadas, aunque el género predominante fue *Fusarium* con el 55,7% de aislamientos, y hallado también en todas las plantas. También se encontró *Pythium* spp. con un 4,3%.

En el **campo 6 (Tabla IV.7)** también se aisló *M. cannonballus*, aunque con un porcentaje bajo (tan solo un 2,9% del total), y únicamente de una planta. *Pythium* spp. y *Fusarium* spp. se aislaron con porcentajes del 22,9% y 12,9% respectivamente. Otro género detectado fue *Chaetomium* con un 4,3% de puntos de aislamiento.

En el **campo 7 (Tabla IV.8)** *M. cannonballus* se aisló de un 15,7% sobre el total de puntos de aislamiento. *Fusarium* spp. fue otro género predominante con un 42,9%, y también se encontraron otros hongos como *Rhizoctonia* spp. (2,9%), *Alternaria* spp. (1,4%), y *P. tabacinum* (1,4%). *M. cannonballus* se aisló a partir de cuatro de las cinco plantas muestreadas.

En el **campo 8 (Tabla IV.9)** también se aisló *M. cannonballus* con un 14,3% en tres de las cinco plantas, aunque el género predominante fue

*Fusarium* con el 62,9% de los aislamientos. También fue aislado en menor proporción *A. cucurbitacearum* (2,9%).

En el **campo 9 (Tabla IV.10)**, *Fusarium* spp. llegó a aislarse en el 67,6% de todos los puntos, aunque también se encontró *M. cannonballus* en un 29,5% del total, apareciendo además en las cinco plantas estudiadas.

En el **campo 10 (Tabla IV.11)**, *M. cannonballus* apareció sólo en un 14,3% del total de puntos de aislamientos, mientras que se aisló *Fusarium* spp. de un 48,6%. No obstante, *M. cannonballus* apareció en cuatro de las cinco plantas muestreadas.

En el **campo 11 (Tabla IV.12)**, el hongo que fue aislado en mayor proporción fue *M. cannonballus* con un 40% del total de los puntos de aislamiento realizados, seguido de *Fusarium* spp. con un 36,2% del total. Asimismo, *M. cannonballus* se detectó en las cinco plantas recogidas.

En el **campo 12 (Tabla IV.13)** sólo se consiguió aislar *M. cannonballus* en un 7,6% del total de puntos, y sólo en dos de las cinco plantas muestreadas. En cambio, *Fusarium* spp. alcanzó un 57,9% del total de los aislamientos, seguido por *Pythium* spp. con un 20%.

En el **campo 13 (Tabla IV.14)** se obtuvo un 14,3% de puntos de aislamiento positivos para *M. cannonballus*, por detrás de *Fusarium* spp. y *Pythium* spp. (35,2 y 21,9%, respectivamente). En este caso, se aisló *M. cannonballus* en tres de las cinco plantas recogidas.

Por último, en el **campo 14 (Tabla IV.15)** *M. cannonballus* alcanzó un 47,6% del total de puntos de aislamiento, apareciendo en las cinco plantas muestreadas. Las otras especies aisladas en alto porcentaje fueron *Fusarium* spp. y *Trichoderma* spp., ambas con un 23,8% del total de puntos de aislamiento.



**Tabla IV.2:** Porcentajes de hongos aislados a partir de las plantas arrancadas del campo 1 (Almenara).

Hongo	P1	P2	P3	P4	P5	Total	Plantas
<i>Monosporascus cannonballus</i>	21,4 <sup>a</sup>	42,9	57,1	50,0	21,4	38,6 <sup>b</sup>	5/5 <sup>c</sup>
<i>Acremonium cucurbitacearum</i>	21,4	-	-	-	-	4,3	1/5
<i>Plectosporium tabacinum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Fusarium</i> spp.	50,0	-	7,1	14,3	50,0	24,3	4/5
<i>Pythium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	7,1	-	-	1,4	1/5
<i>Rhizoctonia</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizopus</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Chaetomium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
No determinado	7,1	21,4	-	-	21,4	10,0	-
No crecimiento	-	35,7	28,6	35,7	7,1	21,4	-

<sup>a</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en una planta (14).

<sup>b</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en todas las plantas (14 x 5 = 70).

<sup>c</sup> Número de plantas positivas en el aislamiento sobre el total de plantas estudiadas (5).

**Tabla IV.3:** Porcentajes de hongos aislados a partir de las plantas arrancadas del campo 2 (Almenara).

Hongo	P1	P2	P3	P4	P5	Total	Plantas
<i>Monosporascus cannonballus</i>	78,6 <sup>a</sup>	14,3	21,4	7,1	-	24,3 <sup>b</sup>	4/5 <sup>c</sup>
<i>Acremonium cucurbitacearum</i>	-	21,4	21,4	28,6	-	14,3	3/5
<i>Plectosporium tabacinum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	-	14,3	-	-	2,8	1/5
<i>Fusarium</i> spp.	7,1	14,3	14,3	-	7,1	8,6	4/5
<i>Pythium</i> spp.	-	14,3	7,1	71,4	50,0	28,6	3/5
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizoctonia</i> spp.	-	28,6	-	-	-	5,7	1/5
<i>Rhizopus</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Chaetomium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
No determinado	-	7,1	-	-	-	1,4	-
No crecimiento	14,3	-	21,4	-	42,9	14,3	-

<sup>a</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en una planta (14).

<sup>b</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en todas las plantas (14 x 5 = 70).

<sup>c</sup> Número de plantas positivas en el aislamiento sobre el total de plantas estudiadas (5).

**Tabla IV.4:** Porcentajes de hongos aislados a partir de las plantas arrancadas del campo 3 (Xilxes).

Hongo	P1	P2	P3	P4	P5	Total Plantas	
<i>Monosporascus cannonballus</i>	71,4 <sup>a</sup>	14,3	57,1	-	-	28,6 <sup>b</sup>	3/5 <sup>c</sup>
<i>Acremonium cucurbitacearum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Plectosporium tabacinum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Fusarium</i> spp.	-	14,3	-	14,3	71,4	20,0	3/5
<i>Pythium</i> spp.	-	-	-	42,9	-	8,6	1/5
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizoctonia</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizopus</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Chaetomium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
No determinado	-	-	-	-	-	-	-
No crecimiento	28,6	71,4	42,9	42,9	28,6	42,9	-

<sup>a</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en una planta (14).

<sup>b</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en todas las plantas (14 x 5 = 70).

<sup>c</sup> Número de plantas positivas en el aislamiento sobre el total de plantas estudiadas (5).

**Tabla IV.5:** Porcentajes de hongos aislados a partir de las plantas arrancadas del campo 4 (Xilxes).

Hongo	P1	P2	P3	P4	P5	Total Plantas	
<i>Monosporascus cannonballus</i>	- <sup>a</sup>	-	-	-	-	- <sup>b</sup>	0/5 <sup>c</sup>
<i>Acremonium cucurbitacearum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Plectosporium tabacinum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Fusarium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Pythium</i> spp.	14,3	28,6	14,3	28,6	14,3	20,0	5/5
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizoctonia</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizopus</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Chaetomium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
No determinado	-	-	-	-	14,3	2,9	-
No crecimiento	87,7	71,4	85,7	71,4	71,4	77,1	-

<sup>a</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en una planta (14).

<sup>b</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en todas las plantas (14 x 5 = 70).

<sup>c</sup> Número de plantas positivas en el aislamiento sobre el total de plantas estudiadas (5).

**Tabla IV.6:** Porcentajes de hongos aislados a partir de las plantas arrancadas del campo 5 (Meliana).

Hongo	P1	P2	P3	P4	P5	Total Plantas	
<i>Monosporascus cannonballus</i>	7,1 <sup>a</sup>	-	14,3	-	14,3	7,1 <sup>b</sup>	3/5 <sup>c</sup>
<i>Acremonium cucurbitacearum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Plectosporium tabacinum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Fusarium</i> spp.	71,4	7,1	85,7	64,3	50,0	55,7	5/5
<i>Pythium</i> spp.	-	21,4	-	-	-	4,3	1/5
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizoctonia</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizopus</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Chaetomium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
No determinado	-	-	-	7,1	14,3	4,3	-
No crecimiento	21,4	71,4	-	28,6	21,4	28,6	-

<sup>a</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en una planta (14).

<sup>b</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en todas las plantas (14 x 5 = 70).

<sup>c</sup> Número de plantas positivas en el aislamiento sobre el total de plantas estudiadas (5).

**Tabla IV.7:** Porcentajes de hongos aislados a partir de las plantas arrancadas del campo 6 (Meliana).

Hongo	P1	P2	P3	P4	P5	Total Plantas	
<i>Monosporascus cannonballus</i>	- <sup>a</sup>	-	-	-	14,3	2,9 <sup>b</sup>	1/5 <sup>c</sup>
<i>Acremonium cucurbitacearum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Plectosporium tabacinum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Fusarium</i> spp.	-	28,6	21,4	-	14,3	12,9	3/5
<i>Pythium</i> spp.	78,6	-	7,1	21,4	7,1	22,9	4/5
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizoctonia</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizopus</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Chaetomium</i> spp.	-	21,4	-	-	-	4,3	1/5
No determinado	-	35,7	-	-	-	7,1	-
No crecimiento	21,4	14,3	71,4	78,6	64,3	50,0	-

<sup>a</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en una planta (14).

<sup>b</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en todas las plantas (14 x 5 = 70).

<sup>c</sup> Número de plantas positivas en el aislamiento sobre el total de plantas estudiadas (5).

**Tabla IV.8:** Porcentajes de hongos aislados a partir de las plantas arrancadas del campo 7 (Puçol).

Hongo	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	Total Plantas	
<i>Monosporascus cannonballus</i>	42,9 <sup>a</sup>	7,1	-	14,3	14,3	15,7 <sup>b</sup>	4/5 <sup>c</sup>
<i>Acremonium cucurbitacearum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Plectosporium tabacinum</i>	-	7,1	-	-	-	1,4	1/5
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Fusarium</i> spp.	21,4	50,0	28,6	57,1	57,1	42,9	5/5
<i>Pythium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Alternaria</i> spp.	7,1	-	-	-	-	1,4	1/5
<i>Rhizoctonia</i> spp.	-	-	-	-	14,3	2,9	1/5
<i>Rhizopus</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Chaetomium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
No determinado	-	-	-	-	-	-	-
No crecimiento	28,6	35,7	71,4	28,6	14,3	35,7	-

<sup>a</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en una planta (14).

<sup>b</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en todas las plantas (14 x 5 = 70).

<sup>c</sup> Número de plantas positivas en el aislamiento sobre el total de plantas estudiadas (5).

**Tabla IV.9:** Porcentajes de hongos aislados a partir de las plantas arrancadas del campo 8 (Puçol).

Hongo	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	Total Plantas	
<i>Monosporascus cannonballus</i>	- <sup>a</sup>	-	21,4	28,6	21,4	14,3 <sup>b</sup>	3/5 <sup>c</sup>
<i>Acremonium cucurbitacearum</i>	-	-	7,1	-	7,1	2,9	2/5
<i>Plectosporium tabacinum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Fusarium</i> spp.	78,6	50,0	64,3	50,0	71,4	62,9	5/5
<i>Pythium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizoctonia</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizopus</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Chaetomium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
No determinado	-	-	-	-	-	-	-
No crecimiento	21,4	50,0	7,1	21,4	-	20,0	-

<sup>a</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en una planta (14).

<sup>b</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en todas las plantas (14 x 5 = 70).

<sup>c</sup> Número de plantas positivas en el aislamiento sobre el total de plantas estudiadas (5).

**Tabla IV.10:** Porcentajes de hongos aislados a partir de las plantas arrancadas del campo 9 (Alborcia)

Hongo	P1	P2	P3	P4	P5	Total	Plantas
<i>Monosporascus cannonballus</i>	47,6 <sup>a</sup>	4,8	52,4	4,8	38,1	29,5 <sup>b</sup>	5/5 <sup>c</sup>
<i>Acremonium cucurbitacearum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Plectosporium tabacinum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Fusarium</i> spp.	52,4	95,2	47,6	85,6	57,1	67,6	5/5
<i>Pythium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizoctonia</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizopus</i> spp.	-	-	-	4,8	-	1	1/5
<i>Chaetomium</i> spp.	-	-	-	4,8	4,8	1,9	2/5
<i>Penicillium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-
No crecimiento	-	-	-	-	-	-	-

<sup>a</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en una planta (14).

<sup>b</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en todas las plantas (14 x 5 = 70).

<sup>c</sup> Número de plantas positivas en el aislamiento sobre el total de plantas estudiadas (5).

**Tabla IV.11:** Porcentajes de hongos aislados a partir de las plantas arrancadas del campo 10 (Almenara)

Hongo	P1	P2	P3	P4	P5	Total	Plantas
<i>Monosporascus cannonballus</i>	14,3 <sup>a</sup>	19	28,6	-	9,5	14,3 <sup>b</sup>	4/5 <sup>c</sup>
<i>Acremonium cucurbitacearum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Plectosporium tabacinum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Fusarium</i> spp.	85,7	23,8	23,8	95,2	14,3	48,6	5/5
<i>Pythium</i> spp.	-	4,8	4,8	-	-	1,9	2/5
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizoctonia</i> spp.	-	-	-	-	47,6	9,5	1/5
<i>Rhizopus</i> spp.	-	4,8	4,8	-	-	1,9	2/5
<i>Chaetomium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Penicillium</i> spp.	-	-	-	4,8	-	1	1/5
No crecimiento	-	47,6	38	-	28,6	22,8	-

<sup>a</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en una planta (14).

<sup>b</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en todas las plantas (14 x 5 = 70).

<sup>c</sup> Número de plantas positivas en el aislamiento sobre el total de plantas estudiadas (5).

**Tabla IV.12:** Porcentajes de hongos aislados a partir de las plantas arrancadas del campo 11 (La Llosa)

Hongo	P1	P2	P3	P4	P5	Total	Plantas
<i>Monosporascus cannonballus</i>	80,9 <sup>a</sup>	42,8	14,3	42,8	19	40 <sup>b</sup>	5/5 <sup>c</sup>
<i>Acremonium cucurbitacearum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Plectosporium tabacinum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Fusarium</i> spp.	14,3	42,8	28,6	28,6	66,7	36,2	5/5
<i>Pythium</i> spp.	-	-	9,5	4,8	-	2,9	2/5
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizoctonia</i> spp.	-	-	19	-	-	3,8	1/5
<i>Rhizopus</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Chaetomium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Penicillium</i> spp.	-	-	9,5	-	-	1,9	1/5
No crecimiento	4,8	14,4	19,1	23,8	14,3	15,2	-

<sup>a</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en una planta (14).

<sup>b</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en todas las plantas (14 x 5 = 70).

<sup>c</sup> Número de plantas positivas en el aislamiento sobre el total de plantas estudiadas (5).

**Tabla IV.13:** Porcentajes de hongos aislados a partir de las plantas arrancadas del campo 12 (Meliana)

Hongo	P1	P2	P3	P4	P5	Total	Plantas
<i>Monosporascus cannonballus</i>	-	33,3 <sup>a</sup>	4,8	-	-	7,6 <sup>b</sup>	2/5 <sup>c</sup>
<i>Acremonium cucurbitacearum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Plectosporium tabacinum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Fusarium</i> spp.	33,3	42,3	71,3	47,6	95,2	57,9	5/5
<i>Pythium</i> spp.	52,4	-	14,3	28,6	4,8	20	4/5
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	-	19	-	3,7	1/5
<i>Rhizoctonia</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizopus</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Chaetomium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Penicillium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Trichoderma</i>	-	-	4,8	-	-	1	1/5
No crecimiento	14,3	24,4	4,8	4,8	-	9,8	-

<sup>a</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en una planta (14).

<sup>b</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en todas las plantas (14 x 5 = 70).

<sup>c</sup> Número de plantas positivas en el aislamiento sobre el total de plantas estudiadas (5).

**Tabla IV.14:** Porcentajes de hongos aislados a partir de las plantas arrancadas del campo 13 (Puçol)

Hongo	P1	P2	P3	P4	P5	Total	Plantas
<i>Monosporascus cannonballus</i>	-	14,3 <sup>a</sup>	-	23,8	33,3	14,3 <sup>b</sup>	3/5 <sup>c</sup>
<i>Acremonium cucurbitacearum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Plectosporium tabacinum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Fusarium</i> spp.	61,9	33,3	47,6	9,5	23,8	35,2	5/5
<i>Pythium</i> spp.	14,3	33,3	4,8	38,1	19	21,9	5/5
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizoctonia</i> spp.	9,5	-	19	4,8	4,8	7,6	4/5
<i>Rhizopus</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Chaetomium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Penicillium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Trichoderma</i>	-	-	4,8	-	-	9,6	1/5
No crecimiento	14,3	19,1	23,8	23,8	19,1	11,4	-

<sup>a</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en una planta (14).

<sup>b</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en todas las plantas (14 x 5 = 70).

<sup>c</sup> Número de plantas positivas en el aislamiento sobre el total de plantas estudiadas (5).

**Tabla IV.15:** Porcentajes de hongos aislados a partir de las plantas arrancadas del campo 14 (Xilxes)

Hongo	P1	P2	P3	P4	P5	Total	Plantas
<i>Monosporascus cannonballus</i>	71,4 <sup>a</sup>	14,3	38	42,8	71,4	47,6 <sup>b</sup>	5/5 <sup>c</sup>
<i>Acremonium cucurbitacearum</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Plectosporium tabacinum</i>	-	-	19	-	-	3,8	1/5
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Fusarium</i> spp.	-	42,8	28,6	23,8	23,8	23,8	4/5
<i>Pythium</i> spp.	-	4,8	-	-	-	1	1/5
<i>Alternaria</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizoctonia</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Rhizopus</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Chaetomium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Penicillium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	0/5
<i>Trichoderma</i>	28,6	38,1	14,4	33,4	4,8	23,8	5/5
No crecimiento	-	-	-	-	-	-	-

<sup>a</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en una planta (14).

<sup>b</sup> Porcentaje de puntos de aislamiento positivo sobre el total de puntos de aislamiento realizados en todas las plantas (14 x 5 = 70).

<sup>c</sup> Número de plantas positivas en el aislamiento sobre el total de plantas estudiadas (5).

En resumen, aunque se observaron peritecios de *M. cannonballus* en todas las raíces de las plantas estudiadas, la frecuencia de aislamiento del hongo fue muy variable, oscilando entre 2,9% del total de puntos de aislamiento en el campo 6 en 2002 al 47,6% del total de puntos de aislamiento en el campo 14 en 2003. Esta variación en las frecuencias de aislamiento de cada campo podría ser debida al crecimiento de otros hongos, que colonizan las raíces afectadas e interfieren el crecimiento de *M. cannonballus* en placa, como ocurrió en el campo 4, donde no fue posible aislar este hongo.

#### IV.3.2. Conteo de ascosporas

En la **Tabla IV.16** se presenta la media de población de ags en estos campos, durante los dos años de duración del estudio y para todos los momentos de muestreo, así como los errores estándar y el rango de valores encontrados en cada uno de ellos.

Durante el año 2002, el mayor valor medio de ascosporas en suelo fue de 6,33 ags en el campo 4, mientras que el menor valor se dio en el campo 6, con 2,18 ags. El rango de valores obtenido en las muestras individuales de suelo osciló entre 1,00 y 16,20 ags.

En el año 2003 los conteos de ascosporas se efectuaron en tres momentos diferentes que deberán ser comentados por separado. Durante el primer muestreo, efectuado en el momento de la plantación, el mayor valor medio de ascosporas de *M. cannonballus* en suelo fue de 6,09 ags en el campo 14, mientras que el menor valor correspondió al campo 10 con 3,14 ags. Asimismo, se obtuvo un rango de valores en las muestras individuales de entre 0,35 y 10,30 ags.

En el segundo momento de muestreo del año 2003, coincidiendo con la aparición de los síntomas de "colapso", se obtuvo un valor máximo de 6,26 ags en el campo 14, siendo la media más baja de 1,54 ags, en el campo 13. El rango de valores en las muestras individuales de suelo osciló entre 0,50 ags y 10,90 ags.



**Tabla IV.16:** Media de la población de ascosporas de *Monosporascus cannonballus* en suelo de los campos de melón estudiados

Campo	Momento de muestreo <sup>a</sup>					
	A		B		C	
	Media± EE	Rango	Media± EE	Rango	Media± EE	Rango
<b>Año 2002</b>						
1	-	-	4,48±0,50 <sup>b</sup> c <sup>c</sup>	1,10-9,90	-	-
2	-	-	4,37±0,51c	1,00-10,10	-	-
3	-	-	5,04±0,38cd	2,20-8,70	-	-
4	-	-	6,33±0,58d	3,15-16,20	-	-
5	-	-	3,84±0,15bc	2,70-5,95	-	-
6	-	-	2,18±0,12a	1,10-3,85	-	-
7	-	-	2,74±0,15ab	1,45-3,70	-	-
8	-	-	4,11±0,16bc	2,60-5,80	-	-
<b>Año 2003</b>						
9	4,89±0,30bcA	2,60-9,10	3,41±0,36b	1,10-6,90	3,65±0,21aB	1,90-5,50
10	3,14±0,63aA	0,35-6,40	2,13±0,18a	1,05-4,55	4,11±0,27aA	1,55-6,55
11	4,18±0,84abB	2,00-10,30	1,85±0,16a	0,65-3,45	5,55±0,22bA	3,90-8,05
12	-	-	1,56±0,16a	0,75-3,00	3,85±0,20a	1,00-5,00
13	3,39±0,22aA	1,20-5,25	1,54±0,12a	0,50-3,45	3,12±0,17aA	1,45-4,55
14	6,09±0,57cA	3,55-9,95	6,26±0,39c	2,00-10,90	4,27±0,56aB	0,80-9,40

<sup>a</sup>Momentos de muestreo: A = en Mayo, en la época de plantación de melón; B = en Julio, al final del ciclo de cultivo, al observarse los síntomas de "colapso"; y C = en Octubre, dos -tres meses después de la finalización del cultivo.

<sup>b</sup>Los valores de población de ascosporas son la media de 24 muestras de suelo tomadas siguiendo un patrón de muestreo en "W" para cada uno de los catorce campos estudiados ± error estándar de la media (EE).

<sup>c</sup>Números en una columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes según el test de rango múltiple de Tukey HSD ( $P=0,05$ ). Las letras minúsculas corresponden a la comparación entre campos del mismo muestreo. Las letras mayúsculas corresponden a la comparación, dentro del mismo campo, entre el primer y el tercer muestreo durante el año 2003.

En el tercer y último muestreo de 2003, realizado entre dos y tres meses después de la finalización del cultivo, el valor medio más alto de ascosporas en suelo se dio en el campo 11, con 5,55 ags. El valor medio inferior de ascosporas se dio en el campo 13 con 3,12 ags. El rango de valores en los muestreos individuales de suelo osciló entre 0,80 y 9,40 ags.

En el año 2003, la comparación entre los tres momentos de muestreo efectuados en cada campo mostró resultados muy diversos. En general, los valores más bajos de ascosporas por gramo de suelo se obtuvieron en todos los campos en el mes de julio (segundo momento de muestreo), obteniéndose valores más altos antes de la plantación (primer momento de muestreo) y a los dos o tres meses de la finalización del cultivo (tercer momento de muestreo). Tras la comparación realizada entre los valores de ags del primer y del tercer muestreo, se observaron diferencias significativas en los campos 9 y 14, en los que el número de ascosporas descendió, y en el campo 11, en el que el valor de ascosporas se incrementó en el tercer muestreo. Los valores de ags permanecieron relativamente estables (sin diferencias significativas) entre ambos muestreos en los campos 10 y 13.

Las medias de la población de ascosporas de *M. cannonballus* para todos los campos en el mes de julio, detallados de acuerdo con la sintomatología observada en los campos (plantas de melón con síntomas de "colapso" y plantas asintomáticas), y con la posición en relación a la línea de cultivo (zonas de línea y de entrelínea), se muestran en la **Tabla IV.17**. Asimismo, en la **Tabla IV.18** se observan los resultados del análisis multifactorial realizado con los datos de este muestreo. Se encontraron diferencias significativas entre campos y en el factor "Síntoma", mientras que no se hallaron diferencias significativas dentro del factor "Posición" en relación a la línea de cultivo. Sin embargo, no se encontró una tendencia uniforme para las diferencias observadas en los síntomas. En algunos campos (por ejemplo los campos 1, 2 y 9), la media del número de ascosporas fue significativamente menor en las zonas con plantas de melón que presentaban síntomas de "colapso" que en las zonas asintomáticas. En

cambio, en otros campos (por ejemplo, los campos 4 y 12) se observó el resultado contrario.

**Tabla IV.17:** Media y error estándar de ascosporas/g de suelo para las distintas zonas consideradas para cada campo, en el muestreo de julio

Campos	Zonas <sup>a</sup>				Media
	SL	SE	AL	AE	Total
1	2,37±0,45	2,79±0,57	6,41±0,75	6,32±0,84	4,48±0,50
2	2,64±0,44	2,18±0,35	5,4±0,71	7,26±0,76	4,37±0,51
3	4,21±0,72	4,93±0,78	6,28±0,74	4,73±0,77	5,04±0,38
4	6,7±0,53	8,82±1,82	4,71±0,54	5,11±0,57	6,33±0,58
5	4,18±0,50	3,84±0,28	4,05±0,12	3,29±0,15	3,84±0,15
6	2,76±0,27	1,97±0,20	2,32±0,14	1,67±0,19	2,18±0,12
7	2,44±0,25	2,19±0,22	3,27±0,10	3,04±0,37	2,74±0,15
8	3,98±0,24	3,58±0,23	5,1±0,17	3,8±0,29	4,11±0,16
9	1,99±0,20	2,56±0,83	4,79±0,69	4,29±0,38	3,41±0,36
10	1,9±0,16	2,16±0,30	2,94±0,45	1,53±0,20	2,13±0,18
11	1,67±0,13	2,92±0,22	1,22±0,21	1,58±0,17	1,85±0,16
12	1,98±0,30	1,88±0,49	1,21±0,17	1,19±0,09	1,56±0,16
13	1,62±0,14	1,88±0,35	1,53±0,12	1,15±0,19	1,54±0,12
14	5,64±0,81	7,11±0,71	7,25±0,84	5,04±0,48	6,26±0,39

<sup>a</sup>S: Zona con síntomas de "colapso"; A: Zona sin síntomas de "colapso", L: Línea de cultivo de melón; E: Entrelínea

#### IV.4. Discusión

El objetivo de este estudio fue cuantificar el nivel de ascosporas de *M. cannonballus* en suelos de catorce campos de las principales zonas productoras de cucurbitáceas de la Comunidad Valenciana. En primer lugar, cabe destacar que se hallaron ascosporas en el suelo de los catorce campos muestreados. La media de población de estas ascosporas osciló entre 1,54 a 6,33 ags, siendo el rango de ascosporas encontrado en muestras individuales de suelo de 0,35 a 16,20 ags.

**Tabla IV.18:** Análisis de la varianza para los efectos de campo, síntoma (síntomas de “colapso”/asintomática) y posición en relación a la línea de cultivo (línea/entrelínea) en el número de ascosporas de *M. cannonballus* en el suelo de catorce campos de melón de la Comunidad Valenciana en el momento de aparición de síntomas de “colapso”.

Efecto	GL <sup>a</sup>	Suma de			
		cuadrados	Media	F-ratio	Valor de P
<i>Campo</i>	13	832,49	64,04	38,14	0,0000
Síntoma	1	19,84	19,84	11,82	0,0007
Posición	1	0,32	0,32	0,19	0,6633
Campo x Síntoma	13	260,76	20,06	11,95	0,0000
Campo x Posición	13	29,61	2,28	1,36	0,1799
Síntoma x Posición	1	13,38	13,38	7,97	0,0051
Residual	293	491,99	1,68	-	-

<sup>a</sup>GL: Grados de libertad

Estos valores son similares a los citados en la bibliografía, procedentes de estudios efectuados en campos con cultivo de cucurbitáceas de diferentes países. Así, Mertely *et al.* (1993b) indicaron en estudios efectuados en Texas, que en parcelas con cultivo intensivo de melón se llegó a obtener una media de 11,1 ags, así como valores medios de 3,6 y 6,4 ags para campos de melón con un sistema de producción tradicional (sin acolchado, sin túnel y sin riego localizado). Por otra parte, Stanghellini *et al.* (1996) en Arizona, obtuvieron medias de  $2,49 \pm 1,05$  ags en campos de melón con historial de “colapso”, y de  $1,70 \pm 1,04$  ags en parcelas de zonas desérticas. Aegerter *et al.* (2000) obtuvieron en California una media de 1,4 ags a partir de 21 muestras tomadas de seis condados diferentes, entre las cuales había una gran variabilidad. La muestra con mínimo valor mostraba 0,15 ags, mientras que el mayor recuento fue de 5,85 ags.

En estudios recientes efectuados en Corea del Sur, en los que se llevaron a cabo tomas de muestras puntuales en campos de cultivo de melón, sandía y pepino con síntomas de “colapso”, se observaron valores de

ascosporas que oscilaron entre 1,7 y 14,6 ags (Heo *et al.*, 2001b). Finalmente, en los últimos dos años, se han publicado algunos trabajos en los que se ha realizado de manera secundaria conteos de ascosporas de *M. cannonballus* en suelo. Así, Waugh *et al.* (2003) obtuvieron un rango de valores de entre 1,4 a 2,9 ags en campos de melón de California, mientras que Stanghellini *et al.* hallaron un rango de entre 1,8 a 2,6 ags (2004a) y de 1,4 a 2,9 ags (2004b), en campos de melón de Arizona y de California, respectivamente. Por otro lado, Radewald *et al.* (2004) encontraron valores de 0,8 a 2,1 ags, en parcelas de melón de California sometidas a diversos tratamientos, tales como la aplicación de metam-sodio.

Nuestros datos muestran la importancia de *M. cannonballus* en el suelo de campos empleados para la producción de melón en la Comunidad Valenciana. Esto se vio confirmado con la presencia de peritecios del hongo en las raíces de las plantas que mostraban síntomas de "colapso" y, posteriormente, por el aislamiento del patógeno a partir de esas mismas raíces.

Waugh *et al.* (2000; 2003) indicaron que es suficiente un nivel de 2 ascosporas por gramo de suelo para que se manifieste la enfermedad en campos cultivados de melón. En nuestro caso, se observó "colapso" en la parte aérea en plantas de todos los campos muestreados en este estudio, teniendo la mayoría de ellos unos valores medios de ascosporas en suelo superiores al valor señalado por estos autores. No obstante, aunque *M. cannonballus* es un patógeno monoicónico, y la densidad de inóculo en suelo podría ser un dato relevante para calcular el nivel de enfermedad que se podría alcanzar tras la plantación del cultivo (Martyn y Miller, 1996; Waugh *et al.*, 2003), Mertely *et al.* (1993b) ya señalaron que no existe correlación entre la concentración de ascosporas en suelo y la incidencia de la enfermedad debido a la presencia de otros patógenos causantes de daños a las raíces, en los suelos de los campos afectados. De hecho, en este estudio se constató la presencia en suelo de la mayoría de los campos muestreados de otros hongos patógenos asociados a los síntomas de "colapso", como *A. cucurbitacearum* y *P. tabacinum*.

Además, tampoco existen datos acerca de cuales son los porcentajes de ascosporas viables extraídas de suelos naturalmente infestados, que permitan obtener umbrales de población de ascosporas para la predicción de la incidencia y severidad de la enfermedad (Stanghellini *et al.*, 1996).

Respecto a los resultados obtenidos en los aislamientos, se observó una alta presencia de *Fusarium* spp. y *Pythium* spp. en la mayoría de campos muestreados. De hecho, en el campo 4, el único en el que no se pudo aislar *M. cannonballus*, *Pythium* fue el género con mayor porcentaje de puntos de aislamiento, enmascarando probablemente el crecimiento de aquél. En muchos otros campos (2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12 y 13), el porcentaje de aislamiento de *M. cannonballus* quedó por debajo del de *Fusarium* o *Pythium*. Esto podría explicarse debido a que estos dos géneros, en este caso, al final del cultivo, podrían actuar como saprofitos oportunistas tras sufrir la planta una grave alteración debida a la infección en la raíz causada por *M. cannonballus* o *A. cucurbitacearum*.

Sales *et al.* (2001) indicaron que el porcentaje de aislamientos para el género *Pythium* realizados a partir de plantas de melón que habían sufrido "colapso", aumentaba notablemente en las últimas etapas del cultivo, creciendo este hongo sobre las plantas debilitadas y con un sistema radical ya afectado. Por otro lado García-Jiménez *et al.* (1992) señalaron que la frecuencia de aislamientos del género *Fusarium* a partir de raíces afectadas aumentaba en fechas cercanas a la recolección en los campos de melón afectados de "colapso". La predominancia de estos hongos saprofitos de rápido crecimiento conlleva una mayor dificultad para poder efectuar el aislamiento de muchos otros hongos de crecimiento más lento, entre los que se halla *M. cannonballus*.

García-Jiménez *et al.* (1992) también comprobaron que *A. cucurbitacearum*, otro de los patógenos involucrados en el "colapso" del melón, muestra máximos de aislamiento pocas semanas tras la plantación, aunque luego su frecuencia de aislamiento se reduce a finales del cultivo. Esto concuerda con los resultados obtenidos en este ensayo para *A.*

*cucurbitacearum*, ya que este hongo sólo se aisló en los campos 1, 2 y 8, y en muy bajo porcentaje.

En otro orden de cosas, la cuantificación de ascosporas de *M. cannonballus* en los muestreos llevados a cabo en julio, reveló diferencias significativas entre los campos y entre las áreas con plantas con síntomas de "colapso" y asintomáticas, pero no entre las zonas de línea y las zonas de entrelínea. Este último resultado coincide con el trabajo de Mertely *et al.* (1993b), que obtuvieron un resultado similar, al efectuar un conteo de ascosporas de *M. cannonballus* en suelo de un campo con cultivo intensivo de melón, al sur de Texas. Asimismo, concuerda con los resultados del apartado anterior de esta tesis, donde tampoco se obtuvieron diferencias significativas en el valor de ags entre las líneas y las entrelíneas de cultivo de melón.

En relación a las diferencias significativas halladas entre las zonas con "colapso" y las zonas asintomáticas en todos los campos estudiados, cabe resaltar que en algunos campos, la media de ascosporas en suelo fue significativamente más baja en las zonas con plantas de melón "colapsadas" que en las zonas con plantas sin síntomas, mientras que en otros campos ocurrió lo contrario. Todos los campos se plantaron aproximadamente en la misma fecha, pero podría darse la situación que en el momento de realizar la toma de muestras del mes de julio, el ciclo de *M. cannonballus* se encontrara en fases diferentes, en cada uno de ellos.

Los valores más bajos de ascosporas en las áreas con síntomas de "colapso" hallados en algunos campos, podrían indicar una disminución en la densidad de ascosporas debido a su germinación y a la progresiva colonización de las raíces de melón por parte del hongo. En este caso, aunque los peritecios estuvieran presentes en las raíces de las plantas, la producción de ascosporas estaría todavía en sus inicios. Esta misma dinámica se ha observado en *Aspergillus flavus* Link, cuya población de esderocios en suelo desciende a partir del momento en que éstos comienzan a germinar (Wicklów *et al.*, 1993).

En el caso contrario, en los campos con valores más elevados de ascosporas en suelo en las áreas con "colapso" en el muestreo del mes de julio, el ciclo del patógeno habría acabado probablemente, teniendo como resultado una alta producción de ascosporas en los peritecios de la raíz, que durante el procesado de las muestras serían incorporadas al suelo. Waugh *et al.* (2003) evaluaron el potencial reproductivo de *M. cannonballus*, demostrando que la producción de ascosporas en las raíces ocurre principalmente al final de la época de cultivo, coincidiendo con la muerte de las plantas afectadas y la descomposición de sus raíces. Es entonces cuando se da la máxima intensidad de liberación de las ascosporas, con lo que la concentración de éstas en el suelo puede aumentar e incluso superar el nivel inicial presente al comienzo del cultivo.

Esta diferencia de resultados en los muestreos efectuados en el momento de aparición de los síntomas de "colapso", debido a que el ciclo de *M. cannonballus* puede encontrarse en diferentes momentos, denota la necesidad de efectuar muestreos mucho más exhaustivos, con el fin de aportar nuevos datos a la epidemiología de este hongo.

En los campos estudiados en 2003, los valores más bajos de ascosporas por gramo de suelo se dieron en general en el mes de julio (segundo momento de muestreo), obteniéndose valores más elevados de ascosporas en la época de plantación (primer momento de muestreo) y entre dos y tres meses después de la finalización del cultivo (tercer momento de muestreo). Esto sugiere una reducción de la población inicial de ascosporas en estos campos debido a su germinación y la colonización de raíces y un posterior incremento tras la formación de peritecios y su esporulación al final del cultivo.

Los resultados sobre la influencia de un ciclo de cultivo de melón sobre la densidad de población de ascosporas de *M. cannonballus* en un campo no fueron claros. La comparación entre los valores de ags del primer y del tercer muestreo en los campos muestreados en el año 2003, mostraron campos con un valor de ags significativamente mayor en el primer muestreo (antes de la plantación), campos con un valor de ags



significativamente mayor en el tercer muestreo (dos o tres meses después del final del cultivo), y también campos en los que no se encontraron diferencias significativas entre ambos muestreos. En este sentido, como ya se indicó en el apartado III de esta tesis, después de realizar un ciclo de cultivo de melón en suelos de marjal en los que se encontraba presente *M. cannonballus*, se observó un aumento en los niveles de ascosporas obtenidos dos o tres meses después de la finalización del cultivo (siete meses después de la plantación de melón) respecto a los conteos realizados inicialmente, coincidiendo con el primer caso comentado.

Un importante incremento de la densidad de inóculo en el suelo de campos de melón estaría probablemente asociado a prácticas de cultivo más intensivas, como ya apuntaron Mertely *et al.* (1993b). Según estos autores, la repetición del cultivo con ausencia de rotaciones, el empleo de mulching y el riego localizado favorece la presencia de un número mayor de ascosporas en el suelo. En este sentido, la repetición del cultivo año tras año tiene como consecuencia la acumulación del inóculo en el suelo; por otra parte, el uso de los plásticos tiene también como consecuencia la elevación de la temperatura del suelo, con lo que se favorece el desarrollo de *M. cannonballus* debido a su naturaleza termófila.

#### **IV.5 Conclusiones**

1) Se detectaron ascosporas de *M. cannonballus* en todos los campos de melón muestreados en un rango de entre 0,35 a 16,20 ascosporas por gramo de suelo en las muestras individuales y de 1,54 a 6,33 ags como niveles medios de los campos.

2) En los muestreos realizados en el momento de aparición de los síntomas de "colapso", se observaron diferencias significativas entre los campos y entre las zonas sintomáticas y asintomáticas, a favor de unas u otras, según los campos, no encontrándose diferencias significativas entre las líneas y las entrelíneas.

3) Al comparar los niveles iniciales de ascosporas en el suelo con los obtenidos dos o tres meses tras la finalización del cultivo, se observaron diferentes situaciones, en ocasiones contradictorias, como un aumento en el nivel final de ags, una disminución de este nivel, o bien, que el nivel de ags permaneció sin diferencias significativas entre ambos muestreos.

A la vista de estos resultados, parece necesario profundizar en la dinámica de las ascosporas de *M. cannonballus* en suelo, y su relación con la incidencia de la enfermedad en cultivos de cucurbitáceas, para poder comprender mejor el ciclo vital de este patógeno en condiciones de campo. La complejidad de su ciclo (germinación de ascosporas, infección de las raíces, formación de peritecios, incorporación al suelo de las nuevas ascosporas) precisa la realización de un muestreo secuencial a lo largo de todo el ciclo de cultivo, para aportar nuevos datos a la epidemiología de este hongo. Este aspecto será abordado en el próximo apartado.



**V. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA  
EPIDEMIOLOGÍA DE *M. cannonballus*  
EN CULTIVOS DE MELÓN, SANDÍA Y  
SANDÍA INJERTADA**

## V. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EPIDEMIOLOGÍA DE *M. cannonballus* EN CULTIVOS DE MELÓN, SANDÍA Y SANDÍA INJERTADA

### V.1. Introducción

En los apartados anteriores ya se han comentado algunos aspectos de la epidemiología de *M. cannonballus*. Son escasos los estudios que cuantifican el nivel de inóculo de este hongo en suelo, destacando en este sentido los trabajos de Mertely *et al.* (1993b) en Texas, Stanghellini *et al.* (1996) en Arizona, y Aegerter *et al.* (2000) en California. No obstante, hasta la fecha, no tenemos conocimiento de ningún estudio secuencial sobre la evolución del inóculo de *M. cannonballus* en suelo.

En el apartado III de esta Tesis se presentó un estudio de tres años, con muestreos mensuales de cuatro campos (dos con cultivo de melón y dos con encharcamiento invernal). En el apartado IV se realizó un estudio de cuantificación del nivel de ascosporas por gramo de suelo (ags) en varios campos de cultivo de melón en las principales zonas productoras de las provincias de Castellón y Valencia. A partir de estos estudios se planteó la necesidad de realizar muestreos más exhaustivos, para tener una idea más clara de la dinámica poblacional de las ascosporas de *M. cannonballus* en suelo durante un ciclo de cultivo de cucurbitáceas.

En el presente apartado, se ha querido realizar un estudio más detallado, realizando un mayor número de muestreos durante un ciclo de cultivo, evaluando más parámetros, y también, escogiendo diferentes hospedantes con el fin de compararlos. Con ello, se pretende conocer la dinámica de las ascosporas de *M. cannonballus* en suelo en los dos cultivos de cucurbitáceas más tradicionales de esta zona: melón y sandía. Asimismo, se pretende observar esta dinámica en sandía injertada sobre portainjerto híbrido de *Cucurbita*, técnica de cultivo que ha sustituido en la mayoría de parcelas a la sandía. Así, se podrá establecer una comparación entre la dinámica poblacional de ascosporas de *M. cannonballus* en estos

cultivos (melón, sandía y sandía injertada), y su relación con la incidencia del "colapso".

## **V.2. Materiales y métodos**

### V.2.1. Descripción de los campos y diseño experimental

Para la realización de este estudio se utilizaron dos campos, cada uno de ellos representativo de dos de las principales zonas productoras de cucurbitáceas de la Comunidad Valenciana y dos sistemas de cultivo diferentes (riego por goteo y a manta).

El primer campo (Campo 1) está situado en la marjal del término municipal de Almenara (Castellón). En este campo, los muestreos comenzaron a finales de abril de 2003, prolongándose hasta el mes de septiembre, dos meses después del fin de la campaña agrícola de ese año, que tuvo lugar a finales de julio. El campo tenía unas dimensiones de aproximadamente 25 hectáreas, dedicadas al cultivo de cucurbitáceas y destinadas a la producción comercial. Dentro de este campo se seleccionó una zona de unos 2200 m<sup>2</sup> en la que se plantó melón (M), sandía (S) y sandía injertada sobre el portainjerto Shintoza, un híbrido de *Cucurbita* (S1), así como un cuarto cultivo no perteneciente a la familia de las cucurbitáceas, el tomate (T). Las parcelas elementales se distribuyeron en bloques al azar, con un total de cuatro repeticiones para cada cultivo. Cada parcela elemental tenía una superficie de 135 m<sup>2</sup>. En este campo, el sistema de riego utilizado fue riego localizado. En los años anteriores hubo cultivo de cucurbitáceas en este campo durante la primavera-verano, alternando con cultivos de col durante el invierno.

El segundo campo (Campo 2) se situó en el término municipal de Alborai, en la comarca de L'Horta Nord, (Valencia). Los muestreos comenzaron en este campo en mayo de 2004, finalizando en octubre de ese mismo año, tres meses después del fin de la campaña agrícola de ese año. Aquí también se dispusieron las parcelas elementales en bloques al azar, con un total de cuatro repeticiones. Cada bloque contenía únicamente los

tres cultivos de cucurbitáceas considerados en el estudio (M, S y SI). La parcela elemental tenía un tamaño de 63 m<sup>2</sup>, y el sistema de riego empleado fue de riego a manta. En los años anteriores se habían alternado los cultivos de cucurbitáceas con otras hortícolas como col y patata.

En ambos ensayos, cada parcela elemental constaba de cuatro líneas de cultivo, dejándose como líneas bordes las dos líneas externas, mientras que de las dos líneas centrales, una era destinada al muestreo de material vegetal, y la otra línea central al muestreo de suelo y a evaluaciones secuenciales de síntomas en el cultivo y su producción.

El marco de plantación que se estableció fue, para el campo de Almenara (Campo 1) de 1,5 m de separación entre las líneas de cultivo, con una distancia entre plantas dentro de cada línea de 0,75 m; en este campo, cada línea de cultivo constó de 30 plantas, por lo que cada parcela elemental tenía 120 plantas. En el campo de Alborcia (Campo 2), las líneas de cultivo se hallaban separadas también 1,5 metros, mientras que la distancia entre plantas fue de 0,70 m, existiendo 15 plantas por línea, y un total de 60 plantas por cada parcela elemental. En la **Figura V.1** se puede ver los esquemas de las parcelas elementales para cada uno de los campos estudiados.

En ambos campos, la variedad de melón fue Sancho, un tipo Piel de sapo, que es uno de los más cultivados en la Comunidad Valenciana. La variedad de sandía empleada fue Dulce Maravilla, de carne roja y con presencia de pepitas, siendo ésta una de las variedades de sandía más empleadas en estas dos zonas, mientras que el patrón de calabaza usado fue Shintoza, un híbrido de *Cucurbita maxima* x *C. moschata*. Asimismo, se utilizó tomate de variedad Roma (tipo industrial) como cultivo no perteneciente a las cucurbitáceas en el campo de Almenara, siendo ésta también la variedad más común de la zona.

Durante el ciclo de cultivo se llevaron a cabo las prácticas agronómicas habituales, no realizándose ningún tratamiento fungicida

dirigido al control de hongos del suelo. En la **Tabla V.1** aparecen diversas características del cultivo de ambos campos.

**Tabla V.1:** Fechas de plantación y finalización del cultivo, y de final del estudio para cada uno de los campos.

<b>Nombre</b>	<b>Ubicación</b>	<b>Tipo de riego</b>	<b>Fecha plantación cultivo</b>	<b>Fecha final cultivo</b>	<b>Fecha final estudio</b>
Campo 1	Almenara	Localizado	25-4-2003	28-7-2003	10-9-2003
Campo 2	Alborcía	A manta	25-5-2004	10-8-2004	6-10-2004

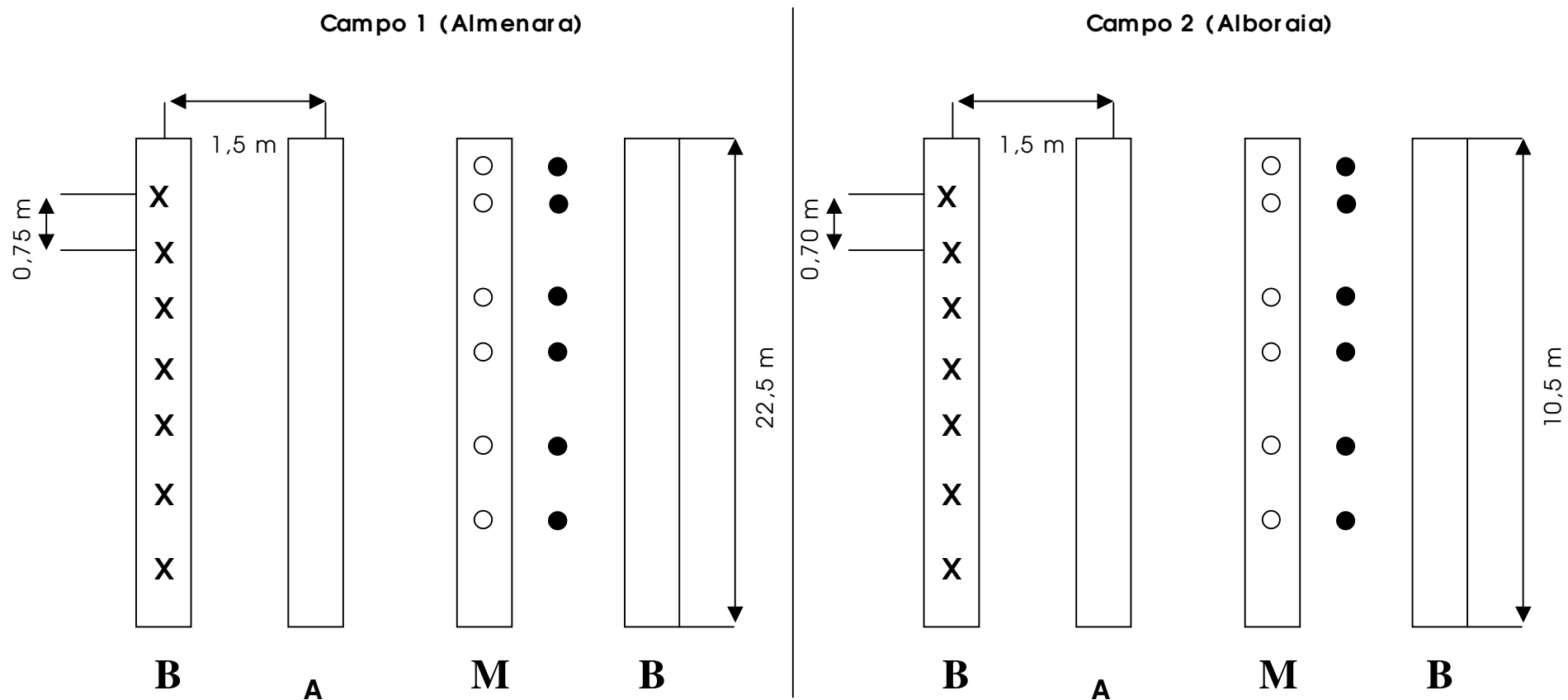
#### V.2.2. Toma de muestras de suelo

Las tomas de muestras de suelo se realizaron con una periodicidad de entre diez y quince días para los dos campos. En la **Tabla V.2** se exponen las fechas de muestreo. El momento de plantación, la duración del cultivo, la época de cosecha y la finalización del cultivo se vieron supeditados en cada caso a los factores climáticos y de programación de los agricultores. Se realizaron un total de nueve muestreos para cada campo, los ocho primeros durante el propio cultivo, y el último de ellos unos meses después de la finalización del cultivo, tras la realización de labores de acondicionamiento (rotovariado) para la implantación del siguiente cultivo.

La toma de muestras se realizó mediante un taladro para muestreo de suelos, obteniendo unos 250 gramos de tierra por cata, de tal manera que la tierra recogida se encontrase comprendida entre 10 y 20 cm de profundidad, ya que es en este perfil donde se encuentra la mayor densidad de ascosporas (Mertely *et al.*, 1993b).

Las muestras se tomaron de dos zonas: la línea de cultivo y la entrelínea, en una zona equidistante a la línea de muestreo y la línea borde adyacente. Las catas en la línea y entrelínea eran tomadas a la misma distancia del comienzo de la fila.





**Figura V.1.** Esquema de la parcela elemental en el Campo 1 (Almenara) y en el Campo 2 (Alborcia). B: Líneas borde, A: Línea de muestreo de material vegetal, M: Línea de toma de muestras de suelo. ○: Zona de toma de muestras en la línea, ●: Zona de toma de muestras en la entrelínea, X: planta (Cada línea constaba de 30 plantas en el campo de Almenara, y de 15 en el de Alborcia).

**Tabla V.2:** Fechas de muestreo y correspondencia con los días tras la plantación para los Campos 1 y 2

Campo 1			Campo 2		
Nº de muestreo	Fecha (2003)	Días <sup>a</sup>	Nº de muestreo	Fecha (2004)	Días
1	25-04	0	1	25-05	0
2	09-05	19	2	10-06	16
3	19-05	29	3	21-06	27
4	29-05	39	4	01-07	37
5	16-06	57	5	12-07	48
6	01-07	71	6	20-07	56
7	15-07	85	7	29-07	65
8	28-07	98	8	10-08	76
9	10-09	142	9	06-10	133

<sup>a</sup>Días tras la plantación

En cada parcela elemental y para cada fecha de muestreo se tomaron seis muestras de suelo en la línea de muestreo y otras seis muestras de suelo de la entrelínea (12 muestras por parcela elemental). Los puntos de muestreo de suelo eran elegidos al azar en cada fecha. Al haber cuatro parcelas elementales de cada cultivo, se tomaron un total de 192 muestras de suelo por cada fecha de muestreo para el Campo 1 (4 cultivos) y 144 muestras de suelo por cada fecha de muestreo para el Campo 2 (3 cultivos).

#### V.2.3. Extracción y conteo de ascosporas

El procesado de estos suelos se llevó a cabo siguiendo la metodología expuesta en el apartado III.2.2..

#### V.2.4. Toma de muestras de material vegetal

Paralelamente a cada muestreo de suelo, se procedió a arrancar dos plantas elegidas al azar de la línea dispuesta a este efecto (línea A) en cada

parcela elemental. Las plantas seleccionadas para el arranque, se cortaron por la base del tallo eliminando la parte aérea. El cuello y las raíces se embolsaron y almacenaron en nevera a 5° C hasta el momento de su estudio.

La toma de muestras de material vegetal para el Campo 1 se llevó a cabo desde el 9-5-2003, a partir del segundo muestreo de suelo, 19 días después de la implantación del cultivo, y se prolongaron hasta la recolección del cultivo (28-7-2003). De esta forma, se realizaron un total de siete tomas de muestras de material vegetal, coincidentes con los muestreos 2 a 8 de suelo (**Tabla V.2**). Para el Campo 2, la toma de muestras de material vegetal comenzó también desde el segundo muestreo de suelo (16 días después de la plantación), y se prolongaron únicamente hasta el séptimo muestreo (29-7-2004), debido al estado de deterioro en el que ya se hallaban las raíces en esa fecha. De esta forma, para el Campo 2, solamente se realizaron seis muestreos de material vegetal, coincidentes con los muestreos 2 a 7 de suelo.

En total, en cada fecha se muestrearon 32 plantas (8 de melón, 8 de sandía, 8 de sandía injertada y 8 de tomate) en el Campo 1 y 24 plantas (8 de melón, 8 de sandía no injertada y 8 de sandía injertada) en el Campo 2.

#### V.2.5. Evaluación de la presencia de peritecios

Las raíces de las plantas recogidas en el campo fueron lavadas cuidadosamente, para eliminar el exceso de tierra. Posteriormente, se efectuó una observación exhaustiva de todas ellas, para determinar la presencia o ausencia de peritecios de *M. cannonballus*.

#### V.2.6. Aislamiento de hongos del material vegetal

Una vez finalizada la evaluación de la presencia de peritecios, las raíces se desinfectaron con un baño en hipodorito sódico (doro activo al 1,5%) durante un minuto, seguido de dos lavados con agua estéril. De las raíces de cada una de las plantas se sembraron tres placas de medio de

cultivo PDAS. En cada placa se colocaron 7 fragmentos pertenecientes a las raíces y el cuello de la planta, que presentaron lesiones tales como pardeamientos, acorchamientos, etc.; de esta forma, se realizó un total de 21 puntos de aislamiento por cada planta analizada. Al haber 2 plantas por cada parcela elemental y 4 parcelas elementales en cada campo, para cada fecha de muestreo se efectuaron un total de 168 puntos de aislamiento por cultivo y campo.

Las placas así sembradas se incubaron durante 5-7 días en oscuridad a 26° C. Las colonias fúngicas crecidas se repicaron a placas con medio PDA, y se incubaron a 26° C con un fotoperiodo de 12 horas de luz día + luz ultravioleta cercano (Silvania F-40 BLB) y 12 horas de oscuridad, hasta la formación de estructuras reproductoras para proceder a su identificación.

#### V.2.7. Evaluación de la progresión de la enfermedad

Paralelamente a la toma de muestras de tierra y de material vegetal, se realizó en las plantas de la línea de muestreo (línea M) de cada parcela elemental, una evaluación de los síntomas apreciables en la parte aérea de cada cultivo, contándose el número de plantas que mostraban cualquier tipo de síntoma de "colapso" (marchitez, decaimiento de hojas y ramas), o plantas ya muertas. Posteriormente, se calculó el porcentaje medio de plantas sintomáticas en cada cultivo y en cada fecha de toma de muestras para estudiar la progresión de la enfermedad.

#### V.2.8. Seguimiento de la temperatura del suelo.

Para el seguimiento de la temperatura del suelo se instaló en cada campo una estación meteorológica Watchdog™ Data Loggers modelo 425 (Spectrum Technologies, Inc, Plainfield, Illinois, USA). La temperatura se registró a lo largo de todo el periodo de cultivo, es decir, de 25-4-2003 a 28-7-2003 en el Campo 1, y de 25-5-2004 a 10-8-2004 en el Campo 2.

Esta estación meteorológica se situó cada año en una de las parcelas elementales elegida al azar, entre la línea de arranque de plantas (A) y la línea de muestreo de suelo (M), colocando el sensor de temperatura a 10 centímetros de profundidad. La estación realizaba una medida de la temperatura cada quince minutos.

#### V.2.9. Evaluación de la producción.

En la época de recolección se procedió a la evaluación de la producción en los cultivos de cucurbitáceas (M, S y SI), para los Campos 1 y 2. En cada una de las líneas de muestreo (M) de las parcelas elementales se evaluó el número de frutos y su peso, calculándose posteriormente el peso por fruto (kg/fruto), la producción por planta (kg/planta) y la producción por unidad de superficie (kg/m<sup>2</sup>).

#### V.2.10. Análisis estadístico.

En cada uno de los campos se realizó un estudio estadístico de los valores de aqs para las líneas y entrelíneas en las ocho fechas de toma de muestras.

Estos valores fueron comparados mediante un análisis de la varianza (ANOVA) en el que las medias se compararon mediante el test de Tukey HSD a  $P=0,05$  utilizando el software Statgraphics Plus 5.1 (Statistical Graphics Corp, Englewood Cliffs, NJ, USA).

También se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) simple de comparación de medias con los valores obtenidos en todos los parámetros considerados en la evaluación de la producción, usando del mismo modo el test de Tukey HSD a  $P=0,05$ .

Por último, con los resultados obtenidos en la evaluación de síntomas de "colapso" en la parte aérea se realizó un estudio de regresión lineal valorándose la bondad del ajuste a diversos modelos epidemiológicos

(Campbell y Madden, 1990). A partir de estos datos se calculó la incidencia de la enfermedad como porcentaje de plantas afectadas.

### V.3. Resultados

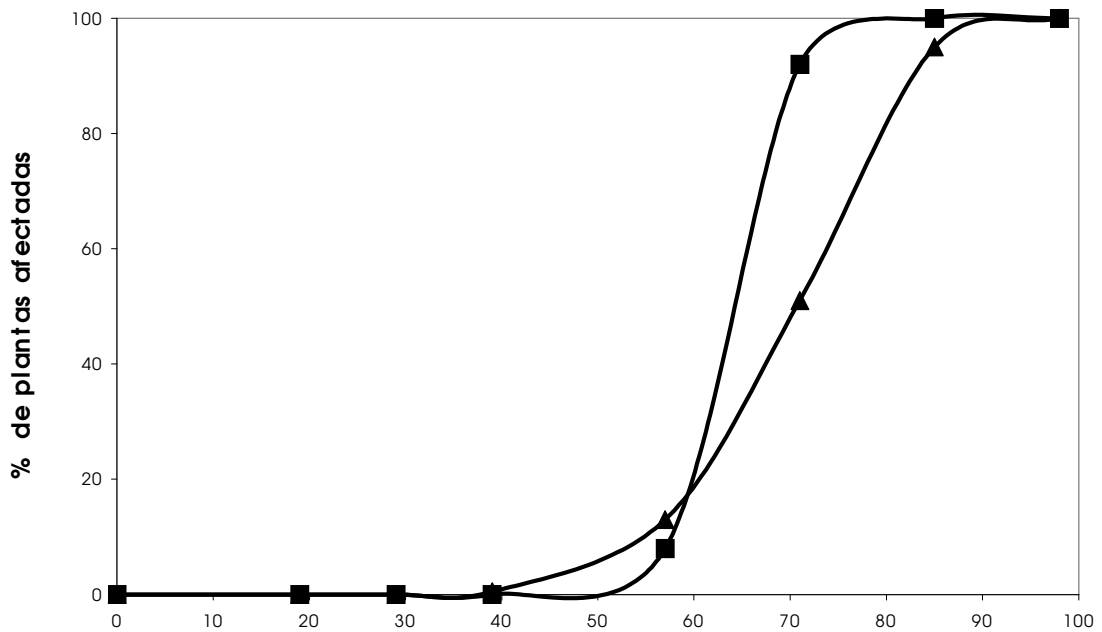
#### V.3.1. Evaluación de la progresión de la enfermedad

Durante el desarrollo de este experimento en el Campo 1, sólo se observaron síntomas de marchitez y “colapso” de plantas en los cultivos de sandía (S) y melón (M), mientras que las plantas de sandía injertada (SI) y de tomate (T) no mostraron ningún síntoma. Igualmente, en el Campo 2 únicamente se observaron plantas marchitas y/o colapsadas en M y S, mientras que no se observaron síntomas en SI a lo largo del cultivo.

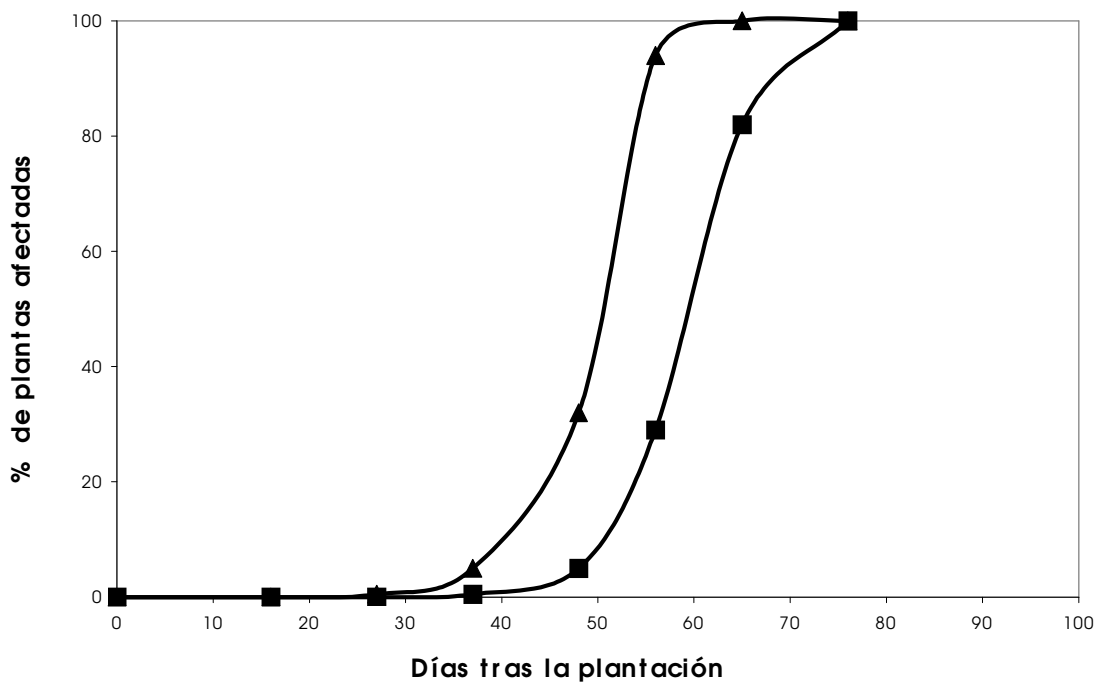
En la **Figura V.2** se muestran las curvas medias de incidencia de la enfermedad para melón y sandía no injertada en ambos campos. En el año 2003, la incidencia de síntomas se ajustó al modelo logístico, tanto en el cultivo de melón como en el de sandía. Asimismo, en el año 2004, la incidencia del “colapso” en el melón se ajustó al modelo exponencial, mientras que en el cultivo de sandía se ajustó al modelo logístico (Campbell y Madden, 1990). Paralelamente, en la **Tabla V.3** se indican todos los datos de estas regresiones.

Los primeros síntomas de “colapso” en el Campo 1 se observaron a partir del quinto muestreo de suelo (57 días tras la plantación), tanto para el cultivo de melón como para la sandía. En ambos casos se alcanzó el 100% de plantas con síntomas durante el octavo muestreo de suelo (98 días tras la plantación). En cuanto al modelo epidemiológico, tanto para el melón como para la sandía, el mejor ajuste fue con el modelo logístico.

### Campo 1 - Año 2003



### Campo 2 - Año 2004



—▲— Melón      —■— Sandía

**Figura V.2:** Curvas de incidencia de la enfermedad para los cultivos de melón y sandía durante los años 2003 (Campo 1) y 2004 (Campo 2).

En el año 2004, las primeras plantas sintomáticas de melón detectadas en el Campo 2 se observaron también a partir del 5º muestreo (48 días tras la plantación); por el contrario, los primeros síntomas observados en el cultivo de sandía se detectaron algo más tarde, en el 6º muestreo de suelo (56 días tras la plantación). En ambos casos, el 100% de plantas sintomáticas se alcanzó durante el 8º muestreo de suelo (76 días tras la plantación), produciéndose finalmente la muerte de las plantas por “colapso” al final del cultivo. En cuanto al modelo epidemiológico, el mejor ajuste para el melón fue el modelo exponencial, mientras que para la sandía fue el modelo logístico.

**Tabla V.3:** Datos del ajuste por regresión al modelo epidemiológico

Parámetro	Cultivo	Año	Modelo	R <sup>2</sup> (%)	P
Incidencia	M	2003	Logístico	100	0,0000
Incidencia	S	2003	Logístico	100	0,0000
Incidencia	M	2004	Exponencial	53,84	0,2662
Incidencia	S	2004	Logístico	100	0,0000

#### V.3.2. Conteos de ascosporas

La evolución de la población de ascosporas de *M. cannonballus* en el suelo respecto al tiempo para el Campo 1, se muestra en la **Figura V.3**, que representa los valores medios de ags en las líneas y entrelíneas, de las cuatro subparcelas para cada cultivo (M, S, SI y T) y durante los muestreos 1 a 8 (a lo largo del ciclo de cultivo).

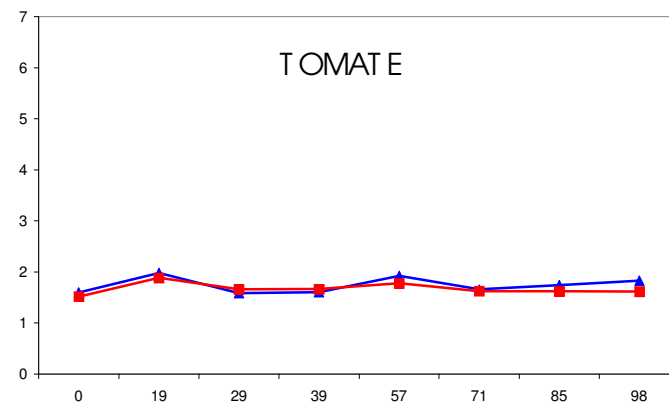
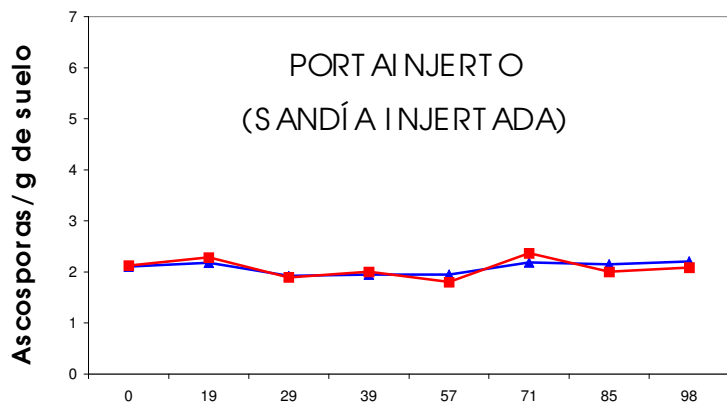
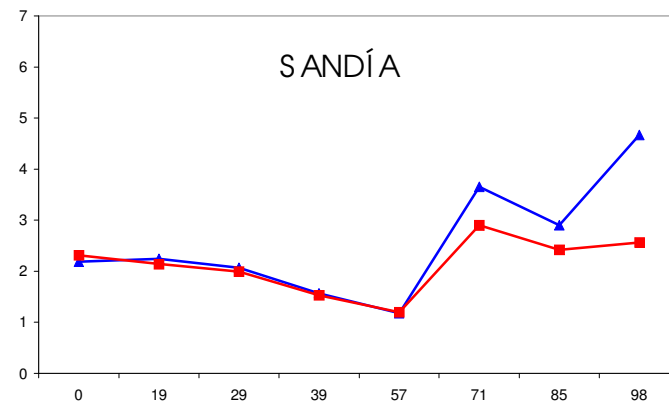
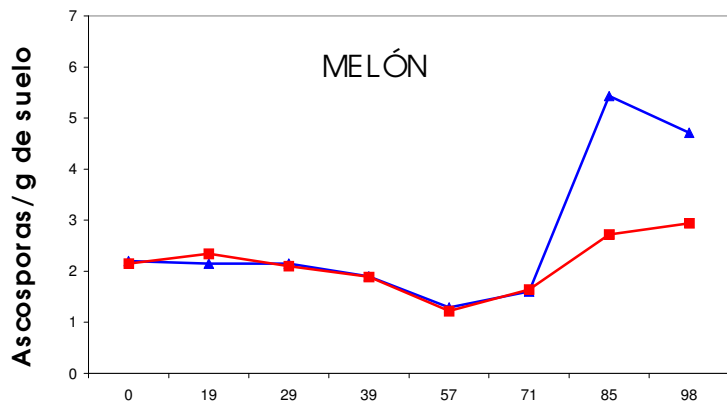
Asimismo, en la **Figura V.4** vienen representadas las medias de los valores de ags para las zonas de líneas y entrelíneas, para las cuatro subparcelas de los cultivos considerados en el Campo 2 (M, S y SI), también durante los muestreos 1 a 8. En ambos campos, cada uno de los valores es la media de 24 valores de ags para las líneas y 24 valores para las entrelíneas.



Por último, en la **Tabla V.4** se muestra la comparación estadística entre los valores medios de ags obtenidos, tanto en las zonas de líneas como de entrelíneas, para cada cultivo considerado, en cada fecha de muestreo (incluyendo al muestreo 9, dos meses después del final del cultivo) y durante los dos años de estudio.

En los párrafos siguientes se hace un comentario de los muestreos llevados a cabo durante el cultivo (muestreos 1-8), dejando para una discusión posterior los resultados del muestreo 9, que se realizó unos dos meses después de la finalización de los respectivos cultivos.

Respecto al Campo 1 (**Figura V.3** y **Tabla V.4**), en el primer muestreo (25-4-03) realizado en el cultivo de melón, la media de ags se situó entre los 2,20 ags de la línea y 2,15 ags para la entrelínea. A partir de este momento, los valores de ags, en general comenzaron a bajar progresivamente, hasta alcanzar un valor mínimo en el quinto muestreo (57 días tras la plantación), con 1,29 ags en las zonas de línea y 1,22 ags en las zonas de entrelínea. A lo largo de todos estos muestreos no se encontraron diferencias significativas entre las zonas de línea y entrelínea, excepto para el segundo muestro (19 días tras la plantación), en el que se observó un valor significativamente más alto para las zonas de entrelínea, con 2,34 ags. A partir del sexto muestreo (71 días tras la plantación) el nivel de ags en las subparcelas cultivadas con melón aumentó; las zonas de línea alcanzaron su máximo nivel en el séptimo muestreo (85 días tras la plantación), con 5,43 ags. En el octavo muestreo (98 días tras la plantación), las entrelíneas alcanzaron un nivel de 2,94 ags. Tanto para el 7º como para el 8º muestreo de melón, se encontraron diferencias significativas entre las zonas de líneas y las de entrelínea, siendo superior el número de ags en las primeras.



Días tras la plantación

Días tras la plantación

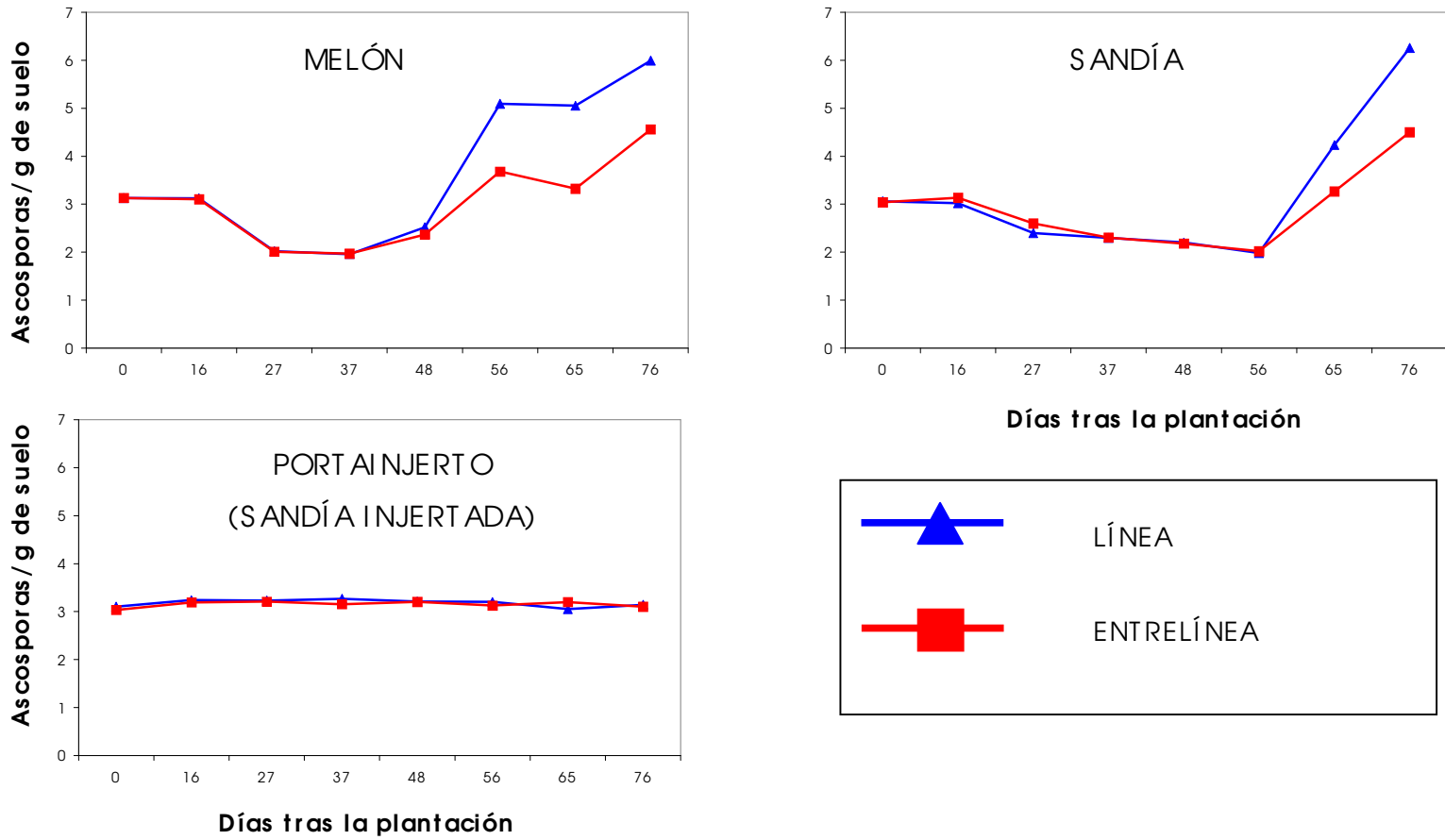
**Figura V.3:** Campo 1: Media de la evolución de la población de ascosporas de *M. cannonballus* en el suelo de las cuatro parcelas elementales, respecto al tiempo, para cada cultivo, entre los muestreos 1º a 8º .



LÍNEA



ENTRELÍNEA



**Figura V.4:** Campo 2: Media de la evolución de la población de ascosporas de *M. cannonballus* en el suelo de las cuatro parcelas elementales, respecto al tiempo, para cada cultivo, entre los muestreos 1º a 8º .

**Tabla V.4:** Comparación de los valores medios de ascosporas/g de suelo entre las zonas de líneas y entrelíneas, para cada cultivo, por fecha de muestreo y año de estudio.

Cultivo Zona <sup>a</sup>		Muestras									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Campo 1 (2003)	M	L	2,20±0,07 <sup>bcd</sup>	2,15±0,06a	2,15±0,09a	1,90±0,10a	1,29±0,08a	1,60±0,10a	5,43±0,50a	4,71±0,36a	3,31±0,18a
		E	2,15±0,07 <sup>a</sup>	2,34±0,06b	2,10±0,08 <sup>a</sup>	1,89±0,10a	1,22±0,08a	1,64±0,10a	2,72±0,22b	2,94±0,22b	3,45±0,18a
	S	L	2,19±0,10 <sup>a</sup>	2,24±0,12a	2,07±0,11a	1,57±0,11a	1,17±0,10a	3,65±0,26a	2,90±0,11a	4,67±0,30a	3,81±0,11a
		E	2,31±0,10a	2,14±0,09a	1,99±0,08a	1,53±0,12a	1,20±0,07a	2,90±0,17b	2,42±0,07b	2,56±0,12b	3,51±0,12a
	SI	L	2,10±0,06a	2,18±0,09a	1,92±0,12a	1,95±0,07a	1,95±0,08a	2,18±0,08a	2,15±0,06a	2,20±0,08a	2,08±0,09a
		E	2,13±0,09a	2,28±0,08a	1,89±0,10a	2,00±0,09a	1,80±0,10a	2,36±0,09a	2,00±0,08a	2,08±0,08a	1,99±0,09a
	T	L	1,60±0,14a	1,98±0,08a	1,58±0,09a	1,60±0,10a	1,92±0,07a	1,66±0,10a	1,74±0,07a	1,83±0,11a	1,84±0,11a
		E	1,52±0,09a	1,88±0,08a	1,66±0,10a	1,66±0,11a	1,78±0,09a	1,62±0,09a	1,62±0,07a	1,61±0,08a	1,70±0,08a
Campo 2 (2004)	M	L	3,13±0,07a	3,12±0,07a	2,02±0,06a	1,96±0,06a	2,52±0,06a	5,09±0,14a	5,05±0,10a	5,99±0,30a	3,29±0,09a
		E	3,13±0,06a	3,10±0,06a	2,01±0,06a	1,97±0,05a	2,37±0,07a	3,68±0,12b	3,32±0,07b	4,55±0,14b	3,28±0,10a
	S	L	3,06±0,06a	3,02±0,07a	2,40±0,07a	2,30±0,07a	2,20±0,07a	1,98±0,07a	4,23±0,09a	6,26±0,17a	3,34±0,07a
		E	3,04±0,07a	3,14±0,06a	2,60±0,06b	2,30±0,06a	2,18±0,06a	2,02±0,06a	3,26±0,10b	4,50±0,11b	3,41±0,07a
	SI	L	3,10±0,07a	3,24±0,07a	3,23±0,05a	3,27±0,06a	3,16±0,08a	3,20±0,06a	3,05±0,07a	3,14±0,06a	2,98±0,12a
		E	3,04±0,08a	3,19±0,05a	3,21±0,05a	3,15±0,08a	3,37±0,06a	3,12±0,06a	3,20±0,07a	3,10±0,07a	2,92±0,07a

<sup>a</sup>M: melón; S: sandía; SI: sandía injertada; T: tomate; L: línea de cultivo; E: entrelínea

<sup>b</sup>Media de un total de 24 muestras de suelo

<sup>c</sup>Números seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes según el test de Tukey HSD ( $P=0,05$ ). El análisis estadístico se refiere a cada fecha de muestreo, cada campo y cada cultivo.

En cuanto a los resultados observados en la sandía del Campo 1, en el primer muestreo (25-4-03) el nivel inicial de ascosporas se estableció en 2,19 ags en las zonas de línea y 2,31 ags en las zonas de entrelínea, unos valores similares a los de los campos de melón. Asimismo, a lo largo de los siguientes muestreos, el número de ascosporas de *M. cannonballus* observado en suelo fue disminuyendo, hasta alcanzar un mínimo en el quinto muestreo (57 días tras la plantación), con 1,17 ags en las zonas de línea y 1,20 ags en las entrelíneas. A partir de este muestreo, fue ascendiendo el nivel de ascosporas en suelo; en las zonas de línea de cultivo, el máximo se obtuvo en el octavo muestreo (98 días tras la plantación), con 4,67 ags. En los muestreos en los que se produjo el aumento en el nivel de ascosporas de *M. cannonballus*, se hallaron diferencias significativas entre las zonas de línea y las de entrelínea de cultivo, con un número de ags superior en las zonas de línea, tal y como se ha descrito para el caso del melón.

Asimismo, durante el primer muestreo efectuado en las subparcelas de sandía injertada sobre *Cucurbita* se obtuvieron unos niveles de ascosporas de *M. cannonballus* en suelo similares a los encontrados en melón y sandía, siendo éstos de 2,10 y 2,13 ags, para las zonas de línea y de entrelínea de cultivo, respectivamente. No obstante, a diferencia de lo ocurrido en los cultivos de melón y de sandía, los valores de ags en todos los muestreos efectuados para sandía injertada no sufrieron variaciones notables. El máximo nivel de ascosporas de *M. cannonballus* obtenido en la sandía injertada fue de 2,36 ags, en las zonas de entrelínea durante el sexto muestreo (71 días tras la plantación), mientras que el mínimo se produjo también en las zonas de entrelínea pero en el tercer muestreo (29 días tras la plantación), con 1,89 ags. No se encontraron diferencias significativas entre el número de ags en las zonas de línea y en las de entrelínea en ninguno de los muestreos efectuados.

Respecto al cuarto cultivo considerado en el Campo 1, el tomate, los resultados obtenidos fueron similares a los del caso de la sandía injertada sobre *Cucurbita*; los valores de ascosporas hallados durante el primer muestreo (25-4-03) fueron ligeramente inferiores a los encontrados en

melón, sandía y sandía injertada, con 1,60 y 1,52 ags para las zonas de línea y entrelínea de cultivo, respectivamente. En los muestreos siguientes, no se observaron grandes oscilaciones en el nivel de ags, obteniéndose en el octavo muestreo (98 días tras la plantación) unos valores de 1,83 y 1,61 ags en las líneas y entrelíneas, respectivamente. El mayor valor de ags se encontró en el segundo muestreo (19 días tras la plantación) en la zona de las líneas de cultivo, con 1,98 ags.

En general, los valores iniciales de ags en el Campo 2 fueron superiores a los del Campo 1 (3,04-3,13 ags frente a 3,10-2,31 en los cultivos de cucurbitáceas del Campo 1). En este Campo 2, en el cultivo de melón el nivel de ascosporas de *M. cannonballus* inicial fue de 3,13 ags tanto para las zonas de línea como para las de entrelínea. El número de ascosporas en suelo fue disminuyendo paulatinamente desde el momento de la plantación (25-5-04), hasta alcanzar su nivel más bajo en el cuarto muestreo (37 días tras la plantación), con 1,96 y 1,97 ags para las zonas de líneas y entrelíneas, respectivamente. A partir de este muestreo, el valor de las ags fue aumentando, situándose por encima de las 5 ags en las zonas de línea de cultivo en los muestreos 6º, 7º y 8º (56, 65 y 76 días tras la plantación), mientras que en las entrelíneas llegó a alcanzar las 4,55 ags en el octavo muestreo (76 días tras la plantación). En estos muestreos en los que se observó la subida en el número de ascosporas de *M. cannonballus*, se observaron diferencias significativas entre los niveles de ascosporas en las zonas de líneas y en las zonas de entrelíneas, siendo superiores en las primeras.

En cuanto a los valores de ascosporas de *M. cannonballus* hallados en la sandía en el Campo 2, en el primer muestreo (25-5-04) se obtuvieron 3,06 y 3,04 ags para las zonas de línea y de entrelínea, respectivamente. Al igual que en el caso del melón, el número de ascosporas comenzó a bajar a partir de ese muestreo, encontrándose su valor más bajo en el sexto muestreo (56 días tras la plantación), con 1,98 ags para las líneas y 2,02 ags para las entrelíneas. En el séptimo y octavo muestreos (65 y 76 días tras la plantación) el valor de ascosporas de *M. cannonballus* en suelo aumentó notablemente, hasta alcanzar 6,26 ags (el máximo valor obtenido

en todos los muestreos de los dos años de estudio) para las zonas de línea y 4,50 ags para las entrelíneas, en el octavo muestreo.

Respecto a los valores de ascosporas obtenidos para la sandía injertada en el Campo 2, el nivel inicial fue de 3,10 ags en las líneas y 3,04 ags en las entrelíneas, resultados similares a los encontrados en los cultivos de melón y sandía. Como también sucedió en el caso de la sandía injertada en el Campo 1, los niveles de ascosporas de *M. cannonballus* en suelo no sufrieron excesivas variaciones, oscilando entre un máximo de 3,37 ags en el quinto muestreo (48 días tras la plantación) para las zonas de entrelínea y 3,04 del primer muestreo también en la zona de entrelínea. De la misma manera, no se hallaron diferencias significativas para el valor de las ags entre las zonas de línea y entrelínea en ninguno de los muestreos realizados.

Un comentario aparte merece el noveno muestreo efectuado unos meses después de la finalización del cultivo, tanto en el Campo 1 (142 días tras la plantación), como en el Campo 2 (133 días tras la plantación). Los valores de este muestreo se muestran también en la **Tabla V.4**.

En el Campo 1, se obtuvieron 3,31 ags para las zonas de línea y 3,45 ags en las entrelíneas en el cultivo de melón. En el caso de la sandía se detectó un nivel de 3,81 ags en las zonas de línea y de 3,51 ags en las zonas de entrelínea. Para la sandía injertada los valores obtenidos fueron más bajos, de 2,08 y 1,99 ags para las líneas y entrelíneas, respectivamente. Finalmente, en el caso del tomate se obtuvieron 1,84 y 1,70 ags para las líneas y las entrelíneas, respectivamente.

Por su parte, en el Campo 2 se obtuvieron unos niveles de ascosporas en el cultivo de melón de 3,29 y 3,28 ags para las líneas y entrelíneas, respectivamente. En el caso de sandía se alcanzaron niveles de 3,34 y 3,41 ags, en las líneas y entrelíneas, superiores a los valores hallados al inicio del muestreo. Por último, en la sandía injertada sobre *Cucurbita* se encontraron unos niveles de 2,98 y 2,92 ags para las líneas y entrelíneas, respectivamente.

Por último, en la **Tabla V.5** se muestran los porcentajes de incrementos medios entre las concentraciones iniciales de ascosporas de *M. cannonballus* de los diferentes cultivos y campos, y los obtenidos dos meses después de la recolección.

**Tabla V.5:** Porcentaje medio de incremento en la concentración de ascosporas en suelo entre la población inicial y la obtenida dos meses después del final del cultivo.

Año	Cultivo <sup>a</sup>	Muestreo 1 <sup>º</sup>	Muestreo 9 <sup>º</sup>	Porcentaje incremento
<b>2003</b> <b>(Campo 1)</b>	M	2,18 <sup>bac</sup>	3,38b	55,05
	S	2,25a	3,66b	62,66
	SI	2,12a	2,04a	-3,77
	T	1,56a	1,77a	13,46
<b>2004</b> <b>(Campo 2)</b>	M	3,13a	3,29a	5,11
	S	3,05a	3,38b	10,82
	SI	3,07a	2,95a	-3,91

<sup>a</sup>M: melón; S: sandía; SI: sandía injertada sobre *Cucurbita*; T: tomate

<sup>b</sup>Media de un total de 48 valores por cada cultivo y muestreo. El valor representa la media de ags de líneas y entrelíneas.

<sup>c</sup>Números de la misma fila seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes según el test de Tukey HSD ( $P=0,05$ ). La comparación estadística se refiere a cada cultivo en cada año de estudio.

Se observa como en el Campo 1 existen diferencias significativas en el nivel de ags entre el primer muestreo y el noveno muestreo (dos meses después del final del cultivo) en melón y sandía. En estos cultivos se produjo un incremento en la población de ascosporas en suelo del 55,05% en el caso del M y del 62,66% en el cultivo de S.

Por otro lado, en el Campo 2, sólo existieron diferencias significativas entre el primer y el noveno muestreo (tres meses después del cultivo) en sandía, con un incremento en el nivel de ags 10,82%. No se observaron



diferencias significativas entre dichos muestreos en el melón, aunque se obtuvo un incremento final del 5,11%.

En ambos campos, no se observaron diferencias significativas en el cultivo de sandía injertada entre el primer y el noveno muestreo, aunque si se observó una ligera disminución en el nivel de ags dos o tres meses después del final del cultivo, con un -3,77% y un -3,91% en el Campo 1 y el Campo 2, respectivamente. Tampoco se observaron diferencias significativas en el nivel de ags entre el muestreo 1º y el 9º en el cultivo de tomate del Campo 1, a pesar de que se observó un incremento del 13,46% en el nivel de ags.

#### V.3.3. Evaluación de la presencia de peritecios

En la **Tabla V.6** se indica la presencia (+) o ausencia (-) de peritecios de *M. cannonballus* en las raíces de melón, sandía y patrón de *Cucurbita* (sandía injertada), en los Campos 1 y 2, en todos los muestreos efectuados, así como para el tomate en el Campo 1.

En el Campo 1, los peritecios empezaron a observarse a partir del sexto muestreo (71 días tras la plantación), tanto en melón como en sandía. En el Campo 2, hubo presencia de peritecios de *M. cannonballus* en raíces de melón ya desde el quinto muestreo (48 días tras la plantación), mientras que en raíces de sandía no se observaron hasta el séptimo muestreo (65 días tras la plantación). No se observaron peritecios de *M. cannonballus* sobre las raíces del patrón de *Cucurbita* en ninguno de los campos, en ninguno de los muestreos, ni tampoco sobre tomate en el Campo 1.

#### V.3.4. Aislamiento de hongos

En el Campo 2, como ya se ha dicho anteriormente, las plantas de melón y sandía murieron prematuramente a causa del "colapso", con lo cual durante el octavo muestreo de suelo no fueron tomadas muestras de material vegetal para proceder a su aislamiento. Se procedió de esta forma

debido a que las plantas muertas entran en seguida en estado de descomposición, y la presencia de hongos saprofitos en las raíces impide la realización normal de estos aislamientos.

**Tabla V.6:** Presencia (+) o ausencia (-) de peritecios de *M. cannonballus* en raíces de melón, sandía y patrón Shintoza de *Cucurbita* (sandía injertada), en los muestreos efectuados en los Campos 1 y 2.

Muestreo	Días de Cultivo	Sandía			
		Melón	Sandía No Injertada	Sandía Injertada (Shintoza)	Tomate
<b>Campo 1</b>					
1	0	-	-	-	-
2	19	-	-	-	-
3	29	-	-	-	-
4	39	-	-	-	-
5	57	-	-	-	-
6	71	+	+	-	-
7	85	+	+	-	-
8	98	+	+	-	-
<b>Campo 2</b>					
1	0	-	-	-	-
2	16	-	-	-	-
3	27	-	-	-	-
4	37	-	-	-	-
5	48	+	-	-	-
6	56	+	-	-	-
7	65	+	+	-	-
8	76	+	+	-	-

En las **Tablas V.7 y V.8**, y en las **Figuras V.5 y V.6** se muestran los resultados de los aislamientos realizados para todas las muestras de material vegetal tomadas para los cultivos de M, S y SI, expresados como los valores medios de las cuatro subparcelas consideradas. Estos resultados vienen dados como porcentaje de aislamiento de *M. cannonballus*, así como de los otros hongos de suelo que se encuentran asociados al síndrome del

“colapso” en España (*A. cucurbitacearum*, *R. vagum* y *P. tabacinum*). El resto de hongos encontrados en los aislamientos se engloba en el apartado “Otros hongos”, entre los que se incluyen hongos pertenecientes a los géneros *Fusarium*, *Pythium*, *Alternaria*, *Ulodadium*, *Stemphyllium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Phoma*, *Phomopsis*, *Thielaviopsis* y *Chaetomium*.

El cultivo de tomate del Campo 1 no fue incluido en la **Tabla V.7** debido a que en ninguno de los aislamientos efectuados se obtuvo *M. cannonballus*, ni ninguno de los otros hongos considerados como agentes causales de “colapso” en cucurbitáceas.

En el cultivo de melón del año 2003 (Campo 1) (**Tabla V.7** y **Figura V.5**), se observa cómo el primer aislamiento positivo de *M. cannonballus* se produce en el cuarto muestreo (39 días tras la plantación), con un 11,31% del total de puntos de aislamiento. A partir de entonces, el porcentaje de aislamiento de este hongo sube, hasta alcanzar un 45,24% del total de puntos en el sexto muestreo (71 días tras la plantación). En los dos últimos muestreos, el porcentaje de aislamiento de *M. cannonballus* comienza a descender, coincidiendo con un incremento del porcentaje de aislamiento de “otros hongos”. En el último muestreo de material vegetal (98 días tras la plantación), un 79,17% del total de puntos de aislamiento son especies diferentes a las consideradas como agentes causales del síndrome de “colapso”.

Los porcentajes de aislamiento de *A. cucurbitacearum*, *R. vagum* y *P. tabacinum*, fueron en todo momento inferiores a los de *M. cannonballus*, salvo en el primer muestreo de material vegetal (19 días tras la plantación), en el que únicamente se aísla *A. cucurbitacearum*, pero en muy pequeña proporción.

**Tabla V.7:** Media del porcentaje de aislamiento de hongos en raíces en los cultivos de melón, sandía y sandía injertada, durante el año 2003 (Campo 1).

Muestreo <sup>a</sup>	2	3	4	5	6	7	8
<b>MELÓN</b>							
<i>M. cannonballus</i>	0	0	11,31 <sup>b</sup>	23,81	45,24	11,31	5,36
<i>A.cucurbitacearum</i>	0,60	0	3,57	1,79	0	0	0
<i>R. vagum</i>	0	0	1,19	0,60	0	0	0
<i>P. tabacinum</i>	0	0	0	0	0,60	0	0
Otros hongos	17,26	12,50	32,74	31,55	36,91	61,90	79,17
No crecimiento	82,14	87,50	51,19	42,25	17,26	26,79	15,47
<b>SANDÍA</b>							
<i>M. cannonballus</i>	0	0	3,57	26,19	29,77	14,28	13,10
<i>A.cucurbitacearum</i>	1,19	0	6,55	1,79	0	0,60	0
<i>R. vagum</i>	0,60	0	0	0	0	1,19	0
<i>P. tabacinum</i>	0	0	1,19	0	1,19	0	0
Otros hongos	20,24	1,79	19,05	27,38	38,69	52,98	72,02
No crecimiento	77,97	98,21	69,64	44,64	30,35	30,95	14,88
<b>SANDÍA INJERTADA</b>							
<i>M. cannonballus</i>	0	0	2,38	2,98	2,98	9,53	2,38
<i>A.cucurbitacearum</i>	0,60	0	1,79	1,19	0,60	0	0
<i>R. vagum</i>	0,60	0	1,19	0,60	0,60	4,76	1,79
<i>P. tabacinum</i>	0	0	2,38	1,19	1,79	0	0
Otros hongos	30,95	12,50	27,98	33,33	54,17	63,10	70,24
No crecimiento	67,85	87,50	64,28	60,71	39,86	22,61	25,59

<sup>a</sup>Número correspondiente a los muestreos de suelo (Ver Tabla 2-V)

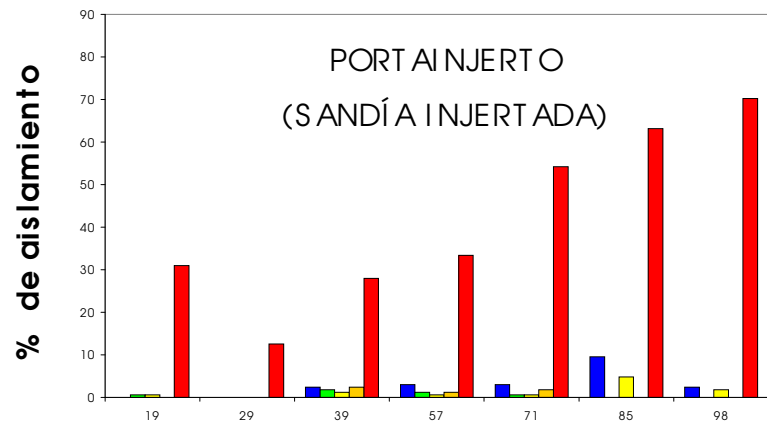
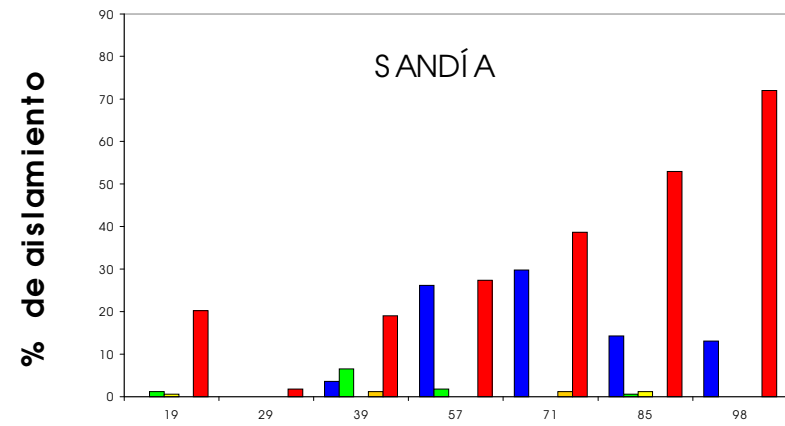
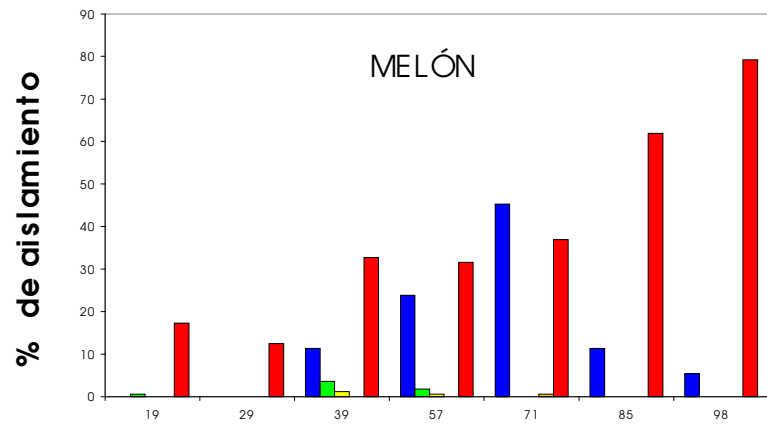
<sup>b</sup>Media del porcentaje de puntos de aislamiento positivos para cada uno de los hongos en las cuatro parcelas elementales (dos plantas por parcela elemental y fecha de toma de muestras, tomando 21 puntos de aislamiento por planta)

**Tabla V.8:** Media del porcentaje de aislamiento de hongos en raíces en los cultivos de melón, sandía y sandía injertada, durante el año 2004 (Campo 2).

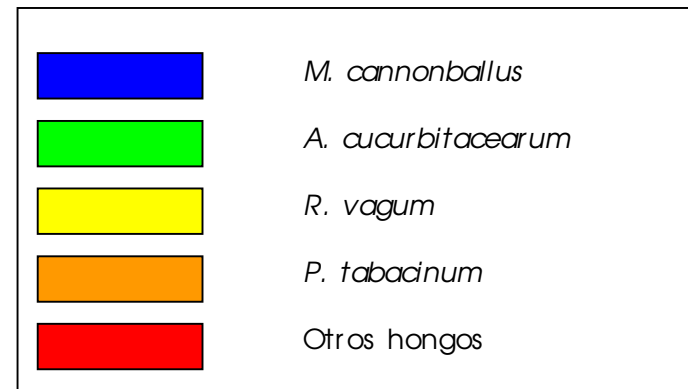
Muestreo <sup>a</sup>	2	3	4	5	6	7
<b>MELÓN</b>						
<i>M. cannonballus</i>	0	11,90 <sup>b</sup>	62,50	51,79	67,26	60,12
<i>A.cucurbitacearum</i>	0	0,60	0	0	0	0
<i>R. vagum</i>	0	0	0	0	0	0
<i>P. tabacinum</i>	1,19	1,19	1,19	0	0	0
Otros hongos	48,21	38,69	13,10	26,79	20,83	31,55
No crecimiento	50,60	47,62	23,21	21,42	11,91	8,33
<b>SANDÍA</b>						
<i>M. cannonballus</i>	0	9,52	23,21	57,14	80,95	72,02
<i>A.cucurbitacearum</i>	0	0	0	0	0	0
<i>R. vagum</i>	0	0	0	0,60	0	0
<i>P. tabacinum</i>	1,79	0,60	1,19	0	0	0
Otros hongos	35,12	33,93	31,55	23,21	8,93	22,02
No crecimiento	63,09	55,95	44,05	19,05	10,12	5,96
<b>SANDÍA INJERTADA</b>						
<i>M. cannonballus</i>	0	0,60	0	3,57	21,43	1,19
<i>A.cucurbitacearum</i>	0	1,79	0	0	0	0
<i>R. vagum</i>	0	0	0,60	0	0	0,60
<i>P. tabacinum</i>	2,38	0	0,60	1,79	0	0,60
Otros hongos	38,69	52,98	41,67	37,50	22,02	50,00
No crecimiento	58,93	44,63	57,13	57,14	56,55	47,61

<sup>a</sup>Número correspondiente a los muestreos de suelo (Ver Tabla 2-V)

<sup>b</sup>Media del porcentaje de puntos de aislamiento positivos para cada uno de los hongos en las cuatro parcelas elementales (dos plantas por parcela elemental y fecha de toma de muestras, tomando 21 puntos de aislamiento por planta)

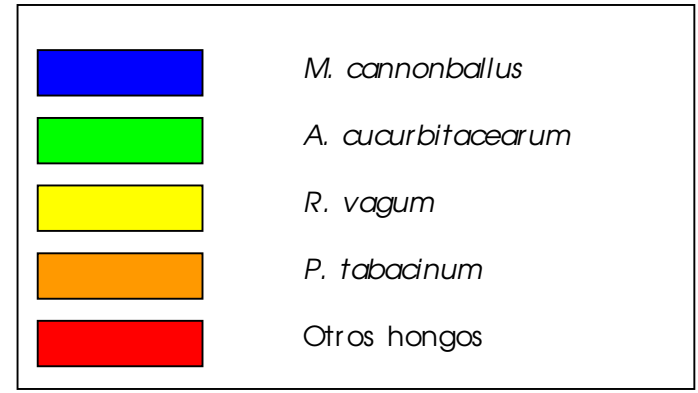
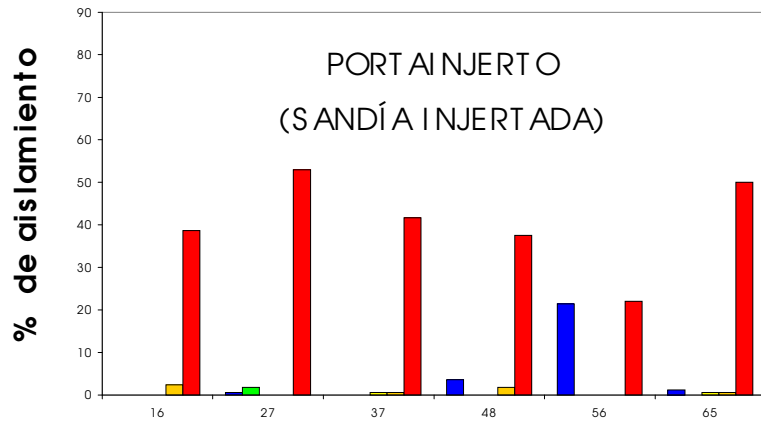
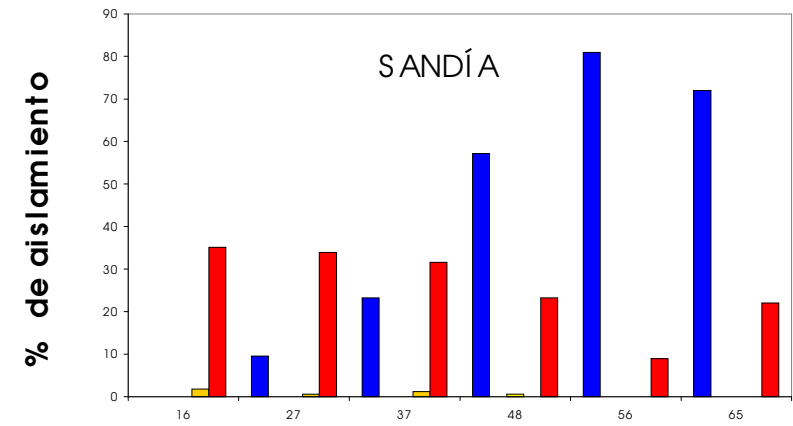
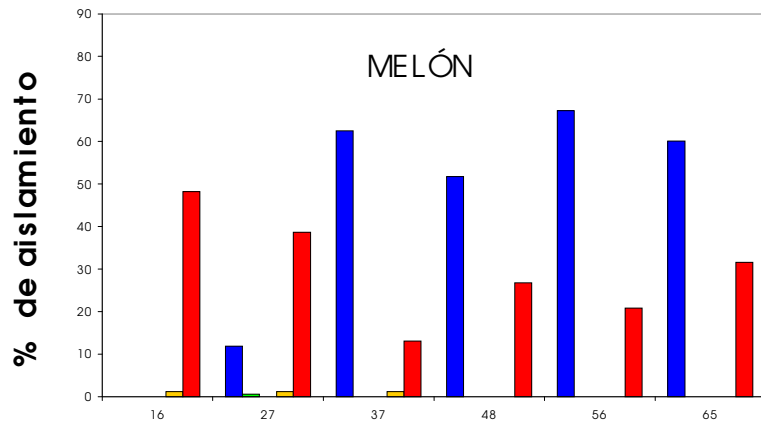


Días tras la plantación



Días tras la plantación

**Figura V.5:** Media del porcentaje de aislamiento de hongos en los cultivos de melón, sandía y sandía injertada, en el Campo 1 (año 2003).



**Figura V.6:** Media del porcentaje de aislamiento de hongos en los cultivos de melón, sandía y sandía injertada, en el Campo 2 (año 2004).

En el caso de la sandía del Campo 1 (**Tabla V.7** y **Figura V.5**), *M. cannonballus* también se aisló por primera vez en el cuarto muestreo (39 días tras la plantación), como en el caso del melón, si bien en menor proporción (sólo un 3,57% del total de puntos). Asimismo, el porcentaje de aislamiento de *M. cannonballus* fue aumentando hasta alcanzar un máximo en el sexto muestreo (71 días tras la plantación), al igual que en el caso del melón, pero con un % menor, con un 29,77% del total de puntos de aislamiento. El % de *A. cucurbitacearum* aislado en raíces de sandía no injertada fue superior al encontrado en melón, alcanzándose un máximo en el cuarto muestreo (39 días tras la plantación), con un 6,55% del total de puntos. Los otros hongos implicados en el "colapso", *R. vagum* y *P. tabacinum*, se aislaron en baja proporción, como en el caso del melón. El % de "otros hongos" aislados, en la sandía ascendió a medida que se realizaron los muestreos; el máximo se alcanzó en el último muestreo de material vegetal, correspondiente al octavo muestreo de suelo (98 días tras la plantación), con un 72,02% del total de puntos de aislamiento, coincidiendo con la disminución en el % de *M. cannonballus* aislado.

En el caso de la sandía injertada en el Campo 1 (**Tabla V.7** y **Figura V.5**), los porcentajes de aislamiento de *M. cannonballus* en todos los muestreos fueron muy inferiores a los hallados en los cultivos de melón y sandía no injertada. El máximo se alcanzó en el séptimo muestreo (85 días tras la plantación), con un 9,53% de *M. cannonballus* aislado. En cambio, en este cultivo se alcanzó el máximo % de aislamiento de *R. vagum* de todos los cultivos considerados, con un 4,76% del total, también a los 85 días tras la plantación. El porcentaje de "otros hongos", en cambio, fue muy similar al de los otros cultivos, llegando al máximo también en el último muestreo de material vegetal, correspondiente al último muestreo de suelo (98 días tras la plantación), con un 70,24% del total.

Por último, en el cultivo de tomate no se aisló *M. cannonballus* en ninguno de los muestreos efectuados, aislándose únicamente colonias de hongos de tipo saprofito.



Respecto a los resultados de aislamientos obtenidos en el cultivo de melón del año 2004 (Campo 2) (**Tabla V.8** y **Figura V.6**), *M. cannonballus* se aisló por primera vez en el tercer muestreo (27 días tras la plantación), con un 11,90% del total. El aislamiento de este hongo fue aumentando en los siguientes muestreos, alcanzando el máximo en el sexto muestreo (56 días tras la plantación), con un 67,26% del total de puntos. *A. cucurbitacearum* y *P. tabacinum* únicamente fueron aislados en los primeros muestreos y de manera testimonial. Al contrario que lo sucedido en los cultivos estudiados en el Campo 1, el porcentaje de otros hongos aislados tuvo su máximo en el segundo muestreo (16 días tras la plantación), con un 48,21% del total, situándose siempre por debajo del porcentaje de aislamiento de *M. cannonballus* a partir del cuarto muestreo (37 días tras la plantación).

En cuanto a la sandía del Campo 2 (**Tabla V.8** y **Figura V.6**), al igual que aconteció con el melón, el primer aislamiento positivo de *M. cannonballus* se produjo en el tercer muestreo (27 días tras la plantación), con un 9,52% del total. A partir de entonces, el porcentaje de aislamiento de este hongo fue subiendo de modo paulatino, hasta alcanzar el máximo durante el sexto muestreo, también como sucedió en el caso del melón; en los dos últimos muestreos, el % de aislamiento de *M. cannonballus* fue superior en la sandía respecto al melón, aislándose en un 80,95% y en un 72,02% (a los 56 y a los 65 días tras la plantación, respectivamente). No se aisló *A. cucurbitacearum* en ninguno de los muestreos, mientras que los % de aislamiento observados de *R. vagum* y *P. tabacinum* fueron muy bajos. Por último, el aislamiento del resto de especies fúngicas fue similar al caso del melón, pues el máximo se obtuvo en el segundo muestreo (16 días tras la plantación), con un 35,12% del total de puntos de aislamiento; posteriormente, este valor fue disminuyendo, y en el cuarto muestreo (56 días tras la plantación) sólo se consiguió un 8,93% de aislamiento de otros hongos.

En el caso de la sandía injertada en el Campo 2 (**Tabla V.8** y **Figura V.6**), los porcentajes de aislamiento de *M. cannonballus* observados en todos los muestreos fueron muy inferiores a los obtenidos en los cultivos de

melón y sandía no injertada. El primer aislamiento positivo de este hongo se produjo, como en los dos casos anteriores, a los 27 días tras la plantación. El máximo % de aislamiento de *M. cannonballus* tuvo lugar en el sexto muestreo (56 días tras la plantación), con un 21,43% del total de puntos. Como en el caso de los cultivos de melón y sandía no injertada, los porcentajes de aislamiento observados de otros hongos asociados al "colapso" fueron bajos. El porcentaje de otros hongos aislados, en cambio, fue superior para sandía injertada que para melón y sandía, obteniéndose un 52,98% del total en el tercer muestreo (27 días tras la plantación).

#### V.3.5. Seguimiento de la temperatura del suelo

En el Campo 1 la temperatura media del suelo alcanzó los 25° C, temperatura crítica para la formación de peritecios de *M. cannonballus* en raíces (Waugh *et al.*, 2003) a partir del 8 de junio, y permaneció por encima de este valor durante todo el ciclo de cultivo. Al año siguiente, en el Campo 2, la temperatura del suelo superó los 25° C a partir del 11 de junio, quedando por encima de esta temperatura también hasta la finalización del cultivo.

#### V.3.6. Evaluación de la producción

En la **Tablas V.9** y **V.10** se presentan los resultados de la producción en cada parcela elemental de cada uno de los cultivos de cucurbitáceas. Los parámetros evaluados fueron el peso total, el número de frutos, el peso por fruto, por planta y por m<sup>2</sup>. Para cada parámetro se obtuvo la media de las cuatro parcelas elementales con la intención de establecer una comparación entre los valores obtenidos en el caso de sandía y sandía injertada.

En el año 2003 (Campo 1) (**Tabla V.9**), se apreciaron diferencias significativas entre el cultivo de sandía y el cultivo de sandía injertada sobre *Cucurbita*, para cada uno de los parámetros estimados. La producción media de las cuatro subparcelas de sandía injertada durante ese año fue de 491,15 kg, mientras que la producción media de las cuatro subparcelas de sandía se quedó únicamente en 129,9 kg. En el resto de parámetros,

número de frutos, peso por fruto, producción por planta y producción por unidad de superficie, esta diferencia entre cultivos también se hizo patente, habiendo diferencias significativas a favor de la sandía injertada en todos ellos.

**Tabla V.9:** Resultados de producción de frutos en cada parcela elemental estudiada, y media total de cada parámetro, para el Campo 1 (2003).

<b>Producción</b>	<b>Peso Total</b>	<b>n° Frutos</b>	<b>kg/fruto</b>	<b>kg/planta</b>	<b>kg/m<sup>2</sup></b>
<b>MELÓN</b>					
Subparcela 1	93,76	32	2,93	3,13	2,78
Subparcela 2	100,98	33	3,06	3,36	2,99
Subparcela 3	147,42	42	3,51	4,91	4,37
Subparcela 4	70,47	27	2,61	2,35	2,09
<b>Media</b>	103,16	33,5	3,03	3,44	3,06
<b>SANDÍA</b>					
Subparcela 1	114,84	36	3,19	3,83	3,40
Subparcela 2	85,5	25	3,42	2,85	2,53
Subparcela 3	125,76	32	3,93	4,19	3,73
Subparcela 4	193,5	50	3,87	6,45	5,73
<b>Media</b>	129,9a <sup>a</sup>	35,75a	3,6a	4,33a	3,85a
<b>SANDÍA INJERTADA</b>					
Subparcela 1	489,06	99	4,94	16,3	14,49
Subparcela 2	529,74	109	4,86	17,66	15,70
Subparcela 3	365,82	78	4,69	12,19	10,84
Subparcela 4	580	116	5	19,33	17,19
<b>Media</b>	491,15b	100,5b	4,87b	16,37b	14,55b

<sup>a</sup>Números seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes según el test de Tukey HSD ( $P=0,05$ ). Esta comparación se efectúa únicamente entre sandía y sandía injertada.

En el Campo 2 (año 2004) (**Tabla V.10**), únicamente se obtuvo cosecha de los cultivos de sandía y sandía injertada, pues todas las plantas de melón murieron prematuramente, antes de poder cosechar los primeros frutos. Se observaron diferencias estadísticas en todos los parámetros observados, siempre favorables a la sandía injertada. La producción media

de las cuatro subparcelas de sandía injertada ascendió a 338,86 kg, mientras que únicamente fue posible obtener una producción media de 126,11 kg en las cuatro subparcelas de sandía.

**Tabla V.10:** Resultados de producción de frutos en cada parcela elemental estudiada, y media total de cada parámetro, para el Campo 2 (2004).

<b>Producción</b>	<b>Peso Total</b>	<b>nº Frutos</b>	<b>kg/fruto</b>	<b>kg/planta</b>	<b>kg/m<sup>2</sup></b>
<b>SANDÍA</b>					
Subparcela 1	166,1	27	6,15	8,31	10,55
Subparcela 2	135	26	5,19	9	8,57
Subparcela 3	118,05	22	5,36	7,87	7,49
Subparcela 4	85,3	16	5,33	5,69	5,42
<b>Media</b>	126,11a <sup>x</sup>	22,75a	5,51a	7,72a	8,01a
<b>SANDÍA INJERTADA</b>					
Subparcela 1	375,3	54	6,95	18,77	23,83
Subparcela 2	319,2	47	6,79	21,28	20,27
Subparcela 3	317	46	6,89	21,13	20,13
Subparcela 4	343,95	49	7,02	22,93	21,84
<b>Media</b>	338,86b	49b	6,91b	21,23b	21,52b

<sup>x</sup>Números seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes según el test de Tukey HSD ( $P=0,05$ ). Esta comparación se efectúa únicamente entre sandía y sandía injertada.

#### **V.4. Discusión**

En este trabajo se realiza por primera vez la comparación del comportamiento de varios cultivos de cucurbitáceas frente al ataque de *M. cannonballus*.

Respecto a los daños en la parte aérea, en los cultivos donde se observaron síntomas de marchitez y "colapso" de plantas (melón y sandía), para el parámetro estudiado (incidencia de la enfermedad) se observaron resultados diversos, puesto que los modelos epidemiológicos que mejor se ajustaron fueron el exponencial y el logístico, dependiendo del cultivo y del año en que se realizó el estudio. Varios estudios realizados con el fin de

observar cual es el modelo que mejor se ajusta en cada caso, indican que los hongos de suelo (como *M. cannonballus*) que suelen causar enfermedades monocíclicas suelen tener una progresión de síntomas que se ajusta al modelo monomolecular (Rekah *et al.*, 1999), lo que fue comprobado por Stanghellini *et al.* (2004a) en cultivos de melón en Arizona y California afectados por *M. cannonballus*.

En este trabajo se observó que el cultivo de sandía se “colapsó” antes que el cultivo de melón en 2003, mientras que en 2004 ocurrió lo contrario. Esta diferencia podría deberse a diversos factores, entre ellos las condiciones ambientales que tuvieron los cultivos en cada año de estudio. A principios de junio de 2004, granizó en la localidad de Alborcica, donde se hallaba situado el Campo 2. En aquel momento, una buena parte de las plantas de sandía poseían muchos frutos cuajados, aunque de pequeño tamaño, mientras que las plantas de melón estaban todavía muy retrasadas en crecimiento. Así, el granizo afectó sobre todo a las plantas de sandía, que vieron paralizado su desarrollo, y no volvieron a fructificar hasta algunas semanas después. De esta forma se podría explicar el retraso en la aparición de síntomas que tuvieron las sandías en relación al melón, en el Campo 2, dado que la expresión de los síntomas se halla directamente relacionada con el estrés hídrico, y éste con el estado de desarrollo de la planta.

En relación a la dinámica poblacional de ascosporas llama la atención el descenso en el nivel de ascosporas a lo largo de las primeras semanas de cultivo, observado tanto en melón como en sandía, durante los dos años en los que se llevó a cabo el estudio. Este descenso no fue detectado en los cultivos de sandía injertada y de tomate. Esta disminución en el nivel de ascosporas de este hongo podría deberse a que dichas ascosporas estuvieran germinando en la rizosfera de las plantas susceptibles e infectando sus raíces.

Según el esquema del ciclo vital de *M. cannonballus*, poco después de la implantación del cultivo se produce la germinación de las ascosporas, asociada al desarrollo en el suelo de las raíces del hospedante susceptible

(Martyn y Miller, 1996; Cohen *et al.*, 2000). En cualquier caso, todavía sigue siendo una incógnita cual es el estímulo final que reciben las ascosporas de *M. cannonballus* en el suelo para que éstas germinen. Los estudios de Stanghellini *et al.* (2000), demostraron que la presencia de exudados de raíces de melón cantalupo inducen a la germinación de las ascosporas de *M. cannonballus*. Estos autores también destacaron que los exudados de las raíces por sí solos no eran suficientes para estimular la germinación de las ascosporas, y que otros componentes de la microflora del suelo, como los actinomicetos y las bacterias gram-positivas, estarían involucrados en esta inducción, puesto que no consiguieron la germinación de las ascosporas del hongo en un suelo autodavado en el que se sembró melón.

A partir de la germinación de las ascosporas comienza la infección de *M. cannonballus* y su propagación por todo el sistema radical. Los síntomas en la parte aérea no se muestran hasta un tiempo después, cuando el deterioro de las raíces empieza a ser un problema para la normal absorción de agua por parte de la planta. Por tanto, todo lo observado hasta el momento en los cultivos de melón y sandía sigue la secuencia lógica de la infección por parte de este hongo.

Según Stanghellini *et al.* (1996) las ascosporas de *M. cannonballus* germinan básicamente en la rizosfera de las plantas, para posteriormente infectar las raíces. En este estudio se observó una disminución en el nivel de ags tanto en la zona de las líneas como de las entrelíneas, en ambos campos, lo que podría indicar que las raíces de las plantas se extendían a las zonas de entrelínea de cultivo. Mertely *et al.* (1993b) indicaron, en trabajos realizados sobre la cuantificación de ascosporas de *M. cannonballus* en campos de melón en Texas, que el número de ascosporas en la línea y en la entrelínea no son significativamente diferentes, aunque encontraron que los valores en la línea eran ligeramente superiores a la entrelínea. Estos muestreos se efectuaron en el momento de la plantación del cultivo y en la época de recolección de los frutos. Comparando estos resultados con los del presente estudio, se podría explicar la igualdad que muestran las

poblaciones de ascosporas de la zona de muestreo de la línea y de la entrelínea durante las primeras fases de cultivo en ambos Campos.

El descenso observado en el nivel de ags de *M. cannonballus*, ocurrido en melón y sandía, durante los dos años de estudio, coincidió con la aparición de los primeros síntomas en la parte aérea. En el Campo 1, el mínimo valor de ags se detectó a los 57 días tras la plantación (5º muestreo), poco después del comienzo de la aparición de síntomas de "colapso" en los cultivos de melón y sandía. En el Campo 2, el mínimo valor de ascosporas en suelo se produjo a los 37 días tras la plantación (4º muestreo) en el caso del melón, pero no ocurrió hasta los 56 días tras la plantación (6º muestreo) para la sandía.

Más adelante se observó, también para los cultivos de melón y sandía y en los dos años que duró el estudio, un aumento del nivel de ags de *M. cannonballus*. En algunas ocasiones, este aumento fue notable, alcanzándose por ejemplo un valor de 6,26 ags en las líneas de cultivo de sandía del Campo 2, a los 76 días de la plantación (8º muestreo). En ambos campos, esta subida ocurrió a partir del sexto o séptimo muestreo de suelo (unos dos meses después del inicio del cultivo). Dicho aumento en el nivel de ags observado tanto en melón como en sandía, se dio a la vez que se alcanzó el 100% de plantas con síntomas de "colapso" en la parte aérea, al final del cultivo. En sandía injertada y tomate, en cambio, no se vieron síntomas de "colapso" ni aumento en la población de ascosporas en suelo.

Este aumento de la población de ascosporas podría ser consecuencia de la incorporación de éstas al suelo, a partir de los peritecios que este hongo habría formado antes en las raíces afectadas de los cultivos susceptibles. En este sentido, los primeros peritecios sobre las raíces de melón y sandía no injertada se observaron a los 71 días tras la plantación (6º muestreo) en el Campo 1, poco antes del fin del cultivo. En el Campo 2 aparecieron a los 48 y a los 65 días tras la plantación (5º y 7º muestreo), en melón y sandía no injertada, respectivamente.

Según varios estudios, las ascosporas de *M. cannonballus*, que deben ser consideradas como su inóculo primario, se producen básicamente después del fin del cultivo (Waugh *et al.*, 2003; Stanghellini *et al.*, 2004b). No obstante, en este estudio se observaron peritecios mucho antes de este momento, a partir del sexto muestreo en el Campo 1 (71 días tras la plantación) y entre el quinto y séptimo muestreo en el Campo 2 (48 a 65 días tras la plantación). No es la primera vez que se observan peritecios de *M. cannonballus* antes de la época de "colapso": este resultado corrobora las observaciones de Lobo (1991) y Pivonia *et al.* (2002b), que encontraron peritecios en raíces secundarias y terciarias muertas antes de la época de recolección de los frutos. En este sentido, las temperaturas registradas en suelo se situaron por encima de los 25° C durante un elevado número de días: en el Campo 1, a partir del 8 de julio, la temperatura registrada en suelo ya fue superior a los 25° C, mientras que en el Campo 2, se alcanzó esta temperatura en los periodos 11-14 de junio y 23 de junio al 11 de julio de 2004. Según algunos trabajos, la temperatura óptima del suelo para la formación de peritecios de *M. cannonballus* en raíces se halla comprendida entre los 25 y los 30° C (Waugh *et al.*, 2003).

La dinámica poblacional observada en las ascosporas de *M. cannonballus* es comparable a la que ocurre con la población de otras estructuras de supervivencia, como los esclerocios de *A. flavus*. En un principio, la densidad de inóculo de este hongo observada en múltiples hábitats aumenta con la producción de nuevos propágulos (fragmentos de micelio, conidios y esclerocios). Parte de éstos van muriendo, descendiendo su población, en un proceso gradual que puede tener lugar en más o menos tiempo; los esclerocios de *A. flavus* pueden sobrevivir hasta por un espacio de 36 meses. Una bajada sustancial de esta población sucede en el momento en que estos esclerocios comienzan a germinar (Wicklow *et al.*, 1993). De la misma manera, la bajada observada en el nivel de inóculo de *M. cannonballus* que se observa a las pocas semanas puede ser achacada a la germinación de sus ascosporas en presencia de las raíces de melón, mientras que la subida de nivel sería consecuencia de la liberación de las nuevas ascosporas formadas; este esquema se puede repetir en otros hongos de suelo (Schippers y Gams, 1979).



Otra de las observaciones importantes que se pueden realizar acerca de la dinámica poblacional de las ascosporas en estos cultivos, es la diferencia significativa en el aumento del nivel de ascosporas entre las dos zonas de muestreo de suelo (líneas y entrelíneas de cultivo) ocurrida para los últimos muestreos, y que se apreció tanto en melón como en sandía.

En el Campo 1, esta diferencia podría deberse a la mayor presencia del sistema radical en la zona de la línea, debido a la práctica del riego localizado. De esta forma, en la zona de la línea de cultivo es más elevado el número de raíces afectadas, y por tanto mayor el número de peritecios formados. Así, se entiende que finalmente sea posible una mayor incorporación al suelo de ascosporas en las líneas respecto a las entrelíneas, y en consecuencia el incremento de la población de ascosporas es superior en las zonas de línea de cultivo. En el Campo 2, se utilizó en cambio el riego a manta; no obstante, pese a que el sistema radical de los cultivos de este campo exploró mayor superficie de suelo, se apreció también una mayor densidad de raíces en las zonas de línea de cultivo, donde la humedad es mayor. Según el estudio de Mertely *et al.* (1993b), el número de peritecios y ascosporas de *M. cannonballus* está asociado con la densidad de raíces, siendo éste mayor en áreas de abundancia de raíces. Los aumentos en el nivel de ags observados en este trabajo, indican la presencia del sistema radical de las plantas hospedantes (melón y sandía, en este caso), en el cual se produjo la germinación de las ascosporas, la colonización de las raíces, la formación de peritecios y la posterior incorporación al suelo de las nuevas ascosporas formadas.

Respecto a la variación en el nivel final de ascosporas observada en todos los cultivos estudiados, al comparar el nivel de ascosporas inicial con el nivel de ascosporas medido unos meses después del final del cultivo, destacan varios de los resultados observados. Entre ellos se halla el importante incremento observado en melón y sandía del Campo 1; en ambos casos fue un aumento superior al 50% (un incremento en el valor medio de ags de 55,05% y 62,66% para melón y sandía, respectivamente), encontrándose diferencias significativas en el nivel de ags entre el primer y

el noveno muestreo. También se hallaron diferencias significativas entre el muestreo 1º y el 9º en sandía en el Campo 2, con un 10,82% de incremento en el valor final de ags. Estos resultados coinciden con los observados en el apartado III, en el que se observó un aumento en el nivel de ascosporas dos o tres meses después del cultivo de melón, así como con las observaciones realizadas en algunos de los campos del apartado IV, donde también se observó un aumento significativo en el nivel de ags a los dos o tres meses después de la finalización del cultivo de melón. Por último, en relación a la cuantía de estos aumentos, estudios recientes hablan del elevado potencial reproductivo de *M. cannonballus*. Waugh *et al.* (2003) afirmaron que el sistema radical de una única planta adulta de melón cantalupo infectada por *M. cannonballus*, es capaz de soportar la producción de aproximadamente 400.000 ascosporas. Estos autores indicaron que si esta población de ascosporas se incorporase a 0,03 m<sup>3</sup> de suelo, sería equivalente a un incremento de 10 ags.

Con respecto a los aislamientos efectuados, el primer resultado destacable es que *M. cannonballus* apareció en melón y sandía poco antes de que empezaran a observarse los primeros síntomas de "colapso" en estos cultivos, y coincidiendo con la disminución del nivel de ags observado. En el Campo 1, los primeros aislamientos positivos de este hongo ocurrieron a los 29 días tras la plantación (3º muestreo), tanto para melón como para sandía no injertada, mientras que los síntomas en la parte aérea empezaron a observarse alrededor de los 50 días tras la plantación. De la misma manera, también en el Campo 1, *A. cucurbitacearum* fue aislado en los tres cultivos de cucurbitáceas (melón, sandía y sandía injertada) ya en el 2º muestreo (19 días tras la plantación), en el cual se pudieron observar los primeros síntomas en las raíces (necrosis, etc.). Esto coincide con las observaciones de García-Jiménez *et al.* (1989), según las cuales los primeros síntomas en las raíces comienzan ya a manifestarse desde el estado de plántula.

Por otro lado, en el Campo 2, los primeros aislamientos positivos de *M. cannonballus* en melón tuvieron lugar a los 37 días tras la plantación (4º muestreo), con un 62,50% del total de puntos de aislamiento, coincidiendo

con el mínimo valor de ags. En este mismo campo, en el 6º muestreo (56 días tras la plantación) se produjo el máximo porcentaje de aislamiento de *M. cannonballus*, tanto para melón como para sandía. A partir de este momento, se produjo también el ascenso en el nivel de ags en melón. En sandía, en cambio, esta subida se hizo esperar hasta el muestreo siguiente.

En cambio, los porcentajes de aislamiento de *M. cannonballus* observados para sandía injertada fueron muy bajos, tanto para el Campo 1 como para el Campo 2, comparados con los de los cultivos susceptibles a este hongo, melón y sandía. Este hecho concuerda con la no aparición de síntomas de "colapso" en parte aérea en el cultivo de sandía injertada, que se vio libre de la enfermedad en los dos años que duró este estudio. Asimismo, en el cultivo de tomate del Campo 1 no llegó a aislarse *M. cannonballus* en ninguno de los muestreos, aunque Tsay y Tung (1997) consiguieron aislar en bajo porcentaje este hongo en las raíces de este cultivo. Por este motivo, y por no detectarse síntomas de "colapso" en la parte aérea, ni variación apreciable en el nivel de ags, en el año 2004 se decidió no incluir el tomate en el ensayo.

Para todos los cultivos considerados, y durante los dos años que duró este estudio, se obtuvieron porcentajes de aislamiento bajos de las otras especies consideradas como agentes causales de "colapso", como *A. cucurbitacearum*, *R. vagum* y *P. tabacinum*. Esto podría deberse al enmascaramiento que pueden sufrir estas especies con respecto a otros hongos de crecimiento mucho más rápido, entre los que se cuentan el propio *M. cannonballus* o saprofitos como *Fusarium* spp. (García-Jiménez *et al.*, 1992). Asimismo, según Aegerter *et al.* (2000), las interacciones con las diversas condiciones ambientales tales como el tipo de suelo, el sistema de riego, la temperatura, etc., pueden influir también en la relación existente entre estos patógenos.

También, el progresivo descenso que tiene lugar en el porcentaje de aislamiento de *M. cannonballus* en el Campo 1, y que se observa a partir del quinto muestreo de material vegetal (56 días tras la plantación), podría ser consecuencia del propio avance de la enfermedad, puesto que en este caso

las raíces de las plantas de melón se encuentran cada vez más deterioradas. Este alto grado de descomposición del sistema radical de la planta facilita la colonización de éste por hongos saprófitos, que pueden acabar enmascarando al hongo patógeno causal. Las observaciones realizadas por García-Jiménez *et al.* (1992) y Sales *et al.* (2001) en cultivos de melón y sandía, indicaron que la disminución en el aislamiento de *M. cannonballus* coincide con el aumento de la frecuencia de aislamiento de otros hongos, principalmente saprofitos. Esto coincide con lo observado en este estudio, donde se ve un aumento del porcentaje de aislamiento de otras especies fúngicas en los últimos muestreos.

En cuanto a la producción en los cultivos de cucurbitáceas estudiados, en principio hay que considerar que éste no puede ser un buen factor a la hora de evaluar la incidencia de la enfermedad causada por *M. cannonballus*, al tratarse de cultivos diferentes. No obstante, los resultados muestran que puede existir un factor limitante en el cultivo de melón y de sandía no injertada, por el cual en todos los parámetros se observa una clara diferencia a favor de la sandía injertada. La variedad de sandía empleada en este estudio (Dulce Maravilla) se considera de fruto mediano, estimándose el peso de éste entre 4 y 6 kg. Se trata de la variedad más usada para injertar, puesto que el injerto no le proporciona excesivo vigor (Pardo, 2002). Según algunos trabajos, Dulce Maravilla injertada sobre el patrón Shintoza posee un rendimiento de 9,46 kg/m<sup>2</sup> y un peso medio de 5,23 kg/fruto (Baixauli, 2002).

Por último, destacan los resultados obtenidos en todos los apartados de este trabajo para la sandía sobre portainjerto de *Cucurbita*; tanto en el Campo 1 como en el Campo 2, no se observaron síntomas de "colapso" en la parte aérea, ni reproducción de este hongo sobre sus raíces (ausencia de peritecios). Como ya se ha dicho, tampoco se observó variación significativa en el número de ascosporas en suelo, y el porcentaje de *M. cannonballus* aislado fue muy bajo.

Como ya apuntaron Mertely *et al.* (1993a), las especies pertenecientes a la familia de las cucurbitáceas se pueden distribuir según

su susceptibilidad al síndrome del "colapso" causado por *M. cannonballus*, siendo las especies del género *Cucurbita* las más tolerantes a esta afección. En cambio, los resultados obtenidos para melón y sandía denotan una mayor susceptibilidad de estos cultivos a la enfermedad, como también se ha indicado en varios trabajos (García-Jiménez *et al.*, 1994b; Martyn y Miller, 1996).

Cohen *et al* (2000) señalaron el injerto de sandía sobre híbridos de *Cucurbita* como una técnica útil para el control de muchas enfermedades del suelo, incluyendo a *M. cannonballus*. Edelstein *et al* (1999) demostraron que el injerto del melón sobre híbridos de *Cucurbita* resultó un método válido para el control del "colapso" causado por *M. cannonballus*, con una reducción en la incidencia de la marchitez entre el 84 y el 87% respecto a las plantas sin injertar. Otros trabajos, en cambio, no dieron resultados concluyentes (Pivonia *et al.*, 1997; Polizzi *et al.*, 2002) y propugnan la combinación del injerto con otros métodos de lucha.

Trabajos recientes confirman el buen resultado obtenido por los portainjertos de *Cucurbita* como medio de lucha eficaz frente al síndrome del "colapso" producido por *M. cannonballus*. Cohen *et al.* (2005) afirman que el cultivo de melón tipo Galia sobre portainjertos de *Cucurbita* presenta buenos resultados en suelos infestados de *M. cannonballus*. Del mismo modo, sostienen que son las condiciones ambientales las que marcan la variabilidad en el rendimiento encontrada en los estudios anteriores, por lo que el injerto de plantas debe ser adaptado a cada zona de cultivo y según el periodo del año en que tenga lugar dicho cultivo.

El injerto se emplea habitualmente incluso en suelos previsiblemente no infestados por patógenos, puesto que el vigor que induce el portainjerto sobre la variedad permite cultivar un menor número de plantas por unidad de superficie (Miguel, 2002; Rivero, 2003) y además, resultan más productivas las plantas injertadas en comparación a las no injertadas. En realidad, esto se debe al aumento en la capacidad de absorción de agua y nutrientes de una forma más eficiente que en las plantas no injertadas,

dificultando la muerte de la planta por estrés hídrico causado por la infección de *M. cannonballus*. Por estas razones resulta obvio que el cultivo de sandía injertada muestre una mayor producción que el de sandía no injertada.

De todas formas, los resultados de producción obtenidos señalan que el injerto ha sido un método eficaz de lucha contra el síndrome de "colapso" causado por *M. cannonballus*, ya que en el cultivo de sandía injertada se obtuvo una producción satisfactoria (14,55 y 21,52 kg/m<sup>2</sup> en 2003 y 2004, respectivamente), incluso se realizaron varias pasadas de recolección, mientras que en los cultivos de melón y sandía, la producción fue deficiente (3,85 y 8,01 kg/m<sup>2</sup> en el cultivo de sandía en 2003 y 2004, respectivamente), y sólo se pudo realizar una pasada de recolección, puesto que todas las plantas acabaron muriendo prematuramente en los dos años de estudio a causa del "colapso".

En resumen, todos los resultados obtenidos en este estudio demuestran la influencia positiva de las raíces de calabaza en la dinámica de la población de ascosporas de *M. cannonballus* en suelo, confirmando que el injerto de sandía sobre híbridos de *Cucurbita* es útil para el control de la enfermedad causada por este hongo. Los síntomas observados en sandía no injertada no se corresponden con los de una enfermedad vascular (necrosis de vasos y marchitez y seca unilateral de ramas), sino que son los típicos de una afección de raíces (destrucción del sistema radical, menor desarrollo y marchitez generalizada y muerte de la planta). En este sentido los resultados obtenidos se contraponen a la hipótesis habitualmente admitida de que las plantas injertadas en nuestras zonas de cultivo se utilizan para luchar contra la fusariosis vascular causada por *F. oxysporum* f. sp. *niveum* (Miguel y Cebolla, 2005). La sandía injertada se convierte, además, en una alternativa al cultivo de melón, en serio retroceso en las principales zonas productoras de cucurbitáceas de la Comunidad Valenciana, desde la aparición de los problemas de "colapso".

Según estos resultados, se podría pensar que el injerto del melón sobre portainjertos del género *Cucurbita*, sería también una forma eficaz de

control frente al “colapso” causado por *M. cannonballus*. No obstante, actualmente existe cierta controversia, puesto que algunos autores señalan que, en general, existe una alta compatibilidad y un buen rendimiento de las plantas de melón injertadas sobre *Cucurbita*, aunque no se consigue en los frutos el sabor y la textura típicos de las plantas no injertadas (Traka-Mavrona *et al.*, 2000). En cambio, otros autores afirman que no existe ningún inconveniente en este sentido. De esta manera, se requieren nuevos estudios a este respecto, para poder alcanzar portainjertos que, sin dejar de ser efectivos en el control de la afección, no proporcionen a los frutos diferentes características a las de la planta no injertada.

## **V.5. Conclusiones**

1) La dinámica poblacional de las ascosporas de *M. cannonballus* en suelo fue diferente para los distintos cultivos estudiados. En melón y en sandía, durante los dos años de estudio, se produjo un descenso de la población de ascosporas a partir de los primeros muestreos. Este descenso coincidió con la aparición de los síntomas en la parte aérea y el aumento del aislamiento de *M. cannonballus* en raíces. A los dos meses de la fecha de plantación se observó un incremento de la población de ascosporas, asociado a la producción de peritecios en las raíces afectadas. Tanto en sandía injertada como en tomate, el nivel de ascosporas de *M. cannonballus* en suelo se mantuvo estable durante todo el ciclo de cultivo.

2) El aumento en el nivel de ascosporas de *M. cannonballus* en suelo en las fases finales del cultivo de melón y sandía en ambos años de estudio fue significativamente mayor en las líneas que en las entrelíneas. En el cultivo de sandía injertada y de tomate no se observaron estas diferencias.

3) Se observaron síntomas en la parte aérea únicamente en los cultivos de melón y sandía. La incidencia de síntomas en estos cultivos durante los dos años de estudio se ajustó a los modelos logístico o exponencial. No se observaron síntomas en sandía injertada y tomate.

4) Se observaron peritecios de *M. cannonballus* sobre las raíces de melón y sandía en los últimos muestreos. No se observaron peritecios en sandía injertada ni en tomate.

5) En las raíces de melón y sandía el aislamiento de *M. cannonballus* aumentó progresivamente durante el cultivo, alcanzando un máximo que coincidió con el momento de menor densidad de ascosporas en el suelo y el inicio de la formación de peritecios en las raíces. A partir de aquí el aislamiento del hongo decreció, asociado a una presencia creciente de hongos saprofitos en las fases finales del cultivo. En las raíces del portainjerto el aislamiento de *M. cannonballus* fue muy bajo durante todo el ciclo de cultivo, y nulo en las raíces de tomate.

6) El injerto de sandía sobre híbrido de *Cucurbita* es un método de lucha eficaz contra el "colapso" causado por *M. cannonballus*.



**VI . PAT O G E N I C I D A D A M E L Ó N D E  
H O N G O S D E L S U E L O A S O C I A D O S A L  
“ C O L A P S O ”**

## VI. PATOGENICIDAD A MELÓN DE HONGOS DEL SUELO ASOCIADOS AL “COLAPSO”

### VI.1. Introducción

En los apartados anteriores de esta tesis se ha estudiado la dinámica poblacional de las ascosporas de *M. cannonballus*, directamente relacionada con el ciclo vital de este hongo (germinación de ascosporas, infección de las raíces, formación de peritecios, incorporación al suelo de las nuevas ascosporas). En los momentos en que se han realizado aislamientos de las raíces de las plantas afectadas en campo, se ha comprobado que, junto a *M. cannonballus*, eventualmente se aislaban también *A. cucurbitacearum*, *R. vagum* y *P. tabacinum*, agentes fúngicos implicados en el síndrome del “colapso” en España. Para acabar de comprender el modo de acción de *M. cannonballus*, es necesario estudiar el comportamiento de este patógeno en su interacción con estos hongos, aspecto que será abordado en este apartado.

Hasta la fecha, se han efectuado ensayos de patogenicidad con estas cuatro especies fúngicas en diversos hospedantes. En los primeros años de la aparición de los problemas de “colapso”, Mertely *et al.* (1993a) comprobaron la patogenicidad de *M. cannonballus* a diversas especies de cucurbitáceas. En 1994, se estudió la patogenicidad de *A. cucurbitacearum* a melón (Alfaro *et al.*, 1994), y posteriormente, Armengol *et al.* (1998) y Bruton *et al.* (2000b) realizaron tests de patogenicidad con este hongo en varias especies de cucurbitáceas, otros cultivos y malas hierbas, completando así la información sobre su rango de hospedantes. Más adelante se realizaron ensayos de patogenicidad a melón que sirvieron para comprobar la implicación en el síndrome del “colapso” de *R. vagum* (Armengol *et al.*, 2000b; 2003) y de *P. tabacinum* (Pérez-Piqueres, 2002). Recientemente, Andrade *et al.* (2005) efectuaron ensayos de patogenicidad a melón de *M. cannonballus* evaluando diversos parámetros y estudiando la correlación entre ellos.

Por otro lado, Bruton *et al.* (2000a) evaluaron la patogenicidad a melón de *M. cannonballus* y *A. cucurbitacearum*, comparando ambos hongos, pero siendo inoculados también por separado. Biernacki y Bruton (2001) efectuaron un ensayo similar al anterior, añadiendo a *R. vagum* entre los hongos ensayados. En otros estudios, se comparó la patogenicidad de *A. cucurbitacearum*, *M. cannonballus* y *R. vagum*, junto a otros hongos que también provocan podredumbres en las raíces de cucurbitáceas, tales como *M. phaseolina*, *F. solani* y *Pythium* spp. (Aegerter *et al.*, 2000).

Todos estos estudios tienen en común que fueron realizados inoculando cada una de estas especies individualmente, sea con uno o con varios hongos. Hasta la fecha no se ha realizado ningún estudio que analice la patogenicidad de estas especies en inoculaciones conjuntas, lo que se aproximaría más a la situación que se da en ambientes naturales, donde lo común es que se presenten a la vez varios de estos hongos.

El objetivo de este trabajo es estudiar el comportamiento del melón frente a inoculaciones con los hongos del suelo implicados en el síndrome del “colapso” en sus distintas combinaciones, efectuando dichas inoculaciones en suelo autodavado y no autodavado.

## **VI.2. Materiales y métodos**

### VI.2.1. Aislados fúngicos utilizados

Los ensayos se realizaron utilizando los aislados fúngicos mostrados en la **Tabla VI.1**, en la que se indica su procedencia y el cultivo del cual fueron obtenidos.

La conservación de estos aislados se efectuó en tubos de plástico con turba autodavada almacenada a temperatura ambiente y para la realización de los ensayos se hicieron crecer en placas Petri con medio PDA durante 15 días a una temperatura de 26° C en ciclos alternantes de oscuridad y 12 horas de luz día + ultravioleta cercano (Sylvania F-40 BLB).

**Tabla VI.1:** Aislados utilizados en el estudio de patogenicidad

<b>Especie</b>	<b>Aislado</b>	<b>Localidad</b>	<b>Provincia</b>	<b>Hospedante</b>
<i>M. cannonballus</i>	M1	Xilxes	Castellón	Calabaza
<i>A. acurbitacearum</i>	A419	Llanos del Caudillo	Ciudad Real	Melón
<i>R. vagum</i>	R25	Argamasilla de Alba	Ciudad Real	Melón
<i>P. tabacinum</i>	P467	Ciudad Real	Ciudad Real	Melón

#### VI.2.2. Preparación del inóculo

Para la preparación del inóculo, se mezclaron 1000 ml de arena lavada (0,5 mm de diámetro) y 91,5 g de salvado de avena, poniendo 500 ml de esta mezcla en frascos de cristal de 1 litro. Se añadieron 75 ml de agua destilada a cada recipiente, se agitaron y se esterilizaron al autoclave tres veces a 120° C durante 1 hora, con una separación entre cada autostavado de 24 horas como mínimo.

Cada uno de los frascos de cristal fue inoculado con dos fragmentos de PDA en los que había crecido el hongo a inocular, incubándose a 25° C hasta que la mezcla colonizada tenía unos 5 cm de diámetro. En este momento, se agitó el recipiente con el fin de distribuir uniformemente el hongo por toda la mezcla, y se abrió en cámara de flujo para favorecer la aireación y el crecimiento del hongo. Posteriormente, la incubación de los frascos se prolongó a 25° C durante otros 21 a 28 días (**Figura VI.1**).

El conteo de los propágulos presentes en la mezcla de arena y salvado de avena se realizó mediante el método de las diluciones sucesivas, utilizando una solución al 1% de hidroxietil celulosa (HEC) como diluyente y placas Petri con PDAS. Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de inóculo (Dhingra y Sindair, 1995).

#### VI.2.3. Sustrato

Se escogió como sustrato de crecimiento de las plantas en el ensayo de patogenicidad un suelo natural procedente de Calasparra (Murcia), de

una parcela en la que nunca se había cultivado melón, ni se ha descrito la presencia de hongos causantes de "colapso" en la comarca. Este suelo se empleó esterilizado al autoclave, tres veces a 120° C durante una hora y sin autodavar.



**Figura VI.1:** Frascos de cristal para crecimiento de inóculo

#### VI.2.4. Preparación e inoculación de macetas

Para la inoculación se utilizaron macetas de 16 cm de diámetro y 1,5 litros de capacidad. A cada una de ellas se les añadió el sustrato y el inóculo adecuado para conseguir los siguientes niveles indicados en otros estudios de patogenidad: 20 UFC/g de suelo para *M. cannonballus* (Bruton, 1995), 50.000 UFC/g de suelo para *A. cucurbitacearum* (Armengol *et al.*, 1998), 1.000 UFC/g de suelo para *R. vagum* (Miller *et al.*, 1996; Armengol *et al.*, 2000b) y 150.000 UFC/g de suelo para *P. tabacinum* (Pérez, 2002).

Se realizaron cinco repeticiones para cada una de las tesis consideradas en este trabajo (16 combinaciones de hongos, incluyendo el control no inoculado), y todas éstas para los dos tipos de suelo empleados, resultando un total de 160 macetas. Las combinaciones fueron las siguientes:

- Control sin inocular: C
- Combinaciones primarias: Ac, Mc, Rv, Pt.

- Combinaciones secundarias: Ac+ Mc, Ac+ Rv, Ac+ Pt, Mc+ Rv, Mc+ Pt, Rv+ Pt.
  - Combinaciones terciarias: Ac+ Mc+ Rv, Ac+ Mc+ Pt, Ac+ Rv+ Pt, Mc+ Rv+ Pt.
  - Combinación cuaternaria: Ac+ Mc+ Rv+ Pt.
- (Siendo: C = control sin inocular; Ac = *A. cucurbitacearum*; Mc = *M. cannonballus*; Rv = *R. vagum* y Pt = *P. tabacinum*)

Este estudio se efectuó en dos años consecutivos (2002 y 2003). El tipo de suelo y las combinaciones consideradas fueron las mismas durante los dos años; la única excepción fue la combinación Rv+ Pt, que solamente se realizó en el año 2003, para los dos suelos. La variedad de melón empleada en este ensayo fue Temprano Rochet. Las semillas fueron esterilizadas superficialmente con una solución de hipoclorito sódico (1,5% de cloro activo durante 1 minuto) y, posteriormente, se sembraron cinco de ellas por maceta. Las macetas se llevaron a un invernadero controlado con unas condiciones ambientales de 25-30° C. Tras la germinación, se dejó una planta por maceta (**Figura VI .2**).



**Figura VI .2:** Ensayo de inoculaciones conjuntas (año 2003). Aspecto de las plantas en invernadero a los 20 días de crecimiento.

#### VI.2.5. Parámetros evaluados

A los 45 días se extrajeron las plantas cuidadosamente, lavando las raíces, y evaluando los siguientes parámetros: el peso fresco de la parte aérea, el índice de daños en raíces (IDR) y la frecuencia de aislamiento de hongos en raíces.

Para la medición del peso fresco de la parte aérea y con el fin de estandarizar el método, se realizó un corte en la planta al nivel de los cotiledones. En la evaluación de daños en raíces se utilizó la escala de valores siguiente (Bruton, comunicación personal) comprendidos entre 0 y 4 (**Figura VI.3**):

0: El hipocotilo, la raíz primaria y las raíces secundarias no muestran ningún tipo de síntomas de la afección

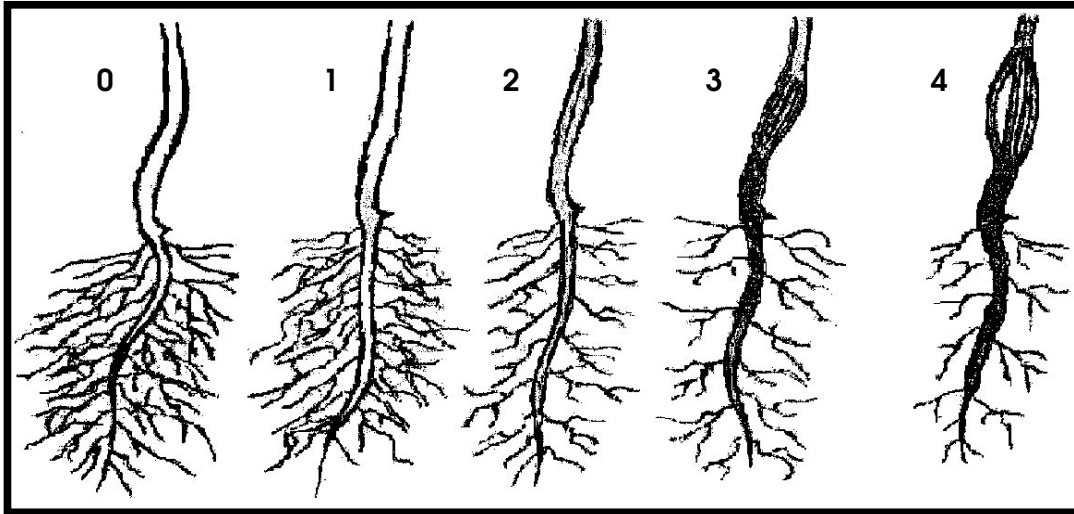
1: El hipocotilo, la raíz primaria y las raíces secundarias comienzan a mostrar un ligero pardeamiento

2: El hipocotilo presenta un pardeamiento moderado y comienza a notarse una reducción del córtex alrededor del cilindro vascular. En la raíz primaria empieza a observarse un pardeamiento moderado, y se ven algunas pequeñas lesiones. Las raíces secundarias 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 raíces secundarias también presentan un pardeamiento severo, y la reducción de barbada es del 25-50%.

4: El hipocotilo se encuentra muy dañado, en algunos casos con consistencia 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 raíces secundarias están muy

afectadas, con necrosis abundantes, la reducción de barbada es muy acentuada. Ocasionalmente la planta se marchita y muere.



**Figura VI.3:** Escala de daños utilizada en el ensayo de patogenicidad (Fuente: Bruton, comunicación personal).

Posteriormente, se calculó un índice de daños en raíces de cada planta (IDR). Este valor, para cada una de las tesis, es la media de los valores de las cinco plantas estudiadas.

Una vez efectuada la evaluación de daños, se tomaron pequeños trozos de raíz, hipocotilo y raíces secundarias, en los que se veían lesiones o zonas sospechosas de estar afectadas por los hongos inoculados; estos fragmentos se sembraron en medio de cultivo PDAS. Se sembraron un total de 14 puntos de aislamiento por cada una de las plantas, distribuyendo estos puntos entre el hipocotilo, raíz principal y raíces secundarias. Las placas sembradas se incubaron en estufa a 25-27° C durante 3-4 días, al cabo de los cuales se pasaron a medio PDA las distintas colonias fúngicas obtenidas. Para proceder a su identificación, estas placas se incubaron durante 15 días a 26° C en ciclos alternantes de 12 horas de oscuridad y 12 horas de luz día + ultravioleta cercano (Silvania F-40 BLB), para inducir la esporulación.



#### VI.2.6. Análisis estadístico

Los datos de peso fresco de la parte aérea y de daños en raíces fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA), usando el test de Tukey HSD ( $P=0,05$ ) para realizar la comparación entre medias. Además, se realizó un análisis multifactorial y de interacciones considerando como factores a cada uno de los hongos inoculados en el trabajo, para estudiar de este modo su efecto sobre los parámetros de peso fresco en la parte aérea y de daños en raíces. Asimismo, se realizó una regresión lineal entre estos dos parámetros, para estudiar su relación. Todos estos análisis se efectuaron mediante el software Statgraphics Plus 5.1 (Statistical Graphics Corp., Englewood Cliffs, NJ, USA).

### VI.3. Resultados

#### VI.3.1. Peso fresco de la parte aérea

En primer lugar, tras la comparación estadística de los datos de peso fresco y daños en raíces, se determinó que existían diferencias significativas entre los dos años de estudio, por lo que se procedió a su análisis tomando los datos de cada año por separado.

En las **Tablas VI.2** y **VI.3** aparecen las medias de peso fresco de la parte aérea para los dos tipos de suelo (autoclavado y no autoclavado) durante los dos años de duración del estudio, así como el estudio estadístico de estos datos. Asimismo, en estas tablas se representa la comparación estadística de los datos totales en ambos tipos de suelo para cada uno de los años de estudio.

Respecto a los resultados del año 2002 (**Tabla VI.2**), en el suelo autoclavado, el menor valor de peso fresco en la parte aérea lo presentó la combinación cuaternaria (Ac+Mc+Rv+Pt), con 0,87 g. Las siguientes tesis con menor peso fresco fueron Mc+Pt, Ac+Mc y Ac+Mc+Pt, con 1,11 g, 2,23 g y 2,60 g, respectivamente. En cambio, el mayor valor de peso fresco en la parte aérea correspondió a la tesis Ac, con 16,46 g. Le siguieron las tesis

control sin inocular y Ac+Pt, ambas con un peso fresco de 11,81 g, y la tesis Pt, con 11,25 g. Se encontraron diferencias significativas entre los cuatro valores superiores y los menores valores de peso fresco en la parte aérea. Asimismo, también se encontraron diferencias significativas entre la tesis Mc y el control sin inocular.

**Tabla VI.2:** Media de peso fresco de la parte aérea (Año 2002).

Combinación <sup>a</sup>	Peso fresco			
	Suelo autoclavado		Suelo no autoclavado	
<b>Control</b>	11,81 <sup>b</sup>	abc <sup>c</sup>	6,57	bc
<b>Ac</b>	16,46	a	9,21	abc
<b>Mc</b>	3,33	de	9,27	abc
<b>Rv</b>	4,64	de	9,60	abc
<b>Pt</b>	11,25	ab	10,02	abc
<b>Ac+ Mc</b>	2,23	e	8,80	abc
<b>Ac+ Rv</b>	8,62	bcd	5,40	bc
<b>Ac+ Pt</b>	11,81	abc	11,64	ab
<b>Mc+ Rv</b>	9,67	cde	9,71	abc
<b>Mc+ Pt</b>	1,11	e	13,82	a
<b>Ac+ Mc+ Rv</b>	3,94de	de	8,53	abc
<b>Ac+ Mc+ Pt</b>	2,60e	e	11,62	ab
<b>Ac+ Rv+ Pt</b>	6,19bcde	bode	11,04	abc
<b>Mc+ Rv+ Pt</b>	3,34de	de	7,22	abc
<b>Ac+ Mc+ Rv+ Pt</b>	0,87e	e	4,67	c
<b>Total</b>	6,088 <sup>d</sup>	A	9,025	B

<sup>a</sup>Ac = *A. cucurbitacearum*; Mc = *M. cannonballus*; Rv = *R. vagum*; Pt = *P. tabacinum*

<sup>b</sup>Peso fresco de la parte aérea en gramos (media de cinco plantas)

<sup>c</sup>Números en la columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según el test de Tukey HSD ( $P=0.05$ ). Las letras minúsculas corresponden a la comparación entre tratamientos. Las letras mayúsculas corresponden a la comparación entre tipos de suelo.

<sup>d</sup>Peso fresco de la parte aérea en gramos (media de 75 plantas)

**Tabla VI.3:** Media de peso fresco de la parte aérea (Año 2003).

Combinación <sup>a</sup>	Peso fresco <sup>b</sup>			
	Suelo autoclavado		Suelo no autoclavado	
<b>Control</b>	28,58	a <sup>c</sup>	26,06	a
<b>Ac</b>	18,77	ab	17,52	abcde
<b>Mc</b>	4,52	c	22,33	ab
<b>Rv</b>	20,34	ab	16,53	abcde
<b>Pt</b>	17,7	ab	14,27	abcde
<b>Ac+ Mc</b>	19,82	ab	12,21	bcde
<b>Ac+ Rv</b>	29,14	a	18,94	abcd
<b>Ac+ Pt</b>	15,49	bc	21,45	ab
<b>Mc+ Rv</b>	21,66	ab	15,62	abcde
<b>Mc+ Pt</b>	22,69	ab	11,34	bcde
<b>Rv+ Pt</b>	20,27	ab	9,19	cde
<b>Ac+ Mc+ Rv</b>	-		22,65	abc
<b>Ac+ Mc+ Pt</b>	16,53	b	8,76	de
<b>Ac+ Rv+ Pt</b>	18,25	ab	13,76	bcde
<b>Mc+ Rv+ Pt</b>	18,57	ab	7,00	e
<b>Ac+ Mc+ Rv+ Pt</b>	14,83	bc	12,39	bcde
<b>Total<sup>d</sup></b>	17,948	A	15,501	B

<sup>a</sup>Ac = *A. cucurbitacearum*; Mc = *M. cannonballus*; Rv = *R. vagum*; Pt = *P. tabacinum*

<sup>b</sup>Peso fresco de la parte aérea en gramos (media de cinco plantas)

<sup>c</sup>Números en la columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según el test de Tukey HSD ( $P=0.05$ ). Las letras minúsculas corresponden a la comparación entre tratamientos. Las letras mayúsculas corresponden a la comparación entre tipos de suelo.

<sup>d</sup>Peso fresco de la parte aérea en gramos (media de 75 plantas)

En el suelo no autoclavado, el menor valor de peso fresco en la parte aérea también correspondió a la combinación cuaternaria (Ac+ Mc+ Rv+ Pt), con 4,67 g. Le siguió la combinación Ac+ Rv, con 5,40 g. Por otro lado, Los mayores valores de peso fresco se obtuvieron con las tesis Ac+ Pt y Ac+ Mc+ Pt, con 11,64 g y 11,62 g, respectivamente. Asimismo, se

observaron diferencias significativas entre la combinación cuaternaria y las dos combinaciones de mayor valor de peso fresco.

En el año 2003 (**Tabla VI.3**), las plantas de la combinación (Ac+ Mc+ Rv) en el suelo autoclavado se secaron antes de la finalización del periodo de estudio, no pudiéndose determinar las causas de su muerte, de ahí que su peso fresco no fue considerado. En el suelo autoclavado, la combinación que obtuvo mayor peso fresco en la parte aérea fue Ac+ Rv, con 29,14 g, mientras que la inoculación sólo con Mc fue la de menor peso fresco, con 4,52 g, seguida de la tesis cuaternaria (Ac+ Mc+ Rv+ Pt), con 14,83 g. El control sin inocular fue la segunda mejor combinación con 28,58 g. Se hallaron diferencias significativas entre las tesis con mayor peso fresco (Control, Ac+ Rv), y las de menor peso fresco en la parte aérea (Mc, Ac+ Mc+ Rv, Ac+ Pt y Ac+ Mc+ Pt).

Por otra parte, para el suelo no autoclavado, la combinación con mayor peso fresco fue el control sin inocular con 26,06 g; en cambio, las tesis con menor peso fresco fueron Mc+ Rv+ Pt, Ac+ Mc+ Pt y Rv+ Pt, con 7,00 g, 8,76 g y 9,19 g, respectivamente. Asimismo, se hallaron diferencias significativas entre el control sin inocular y las combinaciones de menor peso fresco.

Respecto a los datos medios de peso fresco en la parte aérea del total de plantas en cada suelo, en el año 2002 (**Tabla VI.2**), las plantas cultivadas en el suelo autoclavado obtuvieron un valor medio de 6,09 g, mientras que las cultivadas en el suelo no autoclavado llegaron a alcanzar una media de 9,03 g. Por el contrario, en el año 2003 (**Tabla VI.3**), la media de peso fresco en la parte aérea para el suelo autoclavado fue de 17,95 g, por encima de la media de peso fresco en el suelo no autoclavado, que se quedó con 15,50 g.

Asimismo, en ambos años, se encontraron diferencias estadísticas para los valores de peso fresco globales en la parte aérea entre ambos suelos, aunque de sentido contrario.

En la **Tabla VI.4** se muestran los resultados del análisis multifactorial para el parámetro del peso fresco, calculando el efecto de los hongos inoculados para cada tipo de suelo, durante los dos años de duración del estudio.

Según los datos obtenidos en este análisis multifactorial para el peso fresco de la parte aérea, en el año 2002 para el suelo autoclavado solamente fue significativo *M. cannonballus*, así como algunas de las interacciones en las que estaba presente este hongo, que fueron las que menor peso fresco obtuvieron. En ese mismo año, para el suelo no autoclavado, el único hongo que resultó significativo fue *P. tabacinum*, junto con algunas de las interacciones en las que estaba presente, pero en este caso por ser las que mayor peso fresco presentaron. En el año 2003, para el suelo autoclavado fueron considerados significativos *M. cannonballus*, *R. vagum* y *P. tabacinum*, al igual que algunas de las interacciones con estas especies, teniendo muchas de las combinaciones donde se encontraban estos hongos un peso fresco significativamente menor al control. En ese mismo año, para el suelo no autoclavado, también fueron considerados significativos *M. cannonballus*, *R. vagum* y *P. tabacinum*, teniendo también la mayor parte de las combinaciones entre estos hongos un peso fresco significativamente menor al control.

### VI.3.2 Evaluación de daños en raíces

Los resultados de la evaluación de daños en las raíces de las plantas inoculadas (IDR) se muestran en la **Tablas VI.5** y **VI.6**, para todas las combinaciones y suelos considerados, durante los dos años de estudio. En estas mismas tablas se observan también los valores medios de IDR para el total de plantas cultivadas en cada suelo, en los dos años que duró el estudio.

Cabe destacar que se observaron algunas raíces con coloraciones rosadas en varias de las raíces evaluadas correspondientes a plantas que fueron inoculadas con *R.vagum*, para los dos tipos de suelo y en los dos años de duración del estudio.

**Tabla VI.4:** Análisis de la varianza para el efecto de los diferentes hongos inoculados en el peso fresco de la parte aérea de la plantas, en los ensayos realizados durante los años 2002 y 2003, en suelo autoclavado y no autoclavado.

Factores	Año 2002		Año 2003	
	Suelo autoclavado	Suelo no autoclavado	Suelo autoclavado	Suelo no autoclavado
A: <i>A. cucurbitacearum</i>	0,7320 <sup>a</sup>	0,0643	0,2743	0,0831
M: <i>M. cannonballus</i>	0,0000	0,2403	0,0002	0,0139
R: <i>R. vagum</i>	0,0607	0,4950	0,0008	0,0000
P: <i>P. tabacinum</i>	0,3648	0,0058	0,0001	0,0033
Interacciones				
AxM	0,2970	0,8375	0,4437	0,2298
AxR	0,1429	0,0708	0,0022	0,1984
AxP	0,0864	0,5434	0,0002	0,0033
MxR	0,0002	0,0256	0,0009	0,8557
MxP	0,2892	0,0355	0,0063	0,1030
RxP	0,5801	0,3302	0,4143	0,4012
AxMxR	0,8699	0,0477	0,0777	0,1885
AxMxP	0,0207	0,7916	0,0001	0,3210
AxRxP	0,2079	0,7200	0,0075	0,0000
MxRxP	0,0545	0,0041	0,9603	0,6003
AxMxRxP	-	-	0,0000	0,8325

<sup>a</sup>Valor de  $P (<0,05)$  ó probabilidad ANOVA

Respecto a los resultados del año 2002 (**Tabla VI.5**), en el suelo autodavado, la combinación que obtuvo un IDR significativamente menor al de todas las demás fue el control sin inocular, con un valor de 0,92. Le siguieron las inoculaciones de Rv y Pt, con un IDR de 2,17 y 2,33, respectivamente. En cambio, las combinaciones que dieron un mayor IDR fueron Ac+ Mc+ Rv+ Pt, Ac+ Mc+ Rv, Ac+ Mc y Mc+ Pt, todas ellas con el máximo valor en la escala de daños (4). Se encontraron diferencias significativas entre estas combinaciones y las que obtuvieron menor IDR, comentadas anteriormente.

En el suelo no autodavado, la combinación que obtuvo menor índice de daños en raíces también fue el control no inoculado, con un valor de IDR de 0,42. En este caso, la tesis Ac sólo llegó a un IDR de 1,92. Por otra parte, las combinaciones con mayor IDR fueron Mc+ Rv+ Pt, con un valor de 3,83, seguidas de las tesis Ac+ Mc+ Rv y Ac+ Rv+ Pt, ambas con un IDR de 3,42. De la misma forma, se encontraron diferencias significativas entre todas estas combinaciones.

En cuanto a los resultados obtenidos en el año 2003 (**Tabla VI.6**), en el suelo autodavado, la combinación con mayor IDR fue la de Ac, con un valor de IDR de 3,6. Les siguieron las tesis Mc y Ac+ Mc con un IDR de 3,5 cada una, y la combinación Ac+ Rv+ Pt, con 3,4. La tesis que tuvo un menor valor de IDR fue el control sin inocular, con ausencia de daños en todas las raíces evaluadas. Le siguieron las tesis Rv+ Pt, Pt y Rv, con 1,6, 1,8 y 2, respectivamente. Se hallaron diferencias significativas entre todas estas combinaciones.

Por otro lado, en el suelo no autodavado, la inoculación con mayor IDR fue la de Ac+ Mc con un valor de 3, seguida de varias combinaciones (Ac+ Rv, Mc+ Pt, Ac+ Mc+ Pt y Ac+ Rv+ Pt), todas ellas con un IDR de 2,9. La tesis que mostró un menor valor de IDR fue, al igual que en el suelo autodavado, el control sin inocular, también con un IDR igual a 0 (ausencia de síntomas en raíces). Asimismo, la tesis Rv tuvo un IDR de 1,5, mientras que Pt y la combinación Rv+ Pt se quedaron ambas con un IDR de 1,9. Se

encontraron diferencias significativas entre estas últimas tesis de menor IDR, y las tesis comentadas al principio, con mayor valor de índice de daños.

**Tabla VI.5:** Índice de daños en raíces (IDR) (Año 2002).

Combinación <sup>a</sup>	IDR			
	Suelo autoclavado		Suelo no autoclavado	
<b>Control</b>	0,92 <sup>b</sup>	a <sup>c</sup>	0,42	a
<b>Ac</b>	3,33		1,92	b
<b>Mc</b>	3,92		2,83	f
<b>Rv</b>	2,17	b	2,33	c
<b>Pt</b>	2,33	c	2,5	d
<b>Ac+ Mc</b>	4		3,17	h
<b>Ac+ Rv</b>	3,25	e	3	g
<b>Ac+ Pt</b>	2,75	d	2,75	e
<b>Mc+ Rv</b>	3,83		2,5	d
<b>Mc+ Pt</b>	4		3,17	h
<b>Ac+ Mc+ Rv</b>	4		3,42	j
<b>Ac+ Mc+ Pt</b>	3,83		2,75	e
<b>Ac+ Rv+ Pt</b>	3,5	g	3,42	j
<b>Mc+ Rv+ Pt</b>	3,25	e	3,83	k
<b>Ac+ Mc+ Rv+ Pt</b>	4		3,33	i
<b>Total</b>	3,27 <sup>d</sup>	A	2,76	B

<sup>a</sup>Ac = *A. cucurbitacearum*; Mc = *M. cannonballus*; Rv = *R. vagum*; Pt = *P. tabacinum*

<sup>b</sup>Índice de daños en raíces, en una escala de 0 a 4, obtenido de una media de cinco plantas

<sup>c</sup>Números en la columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según el test de Tukey HSD ( $P=0.05$ ). Las letras minúsculas corresponden a la comparación entre tratamientos. Las letras mayúsculas corresponden a la comparación entre tipos de suelo.

<sup>d</sup>Índice de daños en raíces, en una escala de 0 a 4, obtenido de una media de 75 plantas



**Tabla VI.6:** Índice de daños en raíces (Año 2003).

Combinación <sup>a</sup>	IDR				
	Suelo autoclavado		Suelo no autoclavado		
<b>Control</b>	0 <sup>b</sup>		g <sup>c</sup>	0	e
<b>Ac</b>	3,60	a		2,50	ab
<b>Mc</b>	3,50	a		2,50	ab
<b>Rv</b>	2		f	1,50	d
<b>Pt</b>	1,80		f	1,90	cd
<b>Ac+ Mc</b>	3,50	a		3	a
<b>Ac+ Rv</b>	2,90		cde	2,90	ab
<b>Ac+ Pt</b>	3,30	abc		2,50	ab
<b>Mc+ Rv</b>	2,80		de	2,30	bc
<b>Mc+ Pt</b>	2,60		e	2,90	a
<b>Rv+ Pt</b>	1,60		f	1,90	cd
<b>Ac+ Mc+ Rv</b>	-			2,60	ab
<b>Ac+ Mc+ Pt</b>	3,20	abcd		2,90	a
<b>Ac+ Rv+ Pt</b>	3,40	ab		2,90	a
<b>Mc+ Rv+ Pt</b>	3,10	bcd		2,70	ab
<b>Ac+ Mc+ Rv+ Pt</b>	3	bode		2,80	ab
<b>Total</b>	2,77 <sup>d</sup>		A	2,36	B

<sup>a</sup>Ac = *A. cucurbitacearum*; Mc = *M. cannonballus*; Rv = *R. vagum*; Pt = *P. tabacinum*

<sup>b</sup>Índice de daños en raíces, en una escala de 0 a 4, obtenido de una media de cinco plantas

<sup>c</sup>Números en la columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según el test de Tukey HSD ( $P=0.05$ ). Las letras minúsculas corresponden a la comparación entre tratamientos. Las letras mayúsculas corresponden a la comparación entre tipos de suelo.

<sup>d</sup>Índice de daños en raíces, en una escala de 0 a 4, obtenido de una media de 75 plantas

Por último, según los valores del índice de daños medio para el total de plantas de cada suelo, en el año 2002, el IDR medio de las plantas cultivadas en el suelo autoclavado fue de 3,27, mientras que las cultivadas

en el suelo no autodavado obtuvieron un IDR de 2,76. De igual forma, en el año 2003, el IDR medio calculado para las plantas del suelo autodavado fue de 2,77, mientras que en el suelo no autodavado, solo llegó a 2,36. En ambos años el valor de IDR fue superior en el caso del suelo autodavado, encontrándose diferencias significativas para el valor de IDR entre ambos suelos considerados.

En la **Tabla VI.7** se muestran los resultados del análisis multifactorial para el índice de daños en raíces, calculando el efecto de los hongos inoculados para cada tipo de suelo durante los dos años de estudio.

Durante el año 2002 todos los hongos inoculados fueron considerados significativos, al igual que la mayoría de sus interacciones, tanto para el suelo autodavado como para el suelo no autodavado. Sin embargo, hay que distinguir entre *M. cannonballus* y *A. cucurbitacearum*, cuyas inoculaciones individuales y conjuntas fueron las que presentaron mayores valores de IDR, y entre *R. vagum* y *P. tabacinum*, cuyas inoculaciones individuales y el conjunto de ambas obtuvieron menores valores de IDR. Este mismo resultado se dio en el año 2003, excepto con la inoculación de *P. tabacinum* en suelo autodavado, que no resultó significativa.

En el estudio de regresión lineal efectuado entre los parámetros de peso fresco en la parte aérea y el índice de daños en raíces, se obtuvieron índices de correlación inferiores al 35%, en todos los casos durante los dos años de duración del estudio y para los dos suelos considerados, que resultaron significativos.

### VI.3.3 Reislamiento de hongos

En las **Tablas VI.8** y **VI.9**, viene expresado el número total de plantas de las que se aisló cada uno de los hongos, para cada tipo de suelo ensayado, en los años 2002 y 2003, respectivamente.

**Tabla VI.7:** Análisis de la varianza para el efecto de los diferentes hongos inoculados en el índice de daños en raíces, en los ensayos realizados durante los años 2002 y 2003, en suelo autoclavado y no autoclavado.

Factores	Año 2002		Año 2003	
	Suelo autoclavado	Suelo no autoclavado	Suelo autoclavado	Suelo no autoclavado
A: <i>A. cucurbitacearum</i>	0,0000 <sup>a</sup>	0,0109	0,0000	0,0000
M: <i>M. cannonballus</i>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
R: <i>R. vagum</i>	0,0000	0,0000	0,0003	0,0000
P: <i>P. tabacinum</i>	0,0009	0,0000	0,3811	0,0000
Interacciones				
AxM	0,0000	0,1495	0,0000	0,0000
AxR	0,1177	0,0021	0,0000	0,0947
AxP	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
MxR	0,0000	0,0000	0,0020	0,0000
MxP	0,0000	0,0000	0,0000	0,0012
RxP	0,5280	0,0457	0,0105	0,0002
AxMxR	0,0000	0,0000	0,0000	0,0270
AxMxP	0,0000	0,0847	0,1503	0,0000
AxRxP	0,0023	0,0229	0,0021	0,0000
MxRxP	0,0137	0,0109	0,0000	0,0000
AxMxRxP	-	-	0,0000	0,0002

<sup>a</sup>Valor de  $P (<0,05)$  ó probabilidad ANOVA

En el año 2002 (**Tabla VI.8**), en las inoculaciones individuales los hongos que se reislaron en mayor número de plantas fueron *A. cucurbitacearum* y *M. cannonballus*, mientras que *R. vagum*, y *P. tabacinum* sólo se reislaron en dos o tres plantas de un total de cinco. Respecto a las combinaciones binarias y terciarias, también se observó que *A. cucurbitacearum* y *M. cannonballus* se aislaron en más plantas que *R. vagum*, y *P. tabacinum*. Para todos los tipos de inoculaciones, el hongo que se reisló en menor proporción fue *R. vagum*.

**Tabla VI.8:** Reislamiento de hongos para cada combinación y tipo de suelo. Ensayo de 2002.

Combinación <sup>a</sup>	Suelo autoclavado				Suelo no autoclavado			
	Ac	Mc	Rv	Pt	Ac	Mc	Rv	Pt
<b>Control</b>	0 <sup>b</sup>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Ac</b>	5	0	0	0	5	0	0	0
<b>Mc</b>	0	4	0	0	0	4	0	0
<b>Rv</b>	0	0	3	0	0	0	2	0
<b>Pt</b>	0	0	0	2	0	0	0	3
<b>Ac+ Mc</b>	3	3	0	0	4	3	0	0
<b>Ac+ Rv</b>	4	0	1	0	1	0	1	0
<b>Ac+ Pt</b>	3	0	0	2	2	0	0	1
<b>Mc+ Rv</b>	0	1	2	0	0	4	2	0
<b>Mc+ Pt</b>	0	3	0	3	0	5	0	5
<b>Ac+ Mc+ Rv</b>	1	1	1	0	1	3	3	0
<b>Ac+ Mc+ Pt</b>	2	2	0	1	3	5	0	1
<b>Ac+ Rv+ Pt</b>	3	0	1	1	4	0	3	1
<b>Mc+ Rv+ Pt</b>	0	4	1	2	0	5	3	1
<b>Ac+ Mc+ Rv+ Pt</b>	4	3	1	3	2	5	2	3

<sup>a</sup>Ac = *A. cucurbitacearum*; Mc = *M. cannonballus*; Rv = *R. vagum*; Pt = *P. tabacinum*

<sup>b</sup>Número de plantas de las que se aisló cada hongo analizado, de un total de cinco plantas para cada combinación y cada tipo de suelo. Se efectuaron 14 puntos de aislamiento por planta.

En el año 2003 (**Tabla VI.9**), también fueron *A. cucurbitacearum* y *M. cannonballus* los hongos más aislados, con respecto a *R. vagum* y *P. tabacinum*, tanto en las inoculaciones individuales, como en las combinaciones binarias y terciarias. En cualquier caso, todos los hongos inoculados en todas las combinaciones fueron posteriormente reaislados.

**Tabla VI.9:** Reaislamiento de hongos para cada combinación y tipo de suelo. Ensayo de 2003.

Combinación <sup>a</sup>	Suelo autoclavado				Suelo no autoclavado			
	Ac	Mc	Rv	Pt	Ac	Mc	Rv	Pt
<b>Control</b>	0 <sup>b</sup>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Ac</b>	5	0	0	0	5	0	0	0
<b>Mc</b>	0	5	0	0	0	5	0	0
<b>Rv</b>	0	0	5	0	0	0	2	0
<b>Pt</b>	0	0	0	3	0	0	0	4
<b>Ac+ Mc</b>	5	5	0	0	5	5	0	0
<b>Ac+ Rv</b>	5	0	1	0	5	0	4	0
<b>Ac+ Pt</b>	5	0	0	2	5	0	0	5
<b>Mc+ Rv</b>	0	5	3	0	0	5	3	0
<b>Mc+ Pt</b>	0	4	0	4	0	5	0	3
<b>Rv+ Pt</b>	0	0	4	5	0	0	1	0
<b>Ac+ Mc+ Rv</b>	3	4	2	0	5	5	2	0
<b>Ac+ Mc+ Pt</b>	5	3	0	4	5	4	0	3
<b>Ac+ Rv+ Pt</b>	5	0	3	5	5	0	3	4
<b>Mc+ Rv+ Pt</b>	0	5	2	5	0	4	3	5
<b>Ac+ Mc+ Rv+ Pt</b>	5	5	1	5	3	3	1	2

<sup>a</sup>Ac = *A. cucurbitacearum*; Mc = *M. cannonballus*; Rv = *R. vagum*; Pt = *P. tabacinum*

<sup>b</sup>Número de plantas de las que se aisló cada hongo analizado, de un total de cinco plantas para cada combinación y cada tipo de suelo. Se efectuaron 14 puntos de aislamiento por planta.

Además de los hongos inoculados, en los aislamientos efectuados se pudieron observar otras colonias fúngicas. Así, tanto en el año 2002 como en el año 2003, en el suelo autoclavado se aislaron algunas colonias

pertenecientes a los géneros *Alternaria*, *Penicillium* y *Cladosporium*. En el suelo no autoclavado, se aislaron con relativa frecuencia varias especies de *Fusarium*, *Pythium*, *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Alternaria* y *Penicillium*.

#### **VI.4. Discusión**

Esta es la primera vez que se realiza un ensayo de patogenicidad con los principales hongos causantes de "colapso" en España, y realizando inoculaciones conjuntas de todos ellos, con todas las combinaciones posibles.

Respecto al peso fresco de la parte aérea, en general se obtuvieron resultados contradictorios. En este sentido, el resultado obtenido para el control sin inocular en el suelo no autoclavado en el año 2002 fue precisamente uno de los valores más bajos (6,57 g). Asimismo, en el suelo autoclavado también del año 2002, el peso fresco de la parte aérea del control fue inferior al conseguido en algunas de las inoculaciones, como por ejemplo Ac.

Es destacable también que los valores de peso fresco en la parte aérea obtenidos para la tesis cuaternaria (Ac+ Mc+ Rv+ Pt), no fueron en algunos casos inferiores a los de otras combinaciones de menor grado. Asimismo, tanto en el año 2002 como en el año 2003 y para los dos tipos de suelo, algunas combinaciones binarias e incluso terciarias no presentaron diferencias significativas con respecto al control sin inocular, mientras que algunas combinaciones de hongos en solitario sí las presentaron.

También destacan los diferentes resultados obtenidos entre los dos tipos de suelo en los dos años de duración del estudio. Así, en el año 2002, al comparar los valores medios totales de peso fresco en la parte aérea, se observó que en el suelo no autoclavado el peso fresco medio en la parte aérea (9,03 g) era significativamente mayor que en el no autoclavado (6,09 g). En 2003 se dio el caso contrario, observándose diferencias significativas entre ambos suelos, con una media total de peso fresco en la parte aérea

para el suelo autodavado de 17,95g, superior a la del suelo no autodavado que fue de 15,50g.

Los resultados obtenidos en el análisis multifactorial también denotan cierta contradicción entre los dos ensayos, puesto que en el año 2002 únicamente fueron significativas las inoculaciones con *M. cannonballus* en el suelo autodavado (como el hongo que dio menor peso fresco) y *P. tabacinum* en el suelo no autodavado (como el hongo que dio mayor peso fresco). Por otro lado, en el año 2003 fueron significativas las inoculaciones con *M. cannonballus*, *R. vagum* y *P. tabacinum*, así como la mayoría de las interacciones entre ellos, para los dos tipos de suelo, por tener valores bajos de peso fresco.

En cambio, sí que resultó coincidente para los dos años de estudio y los dos tipos de suelo, que las inoculaciones efectuadas con *M. cannonballus*, por sí solo o junto con otros hongos presentaron, en general, valores inferiores de peso fresco en la parte aérea respecto al control. Así, en el año 2003 para el suelo autodavado, la tesis Mc obtuvo el menor valor de peso fresco (4,52 g), mientras que en el año 2002 también para el suelo autodavado, la tesis Mc fue el cuarto valor más bajo, con 3,33 g, presentando ambos valores diferencias significativas con el control no inoculado.

Por el contrario, en cuanto al índice de daños en raíces (IDR), se obtuvieron resultados similares para cada tipo de suelo en los dos años de duración del estudio. Así, en 2002, el IDR medio total para todas las combinaciones del suelo autodavado fue significativamente mayor que para el suelo no autodavado, con valores de 3,27 y 2,76, respectivamente. En el año 2003, también se presentaron diferencias significativas a favor del suelo autodavado, comparado con el suelo no autodavado, con valores medios totales de IDR de 2,77 y 2,36, respectivamente.

Resulta destacable la importancia que tuvieron las inoculaciones con *M. cannonballus*, por sí solo o en sus combinaciones con otros hongos. Así, en el año 2002 en el suelo autodavado, las combinaciones que incluyeron a

*M. cannonballus* presentaron valores elevados de IDR, oscilando entre 3 y 4, a diferencia de otras combinaciones que no presentaban este hongo, cuyo IDR fue inferior (entre 2,17 y 3,5). En ese mismo año, para el suelo sin autodavar se obtuvieron valores similares de IDR, aunque ligeramente inferiores. En el año 2003, los valores de IDR fueron inferiores para los dos tipos de suelo, aunque también se observó que las combinaciones con *M. cannonballus* poseyeron mayor IDR.

En cambio, respecto a los hongos que, según la bibliografía, contribuyen en menor medida al "colapso", esto es, *R. vagum* y *P. tabacinum*, se observa cómo en los dos tipos de suelos, y para los dos años de estudio, sus inoculaciones individuales y binaria fueron las que menor valor de IDR presentaron, con la salvedad del control. Estas inoculaciones presentaron valores que oscilaron entre 1,5 y 2,5. Con todo esto podemos decir que, en general, las plantas que a priori mostraron menos síntomas fueron las que se inocularon únicamente con estos hongos, sin la presencia de *A. cucurbitacearum* y *M. cannonballus*. Además, el análisis multifactorial de los datos de IDR, reveló que todas las inoculaciones de todos los hongos, así como de la mayoría de sus interacciones fueron significativas, exceptuando a *P. tabacinum* en el suelo autodavado, en el año 2003.

A la vista de estos resultados, se podría decir que el factor limitante en esta afección es la presencia en el suelo de *M. cannonballus* y *A. cucurbitacearum*, siendo menos importante la presencia de *R. vagum* y *P. tabacinum*. Estos resultados son coherentes con los obtenidos en otros trabajos, en los que se cita a *M. cannonballus* como uno de los principales agentes fúngicos causante de "colapso" en cucurbitáceas (Mertely *et al.*, 1991; García-Jiménez *et al.*, 1994b; Martyn y Miller, 1996).

Los resultados obtenidos en la regresión entre los dos parámetros considerados, peso fresco de la parte aérea e IDR, mostraron una correlación muy baja entre ellos. Como ya se ha comentado respecto al análisis multifactorial efectuado para ambos parámetros, destaca que en el caso del índice de daños en raíces, todas las especies fúngicas inoculadas fueron importantes en los dos años y los dos tipos de suelo, salvo *P.*



*tabacinum* en el suelo autodavado durante 2003. En cambio, para el peso fresco en la parte aérea, esto no fue así, puesto que en el año 2002 sólo resultaron significativos *M. cannonballus* y *P. tabacinum*, en el suelo autodavado y sin autodavar, con mayor y menor peso fresco, respectivamente, mientras que en 2003, *A. cucurbitacearum* no fue significativo en ningún tipo de suelo, a diferencia de los otros hongos inoculados. Así pues, no parece que exista una relación clara entre el peso fresco en la parte aérea y los daños causados por los hongos en las raíces. Andrade *et al.* (2005) tampoco encontraron una correlación significativa entre el peso fresco de la parte aérea y la severidad de síntomas de "colapso" en un ensayo de patogenicidad de *M. cannonballus* a melón llevado a cabo en Brasil.

Para poder explicar estos resultados, hay que hacer referencia a otros trabajos que relacionan el síndrome del "colapso" del melón con la fructificación de la planta (Pivonia *et al.*, 2002a). Hay que tener en cuenta que el término "colapso" alude a la marchitez que tiene lugar en la planta en la época cercana a la maduración del fruto. En este momento, los frutos son un importante sumidero de agua para la planta; este hecho, unido al notable deterioro de la raíz tras la infección causada por los hongos del suelo, hace que en la planta se produzca un estrés hídrico que provoque la marchitez y muerte de la parte aérea de la planta en unos pocos días (Bruton *et al.*, 1998).

Debemos tener en cuenta que en este ensayo de inoculación de hongos del suelo en condiciones de invernadero, no es posible obtener la fructificación de la planta, con lo cual no podemos tener en cuenta al peso fresco en la parte aérea como un buen indicador de la enfermedad en melón cultivado en maceta. En este sentido, también se ha demostrado que al disminuir la carga de frutos de las plantas de melón infectadas por *M. cannonballus*, mediante aclareo, se consigue evitar la marchitez de la parte aérea, puesto que de esta manera se reduce la demanda de agua por parte de la planta (Pivonia *et al.*, 2002a). Por todo ello, el IDR se presenta como el parámetro más fiable, a la hora de explicar los efectos de cada uno de los hongos inoculados y de los tipos de suelo. Se estima, por tanto, que el peso

fresco de la parte aérea no es buen parámetro para medir la incidencia y severidad de los síntomas de “colapso” en ensayos de patogenicidad llevados a cabo en invernadero.

Como ya se ha comentado, para el IDR no se observaron los resultados contradictorios entre los dos tipos de suelo que sí se presentaron para el peso fresco en la parte aérea. En el caso del IDR global, el suelo autodavado alcanzó siempre un valor más elevado de daños que el suelo no autodavado, en los dos años de duración del estudio.

Para la explicación de estos resultados, hay que tener en cuenta la presencia en el suelo de otros hongos que podrían actuar de modo antagónico frente a los hongos asociados al “colapso”. En este sentido, se conocen bien las aptitudes de algunos géneros de hongos para el control biológico de otros agentes fúngicos, como es el caso de *Trichoderma* o de *Chaetomium* (Domsch y Gams, 1972), que se aislaron en el suelo no autodavado.

Sin embargo, en este tipo de estudios también hay que tener en cuenta que los suelos naturales contienen todo un elenco de hongos saprofitos (Griffin, 1972), que muchas veces contribuyen al deterioro del sistema radical de la planta, y que en ocasiones podrían exacerbar los síntomas causados en sí por los hongos patógenos inoculados. Entre ellos se encuentran *Fusarium* y *Pythium*, que también se aislaron en el suelo no autodavado.

De esta forma, y una vez que las raíces habían sido infectadas por *M. cannonballus*, *A. cucurbitacearum*, *R. vagum*, y *P. tabacinum*, se podría producir la entrada de otros géneros de hongos como *Chaetomium*, *Trichoderma*, *Fusarium* y *Pythium*. Así pues, hay que destacar la frecuente aparición de estos dos géneros de hongos en los aislamientos efectuados en el suelo no autodavado.

Algunos de estos hongos oportunistas, como *Pythium* spp., son citados por algunos autores como propiamente asociados al síndrome, y no

sólo como saprofitos (Pivonia *et al.*, 1997; Tello *et al.*, 1990). En cualquier caso, el aislamiento de diversas especies de *Fusarium* y *Pythium* suele ser un resultado que también ha aparecido en otros estudios de patogenicidad con *A. cucurbitacearum* y *M. cannonballus* (García-Jiménez *et al.*, 1992; García-Jiménez *et al.*, 1994c; Bruton *et al.*, 2000; Sales *et al.*, 2000), ya que cuando las raíces se hallan muy deterioradas, estos hongos pueden presentarse como saprofitos, como ya se ha comentado con anterioridad.

En este sentido, la presencia de hongos de carácter saprofito y de otras especies que pueden actuar como antagonistas, debe ser tenido en cuenta, a la hora de plantear un estudio que emplee suelo natural no autodavado. Aunque en este caso parece que han sido superior el efecto de los hongos antagonistas a la presencia de hongos saprofitos, no se puede predecir cual de los dos efectos será preponderante. Para estudios efectuados a corto plazo, parece predominar el efecto antagonista aunque probablemente, en estudios a más largo plazo, el efecto de exacerbación de síntomas podría ser más relevante. Es evidente que el suelo debe ser tenido en cuenta no únicamente como un soporte físico en donde se encuentran los nutrientes; el suelo es, en definitiva un ecosistema en el que coexisten géneros de hongos que pueden resultar beneficiosos (*Trichoderma*, *Chaetomium*, etc.) junto a otros que pueden ayudar al deterioro de la raíz (*Pythium*, *Fusarium*, etc.).

Por los resultados de IDR observados tanto en 2002 como en 2003, parece que *M. cannonballus* fue uno de los hongos que produjo mayores daños, tanto por separado, como en algunas de las combinaciones en las que estaba presente. Según algunos estudios, los daños provocados en las raíces son mucho mayores para las inoculaciones con *M. cannonballus* si se las compara frente a las inoculaciones con *A. cucurbitacearum* y *R. vagum* (Biernacki *et al.*, 2001).

Por otro lado, hay que tener en cuenta que en algunos estudios de patogenicidad (Aegerter *et al.*, 2000) se destaca la diferencia entre los tipos de síntomas que nos podemos encontrar para las inoculaciones realizadas con los hongos causantes de "colapso". Así pues, *A. cucurbitacearum* y *R.*

*vagum* causan podredumbres de raíces más severas en invernadero que en campo, mientras que *M. cannonballus*, por el contrario, causa daños mayores en campo que en ensayos efectuados en invernadero. Esta discrepancia en la severidad de la afección encontrada en estos diferentes tipos de ensayos puede ser debida a diferencias en el potencial de inóculo o a interacciones con diversas condiciones ambientales, tales como tipo de suelo, tipo de riego, temperatura del suelo, etc. Por este motivo, los resultados obtenidos en un ensayo de patogenicidad son difíciles de interpretar, y mucho más de extrapolar a condiciones de campo.

Por otra parte, no parece que la presencia de todos los hongos asociados al colapso conjuntamente suponga un mayor deterioro de la raíz y una mayor incidencia de "colapso"; visto de otra manera, con la presencia en suelos de cultivo de melón y sandía de *M. cannonballus*, aun por sí solo, es más que suficiente para que se produzcan ataques a las raíces de las plantas con el posterior desarrollo de los síntomas típicos de "colapso", y con la gravedad que ha conseguido elevar a este agente fúngico como uno de los principales problemas de sanidad del cultivo de éstas cucurbitáceas (Mertely *et al.*, 1991; García-Jiménez *et al.*, 1994c; García-Jiménez *et al.*, 2000). En el trabajo de Aegerter *et al.* (2000) se destaca la idea que la presencia de los hongos causantes de "colapso" *A. cucurbitacearum*, *M. cannonballus* y *R. vagum* no es suficiente para el desarrollo del síndrome, pues hay que tener también en cuenta otros factores de tipo biótico, climático, etc. Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio confirman la importancia de *M. cannonballus*, que puede causar daños más severos que otros hongos implicados en el síndrome del "colapso".

Por último, como comentario general a los resultados de reisolamiento de hongos inoculados en los ensayos llevados a cabo en 2002 y 2003, se observa que se ha conseguido el reisolamiento de todos ellos, para todas las combinaciones y todos los tipos de suelos y durante los dos años de duración del estudio; de esta manera se verifican los postulados de Koch, demostrándose que las inoculaciones han sido correctas. La presencia asimismo de raíces rosadas en las plantas inoculadas con *R. vagum* o con alguna de sus combinaciones confirma también el buen resultado de la

inoculación, siendo éste uno de los síntomas típicos del ataque de este hongo sobre las raíces de melón (Armengol *et al.*, 2000).

## **VI.5 Conclusiones**

1) El índice de daños en raíces (IDR) es un parámetro útil para evaluar la patogenicidad de los hongos implicados en el síndrome del "colapso". El peso fresco de la parte aérea no es un buen parámetro para evaluar la patogenicidad de estos hongos: la correlación de este factor con el IDR es muy baja.

2) Las inoculaciones de *M. cannonballus* y sus combinaciones alcanzaron los niveles más altos de IDR en ambos años y para los dos tipos de suelo.

3) Con la excepción de *P. tabacinum* en suelo autoclavado y durante el segundo año de estudio, todos los hongos inoculados causaron daños significativos en raíces de melón.

## **VII. PERSPECTIVA GLOBAL DE LOS TRABAJOS ABORDADOS**

## VII. PERSPECTIVA GLOBAL DE LOS TRABAJOS ABORDADOS

Uno de los objetivos principales de esta tesis ha sido el estudio de diferentes aspectos epidemiológicos de *M. cannonballus*, entre ellos, el concerniente a la dinámica de las ascosporas en suelo y su supervivencia a lo largo del tiempo.

Hasta la fecha, únicamente se habían efectuado muestreos puntuales de suelo, principalmente en campos de cultivo de melón y sólo ocasionalmente de otras cucurbitáceas, que han mostrado los niveles de ascosporas en momentos concretos, pero que no han proporcionado la información necesaria acerca de la evolución de este inóculo.

La complejidad del ciclo vital de *M. cannonballus* (germinación de ascosporas, colonización de las raíces, formación de peritecios y posterior incorporación al suelo de las nuevas ascosporas) hace que el planteamiento de los trabajos de cuantificación de ascosporas en suelo deba ser diferente a como se han hecho hasta ahora, optándose por efectuar muestreos secuenciales. Además, se han estudiado campos de la Comunidad Valenciana en diferentes áreas de cultivo de cucurbitáceas, con diferentes situaciones de cultivo: riego localizado o a manta, suelos convencionales o suelos de marjal, etc. y diferentes cultivos: melón, sandía y sandía injertada.

Así, uno de los principales resultados obtenidos en esta Tesis ha sido mostrar por primera vez la dinámica de las ascosporas de *M. cannonballus* en suelo en cultivos de cucurbitáceas considerados hospedantes de este patógeno: melón y sandía. En ambos casos los niveles de ascosporas tienen un comportamiento característico: desde el momento de la plantación, se produce un descenso de la población de ascosporas, probablemente debido a la germinación de éstas y la posterior colonización de las raíces. Al cabo de unas semanas, el nivel de ascosporas llega a su mínimo, coincidiendo con la observación de los primeros síntomas en la parte aérea, y con el máximo porcentaje de aislamiento de *M. cannonballus* en raíces. A partir de este momento se observa, hasta el final del cultivo y muerte de las plantas,

un incremento de la población de ascosporas asociado a la producción de peritecios en las raíces y su incorporación al suelo.

En todos los apartados de esta Tesis referentes a la epidemiología de *M. cannonballus* (III, IV y V), se ha observado un aumento significativo del nivel de ascosporas al final del cultivo respecto a los niveles iniciales, observándose también diferencias significativas entre las zonas de línea y de entrelínea, a favor de las primeras, como consecuencia de su mayor densidad de raíces.

En cuanto a la sandía injertada sobre híbridos de *Cucurbita*, el nivel de ascosporas en suelo se mantiene estable durante todo el ciclo de cultivo. Además, no se observan síntomas en la parte aérea ni formación de peritecios en las raíces, siendo el porcentaje de aislamiento de *M. cannonballus* muy bajo comparado con el de melón y sandía. Estos resultados demuestran que el injerto de sandía sobre híbridos de *Cucurbita*, que ha reemplazado en numerosas áreas de cultivo al melón y a la sandía sin injertar, es un método de lucha eficaz contra el "colapso" causado por *M. cannonballus*.

Unos meses después de finalizado el ciclo de cultivo de melón o sandía el nivel de ascosporas en suelo alcanza su máximo, al tener lugar la descomposición de los restos de cultivo y las labores de preparación del suelo (rotovariado) para la siguiente plantación. A más largo plazo, la evolución posterior de las ascosporas de *M. cannonballus* sólo se ha podido estudiar en las zonas de marjal en las que se dispuso de períodos amplios sin cultivo. Así, en estos suelos se ha observado un descenso lento y progresivo del nivel de ascosporas después de un periodo de no cultivo. A los doce meses de la plantación, el nivel de ascosporas alcanzó valores similares a los iniciales en el momento de la plantación.

Paralelamente, se ha comprobado que las ascosporas de *M. cannonballus* pueden sobrevivir en suelo en condiciones de encharcamiento y no cultivo, al menos por un periodo de tres años, sin haber perdido después su capacidad de infectar las raíces de una planta hospedante. Así,



una de las observaciones más interesantes de esta Tesis, que afectan directamente a la concepción tradicional de la biología del hongo, es que *M. cannonballus* parece adaptado no sólo a condiciones climáticas de zonas desérticas y semiáridas, como aparece repetidamente en la bibliografía, sino que también es capaz de sobrevivir en zonas templadas y con prolongados periodos de encharcamiento.

En los aislamientos de raíces afectadas, realizados en los diferentes apartados de esta Tesis, se ha puesto de manifiesto la presencia de otros hongos de suelo implicados en el síndrome de "colapso" acompañando a *M. cannonballus*, tales como *A. cucurbitacearum*, *R. vagum* y *P. tabacinum*. Por este motivo, se ha realizado por primera vez un estudio de patogenicidad a melón con estos hongos, efectuando inoculaciones conjuntas entre ellos.

Los valores encontrados en el peso fresco de la parte aérea resultaron contradictorios en ocasiones, a la vez que la correlación de este factor con el índice de daños en raíces (IDR) fue muy baja. La principal característica del "colapso", que es la marchitez de la parte aérea en el momento de la fructificación, no suele darse en los ensayos en invernadero; así, no se considera adecuados para evaluar la patogenicidad de los hongos implicados en el "colapso" aquellos parámetros relacionados con la sintomatología en la parte aérea, siendo más apropiados aquellos que contemplan los síntomas en las raíces.

Los resultados de IDR obtenidos destacan que las inoculaciones con *M. cannonballus* y *A. cucurbitacearum*, y sus combinaciones, fueron las que mayores daños causaron, mientras que las inoculaciones con *R. vagum*, *P. tabacinum* y la inoculación conjunta de ambos fueron las que menor IDR dieron. Estos resultados confirman que el factor limitante en este síndrome es la presencia en suelo de *M. cannonballus* y *A. cucurbitacearum*.



## VIII. BIBLIOGRAFÍA

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Abad-Campos, P., Pérez-Piqueres, A., Marqués, M.C., Vicent, M.J., Bruton, B.D., and García-Jiménez, J.** 2000. Assessment of vegetative compatibility of *Acremonium cucurbitacearum* and *Plectosphaerella cucumerina* isolates from diseased melon plants. *Bulletin-OEPP* **30**(2): 199-204.
- Abouzoid, M.A., Boari, A., Zonno, M.C., Vurro, M., and Evidente, A.** 2004. Toxicity profiles of potential biocontrol agents of *Orobanche ramosa*. *Weed Science* **52**(3): 326-332.
- Aegerter, B.J., Gordon, T.R., and Davis, R.M.** 2000. Occurrence and pathogenicity of fungi associated with melon root rot and vine decline in California. *Plant Disease* **84**: 224-230.
- Agrios, G.N.** 1996. Fitopatología. Ed. Uteha-Noriega Editores, México D.F., México. 838 pp.
- Alcantara, T.P., Rasmussen, S.L., Kim, D.H., Oebker, N., and Stanghellini, M.E.** 1995. Field tolerance of melons to *Monosporascus cannonballus*. *Phytopathology* **85**: 1192 (Abstr.).
- Alcantara, T.P., Stanghellini, M.E., Kim, D.H., and Rasmussen, S.L.** 1998. Tyloses formation in relation to symptom development of vine decline of melon caused by *Monosporascus cannonballus*. *Phytopathology* **88**(9): s2.
- 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.
- Alfaro-Fernández, A.** 2004. Histopatología del ataque de *Acremonium cucurbitacearum* Alfaro-García, W. Gams et J. García-Jiménez y *Monosporascus cannonballus* Pollack et Uecker a melón y calabaza. Trabajo

Fin de Carrera. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos.  
Universidad Politécnica de Valencia.

**Andrade, D.E.G.T.de, Michereff, S.J., Borges, M.A.S., Araújo, I.B., and Sales, R.** 2005. Influência da densidade de inóculo e de isolados de *Monosporascus cannonballus* na severidade do colapso do meloeiro. *Summa Phytopathologica* **31**(2): 173-180.

**Armengol, J.** 1997. Aspectos patológicos, epidemiológicos y culturales de *Acremonium cucurbitacearum* Alfaro-García, W. Gams et J. García-Jiménez. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

**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**: 29-35.

**Armengol, J., Sales, R., y García-Jiménez, J.** 1999a. Effects of soil moisture and water on survival of *Acremonium cucurbitacearum*. *Journal of Phytopathology* **147**: 737-741.

**Armengol, J., Sales, R., y García-Jiménez, J.** 1999b. Evolución de los daños causados por *Acremonium cucurbitacearum* en raíz de melón en sus primeros estados de desarrollo. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* **25**: 265-277.

**Armengol, J., José, C.M., Moya, M.J., Sales, R., Vicent, A., and García-Jiménez, J.** 2000a. *Fusarium solani* f.sp. *cucurbitae* race 1, a potential pathogen of grafted watermelon production in Spain. *Eppo Bulletin* **30**: 179-183.

**Armengol, J., Pellicer, I., Vicent, A., Sales, R., Bruton, B.D., y García-Jiménez, J.** 2000b. *Rhizopycnis vagum* D.F. Farr, un nuevo coelomycete asociado a raíces de plantas de melón con síntomas de colapso en España. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* **26**: 103-112.

- Armengol, J., Vicent, A., Martínez-Culebras, P., Bruton, B.D., and García-Jiménez, J.** 2003. Identification, occurrence and pathogenicity of *Rhizopycnis vagum* on muskmelon in Spain. *Plant Pathology* **52**: 68-73.
- Armstrong, G.N., and Armstrong, J.K.** 1978. Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilts of the cucurbitaceae. *Phytopathology* **68**: 19-28.
- Babadoost, M.** 2002. Plectosporium blight of pumpkins, a new fungal disease in Illinois. *Phytopathology* **92**: s5.
- Baixauli, C.** 2002. Resultados de experiencias con variedades cultivadas en sandía. En "El cultivo de la sandía". Maroto, J.V., Miguel, A. y Pomares, F., Eds. Fundación Caja Rural Valencia, Ediciones Mundi-Prensa. pp 65-80.
- Batten, J.S., Scholthof, K.G., Lovic, B.R., Miller, M.E., and Martyn, R.D.** 2000a. Potential for biocontrol of *Monosporascus* root rot/vine decline under greenhouse conditions using hypovirulent isolates of *Monosporascus cannonballus*. *European Journal of Plant Pathology* **106**: 639-649.
- Batten, J.S., Scholthof, K.G., Miller, M.E., and Martyn, R.D.** 2000b. cDNA probes for detection of specific dsRNAs from the fungal pathogen, *Monosporascus cannonballus*. *Journal of Virological Methods* **84**(2): 209-215.
- Bell, D. K. and Sumner, D. R.** 1987. Survival of *Rhizoctonia solani* and other soilborne Basidiomycetes in fallow soil. *Plant Disease*. **71**: 911-915.
- Biernacki, M., and Bruton, B.D.** 2001. Quantitative response of *Cucumis melo* inoculated with root rot pathogens. *Plant Disease* **85**: 65-70.
- Blancard, D., Lecoq, H., y Pitrat, M.** 1991. Enfermedades de las cucurbitáceas: observar, identificar, luchar. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España. 301 pp.

- Bockus, W.W., and Webster, R.K.** 1979. Decline in numbers and inoculum potential of *Sclerotium oryzae* in field soil. *Phytopathology* **69**: 389-392.
- Booth, C.** 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Press. The Eastern Press Limited. London and Reading. 237pp.
- Bruton, B.D.** 1995. Optimum CFU concentrations for testing pathogenicity of California cucurbit isolates of *Monosporascus cannonballus*. *Phytopathology* **85**: 1119.
- Bruton, B.D.** 1996. Phomopsis black root rot of cucumber. In: Zitter, T.A., Hopkins, D.L., and Thomas, C.E., Eds: Compendium of cucurbit diseases. APS. 19 p.
- Bruton, B.D.** 1998. Soilborne diseases in cucurbitaceae: pathogen virulence and host resistance. In: McCreight, J., Eds: Cucurbitaceae'98. American Society of Horticultural Science Press, Alex., Va. 143-166 pp.
- Bruton, B.D., Biles, C.L., Cluck, T.W., and García-Jiménez, J.** 1996a. Fungal enzymes associated with selected vine decline pathogens of cantaloupe. *Phytopathology* **86**(11): s104.
- Bruton, B.D., Davis, R.M., and Gordon, T.R.** 1995. Occurrence of *Acremonium* sp. and *Monosporascus cannonballus* in the major cantaloupe and watermelon growing areas of California. *Plant Disease* **79**(7): 754.
- Bruton, B.D., García-Jiménez, J., and Armengol, J.** 1999. Analysis of the relationship between temperature and vine declines caused by *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on muskmelon. *Subtropical Plant Science* **51**: 23-28.
- Bruton, B.D., García-Jiménez, J., Armengol, J., y Martínez-Ferrer, G.** 1996b. Colapso del melón en las provincias del Este y del Sur de España. Resúmenes del VIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología: 124. Córdoba. Septiembre 1996.

- Bruton, B.D., García-Jiménez, J., Armengol, J., and Popham, T.W.** 2000a. Assessment of virulence of *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosporascus cannonballus* on *Cucumis melo*. *Plant Disease* **84**: 907-913.
- Bruton, B.D., Jeger, M.J., and Reuveni, R.** 1987. *Macrophomina phaseolina* infection and vine decline in cantaloupe in relation to planting date, soil environment, and plant maturation. *Plant Disease* **71**: 259-263.
- Bruton, B.D., and Miller, M.E.** 1996a. Occurrence of vine decline diseases of muskmelon in Guatemala. *Plant Disease* **81**: 694.
- Bruton, B.D., and Miller, M.E.** 1996b. Occurrence of vine decline diseases of melons in Honduras. *Plant Disease* **81**: 696.
- Bruton, B.D., Popham, T.W., García-Jiménez, J., Armengol, J., and Miller, M.E.** 2000b. Disease reaction among selected Cucurbitaceae to an *Acremonium cucurbitacearum* isolate from Texas. *Hort Science* **35**(4): 677-680.
- Bruton, B.D., Russo, V.M., García-Jiménez, J., and Miller, M.E.** 1998a. Carbohydrate partitioning, cultural practices, and vine decline diseases of cucurbits. In: Cucurbitaceae '98. McCreight, J., Ed. American Society of Horticultural Science Press, Alex., Va. 189-2009-pp.
- Bruton, B.D., and Wann, E.V.** 1996. Charcoal rot. In: Zitter, T.A., Hopkins, D.L., and Thomas, C.E., Eds: Compendium of cucurbit diseases. APS. 9-11 pp.
- Bruton, B.D., Zhang, J.X., Howell, C.R., and Miller, M.E.** 1998b. Evaluation of *Trichoderma virens* as a potential biocontrol agent of *Monosporascus cannonballus* in muskmelon. *Phytopathology* **88**: s12.



- Buzi, A., Chilosi, G., Reda, R., e Magro, P.** 2004. Il collasso da *Monosporascus cannonballus*: emergenza fitopatologica su melone e cocomero. *Culture Protette* **33**(12): 85-87.
- Campbell, C.L. and Madden, L.V.** 1990. Introduction to plant disease epidemiology. Wiley-Interscience Publication. New York. 532 pp.
- Campbell, C.L. and van der Gaag, D.** 1993. Temporal and spatial dynamics of *Macrophomina phaseolina* in three fields in North Carolina over four to five years. *Phytopathology* **83**: 1434-1440.
- Champaco, E.R., Martyn, R.D., and Miller, M.E.** 1993. Comparison of *Fusarium solani* and *F. oxysporum* as causal agents of fruit rot and root rot of muskmelon. *Hort Science* **28**: 1174-1177.
- Cintas, N. A. and Webster, R. K.** 2001. Effects of rice straw management on *Sclerotium oryzae* inoculum, stem rot severity, and yield of rice in California. *Plant Disease* **85**: 1140-1144.
- Cohen, R., Burger, Y., Horev, C., Porat, A., and Edelstein, M.** 2005. Performance of Galia-type melons grafted on to *Cucurbita* rootstock in *Monosporascus cannonballus*-infested and non-infested soils. *Annals of Applied Biology* **146**: 381-387.
- Cohen, R., Elkind, Y., Burger, Y., Offenbach, R., and Nerson, H.** 1996. Variation in the response of melon genotypes to sudden wilt. *Euphytica* **87**: 91-95.
- Cohen, R., Horev, C., Burger, Y., Shriber, S., Hershenhorn, J., Katan, J., and Edelstein, M.** 2002. Horticultural and pathological aspects of *Fusarium* wilt management using grafted melons. *Hort Science* **37**(7): 1069-1073.

- Cohen, R., Pivonia, S., Burger, J., Edelstein, M., Gamliel, A., and Katan, J.** 2000. Toward integrated management of *Monosporascus* wilt of melons in Israel. *Plant Disease* **84**(5): 496-505.
- Cohen, R., Pivonia, S., Shtienberg, D., Edelstein, M., Raz, D., Gerstl, Z., and Katan, J.** 1999. Efficacy of fluazinam in suppression of *Monosporascus cannonballus*, the causal agent of sudden wilt of melons. *Plant Disease* **83**: 1137-1141.
- Cohen, R., Pivonia, S., Shtienberg, D., Raz, D., Shraiber, S., Gerstl, Z., and Katan, J.** 1997. Chemical control of *Monosporascus*, the causal agent of the root rot and vine decline disease of melon. *Phytoparasitica* **25**: 3.
- Cohen, R., Schreiber, S., and Nerson, H.** 1995. Response of melofon breeding lines to powdery mildew, downy mildew, Fusarium wilt and sudden wilt. *Plant Disease* **79**(6): 616-619.
- Collado, J., González, A., Platas, G., Stchigel, A.M., Guarro, J., and Peláez, F.** 2002. *Monosporascus ibericus* sp. nov., and endophytic ascomycete from plants on saline soils, with observations on the position of the genus based on sequence analysis of the 18S rDNA. *Mycological Research* **106**(3): 118-127.
- Crosby, K.** 2000. Narrow-sense heritability estimates for root traits and *Monosporascus cannonballus* tolerance in melon (*Cucumis melo*) by parent-offspring regression. *Acta Horticulturae* **510**: 149-154.
- Crosby, K., Wolff, D., and Miller, M.E.** 2000. Comparisons of root morphology in susceptible and tolerant melon cultivars before and after infection by *Monosporascus cannonballus*. *Hort Science* **35**(4): 681-683.
- Dhingra, O.D., and Sinclair, J.B.** 1974. Survival of *Macrophomina phaseolina* sclerotia in soil: effects of soil moisture, carbon:nitrogen ratios, carbon sources and nitrogen concentration. *Phytopathology* **65**: 236-240.

- Dhingra, O.D., and Sinclair, J.B.** 1995. Basic Plant Pathology methods. Ed. Lewis Publishers. Boca Raton. Florida (USA). 355 pp.
- Dias, R.S., Picó, B., Adalid, A.M., Herraiz, J., Espinós, A., and Nuez, F.** 2001. Field resistance to melon vine decline in wild accessions of *Cucumis* spp. and in a Spanish accession of *Cucumis melo*. *Cucurbit Genetics Cooperative* **24**: 23-25.
- Dias, R.S., Picó, B., Espinós, A., and Nuez, F.** 2004. Resistance to melon vine decline derived from *Cucumis melo* ssp. *agrestis* genetic analysis of root structure and root response. *Plant Breeding* **123**: 1-7.
- Dias, R.S., Picó, B., Herraiz, J., Espinós, A., and Nuez, F.** 2002. Modifying root structure of cultivated muskmelon to improved vine decline resistance. *Hort Science* **37**(7): 1092-1097.
- Dillard, H.R., Cobb, A.C., Shah, D.A., and Straight, K.E.** 2005. Identification and characterization of russet on snap beans caused by *Plectosporium tabacinum*. *Plant Disease* **89**(7): 700-704.
- Domsch, K.H., and Gams, W.** 1972. Fungi in agricultural soils. Ed. Longman, London.
- Edelstein, M. Cohen, R., Burger, Y., Shriber, S., Pivonia, S., and Shtienberg, D.** 1999. Integrated management of sudden wilt in melons, caused by *Monosporascus cannonballus*, using grafting and reduced rates of methyl bromide. *Plant Disease* **83**(12): 1142-1145.
- Edelstein, M., Burger, Y., Horev, C., Porat, A., Meir, A., and Cohen, R.** 2004. Assessing the effect of genetic and anatomic variation of *Cucurbita* rootstocks on vigour, survival and yield of grafted melons. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* **79**(3): 370-374.

- Esquinas-Alcázar, J.T., and Gulick, P.J.** 1983. Genetic resources of cucurbitaceae. Ed. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy. 101 pp.
- FAO** 1998. World reference base for soil resources. Food and Agriculture Organization, Roma: 88pp.
- FAO** 2005. Datos Agrícolas de FAOSTAT. <http://www.fao.org>
- Farr, D.F., Miller, M.E., and Bruton, B.D.** 1998. *Rhizopycnis vagum* gen. et sp. nov., a new coelomycetous fungus from roots of melons and sugarcane. *Mycologia* **90**(2): 290-296.
- Gálvez, A.** 2000. Estudios sobre la patogenicidad de cepas de *Monosporascus cannonballus* Pollack et Uecker aisladas de melón. Histopatología del ataque a raíz de melón. Trabajo Fin de Carrera. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Valencia.
- García-Jiménez, J.** 1991. Consideraciones sobre la etiología y el control del colapso del melón. *Phytoma España* **30**: 45-54.
- García-Jiménez, J.** 1994. Decaimiento de ramas por *Macrophomina* (*M. phaseolina*). En: Díaz-Ruíz, J.R., y García-Jiménez, J. Enfermedades de las cucurbitáceas en España. Ed: Phytoma-España, 155 pp.
- García-Jiménez, J., Armengol, J., y Martínez-Ferrer, G.** 1994a. Acremoniosis. En: Díaz-Ruíz, J.R., y García-Jiménez, J. Enfermedades de las cucurbitáceas en España. Ed: Phytoma-España, 155 pp.
- García-Jiménez, J., Armengol, J., y Martínez-Ferrer, G.** 1994b. Puntos negros de las raíces de melón y sandía. En: Díaz-Ruíz, J.R., y García-Jiménez, J. Enfermedades de las cucurbitáceas en España. Ed: Phytoma-España, 155 pp.

- García-Jiménez, J., Armengol, J., Martínez-Ferrer, G., Velázquez, M<sup>e</sup>.T., y Alfaro, A.** 1992. Evolución del aspecto de la raíz de melón y de su micoflora asociada en una parcela afectada de muerte súbita. *Phytoma España* **41**: 13-18.
- García-Jiménez, J., Armengol, J., Sales, R., Jordá, C., and Bruton, B.D.** 2000. Fungal pathogens associated with melon collapse in Spain. *Bulletin-OEPP* **30**: 169-173.
- García-Jiménez, J., Martínez-Ferrer, G., Armengol, J., Velásquez, M<sup>e</sup>.T., Orts, M., Juárez, M., Ortega, A., Jordá, C., y Alfaro-García, A.** 1993. Agentes asociados al "colapso" del melón en distintas zonas españolas. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* **19**: 401-423.
- García-Jiménez, J., y Velázquez, M.T.** 1990. Detección de la muerte súbita del melón en estado de plántula: importancia y perspectivas de control de la enfermedad. *Agrícola Vergel* **99**: 159-162.
- García-Jiménez, J., Velázquez, M<sup>e</sup>.T., y Alfaro, A.** 1989. Secuencia de síntomas en el colapso del melón. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* **4**: 333-342.
- García-Jiménez, J., Velázquez, M.T., Esteras, F.J., Martínez-ferrer, G., Llaudó, E., Marhuenda, J.L., Orts, M., y Rodrigo, A.** 1990c. Papel de las plantas adventicias y cultivadas como huéspedes alternativos de *Acremonium* sp., agente causal de la muerte súbita del melón. *Phytoma España* **24**: 21-26.
- García-Jiménez, J., Velázquez, M.T., García-Morató, M., y Alfaro, A.** 1990a. Perspectivas de control de la muerte súbita del melón mediante tratamientos funguicidas. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* **16**: 691-699.
- García-Jiménez, J., Velázquez, M.T., García-Morató, M., y Alfaro, A.** 1990b. Ensayos preliminares de control de la muerte súbita del melón mediante la

utilización de portainjertos resistentes. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* **16**: 709-715.

**García-Jiménez, J., Velázquez, M.T., Jordá, C., and Alfaro-García, A.** 1994c. *Acremonium* species as the causal agent of muskmelon collapse in Spain. *Plant Disease* **78**(4): 416-419.

**Gennari, S., Mirotti, A., e Sportelli, M.** 1999. Reperimento di *Monosporascus cannonballus* da piante di cocomero. *Informatore Fitopatologico* **1-2**: 38-40.

**Ghignone, S., Mariani, C., Tamietti, G., Infantino, A., Pucci, N., Montuschi, C., and Girlanda, M.** 2002. Identification and characterization of *Rhizopycnis vagum* isolates of different origin. *Journal of Plant Pathology* **84**(3): 182.

**Ghignone, S., Tamietti, G., and Girlanda, M.** 2003. Development of specific PCR primers for identification and detection of *Rhizopycnis vagum*. *European Journal of Plant Pathology* **109**: 861-870.

**Gilligan, C. A.** 1994. Temporal aspects of the development of root disease epidemics. En: *Epidemiology and Management of Root Diseases*. C. L. Campbell and D. M. Benson, Eds. Springer-Verlag, Berlin, Alemania, 148-194pp.

**Gomis, M.D., Grondona, I., García-Jiménez, J., y Monte, E.** 1996. Control biológico de *Acremonium cucurbitacearum* en cultivos de melón: selección de antagonistas. Resúmenes del VIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología: 211. Córdoba. Septiembre 1996.

**González-Torres, R., Melero, J.M., Gómez-Vázquez, J., y Jiménez-Díaz, R.** 1994. Fusariosis vasculares del melón y de la sandía (*Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* y *F. oxysporum* f.sp. *niveum*). En: Díaz-Ruíz, J.R., y García-Jiménez, J. *Enfermedades de las cucurbitáceas en España*. Ed: Phytoma-España, 155 pp.

- Griffin, D.M.** 1972. Ecology of Soil Fungi. Ed: Chapman and Hall, London, UK. 193pp.
- Gubler, W.D.** 1996. Verticillium wilt. In: Zitter, T.A., Hopkins, D.L., and Thomas, C.E., Eds: Compendium of cucurbit diseases. APS. 22-23 pp.
- Hall, B.H., Jones, M.K., Wicks, T.J., Walker, G., and Barth, G.** 1996. First report of diseases of *Ixodia achillaeoides* in South Australia. *Australasian Plant Pathology* **25**(3): 215.
- Hall, T.J., Larsen, P.O., and Schmitthenner, A.F.** 1980. Survival of *Pythium aphanidermatum* in golf course turfs. *Plant Disease* **64**: 1100-1103.
- Hanlin, R.T.** 1998. Illustrated genera of ascomycetes. Volume II. APS Press, Minnesota, USA. 258 pp.
- Hawksworth, D.L., and Ciccarone, A.** 1978. Studies on a species of *Monosporascus* isolated from *Triticum*. *Mycopathologia* **66**(3): 147-151.
- Heo, N.Y., Ryu, K.Y., Hyun, I.H., and Kwon, J.H.** 2001a. Occurrence and distribution of *Monosporascus* root rot and pathogenicity of *Monosporascus cannonballus* on Cucurbitaceae plants. *Research in Plant Disease* **7**(1): 11-15.
- Heo, N.Y., Ryu, K.Y., and Lee, Y.B.** 2001b. Cultural characteristic and ascospore density in soil of *Monosporascus cannonballus* on Cucurbitaceae plants. *Research in Plant Disease* **7**(1): 16-19.
- Iglesias, A., Picó, B, and Nuez, F.** 1999. *C. melo* ssp. *Agrestis*, Pat 81, an interesting genetic resource highly resistant to melon dieback. *Phytopathology* **89**: s35.

- Iglesias, A., Picó, B., and Nuez, F.** 2000a. A temporal genetic analysis of disease resistance genes: resistance to melon vine decline derived from *Cucumis melo* var. *agrestis*. *Plant Breeding* **119**: 329-334.
- Iglesias, A., Picó, B., and Nuez, F.** 2000b. Pathogenicity of fungi associated with melon vine decline and selection strategies for breeding resistant cultivars. *Annals of Applied Biology* **137**: 141-151.
- Infantino, A., Ciuffreda, G., Montuschi, C., Carlucci, A., Pucci, N., Savino, A., and Frisullo, S.** 2002a. Fungi associated with vine decline and root rots of cucurbits in Italy. *Journal of Plant Pathology* **84**(3): 183.
- Infantino, A., Uccelletti, A., Di Stefano, G., Ciuffreda, G., and Frisullo, S.** 2002b. First report of *Monosporascus cannonballus* on melon in Italy. *Journal of Plant Pathology* **84**(2): 139-140.
- Jiménez, P., and Zitter, T.A.** 2005. First report of *Plectosporium* blight on pumpkin and squash caused by *Plectosporium tabacinum* in New York. *Plant Disease* **89**(4): 432.
- Karlatti, R.S., Abdeen, F.M., and Al-Fehaid, M.S.** 1997. First report of *Monosporascus cannonballus* on melons in Saudi Arabia. *Plant Disease* **81**: 1215.
- Katan, J.** 2000. Physical and cultural methods for the management of soil-borne pathogens. *Crop Protection* **19**: 725-731.
- Krikun, J.** 1985. Observations on the distribution of the pathogen *Monosporascus eutypoides* as related to soil temperature and fertigation. *Phytoparasitica* **13**: 3-4.
- Kim, D.H., Stanghellini, M.E., Waugh, M.M., and Mayberry, K.S.** 2001. Vine decline of melons caused by *Monosporascus cannonballus*: II. Postplant disease management strategies. *Phytopathology* **91**: s48.



- Kwon, M.K., Hong, J.R., Kim, Y.H., and Kim, K.C.** 2001. Soil-environmental factors involved in the development of root rot/vine on cucurbits caused by *Monosporascus cannonballus*. *Plant Pathology Journal* **17**(1): 45-51.
- Lee, J.M.** 1994. Cultivation of grafted vegetables. I. Current status, grafting methods, and benefits. *Hort Science* **29**(4): 235-239.
- Lee, J.H.** 2003. Effect of fruit removal on carbohydrate concentrations of cantaloupe (*Cucumis melo* L.) roots in naturally infested soil with *Monosporascus cannonballus*. Tesis Doctoral. Universidad de Texas.
- Lobo, M.** 1990a. Nuevas consideraciones sobre la muerte súbita del melón. *Phytoma España* **17**: 29-35.
- Lobo, M.** 1990b. Colapso del melón producido por hongos del género *Monosporascus*. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* **16**: 701-707.
- Lobo, M.** 1991. Las graves alteraciones de melonares y sandiares. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* **17**: 133-163.
- Lovic, B.R., Martyn, R.D., y Lobo, M.** 1996. Agresividad de los aislados españoles de *Monosporascus cannonballus*. Resúmenes del VIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología: 139. Córdoba. Septiembre 1996.
- Lovic, B.R., Martyn, R.D., and Miller, M.E.** 1993. Pathogenicity of *Monosporascus cannonballus* as related to colony characteristics and geographic origin. *Phytopathology* **83**(4): 466.
- Lovic, B.R., Martyn, R.D., and Miller, M.E.** 1995. Sequence analysis of the ITS regions of rDNA in *Monosporascus* spp. to evaluate its potential for PCR-mediated detection. *Phytopathology* **85**(6): 655-661.

- Lovic, B.R., Valadez, V.A., Martyn, R.D., and Miller, M.E.** 1995. Detection and identification of *Monosporascus* spp. With genus-specific PCR primers and nonradioactive hybridisation probes. *Plant Disease* **79**: 1169-1175.
- Malloch, D., and Cain, R.F.** 1971. New destothelial Sordariaceae and a new family, Coniochaetaceae. *Canadian Journal of Botany* **49**: 869-880.
- Mansour, I.M., El Zayat, M.M., Moursy, M.A., Abdel-Fattah, M.N.D., and El Sayed, M.B.F.** 1990. Host specific toxins of certain leaf spot, stalk and root rot fungi infecting cereal forage crops. *Annals of Agriculture Science, Moshtohor* **28**(3): 1539-1556.
- MAPA.** 2003. Anuario de Estadística Agroalimentaria. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid. 697 pp.
- Marinho, R.E.M., Sales, R., Maracajá, P.B., da Silva, G.F., da Costa, F.M., e de Carvalho-Silva, E.** 2002. Identificação da micoflora associada a raízes de meloeiro nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará. *Coatinga* **15**: 25-28.
- Maroto, J.V.** 1994. El cultivo de las cucurbitáceas en España. En: Díaz-Ruíz, J.R., y García-Jiménez, J. Enfermedades de las cucurbitáceas en España. Ed: Phytoma-España, 155 pp.
- Maroto, J.V.** 2002a. Horticultura herbácea especial. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España. 702 pp.
- Maroto, J.V.** 2002b. Botánica (taxonomía y fisiología) y adaptabilidad de la sandía. En: Maroto, J.V., Miguel, A., y Pomares, F. 2002. El cultivo de la sandía. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España. 322 pp.
- Martínez-Culebras, P.V., Abad-Campos, P., and García-Jiménez, J.** 2004. Molecular characterization and PCR detection of the melon pathogen *Acremonium cucurbitacearum*. *European Journal of Plant Pathology* **110**: 801-809.

- Martínez-Ferrer, G., Alfaro, A., y García-Jiménez, J.** 1991. Eficacia de diversos funguicidas frente a *Acremonium* sp., agente causal de la muerte súbita del melón. *Investigación Agraria: Producción y Protección Vegetales* **6**(3): 387-410.
- Martyn, R.D.** 1996. Fusarium crown and foot rot of squash. In: Zitter, T.A., Hopkins, D.L., and Thomas, C.E., Eds: Compendium of cucurbit diseases. APS. 16-17 pp.
- Martyn, R.D., Batten, J.S., Park, Y.J., and Miller, M.E.** 1996a. First report of *Monosporascus* root rot/vine decline of watermelon in Mexico. *Plant Disease* **80**: 1430.
- Martyn, R.D., Lovic, B.R., Maddox, D.A., Germash, A., and Miller, M.E.** 1994. First report of *Monosporascus* root rot/vine decline of watermelon in Tunisia. *Plant Disease* **78**(12): 1220.
- Martyn, R.D., Lovic, B.R., and Miller, M.E.** 1993a. Evidence that *Monosporascus cannonballus* and *M. eutypoides* may be synonymous. *Plant Disease* **12**: 1347
- Martyn, R.D., Mertely, J.C., Lovic, B.R., and Miller, M.E.** 1993b. Susceptibility of the cucurbitaceae to *Monosporascus cannonballus* under simulated field conditions. *Phytopathology* **83**(4): 467.
- Martyn, R.D., Mertely, J.C., Miller, M.E., Katsar, C., and Baasiri, R.** 1992. Morphology and germination of *Monosporascus cannonballus* ascospores. *Phytopathology* **82**: 1115.
- Martyn, R.D., and Miller, M.E.** 1996. *Monosporascus* root rot and vine decline: an emerging disease of melons worldwide. *Plant Disease* **80**(7): 716-725.

- Martyn, R.D., Park, Y., Lovic, B.R., and Miller, M.E.** 1996b. The role of double stranded RNA (dsRNA) in the growth and virulence of the melon pathogen, *Monosporascus cannonballus*. *Cucurbit Towards 2000*: 269-279.
- Mertely, J.C., Martyn, R.D., Miller, M.E., and Bruton, B.D.** 1991. Role of *Monosporascus cannonballus* and other fungi in a root rot/vine decline disease of muskmelon. *Plant Disease* **75**: 1133-1137.
- Mertely, J.C., Martyn, R.D., Miller, M.E., and Bruton, B.D.** 1993a. An expanded host range for the muskmelon pathogen *Monosporascus cannonballus*. *Plant Disease* **77**: 667-673.
- Mertely, J.C., Martyn, R.D., Miller, M.E., and Bruton, B.D.** 1993b. Quantification of *Monosporascus cannonballus* ascospores in three commercial muskmelon fields in South Texas. *Plant Disease* **77**: 766-771.
- Messiaen, C.M., Blancard, D., Rouxel, F., et Lafon, R.** 1991. Les maladies des plantes maraichères. INRA, Paris, France. 552 pp.
- Miguel, A.** 2002. Injerto. En: Maroto, J.V., Miguel, A., y Pomares, F. 2002. El cultivo de la sandía. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España. 322 pp.
- Miguel, A., y Cebolla, V.** 2005. Unión del injerto. *Terralia* **53**: 50-60.
- Miller, M.E., and Amador, J.** 2001. Efficacy of drip irrigation applications of fludioxonil for control of *Monosporascus* root rot and vine decline, *Phytopathology* (Suppl.) **91**(6):s199.
- Miller, M.E., Bruton, B.D., and Farr, D.F.** 1996. Association of a *Stagonospora*-like fungus on roots of melons exhibiting vine decline symptoms. *Phytopathology* (Suppl.) **86**: s3.
- Miller, M.E., Martyn, R.D., and Bruton, B.D.** 1992. Yield of muskmelon (*Cucumis melo*) as affected by fumigants in fields infested with *Monosporascus cannonballus*. *Phytopathology* **82**(10): 1091.

- Minuto, G., Minuto, A., Gullino, M.L., e Garibaldi, A.** 2002. Evoluzione dei problemi fitopatologici nelle colture orticole e implicazioni per la difesa. *Informatore Fitopatologico* **9**: 18-25.
- Montuschi, C.** 2002. Collasso delle cucurbitacee: una malattia da indagare. *Agricoltura* **30**(4): 31-33.
- Morra, L.** 1998. Potenzialità e limiti dell'innesto in orticoltura. *L'Informatore Agrario* **49**: 39-42.
- Mullen, J.M., and Sikora, E.J.** 2003. First report of *Plectosporium* blight on pumpkin caused by *Plectosporium tabacinum* in Alabama. *Plant Disease* **87**(6): 749.
- Nagao, H., Sato, K., and Ogiwara, S.** 1994. Susceptibility of *Cucurbita* spp. to the cucurbit root-rot fungus, *Fusarium solani* f.sp. *cucurbitae* race 1. *Agronomie* **2**: 95-102.
- Nischwitz, C., Olsen, M., and Rasmussen, S.** 2004. Effect of irrigation type on inoculum density of *Macrophomina phaseolina* in melon fields in Arizona. *Journal of Phytopathology* **152**: 133-137.
- Nuez, F. y Esteva, J.** 1994. Fuentes de resistencia a enfermedades en cucurbitáceas. En: Díaz-Ruíz, J.R., y García-Jiménez, J. Enfermedades de las cucurbitáceas en España. Ed: Phytoma-España, 155 pp.
- Odet, J.** 1985. Le melon. Ctifl, Bayeux, France. 295 pp.
- Palm, M.E., Gams, W., and Nirenberg, H.I.** 1995. *Plectosporium*, a new genus for *Fusarium tabacinum*, the anamorph of *Plectosphaerella cucumerina*. *Mycologia* **87**(3): 397-406.

- Pardo, J.L.** 2002. Material vegetal y semilleros. En "El cultivo de la sandía". Maroto, J.V., Miguel, A. y Pomares, F., Eds. Caja Fundación Rural Valencia, Ediciones Mundi-Prensa. pp 51-62.
- Park, R.D., Jo, K.J., Jo, Y.Y., Jin, Y.L., Kim, K.Y., Shim, J.H., and Kim, Y.W.** 2000. Variation of antifungal activities of chitosans on plant pathogens. *Journal of Microbiology and Biotechnology* **12**(1): 84-88.
- Pegg, G.F., and Brady, B.L.** 2002. Verticillium wilts. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK. 552 pp.
- Pérez-Piqueres, A.** 2002. Caracterización y análisis filogenético de *Plectosporium tabacinum* (van Beyma) M.E. Palm, W. Gams et Nirenberg. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Peterek, S.A., Kuti, J.O., Miller, M.E., and Bruton, B.D.** 1998. Cucurbitacin content in muskmelon roots infected with *Monosporascus cannonballus*. *Phytopathology* **88**(9): s70.
- Pivonia, S., Cohen, R., Cohen, S., Kigel, J., Levita, R., and Katan, J.** 2004. Effect of irrigation regimes on disease expression in melon plants infected with *Monosporascus cannonballus*. *European Journal of Plant Pathology* **110**: 155-161.
- Pivonia, S., Cohen, R., Kafkafi, U., Ben Ze'ev, I.S., and Katan, J.** 1997. Sudden wilt of melons in southern Israel: fungal agents and relationship with plant development. *Plant Disease* **81**(11): 1264-1268.
- Pivonia, S., Cohen, R., Katan, J., and Kigel, J.** 2002a. Effect of fruit load on the water balance of melon plants infected with *Monosporascus cannonballus*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **60**: 39-49.
- Pivonia, S., Cohen, R., Kigel, J., and Katan, J.** 2002b. Effect of soil temperature on disease development in melon plants infected by *Monosporascus cannonballus*. *Plant Pathology* **51**: 472-479.

- Pivonia, S., Cohen, R., Levita, R., and Katan, J.** 2002c. Improved solarization of containerized medium for the control of *Monosporascus* collapse in melon. *Crop Protection* **21**: 907-912.
- Polizzi, G., Catara, V., e Catara, A.** 2002. Difesa delle specie orticole con speciale riferimento all'Italia meridionale. *Informatore Fitopatologico* **9**: 26-32.
- Pollack, F.G., and Uecker, F.A.** 1974. *Monosporascus cannonballus*: an unusual ascomycete in cantaloupe roots. *Mycologia* **66**: 346-349.
- Porta-Puglia, A., Pucci, N., Di Giambattista, G., and Infantini, A.** 2001. First report of *Rhizopycnis vagum* associated with tomato roots in Italy. *Plant Disease* **85**(11): 1210.
- Pullman, G. S. and DeVay, J.E.** 1981. Effect of soil flooding and paddy rice culture on the survival of *Verticillium dahliae* and incidence of Verticillium wilt in cotton. *Phytopathology* **71**: 1285-1289.
- Radewald, K.C., Ferrin, D.M., and Stanghellini, M.E.** 2004. Sanitation practices that inhibit reproduction of *Monosporascus cannonballus* in melon roots left in the field after crop termination. *Plant Pathology* **53**: 660-668.
- Radewald, K.C., Stanghellini, M.E., Kim, D.H., Waugh, M.M., Mayberry, K.S., and Turini, T.** 2001. Vine-dedine of melons caused by *Monosporascus cannonballus*: III. Post-harvest disease management strategies. *Phytopathology* **91**: s74 (abstract).
- Rekah, Y., Shtienberg, D., and Katan, J.** 1999. Spatial distribution and temporal development of Fusarium crown and root rot of tomato and pathogen dissemination in field soil. *Phytopathology* **89**: 831-839.

- Reuveni, R., Krikun, J., Nachmias, A., and Shlevin, E.** 1982. The role of *Macrophomina phaseolina* in a collapse of melon plants in Israel. *Phytoparasitica* **10**: 51-56.
- Reuveni, R., Krikun, J., and Shani, U.** 1983. The role of *Monosporascus eutypoides* in a collapse of melon plants in an arid area of Israel. *Phytopathology* **73**: 1223-1226.
- Rivero, R.M., Ruiz, J.M., and Romero, L.** 2003. Role of grafting in horticultural plants under stress conditions. *Food, Agriculture & Environment* **1**(1): 70-74.
- Robinson, R.W., and Decker-Walters, D.S.** 1997. Cucurbits. Ed. CAB International, Bristol, UK. 226 pp.
- Rodríguez, R.** 1994. Podredumbre negra de las raíces del pepino (*Phomopsis sclerotoides*). En: Díaz-Ruiz, J.R., y García-Jiménez, J. Enfermedades de las cucurbitáceas en España. Ed: Phytoma-España, 155 pp.
- Rubio, J.L., Sánchez, J., and Forteza, J.** 1995. Mapa de suelos de la Comunidad Valenciana. Sagunto, nº 668. Generalitat Valenciana. Valencia
- Sales, R.** 1999. Secuencia del ataque de patógenos fúngicos a raíz de melón. Histopatología de la infección por *Acremonium cucurbitacearum* Alfarogarcía, W. Gams et J. García-Jiménez. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Sales, R., Armengol, J., Vicent, A. y García-Jiménez, J.** 2001. Evaluación de daños en raíces de melón y sandía y frecuencia de aislamiento de *Acremonium cucurbitacearum* y *Monosporascus cannonballus* en una parcela afectada de colapso. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* **27**: 177-183.
- Sales Jr., R., Bezerra do Nascimento, I.J., de Souza Freitas, L., Beltrán, R., Armengol, J., Vicent, A., and García-Jiménez, J.** 2004. First report



of *Monosporascus cannonballus* on melon in Brazil. *Plant Disease* **88**(1): 84.

**Sales, R., de Oliveira, O.F., Senhor, R.F., e Alves, M.Z.** 2003. *Monosporascus cannonballus* agente causal do colapso em plantas de melão no Rio Grande do Norte, Brasil. *Fitopatologia Brasileira* **28**(5): 567.

**Sales, R., Vicent, A., Armengol, J., García-Jiménez, J., e Kobori, R.F.** 2002. Comportamento de cultivares de meloeiro e melancia inoculados com *Acremonium cucurbitacearum* e *Monosporascus cannonballus*. *Fitopatologia Brasileira* **27**(2): 206-210.

**Sanz, L., Sales, R., Armengol, J., Monte, E., García-Jiménez, J.m y Grondona, I.** 1998. Antagonismo de *Trichoderma* spp. frente a *Monosporascus* sp. y *Acremonium cucurbitacearum* causantes de colapso en melón. Resúmenes del IX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología: 287. Salamanca. Octubre 1998.

**Sato, M., Watanabe, T., Furuki, L., and Morite, H.** 1995. Root rot of melon caused by *Nodulisporium melonis* in Japan. 1. Occurrence, symptoms, isolation and pathogenicity. *Annals of Phytopathology Society of Japan* **61**: 325-329.

**Schippers, B, and Gams, W.** 1979. Soil-borne plant pathogens. Academic Press. London. 686pp.

**Sivanesan, A.** 1991a. *Monosporascus cannonballus*. *Mycopathologia* **114**: 53-54.

**Sivanesan, A.** 1991b. *Monosporascus eutypoides*. *Mycopathologia* **114**: 55-56.

**Stanghellini, M.E., Ferrin, D.M., Kim, D.H., Waugh, M.M., Radewald, K.C., Sims, J.J., Ohr, H.D., Mayberry, K.S., Turini, T., and McCaslin, M.A.** 2003. Application of preplant fumigants via drip irrigation systems for the

management of root rot of melons caused by *Monosporascus cannonballus*. *Plant Disease* **87**(10): 1176-1178.

**Stanghellini, M.E., Kim, D.H., and Rasmussen, S.L.** 1996. Ascospores of *Monosporascus cannonballus*: germination and distribution in cultivated and desert soils in Arizona. *Phytopathology* **86**: 509-514.

**Stanghellini, M.E., Kim, D.H., and Waugh, M.** 2000. Microbe-mediated germination of ascospores of *Monosporascus cannonballus*. *Phytopathology* **90**: 243-247.

**Stanghellini, M.E., Kim, D.H., Waugh, M.M., Ferrin, D.M., Alcantara, T., and Rasmussen, S.L.** 2004a. Infection and colonization of melon roots by *Monosporascus cannonballus* in two cropping seasons in Arizona and California. *Plant Pathology* **53**: 54-57.

**Stanghellini, M.E., Kim, D.H., Waugh, M.M., Radewald, K.C., Sims, J.J., Ohr, H.D., Mayberry, K.S., Turini, T., and McCaslin, M.A.** 2001. Vine decline of melons caused by *Monosporascus cannonballus*: I. Preplant disease management strategies. *Phytopathology* **91**: s84.

**Stanghellini, M.E., and Rasmussen, S.L.** 1992. A quantitative method for the recovery of ascospores of *Monosporascus cannonballus* from field soil. *Phytopathology* **82**: 1115.

**Stanghellini, M.E., Waugh, M.M., Radewald, K.C., Kim, D.H., Ferrin, D.M., and Turini, T.** 2004b. Crop residue destruction strategies that enhance rather than inhibit reproduction of *Monosporascus cannonballus*. *Plant Pathology* **53**: 50-53.

**Stipanovic, R.D., Zhang, J., Bruton, B.D., and Wheeler, M.H.** 2004. Isolation and identification of hexaketides from a pigmented *Monosporascus cannonballus* isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**: 4109-4112.

- Stravato, V.M., Farano, F., Campus, A. e Cappelli, C.** 2002. Malattie emergenti su cucurbitacee in provincia di Latina. *L'Informatore Agrario* **49**: 55-57.
- Tello, J.C., Gómez, J., Camporota, P., y Lacasa, A.** 1990. Capacidades parasitarias de *Pythium aphanidermatum* y de *Rhizoctonia solani* sobre pepino y melón. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* **16**: 733-741.
- Thomma, B.P.H.J., Eggermont, K., Brokaert, W.F., and Cammue, B.P.A.** 2000. Disease development of several fungi on *Arabidopsis* can be reduced by treatment with methyl jasmonate. *Plant Physiology and Biochemistry* **38**(5): 421-427.
- Traka-Mavrana, E., Koutsika-Sotirou, M., and Pritsa, T.** 2000. Response of squash (*Cucurbita* spp.) as rootstock for melon (*Cucumis melo* L.). *Scientia Horticulturae* **83**: 353-362.
- Troutman, J.L., and Matejka, J.C.** 1970. Three fungi associated with cantaloupe roots in Arizona. *Phytopathology* **60**: 1317.
- Tsay, J.G., Chen, R.S., and Tung, B.K.** 1999. Survival of *Monosporascus cannonballus* in the field soil. *Plant Pathology Bulletin* **8**(3): 121-124.
- Tsay, J.G., and Tung, B.K.** 1995. The occurrence of *Monosporascus* root rot/vine decline of muskmelon in Taiwan. *Plant Pathology Bulletin* **4**(1): 25-29.
- Tsay, J.G., and Tung, B.K.** 1997. Effects of *Monosporascus cannonballus* on the growth of cucurbit and solanaceous vegetable seedlings. *Plant Pathology Bulletin* **6**: 203-211.
- Uecker, F.A., and Pollack, F.G.** 1975. Development and cytology of *Monosporascus cannonballus*. *Botanical Gazette* **136**(3): 333-340.

- Uematsu, S., Hirota, K., Shiraishi, T., Ooizumi, T., Sekiyama, K., Ishikura, H., and Edagawa, Y.** 1992. Monosporascus root rot of bottle gourd stock of watermelon caused by *Monosporascus cannonballus*. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* **20**: 312-316.
- Uematsu, S., Onogi, S., and Watanabe, T.** 1985. Pathogenicity of *Monosporascus cannonballus* Pollack et Uecker in relation to melon root rot in Japan. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* **51**: 272-276.
- Uematsu, S., and Sekiyama, K.** 1990. Comparison of morphological characteristics and pathogenicity of *Monosporascus cannonballus* Pollack et Uecker collected in Japan, distribution in melon plants with root rot symptoms and survival in soils under laboratory conditions. *Soil Microorganisms* **35**: 7-12.
- Vicente, M.J., Cifuentes, D., Cenis, J.L., Abad-Campos, P.** 1999. RAPD-PCR polymorphism and vegetative compatibility group variation in Spanish isolates of *A. cucurbitacearum*. *Mycological Research* **103**(9): 1173-1178.
- Watanabe, T.** 1979. *Monosporascus cannonballus*, an ascomycete from wilted melon roots undescribed in Japan. *Transactions of the Mycological Society of Japan* **20**: 312-316.
- Watanabe, T., and Sato, M.** 1995. Root rot of melon caused by *Nodulisporium melonis* in Japan. 2. Identification. *Annals of Phytopathology Society of Japan* **61**: 330-333.
- Waugh, M.M., Ferrin, D.M., and Stanghellini, M.E.** 2005. Colonization of cantaloupe roots by *Monosporascus cannonballus*. *Mycological Research* **109**(1): 1297-1301.
- Waugh, M.M., Kim, D.H., Ferrin, D.M., and Stanghellini, M.E.** 2003. Reproductive potential of *Monosporascus cannonballus*. *Plant Disease* **87**: 45-50.

- Waugh, M.M., Stanghellini, M.E., and Kim, D.** 2000. Population dynamics of *Monosporascus cannonballus*. *Phytopathology* **90**(6): s82.
- Waugh, M.M., Stanghellini, M.E., and Kim, D.** 2001. Scanning electron microscopy of germinated ascospores of *Monosporascus cannonballus*. *Mycological Research* **105**(6): 745-748.
- Wheeler, M.H., Bruton, B.D., Puckhaber, L.S., Zhang, J., and Stipanovic, R.D.** 2004. Identification of 1,8-dihydroxynaphthalene melanin in *Monosporascus cannonballus* and the analysis of hexaketide and pentaketide compounds produced by wild-type and pigmented isolates of the fungus. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **52**: 4113-4120.
- Wicklow, D.T., Wilson, D.M., and Nelsen, T.C.** 1993. Survival of *Aspergillus flavus* sclerotia and conidia buried in soil in Illinois or Georgia. *Phytopathology* **83**: 1141-1147.
- Wolff, D.W.** 1996. Genotype, fruit load, and temperature affect *Monosporascus* root rot/vine decline symptom expression in melon. *Cucurbits Towards 2000: Proc. Seventh Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding*. CSIC. Málaga.
- Wolff, D.W., and Miller, M.E.** 1998. Tolerance to *Monosporascus* root rot and vine decline in melon (*Cucumis melo* L.) germplasm. *Hort Science* **33**(2): 287-290.
- Zapata, M., Cabrera, P., Bañón, S., y Roth, P.** 1989. El melón. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España. 174 pp.
- Zizzerini, A., and Tosi, L.** 1987. New sunflower disease caused by *Fusarium tabacinum*. *Plant Disease* **71**(11): 1043-1044.
- Zitter, T.A., Hopkins, D.L., and Thomas, C.E. (eds).** 1996. Compendium of cucurbit diseases. APS. St. Paul, Minnesota. 87pp.

## **IX. ANEXOS**

**IX.1. Anexo 1:** Datos de ascosporas por gramo de suelo (ags) obtenidos de los campos A, B, C y D de Almenara (apartado III) en líneas (L) y entrelíneas (E).

**FECHA:** 06/07/99

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,585	L1	0,736	L1	1,885	L1	1,498
L2	0,573	L2	0,422	L2	1,216	L2	1,43
L3	0,806	L3	0,368	L3	1,268	L3	1,424
E1	0,469	E1	0,473	E1	1,273	E1	1,281
E2	0,416	E2	0,315	E2	1,118	E2	1,237
E3	0,839	E3	0,369	E3	1,066	E3	1,216

**FECHA:** 20/08/99

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,678	L1	0,634	L1	1,84	L1	1,674
L2	0,678	L2	0,525	L2	1,585	L2	1,535
L3	0,781	L3	0,58	L3	1,369	L3	1,605
E1	0,525	E1	0,527	E1	1,489	E1	1,551
E2	0,574	E2	0,43	E2	1,421	E2	1,312
E3	0,782	E3	0,477	E3	1,371	E3	1,395

**FECHA:** 1/10/99

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,623	L1	0,732	L1	2,007	L1	2,355
L2	0,524	L2	0,524	L2	1,725	L2	1,774
L3	0,783	L3	0,43	L3	1,946	L3	2,283
E1	0,414	E1	0,575	E1	1,895	E1	1,807
E2	0,674	E2	0,375	E2	1,84	E2	1,998
E3	0,623	E3	0,373	E3	1,719	E3	1,871

**FECHA:** 12/11/99

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,976	L1	1,229	L1	2,429	L1	2,305
L2	0,904	L2	0,932	L2	2,182	L2	2,44
L3	1,221	L3	1,057	L3	2,638	L3	2,557
E1	1,138	E1	1,133	E1	2,039	E1	2,052
E2	1,036	E2	0,815	E2	2,463	E2	2,241
E3	1,007	E3	1,293	E3	2,142	E3	2,434

**FECHA:** 11/01/00

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	1,062	L1	1,054	L1	1,875	L1	2,049
L2	1,004	L2	0,904	L2	2,095	L2	2,147
L3	1,105	L3	0,987	L3	2,201	L3	2,068
E1	0,847	E1	0,917	E1	1,527	E1	1,841
E2	0,767	E2	0,758	E2	1,945	E2	1,597
E3	0,886	E3	0,973	E3	1,913	E3	1,893

FECHA: 11/02/00

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,705	L1	0,815	L1	1,81	L1	1,75
L2	0,708	L2	0,751	L2	1,949	L2	1,826
L3	0,747	L3	0,786	L3	1,882	L3	1,926
E1	0,747	E1	0,756	E1	1,343	E1	1,599
E2	0,496	E2	0,657	E2	1,786	E2	1,421
E3	0,663	E3	0,704	E3	1,675	E3	1,626

FECHA: 14/03/00

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,702	L1	0,656	L1	1,578	L1	1,41
L2	0,535	L2	0,493	L2	1,459	L2	1,525
L3	0,815	L3	0,769	L3	1,557	L3	1,578
E1	0,601	E1	0,6	E1	1,191	E1	1,27
E2	0,616	E2	0,703	E2	1,482	E2	1,249
E3	0,648	E3	0,599	E3	1,293	E3	1,421

FECHA: 11/04/00

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,682	L1	0,476	L1	1,333	L1	1,067
L2	0,636	L2	0,589	L2	1,331	L2	1,259
L3	0,578	L3	0,583	L3	1,288	L3	1,374
E1	0,573	E1	0,478	E1	0,995	E1	1,127
E2	0,425	E2	0,637	E2	1,241	E2	1,012
E3	0,485	E3	0,533	E3	1,169	E3	1,147

FECHA: 16/05/00

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,871	L1	0,784	L1	1,469	L1	1,239
L2	0,64	L2	0,853	L2	1,324	L2	1,343
L3	0,815	L3	0,802	L3	1,269	L3	1,527
E1	0,754	E1	0,692	E1	1,215	E1	1,18
E2	0,752	E2	0,429	E2	1,373	E2	1,299
E3	0,703	E3	0,747	E3	1,114	E3	1,291

FECHA: 31/05/00

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,912	L1	0,964	L1	1,572	L1	1,295
L2	0,8	L2	0,954	L2	1,525	L2	1,444
L3	0,912	L3	0,902	L3	1,44	L3	1,451
E1	0,744	E1	0,745	E1	1,364	E1	1,183
E2	0,699	E2	0,531	E2	1,406	E2	1,177
E3	0,7	E3	0,801	E3	1,141	E3	1,173



FECHA: 29/06/00

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,855	L1	0,933	L1	1,429	L1	1,089
L2	0,699	L2	0,874	L2	1,293	L2	1,237
L3	0,962	L3	0,814	L3	1,03	L3	1,031
E1	0,862	E1	0,767	E1	1,234	E1	1,087
E2	0,59	E2	0,762	E2	1,182	E2	1,204
E3	0,745	E3	0,825	E3	1,141	E3	1,154

FECHA: 27/07/00

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,647	L1	0,965	L1	1,184	L1	1,081
L2	0,594	L2	0,808	L2	1,397	L2	1,065
L3	0,639	L3	0,855	L3	0,961	L3	1,218
E1	0,753	E1	0,853	E1	1,295	E1	0,974
E2	0,483	E2	0,798	E2	1,247	E2	1,104
E3	0,691	E3	0,752	E3	1,07	E3	1,163

FECHA: 25/08/00

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,575	L1	0,808	L1	0,993	L1	1,243
L2	0,686	L2	0,603	L2	1,164	L2	1,153
L3	0,574	L3	0,49	L3	0,825	L3	1,479
E1	0,789	E1	0,651	E1	1,427	E1	1,1
E2	0,37	E2	0,711	E2	1,105	E2	1,139
E3	0,53	E3	0,479	E3	0,874	E3	1,091

FECHA: 26/09/00

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,7	L1	0,874	L1	1,088	L1	1,187
L2	0,761	L2	0,441	L2	0,814	L2	1,145
L3	0,421	L3	0,543	L3	0,979	L3	1,351
E1	0,542	E1	0,707	E1	1,192	E1	1,028
E2	0,269	E2	0,381	E2	1,148	E2	0,918
E3	0,537	E3	0,546	E3	0,769	E3	1,195

FECHA: 26/10/00

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,25	L1	0,2	L1	0,85	L1	1,85
L2	0,6	L2	0,55	L2	0,9	L2	1,5
L3	0,45	L3	0	L3	0,8	L3	1,4
E1	0,5	E1	0	E1	1,15	E1	1,55
E2	0,4	E2	0,5	E2	1,2	E2	1,3
E3	0,85	E3	0,35	E3	0,75	E3	1,6

FECHA: 27/11/00

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,75	L1	0,4	L1	1	L1	2,1
L2	0,6	L2	0,35	L2	1,15	L2	1,8
L3	0,1	L3	0,5	L3	0,75	L3	1,5
E1	0,85	E1	0,15	E1	1,05	E1	1,25
E2	0,4	E2	0,25	E2	1,15	E2	1,1
E3	0,2	E3	0,6	E3	0,95	E3	0,95

FECHA: 22/12/00

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	1	L1	0,3	L1	0,75	L1	2
L2	0,75	L2	0,25	L2	1,1	L2	2,05
L3	0,35	L3	0,6	L3	1,25	L3	1,75
E1	0,9	E1	0,4	E1	1,3	E1	1,7
E2	0,8	E2	0,5	E2	1,35	E2	1,15
E3	0,45	E3	0,45	E3	1,1	E3	1,25

FECHA: 23/01/01

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,95	L1	0,55	L1	1,4	L1	2,15
L2	0,55	L2	0,75	L2	1,2	L2	2,3
L3	0,85	L3	0,65	L3	1,55	L3	1,85
E1	0,9	E1	0,4	E1	1,2	E1	1,9
E2	0,65	E2	0,8	E2	1,3	E2	1,5
E3	0,6	E3	0,95	E3	1,25	E3	1,65

FECHA: 26/02/01

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,75	L1	0,65	L1	1,5	L1	1,8
L2	0,8	L2	0,85	L2	1,25	L2	1,85
L3	0,6	L3	0,75	L3	1,45	L3	1,5
E1	1	E1	0,55	E1	0,95	E1	2
E2	0,7	E2	0,6	E2	1,15	E2	1,6
E3	0,8	E3	0,85	E3	1,6	E3	1,45

FECHA: 27/03/01

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	1,05	L1	0,85	L1	1,65	L1	1,6
L2	1,25	L2	0,5	L2	1,15	L2	1,5
L3	0,45	L3	0,45	L3	1,6	L3	1,65
E1	0,8	E1	0,6	E1	0,6	E1	2,1
E2	0,55	E2	0,7	E2	1,3	E2	1,75
E3	0,9	E3	0,65	E3	1	E3	1,3

FECHA: 19/04/01

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,65	L1	0,65	L1	1,5	L1	1,5
L2	1,05	L2	0,95	L2	1	L2	1,75
L3	0,65	L3	0,55	L3	1,55	L3	1,4
E1	0,9	E1	0,9	E1	0,9	E1	1,95
E2	0,45	E2	0,6	E2	1,35	E2	1,55
E3	0,7	E3	0,8	E3	1,05	E3	1,6

FECHA: 21/05/01

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,75	L1	0,9	L1	1,4	L1	1,35
L2	0,9	L2	1,05	L2	1,3	L2	1,6
L3	0,8	L3	0,75	L3	1,25	L3	1,25
E1	0,7	E1	0,7	E1	1,5	E1	1,8
E2	0,5	E2	0,55	E2	1,05	E2	1,5
E3	0,45	E3	0,75	E3	0,8	E3	1,05

FECHA: 27/06/01

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,55	L1	0,55	L1	1,55	L1	1,75
L2	0,85	L2	0,85	L2	1,15	L2	1,35
L3	0,6	L3	0,5	L3	1,35	L3	1,05
E1	0,65	E1	0,45	E1	1,25	E1	1,7
E2	0,35	E2	0,7	E2	1,2	E2	0,95
E3	0,2	E3	0,35	E3	0,95	E3	1,3

FECHA: 20/07/01

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,7	L1	0,8	L1	1,75	L1	1,5
L2	0,6	L2	0,55	L2	1	L2	1,4
L3	0,45	L3	0,65	L3	1,05	L3	0,8
E1	0,75	E1	0,5	E1	1,1	E1	1,85
E2	0,8	E2	0,45	E2	0,95	E2	1,45
E3	0,65	E3	0,4	E3	0,75	E3	1,45

FECHA: 24/08/01

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,55	L1	0,75	L1	2,25	L1	1,45
L2	0,4	L2	0,6	L2	2	L2	1,25
L3	0,3	L3	0,7	L3	1,9	L3	0,65
E1	0,6	E1	0,35	E1	1,15	E1	1,35
E2	0,35	E2	0,7	E2	1,35	E2	1,35
E3	0,5	E3	0,75	E3	1,15	E3	1,25

FECHA: 26/09/01

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,55	L1	0,75	L1	1,95	L1	1,55
L2	0,5	L2	0,65	L2	1,75	L2	1,45
L3	0,25	L3	0,7	L3	2,15	L3	0,75
E1	0,7	E1	0,45	E1	2,4	E1	1,3
E2	0,6	E2	0,55	E2	1,9	E2	1,1
E3	0,55	E3	0,55	E3	1,8	E3	1,35

FECHA: 25/10/01

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,6	L1	0,65	L1	2	L1	1,3
L2	0,7	L2	0,85	L2	2,05	L2	1,4
L3	0,4	L3	0,65	L3	1,95	L3	1,2
E1	0,45	E1	0,65	E1	2,3	E1	1,6
E2	0,7	E2	0,45	E2	2,35	E2	1,15
E3	0,65	E3	0,5	E3	2	E3	1,05

FECHA: 25/11/01

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,65	L1	0,45	L1	2,15	L1	1,35
L2	0,45	L2	0,75	L2	2,15	L2	1,25
L3	0,55	L3	0,6	L3	2,25	L3	1,05
E1	0,5	E1	0,6	E1	2,45	E1	1,65
E2	0,55	E2	0,55	E2	2,2	E2	1,25
E3	0,75	E3	0,5	E3	2,15	E3	1,15

FECHA: 18/12/01

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,5	L1	0,5	L1	2,25	L1	1,35
L2	0,55	L2	0,65	L2	2,4	L2	1,3
L3	0,5	L3	0,35	L3	2,15	L3	1,15
E1	0,6	E1	0,55	E1	2,35	E1	1,5
E2	0,45	E2	0,45	E2	2,3	E2	1,15
E3	0,6	E3	0,45	E3	2,05	E3	1,25

FECHA: 22/01/02

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,45	L1	0,4	L1	2,1	L1	1,25
L2	0,4	L2	0,6	L2	2	L2	1,2
L3	0,35	L3	0,55	L3	1,95	L3	0,95
E1	0,65	E1	0,5	E1	2,15	E1	1,4
E2	0,5	E2	0,55	E2	2,1	E2	1
E3	0,55	E3	0,4	E3	1,8	E3	1,05

FECHA: 27/02/02

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,4	L1	0,5	L1	2	L1	1,3
L2	0,45	L2	0,4	L2	1,85	L2	0,95
L3	0,4	L3	0,55	L3	1,8	L3	0,85
E1	0,5	E1	0,35	E1	1,9	E1	1,15
E2	0,35	E2	0,45	E2	1,65	E2	1,05
E3	0,35	E3	0,45	E3	1,7	E3	1

FECHA: 25/03/02

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,45	L1	0,35	L1	1,75	L1	1,15
L2	0,4	L2	0,45	L2	1,6	L2	1,25
L3	0,35	L3	0,45	L3	1,65	L3	0,95
E1	0,6	E1	0,5	E1	1,8	E1	1
E2	0,4	E2	0,3	E2	1,5	E2	0,9
E3	0,45	E3	0,4	E3	1,4	E3	0,8

FECHA: 29/04/02

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,35	L1	0,35	L1	1,5	L1	1
L2	0,4	L2	0,35	L2	1,35	L2	1
L3	0,35	L3	0,25	L3	1,25	L3	0,75
E1	0,45	E1	0,4	E1	1,45	E1	1,05
E2	0,3	E2	0,35	E2	1,25	E2	0,85
E3	0,45	E3	0,3	E3	1,15	E3	0,65

FECHA: 27/05/02

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,35	L1	0,3	L1	1,3	L1	1,05
L2	0,35	L2	0,35	L2	1,15	L2	1,15
L3	0,25	L3	0,3	L3	0,9	L3	0,95
E1	0,3	E1	0,35	E1	1,15	E1	0,95
E2	0,35	E2	0,3	E2	1,15	E2	1
E3	0,4	E3	0,25	E3	0,95	E3	0,8

FECHA: 26/06/02

Campo A		Campo B		Campo C		Campo D	
Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags	Zona	ags
L1	0,4	L1	0,35	L1	1,15	L1	1,1
L2	0,3	L2	0,35	L2	1,2	L2	1,1
L3	0,3	L3	0,35	L3	1,2	L3	1,15
E1	0,35	E1	0,4	E1	1,3	E1	1
E2	0,3	E2	0,3	E2	1,25	E2	1,25
E3	0,35	E3	0,25	E3	1,15	E3	0,85

**IX.2: Anexo 2:** Localización geográfica (latitud y longitud) de los Campos 1 a 14 (apartado IV).

<b>Campo</b>	<b>Localidad</b>	<b>Latitud</b>	<b>Longitud</b>
1	Almenara	N39° 43' 53.6"	W000° 12' 39.4"
2	Almenara	N39° 43' 52.0"	W000° 12' 35.8"
3	Xilxes	N39° 45' 31.8"	W000° 11' 29.7"
4	Xilxes	N39° 46' 20.5"	W000° 09' 38.6"
5	Meliana	N39° 31' 48.7"	W000° 18' 49.3"
6	Meliana	N39° 30' 50.7"	W000° 19' 17.0"
7	Puçol	N39° 36' 35.1"	W000° 16' 08.5"
8	Puçol	N39° 36' 45.5"	W000° 15' 56.8"
9	Alboraya	N39° 30' 59.8"	W000° 19' 37.9"
10	Almenara	N39° 43' 32.7"	W000° 11' 28.0"
11	La Llosa	N39° 45' 21.4"	W000° 11' 18.2"
12	Meliana	N39° 31' 18.2"	W000° 19' 44.0"
13	Puçol	N39° 36' 58.5"	W000° 16' 24.0"
14	Xilxes	N39° 46' 32.7"	W000° 09' 36.0"

**IX.3: Anexo 3:** Datos de ascosporas por gramo de suelo (ags) de los campos 1 a 14 (apartado IV). Zonas: S (zona sintomática), A (zona asintomática), L (Línea), E (Entrelínea).

**CAMPO 1 (ALMENARA).**

**COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SL 1	20	22	1,10
SL 2	20	30	1,50
SL 3	20	40	2,00
SL 4	20	54	2,70
SL 5	20	84	4,20
SL 6	20	55	2,75

**COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SE 1	20	28	1,40
SE 2	20	30	1,50
SE 3	20	42	2,10
SE 4	20	65	3,25
SE 5	20	69	3,45
SE 6	20	101	5,05

**SIN COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AL 1	20	91	4,55
AL 2	20	180	9,00
AL 3	20	84	4,20
AL 4	20	150	7,50
AL 5	20	122	6,10
AL 6	20	142	7,10

**SIN COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AE 1	20	150	7,50
AE 2	20	100	5,00
AE 3	20	117	5,85
AE 4	20	84	4,20
AE 5	20	110	5,50
AE 6	20	198	9,90

**CAMPO 2 (ALMENARA).****COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SL 1	20	21	1,05
SL 2	20	39	1,95
SL 3	20	46	2,30
SL 4	20	73	3,15
SL 5	20	76	3,30
SL 6	20	82	4,10

**COLAPSO ENTRELÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SE 1	20	20	1,00
SE 2	20	38	1,90
SE 3	20	30	1,50
SE 4	20	53	2,65
SE 5	20	67	3,35
SE 6	20	54	2,70

**SIN COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AL 1	20	165	8,25
AL 2	20	100	5,00
AL 3	20	109	5,45
AL 4	20	123	6,15
AL 5	20	95	4,50
AL 6	20	61	3,05

**SIN COLAPSO ENTRELÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AE 1	20	131	7,05
AE 2	20	95	4,75
AE 3	20	151	7,55
AE 4	20	202	10,10
AE 5	20	164	8,20
AE 6	20	118	5,90



### **CAMPO 3 (XILXES).**

#### **COLAPSO LÍNEAS**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
SL 1	20	44	2,20
SL 2	20	62	3,10
SL 3	20	109	5,45
SL 4	20	140	7,00
SL 5	20	83	4,15
SL 6	20	67	3,35

#### **COLAPSO ENTRELINEAS**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
SE 1	20	51	2,55
SE 2	20	81	4,05
SE 3	20	92	4,60
SE 4	20	83	4,15
SE 5	20	159	7,95
SE 6	20	126	6,30

#### **SIN COLAPSO LÍNEAS**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
AL 1	20	99	4,95
AL 2	20	94	4,70
AL 3	20	123	6,15
AL 4	20	166	8,30
AL 5	20	97	4,85
AL 6	20	174	8,70

#### **SIN COLAPSO ENTRELINEAS**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
AE 1	20	64	3,20
AE 2	20	52	2,60
AE 3	20	126	6,30
AE 4	20	77	3,85
AE 5	20	150	7,50
AE 6	20	99	4,95

**CAMPO 4(XILXES).****COLAPSO LÍNEAS**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
SL 1	20	136	6,80
SL 2	20	117	5,85
SL 3	20	96	4,80
SL 4	20	137	6,85
SL 5	20	145	7,25
SL 6	20	173	8,65

**COLAPSO ENTRELINEAS**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
SE 1	20	66	3,30
SE 2	20	125	6,25
SE 3	20	208	10,40
SE 4	20	198	9,90
SE 5	20	137	6,85
SE 6	20	324	16,20

**SIN COLAPSO LÍNEAS**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
AL 1	20	104	5,20
AL 2	20	91	4,55
AL 3	20	63	3,15
AL 4	20	69	3,45
AL 5	20	135	6,75
AL 6	20	103	5,15

**SIN COLAPSO ENTRELINEAS**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
AE 1	20	92	4,60
AE 2	20	96	4,80
AE 3	20	105	5,25
AE 4	20	89	4,45
AE 5	20	75	3,75
AE 6	20	156	7,80

**CAMPO 5 (MELIANA).****COLAPSO LÍNEAS**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
SL 1	20	59	2,95
SL 2	20	86	4,20
SL 3	20	79	3,95
SL 4	20	103	5,15
SL 5	20	57	2,85
SL 6	20	119	5,95

**COLAPSO ENTRELINEAS**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
SE 1	20	65	3,25
SE 2	20	78	3,90
SE 3	20	63	3,15
SE 4	20	92	4,60
SE 5	20	69	3,45
SE 6	20	94	4,70

**SIN COLAPSO LÍNEAS**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
AL 1	20	79	3,95
AL 2	20	82	4,10
AL 3	20	85	4,25
AL 4	20	70	3,50
AL 5	20	85	4,25
AL 6	20	85	4,25

**SIN COLAPSO ENTRELINEAS**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
AE 1	20	69	3,45
AE 2	20	54	2,70
AE 3	20	66	3,30
AE 4	20	77	3,85
AE 5	20	63	3,15
AE 6	20	66	3,30

**CAMPO 6 (MELIANA).****COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SL 1	20	48	2,40
SL 2	20	61	3,05
SL 3	20	47	2,35
SL 4	20	59	2,95
SL 5	20	39	1,95
SL 6	20	77	3,85

**COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SE 1	20	13	1,30
SE 2	20	16	1,60
SE 3	20	25	1,80
SE 4	20	26	2,25
SE 5	20	25	2,60
SE 6	20	25	2,30

**SIN COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AL 1	20	51	2,55
AL 2	20	39	1,95
AL 3	20	49	2,45
AL 4	20	56	2,80
AL 5	20	41	2,05
AL 6	20	42	2,10

**SIN COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AE 1	20	22	1,10
AE 2	20	22	1,10
AE 3	20	33	1,65
AE 4	20	39	1,95
AE 5	20	42	2,10
AE 6	20	42	2,10

**CAMPO 7 (PUÇOL).****COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SL 1	20	61	3,05
SL 2	20	57	2,85
SL 3	20	46	2,30
SL 4	20	42	2,10
SL 5	20	58	2,90
SL 6	20	29	1,45

**COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SE 1	20	48	2,40
SE 2	20	46	2,30
SE 3	20	33	1,65
SE 4	20	29	1,45
SE 5	20	58	2,90
SE 6	20	49	2,45

**SIN COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AL 1	20	63	3,15
AL 2	20	66	3,30
AL 3	20	74	3,70
AL 4	20	66	3,30
AL 5	20	61	3,05
AL 6	20	62	3,10

**SIN COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AE 1	20	74	3,70
AE 2	20	59	2,95
AE 3	20	64	3,20
AE 4	20	87	4,35
AE 5	20	39	1,90
AE 6	20	43	2,15

**CAMPO 8 (PUÇOL).****COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SL 1	20	85	4,25
SL 2	20	80	4,00
SL 3	20	91	4,55
SL 4	20	78	3,90
SL 5	20	58	2,90
SL 6	20	86	4,30

**COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SE 1	20	65	3,25
SE 2	20	69	3,45
SE 3	20	94	4,70
SE 4	20	68	3,40
SE 5	20	65	3,25
SE 6	20	68	3,40

**SIN COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AL 1	20	93	4,65
AL 2	20	103	5,15
AL 3	20	116	5,80
AL 4	20	105	5,25
AL 5	20	97	4,85
AL 6	20	98	4,90

**SIN COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AE 1	20	74	3,70
AE 2	20	87	4,35
AE 3	20	52	2,60
AE 4	20	73	3,65
AE 5	20	93	4,65
AE 6	20	77	3,85

**CAMPO 9 (ALBORAI A)****1er Muestreo**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
1	20	106	5,30
2	20	53	2,65
3	20	109	5,45
4	20	87	4,35
5	20	94	4,70
6	20	115	5,75
7	20	80	4,00
8	20	52	2,60
9	20	60	3,00
10	20	70	3,50
11	20	124	6,20
12	20	93	4,65
13	20	182	9,10
14	20	76	3,80
15	20	79	3,95
16	20	115	5,75
17	20	83	4,15
18	20	87	4,35
19	20	114	5,70
20	20	124	6,20
21	20	87	4,35
22	20	143	7,15
23	20	119	5,95
24	20	95	4,75

**CAMPO 9 (ALBORAI A).****2º Muestreo****COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SL 1	20	54	2,70
SL 2	20	47	2,35
SL 3	20	41	2,05
SL 4	20	31	1,55
SL 5	20	38	1,90
SL 6	20	28	1,40

**COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SE 1	20	132	6,60
SE 2	20	37	1,85
SE 3	20	28	1,40
SE 4	20	39	1,95
SE 5	20	22	1,10
SE 6	20	49	2,45

**SIN COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AL 1	20	136	6,80
AL 2	20	138	6,90
AL 3	20	90	4,50
AL 4	20	85	4,25
AL 5	20	65	3,25
AL 6	20	61	3,05

**SIN COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AE 1	20	61	3,05
AE 2	20	99	4,95
AE 3	20	85	4,25
AE 4	20	112	5,60
AE 5	20	71	3,55
AE 6	20	87	4,35



**CAMPO 9 (ALBORAI A)****3er Muestreo**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
1	20	68	3,40
2	20	87	4,35
3	20	84	4,20
4	20	75	3,75
5	20	89	4,45
6	20	93	4,65
7	20	98	4,90
8	20	85	4,25
9	20	83	4,15
10	20	111	5,50
11	20	104	5,20
12	20	80	4,00
13	20	76	3,80
14	20	79	3,95
15	20	85	4,25
16	20	52	2,60
17	20	55	2,75
18	20	69	3,45
19	20	49	2,45
20	20	43	2,15
21	20	45	2,25
22	20	66	3,30
23	20	40	2,00
24	20	38	1,90

**CAMPO 10 (ALMENARA)****1er Muestreo**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
1	20	92	4.60
2	20	85	4.25
3	20	128	6.40
4	20	101	5.05
5	20	93	4.65
6	20	114	5.70
7	20	7	0.35
8	20	14	0.70
9	20	31	1.55
10	20	19	0.95
11	20	21	1.05
12	20	48	2.40
13	-	-	-
14	-	-	-
15	-	-	-
16	-	-	-
17	-	-	-
18	-	-	-
19	-	-	-
20	-	-	-
21	-	-	-
22	-	-	-
23	-	-	-
24	-	-	-

**CAMPO 10 (ALMENARA).****2º Muestreo****COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SL 1	20	49	2,45
SL 2	20	42	2,10
SL 3	20	29	1,45
SL 4	20	37	1,85
SL 5	20	30	1,50
SL 6	20	41	2,05

**COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SE 1	20	56	2,80
SE 2	20	45	2,25
SE 3	20	64	3,20
SE 4	20	30	1,50
SE 5	20	28	1,40
SE 6	20	36	1,80

**SIN COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AL 1	20	48	2,40
AL 2	20	28	1,40
AL 3	20	67	3,35
AL 4	20	91	4,55
AL 5	20	47	2,35
AL 6	20	72	3,60

**SIN COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AE 1	20	21	1,05
AE 2	20	31	1,55
AE 3	20	39	1,95
AE 4	20	27	1,35
AE 5	20	45	2,25
AE 6	20	21	1,05

**CAMPO 10 (ALMENARA)****3er Muestreo**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
1	20	91	4,55
2	20	102	5,10
3	20	100	5,00
4	20	105	5,25
5	20	122	6,10
6	20	131	6,55
7	20	108	5,40
8	20	102	5,10
9	20	96	4,80
10	20	88	4,40
11	20	85	4,25
12	20	99	4,95
13	20	54	2,70
14	20	64	3,20
15	20	77	3,85
16	20	86	4,30
17	20	66	3,30
18	20	99	4,95
19	20	31	1,55
20	20	45	2,25
21	20	32	1,60
22	20	58	2,90
23	20	63	3,15
24	20	70	3,50

**CAMPO 11 (LA LLOSA)****1er Muestreo**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
1	20	98	4.90
2	20	51	2.55
3	20	206	10.30
4	20	166	8.30
5	20	202	10.10
6	20	63	3.15
7	20	58	2.90
8	20	61	3.05
9	20	50	2.50
10	20	114	5.70
11	20	92	4.60
12	20	123	6.15
13	20	41	2.05
14	20	40	2.00
15	20	51	2.55
16	20	85	4.25
17	20	76	3.80
18	20	63	3.15
19	20	82	4.10
20	20	73	3.65
21	20	57	2.85
22	20	43	2.15
23	20	44	2.20
24	20	68	3.40

**CAMPO 11 (LA LLOSA).****2º Muestreo****COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SL 1	20	25	1,25
SL 2	20	42	2,10
SL 3	20	29	1,45
SL 4	20	35	1,75
SL 5	20	38	1,90
SL 6	20	31	1,55

**COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SE 1	20	59	2,95
SE 2	20	60	3,00
SE 3	20	38	1,90
SE 4	20	60	3,00
SE 5	20	64	3,20
SE 6	20	69	3,45

**SIN COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AL 1	20	30	1,50
AL 2	20	25	1,25
AL 3	20	16	0,80
AL 4	20	13	0,65
AL 5	20	22	1,10
AL 6	20	41	2,05

**SIN COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AE 1	20	28	1,40
AE 2	20	33	1,65
AE 3	20	29	1,20
AE 4	20	22	1,10
AE 5	20	43	2,15
AE 6	20	40	2,00

**CAMPO 11 (LA LLOSA)****3er Muestreo**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
1	20	81	4,05
2	20	88	4,40
3	20	99	4,95
4	20	112	5,60
5	20	88	4,40
6	20	128	6,40
7	20	123	6,15
8	20	112	5,60
9	20	88	4,40
10	20	109	5,45
11	20	128	6,40
12	20	114	5,70
13	20	89	4,45
14	20	108	5,40
15	20	121	6,05
16	20	78	3,90
17	20	117	5,85
18	20	96	4,80
19	20	90	4,50
20	20	161	8,05
21	20	130	6,50
22	20	114	5,70
23	20	149	7,45
24	20	143	7,15

**CAMPO 12 (MELIANA)****1er Muestreo**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	-
10	-	-	-
11	-	-	-
12	-	-	-
13	-	-	-
14	-	-	-
15	-	-	-
16	-	-	-
17	-	-	-
18	-	-	-
19	-	-	-
20	-	-	-
21	-	-	-
22	-	-	-
23	-	-	-
24	-	-	-



**CAMPO 12 (MELIANA).****2º Muestreo****COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SL 1	20	54	2,70
SL 2	20	26	1,30
SL 3	20	41	2,05
SL 4	20	29	1,45
SL 5	20	27	1,35
SL 6	20	60	3,00

**COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SE 1	20	15	0,75
SE 2	20	25	1,25
SE 3	20	28	1,40
SE 4	20	49	2,45
SE 5	20	81	4,05
SE 6	20	47	1,35

**SIN COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AL 1	20	24	1,20
AL 2	20	25	1,25
AL 3	20	40	2,00
AL 4	20	19	0,95
AL 5	20	15	0,75
AL 6	20	22	1,10

**SIN COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AE 1	20	24	1,20
AE 2	20	18	0,90
AE 3	20	20	1,00
AE 4	20	24	1,20
AE 5	20	27	1,35
AE 6	20	30	1,50

**CAMPO 12 (MELIANA)****3er Muestreo**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
1	20	74	3,70
2	20	69	3,45
3	20	70	3,50
4	20	72	3,60
5	20	82	4,10
6	20	50	2,50
7	20	72	3,60
8	20	67	3,35
9	20	92	4,60
10	20	86	4,30
11	20	90	4,50
12	20	100	5,00
13	-	-	-
14	-	-	-
15	-	-	-
16	-	-	-
17	-	-	-
18	-	-	-
19	-	-	-
20	-	-	-
21	-	-	-
22	-	-	-
23	-	-	-
24	-	-	-

**CAMPO 13 (PUÇOL)****1er Muestreo**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
1	20	69	3.45
2	20	71	3.55
3	20	66	3.30
4	20	92	4.60
5	20	72	3.60
6	20	83	4.15
7	20	36	1.80
8	20	28	1.40
9	20	24	1.20
10	20	40	2.00
11	20	68	3.40
12	20	93	4.65
13	20	50	2.50
14	20	64	3.20
15	20	96	4.80
16	20	70	3.50
17	20	105	5.25
18	20	63	3.15
19	20	52	2.60
20	20	97	4.85
21	20	56	2.80
22	20	63	3.15
23	20	90	4.50
24	20	81	4.05

**CAMPO 13 (PUÇOL).****2º Muestreo****COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SL 1	20	36	1,80
SL 2	20	28	1,40
SL 3	20	43	2,15
SL 4	20	23	1,15
SL 5	20	33	1,65
SL 6	20	31	1,55

**COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SE 1	20	20	1,00
SE 2	20	25	1,25
SE 3	20	35	1,75
SE 4	20	41	2,05
SE 5	20	69	3,45
SE 6	20	35	1,75

**SIN COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AL 1	20	26	1,30
AL 2	20	30	1,50
AL 3	20	27	1,35
AL 4	20	42	2,10
AL 5	20	30	1,50
AL 6	20	28	1,40

**SIN COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AE 1	20	10	0,50
AE 2	20	13	0,65
AE 3	20	32	1,60
AE 4	20	23	1,15
AE 5	20	31	1,55
AE 6	20	29	1,45

**CAMPO 13 (PUÇOL)****3er Muestreo**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
1	20	64	3,20
2	20	66	3,30
3	20	79	3,95
4	20	71	3,55
5	20	60	3,00
6	20	88	4,40
7	20	72	3,60
8	20	73	3,65
9	20	69	3,45
10	20	59	2,95
11	20	49	2,45
12	20	58	2,90
13	20	56	2,80
14	20	58	2,90
15	20	66	3,30
16	20	47	2,35
17	20	47	2,35
18	20	41	2,05
19	20	57	2,85
20	20	82	4,10
21	20	91	4,55
22	20	86	4,30
23	20	29	1,45
24	20	29	1,45

**CAMPO 14 (XILXES)****1er Muestreo**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
1	20	130	6.50
2	20	199	9.95
3	20	79	3.95
4	20	71	3.55
5	20	108	5.40
6	20	117	5.85
7	20	92	4.60
8	20	128	6.40
9	20	105	5.25
10	20	120	6.00
11	20	195	9.75
12	20	117	5.85
13	20	-	-
14	20	-	-
15	20	-	-
16	20	-	-
17	20	-	-
18	20	-	-
19	20	-	-
20	20	-	-
21	20	-	-
22	20	-	-
23	20	-	-
24	20	-	-

**CAMPO 14 (XILXES).****2º Muestreo****COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SL 1	20	111	5,55
SL 2	20	40	2,00
SL 3	20	106	5,30
SL 4	20	125	6,25
SL 5	20	144	7,20
SL 6	20	151	7,55

**COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
SE 1	20	122	6,10
SE 2	20	188	9,40
SE 3	20	162	8,10
SE 4	20	118	5,90
SE 5	20	97	4,85
SE 6	20	166	8,30

**SIN COLAPSO LÍNEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AL 1	20	131	6,55
AL 2	20	155	7,75
AL 3	20	97	4,85
AL 4	20	124	6,20
AL 5	20	145	7,25
AL 6	20	218	10,90

**SIN COLAPSO ENTRELINEAS**

Muestra	Peso seco (g)	Nº ascosporas	ags
AE 1	20	77	3,85
AE 2	20	96	4,80
AE 3	20	99	4,95
AE 4	20	142	7,10
AE 5	20	81	4,05
AE 6	20	110	5,50

**CAMPO 14 (XILXES)****3er Muestreo**

<b>Muestra</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Nº ascosporas</b>	<b>ags</b>
1	20	38	1,90
2	20	83	4,15
3	20	94	4,70
4	20	102	5,10
5	20	101	5,05
6	20	63	3,15
7	20	16	0,80
8	20	38	1,90
9	20	27	1,35
10	20	26	1,30
11	20	29	1,45
12	20	31	1,55
13	20	60	3,00
14	20	47	2,35
15	20	46	2,30
16	20	99	4,95
17	20	64	3,20
18	20	78	3,90
19	20	176	8,80
20	20	146	7,30
21	20	188	9,40
22	20	158	7,90
23	20	179	8,95
24	20	160	8,00



**IX.4.: Anexo 4:** Ascosporas por gramo de suelo (ags) en el cultivo de melón del Campo 1 (apartado V).

**MUESTREO N° 1    FECHA:** 25/04/03    **SITUACIÓN DEL CULTIVO:** Plantación

**Subparcela 1**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	42	2,10
L2	45	2,25
L3	39	1,95
L4	46	2,30
L5	41	2,05
L6	47	2,35
Media	-	2,23

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	47	2,35
E2	49	2,45
E3	39	1,95
E4	42	2,10
E5	43	2,15
E6	48	2,40
Media	-	2,23

**Subparcela 2**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	49	2,45
L2	53	2,65
L3	48	2,40
L4	54	2,70
L5	50	2,50
L6	40	2,00
Media	-	2,45

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	45	2,25
E2	36	1,80
E3	48	2,40
E4	53	2,65
E5	51	2,55
E6	47	2,35
Media	-	2,33

**Subparcela 3**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	53	2,65
L2	51	2,55
L3	48	2,40
L4	50	2,50
L5	43	2,15
L6	44	2,20
Media	-	2,41

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	40	2,00
E2	51	2,55
E3	53	2,65
E4	38	1,90
E5	52	2,60
E6	43	2,15
Media	-	2,31

**Subparcela 4**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	34	1,70
L2	43	2,15
L3	39	1,95
L4	31	1,55
L5	32	1,60
L6	36	1,80
Media	-	1,79

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	36	1,80
E2	34	1,70
E3	39	1,95
E4	36	1,80
E5	28	1,40
E6	33	1,65
Media	-	1,72

<b>Media Total L</b>	2,20
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	2,15
----------------------	------

**Subparcela 1**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	43	2,15
L2	45	2,25
L3	47	2,35
L4	38	1,90
L5	43	2,15
L6	40	2,00
Media	-	2,13

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	39	1,95
E2	47	2,35
E3	52	2,60
E4	50	2,50
E5	45	2,25
E6	39	1,95
Media	-	2,27

**Subparcela 2**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	53	2,65
L2	48	2,40
L3	47	2,35
L4	43	2,15
L5	46	2,30
L6	49	2,45
Media	-	2,38

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	49	2,45
E2	37	1,85
E3	56	2,80
E4	53	2,65
E5	50	2,50
E6	44	2,20
Media	-	2,41

**Subparcela 3**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	44	2,20
L2	41	2,05
L3	42	2,10
L4	37	1,85
L5	43	2,15
L6	46	2,30
Media	-	2,11

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	46	2,30
E2	52	2,60
E3	51	2,55
E4	42	2,10
E5	39	1,95
E6	46	2,30
Media	-	2,30

**Subparcela 4**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	32	1,60
L2	36	1,80
L3	31	1,55
L4	48	2,40
L5	49	2,45
L6	43	2,15
Media	-	1,99

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	50	2,50
E2	41	2,05
E3	42	2,10
E4	61	3,05
E5	50	2,50
E6	40	2,00
Media	-	2,37

<b>Media Total L</b>	2,15
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	2,34
----------------------	------

MUESTREO N° 3

FECHA: 19/05/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

**Subparcela 1**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	50	2,50
L2	48	2,40
L3	56	2,80
L4	47	2,35
L5	40	2,00
L6	36	1,80
Media	-	2,31

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	37	1,85
E2	53	2,65
E3	43	2,15
E4	39	1,95
E5	44	2,20
E6	32	1,60
Media	-	2,07

**Subparcela 2**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	46	2,30
L2	48	2,40
L3	40	2,00
L4	36	1,80
L5	35	1,75
L6	32	1,60
Media	-	1,98

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	43	2,15
E2	38	1,90
E3	45	2,25
E4	39	1,95
E5	33	1,65
E6	33	1,65
Media	-	1,93

**Subparcela 3**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	32	1,60
L2	35	1,75
L3	33	1,65
L4	38	1,90
L5	47	2,35
L6	48	2,40
Media	-	1,94

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	38	1,90
E2	42	2,10
E3	46	2,30
E4	44	2,20
E5	46	2,30
E6	36	1,80
Media	-	2,10

**Subparcela 4**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	30	1,50
L2	46	2,30
L3	53	2,65
L4	52	2,60
L5	43	2,15
L6	61	3,05
Media	-	2,38

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	28	1,40
E2	43	2,15
E3	52	2,60
E4	57	2,85
E5	40	2,00
E6	59	2,95
Media	-	2,33

<b>Media Total L</b>	2,15
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	2,10
----------------------	------

MUESTREO N° 4

FECHA: 29/05/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	37	1,85
L2	29	1,45
L3	45	2,25
L4	42	2,10
L5	28	1,40
L6	31	1,55
Media	-	1,77

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	39	1,95
E2	31	1,55
E3	46	2,30
E4	40	2,00
E5	29	1,45
E6	35	1,75
Media	-	1,83

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	46	2,30
L2	39	1,95
L3	31	1,55
L4	28	1,40
L5	43	2,15
L6	37	1,85
Media	-	1,87

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	38	1,90
E2	46	2,30
E3	37	1,85
E4	52	2,60
E5	26	1,30
E6	29	1,45
Media	-	1,90

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	47	2,35
L2	52	2,60
L3	58	2,90
L4	50	2,50
L5	36	1,80
L6	43	2,15
Media	-	2,38

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	43	2,15
E2	49	2,45
E3	33	1,65
E4	58	2,90
E5	52	2,60
E6	41	2,05
Media	-	2,30

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	49	2,45
L2	24	1,20
L3	36	1,80
L4	28	1,40
L5	22	1,10
L6	32	1,60
Media	-	1,59

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	47	2,35
E2	24	1,20
E3	35	1,75
E4	27	1,35
E5	25	1,25
E6	26	1,30
Media	-	1,53

Media Total L	1,90
---------------	------

Media Total E	1,89
---------------	------

**Subparcela 1**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	41	2,05
L2	42	2,10
L3	31	1,55
L4	39	1,95
L5	32	1,60
L6	27	1,35
Media	-	1,77

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	35	1,75
E2	38	1,90
E3	29	1,45
E4	33	1,65
E5	26	1,30
E6	25	1,25
Media	-	1,55

**Subparcela 2**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	26	1,30
L2	21	1,05
L3	18	0,90
L4	32	1,60
L5	21	1,05
L6	27	1,35
Media	-	1,21

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	19	0,95
E2	27	1,35
E3	11	0,55
E4	35	1,75
E5	30	1,50
E6	14	0,70
Media	-	1,13

**Subparcela 3**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	16	0,80
L2	14	0,70
L3	28	1,40
L4	25	1,25
L5	15	0,75
L6	29	1,45
Media	-	1,06

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	22	1,10
E2	18	0,90
E3	15	0,75
E4	16	0,80
E5	27	1,35
E6	28	1,40
Media	-	1,05

**Subparcela 4**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	25	1,25
L2	24	1,20
L3	32	1,60
L4	17	0,85
L5	14	0,70
L6	21	1,05
Media	-	1,11

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	29	1,45
E2	32	1,60
E3	19	0,95
E4	22	1,10
E5	15	0,75
E6	19	0,95
Media	-	1,13

<b>Media Total L</b>	1,29
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	1,22
----------------------	------

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	46	2,30
L2	50	2,50
L3	43	2,15
L4	38	1,90
L5	36	1,80
L6	42	2,10
Media	-	2,13

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	51	2,55
E2	43	2,15
E3	42	2,10
E4	53	2,65
E5	33	1,65
E6	38	1,90
Media	-	2,17

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	44	2,20
L2	29	1,45
L3	31	1,55
L4	25	1,25
L5	33	1,65
L6	22	1,10
Media	-	1,53

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	42	2,10
E2	24	1,20
E3	29	1,45
E4	37	1,85
E5	32	1,60
E6	30	1,50
Media	-	1,62

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	25	1,25
L2	29	1,45
L3	43	2,15
L4	27	1,35
L5	31	1,55
L6	19	0,95
Media	-	1,45

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	36	1,80
E2	37	1,85
E3	29	1,45
E4	32	1,60
E5	28	1,40
E6	33	1,65
Media	-	1,63

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	32	1,60
L2	15	0,75
L3	27	1,35
L4	40	2,00
L5	29	1,45
L6	14	0,70
Media	-	1,31

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	33	1,65
E2	27	1,35
E3	25	1,25
E4	16	0,80
E5	20	1,00
E6	16	0,80
Media	-	1,14

Media Total L	1,60
---------------	------

Media Total E	1,64
---------------	------

MUESTREO N° 7      FECHA: 15/07/03      SITUACIÓN DEL CULTIVO: Recolección

**Subparcela 1**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	235	11,75
L2	124	6,20
L3	126	6,30
L4	233	11,65
L5	185	9,25
L6	173	8,65
Media	-	8,97

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	77	3,85
E2	95	4,75
E3	110	5,50
E4	83	4,15
E5	75	3,75
E6	81	4,05
Media	-	4,34

**Subparcela 2**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	91	4,55
L2	89	4,45
L3	78	3,90
L4	109	5,45
L5	92	4,60
L6	90	4,50
Media	-	4,58

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	37	1,85
E2	45	2,25
E3	61	3,05
E4	35	1,75
E5	40	2,00
E6	36	1,80
Media	-	2,12

**Subparcela 3**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	84	4,20
L2	83	4,15
L3	66	3,30
L4	101	5,05
L5	75	3,75
L6	69	3,45
Media	-	3,98

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	33	1,65
E2	49	2,45
E3	27	1,35
E4	55	2,75
E5	52	2,60
E6	31	1,55
Media	-	2,06

**Subparcela 4**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	60	3,00
L2	105	5,25
L3	110	5,50
L4	72	3,60
L5	73	3,65
L6	81	4,05
Media	-	4,18

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	45	2,25
E2	57	2,85
E3	63	3,15
E4	43	2,15
E5	40	2,00
E6	37	1,85
Media	-	2,38

<b>Media Total L</b>	5,43
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	2,72
----------------------	------

**Subparcela 1**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	71	3,55
L2	62	3,10
L3	85	4,25
L4	97	4,85
L5	70	3,50
L6	79	3,95
Media	-	3,87

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	55	2,75
E2	76	3,80
E3	58	2,90
E4	51	2,55
E5	63	3,15
E6	52	2,60
Media	-	2,96

**Subparcela 2**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	196	9,80
L2	180	9,00
L3	79	3,95
L4	123	6,15
L5	115	5,75
L6	143	7,15
Media	-	6,97

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	74	3,70
E2	86	4,30
E3	65	3,25
E4	57	2,85
E5	66	3,30
E6	80	4,00
Media	-	3,57

**Subparcela 3**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	91	4,55
L2	77	3,85
L3	89	4,45
L4	63	3,15
L5	66	3,30
L6	99	4,95
Media	-	4,04

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	43	2,15
E2	38	1,90
E3	53	2,65
E4	47	2,35
E5	48	2,40
E6	34	1,70
Media	-	2,19

**Subparcela 4**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	67	3,35
L2	88	4,40
L3	95	4,75
L4	86	4,30
L5	66	3,30
L6	75	3,75
Media	-	3,98

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	91	4,55
E2	65	3,25
E3	63	3,15
E4	41	2,05
E5	52	2,60
E6	53	2,65
Media	-	3,04

<b>Media Total L</b>	4,71
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	2,94
----------------------	------



MUESTREO N° 9

FECHA: 10/09/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Final del cultivo

## Subparcela 1

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	46	2,30
L2	56	2,80
L3	50	2,50
L4	63	3,15
L5	53	2,65
L6	52	2,60
Media	-	2,67

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	57	2,85
E2	55	2,75
E3	65	3,25
E4	68	3,40
E5	63	3,15
E6	59	2,95
Media	-	3,06

## Subparcela 2

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	51	2,55
L2	59	2,95
L3	48	2,40
L4	69	3,45
L5	47	2,35
L6	55	2,75
Media	-	2,74

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	61	3,05
E2	49	2,45
E3	59	2,95
E4	63	3,15
E5	58	2,90
E6	60	3,00
Media	-	2,92

## Subparcela 3

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	64	3,20
L2	60	3,00
L3	69	3,45
L4	78	3,90
L5	58	2,90
L6	65	3,25
Media	-	3,28

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	51	2,55
E2	63	3,15
E3	64	3,20
E4	58	2,90
E5	60	3,00
E6	57	2,85
Media	-	2,94

## Subparcela 4

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	70	3,50
L2	84	4,20
L3	117	5,85
L4	91	4,55
L5	97	4,85
L6	85	4,25
Media	-	4,53

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	91	4,55
E2	102	5,10
E3	109	5,45
E4	89	4,45
E5	100	5,00
E6	95	4,75
Media	-	4,88

Media Total L	3,31
---------------	------

Media Total E	3,45
---------------	------

**IX.5.: Anexo 5:** Ascosporas por gramo de suelo (ags) en el cultivo de sandía del Campo 1 (apartado V).

**MUESTREO N° 1    FECHA:** 25/04/03    **SITUACIÓN DEL CULTIVO:** Plantación

**Subparcela 1**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	21	1,05
L2	46	2,30
L3	33	1,65
L4	35	1,75
L5	38	1,90
L6	37	1,85
Media	-	1,75

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	29	1,45
E2	36	1,80
E3	40	2,00
E4	41	2,05
E5	34	1,70
E6	30	1,50
Media	-	1,75

**Subparcela 2**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	33	1,65
L2	38	1,90
L3	43	2,15
L4	47	2,35
L5	40	2,00
L6	43	2,15
Media	-	2,03

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	47	2,35
E2	57	2,85
E3	68	3,40
E4	45	2,25
E5	46	2,30
E6	47	2,35
Media	-	2,58

**Subparcela 3**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	53	2,65
L2	46	2,30
L3	43	2,15
L4	41	2,05
L5	46	2,30
L6	50	2,50
Media	-	2,33

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	41	2,05
E2	47	2,35
E3	52	2,60
E4	43	2,15
E5	52	2,60
E6	50	2,50
Media	-	2,38

**Subparcela 4**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	53	2,65
L2	54	2,70
L3	40	2,00
L4	45	2,25
L5	60	3,00
L6	65	3,25
Media	-	2,64

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	55	2,75
E2	38	1,90
E3	43	2,15
E4	57	2,85
E5	63	3,15
E6	50	2,50
Media	-	2,55

<b>Media Total L</b>	2,19
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	2,31
----------------------	------

MUESTREO N° 2

FECHA: 09/05/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	41	2,05
L2	40	2,00
L3	28	1,40
L4	43	2,15
L5	47	2,35
L6	38	1,90
Media	-	1,98

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	36	1,80
E2	45	2,25
E3	33	1,65
E4	51	2,55
E5	42	2,10
E6	29	1,45
Media	-	1,97

Subparcela 2

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	44	2,20
L2	48	2,40
L3	39	1,95
L4	28	1,40
L5	53	2,65
L6	50	2,50
Media	-	2,18

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	34	1,70
E2	56	2,80
E3	43	2,15
E4	31	1,55
E5	55	2,75
E6	47	2,35
Media	-	2,22

Subparcela 3

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	46	2,30
L2	63	3,15
L3	58	2,90
L4	35	1,75
L5	49	2,45
L6	29	1,45
Media	-	2,33

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	53	2,65
E2	45	2,25
E3	38	1,90
E4	37	1,85
E5	48	2,40
E6	42	2,10
Media	-	2,19

Subparcela 4

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	61	3,05
L2	53	2,65
L3	48	2,40
L4	70	3,50
L5	23	1,15
L6	42	2,10
Media	-	2,48

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	50	2,50
E2	29	1,45
E3	33	1,65
E4	48	2,40
E5	53	2,65
E6	49	2,45
Media	-	2,18

Media Total L	2,24
---------------	------

Media Total E	2,14
---------------	------

MUESTREO N° 3

FECHA: 19/05/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	45	2,25
L2	39	1,95
L3	52	2,60
L4	43	2,15
L5	28	1,40
L6	33	1,65
Media	-	2,00

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	29	1,45
E2	33	1,65
E3	36	1,80
E4	27	1,35
E5	52	2,60
E6	50	2,50
Media	-	1,89

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	19	0,95
L2	33	1,65
L3	43	2,15
L4	53	2,65
L5	50	2,50
L6	41	2,05
Media	-	1,99

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	33	1,65
E2	25	1,25
E3	38	1,90
E4	36	1,80
E5	47	2,35
E6	43	2,15
Media	-	1,85

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	35	1,75
L2	52	2,60
L3	19	0,95
L4	48	2,40
L5	46	2,30
L6	65	3,25
Media	-	2,21

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	43	2,15
E2	48	2,40
E3	42	2,10
E4	35	1,75
E5	46	2,30
E6	40	2,00
Media	-	2,12

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	42	2,10
L2	38	1,90
L3	35	1,75
L4	51	2,55
L5	43	2,15
L6	40	2,00
Media	-	2,08

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	52	2,60
E2	47	2,35
E3	38	1,90
E4	38	1,90
E5	43	2,15
E6	36	1,80
Media	-	2,12

Media Total L	2,07
---------------	------

Media Total E	2,02
---------------	------

MUESTREO N° 4

FECHA: 29/05/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	35	1,75
L2	33	1,65
L3	47	2,35
L4	51	2,55
L5	27	1,35
L6	28	1,40
Media	-	1,84

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	43	2,15
E2	65	3,25
E3	37	1,85
E4	28	1,40
E5	21	1,05
E6	23	1,15
Media	-	1,81

Subparcela 2

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	57	2,85
L2	40	2,00
L3	27	1,35
L4	23	1,15
L5	21	1,05
L6	33	1,65
Media	-	1,68

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	38	1,90
E2	24	1,20
E3	31	1,55
E4	19	0,95
E5	43	2,15
E6	24	1,20
Media	-	1,49

Subparcela 3

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	15	0,75
L2	19	0,95
L3	23	1,15
L4	33	1,65
L5	25	1,25
L6	37	1,85
Media	-	1,27

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	31	1,55
E2	18	0,90
E3	41	2,05
E4	25	1,25
E5	17	0,85
E6	43	2,15
Media	-	1,46

Subparcela 4

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	18	0,90
L2	27	1,35
L3	21	1,05
L4	32	1,60
L5	42	2,10
L6	39	1,95
Media	-	1,49

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	33	1,65
E2	24	1,20
E3	13	0,65
E4	17	0,85
E5	28	1,40
E6	47	2,35
Media	-	1,35

Media Total L	1,57
---------------	------

Media Total E	1,53
---------------	------

MUESTREO N° 5

FECHA: 16/06/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

## Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	20	1,00
L2	27	1,35
L3	17	0,85
L4	31	1,55
L5	25	1,25
L6	22	1,10
Media	-	1,18

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	19	0,95
E2	23	1,15
E3	32	1,60
E4	30	1,50
E5	28	1,40
E6	26	1,30
Media	-	1,32

## Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	24	1,20
L2	11	0,55
L3	17	0,85
L4	22	1,10
L5	31	1,55
L6	29	1,45
Media	-	1,12

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	23	1,15
E2	15	0,75
E3	18	0,90
E4	21	1,05
E5	22	1,10
E6	29	1,45
Media	-	1,07

## Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	25	1,25
L2	35	1,75
L3	41	2,05
L4	29	1,45
L5	30	1,50
L6	24	1,20
Media	-	1,53

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	24	1,20
E2	33	1,65
E3	23	1,15
E4	32	1,60
E5	40	2,00
E6	29	1,45
Media	-	1,51

## Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	28	1,40
L2	40	2,00
L3	20	1,00
L4	6	0,30
L5	2	0,10
L6	7	0,35
Media	-	0,86

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	17	0,85
E2	6	0,30
E3	23	1,15
E4	24	1,20
E5	22	1,10
E6	16	0,80
Media	-	0,90

Media Total L	1,17
---------------	------

Media Total E	1,20
---------------	------

MUESTREO N° 6 FECHA: 01/07/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	64	3,20
L2	85	4,25
L3	68	3,40
L4	73	3,65
L5	54	2,70
L6	70	3,50
Media	-	3,45

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	40	2,00
E2	35	1,75
E3	50	2,50
E4	25	1,25
E5	33	1,65
E6	38	1,90
Media	-	1,84

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	42	2,10
L2	45	2,25
L3	39	1,95
L4	49	2,45
L5	48	2,40
L6	60	3,00
Media	-	2,36

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	84	4,20
E2	79	3,95
E3	65	3,25
E4	48	2,40
E5	53	2,65
E6	58	2,90
Media	-	3,23

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	70	3,50
L2	121	6,05
L3	78	3,90
L4	115	5,75
L5	99	4,95
L6	128	6,40
Media	-	5,09

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	56	2,80
E2	64	3,20
E3	54	2,70
E4	48	2,40
E5	52	2,60
E6	63	3,15
Media	-	2,81

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	57	2,85
L2	75	3,75
L3	69	3,45
L4	112	5,60
L5	64	3,20
L6	68	3,40
Media	-	3,71

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	69	3,45
E2	70	3,50
E3	84	4,20
E4	83	4,15
E5	60	3,00
E6	80	4,00
Media	-	3,72

Media Total L	3,65
---------------	------

Media Total E	2,90
---------------	------

MUESTREO N° 7    FECHA: 15/07/03    SITUACIÓN DEL CULTIVO: Recolección

**Subparcela 1**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	45	2,25
L2	54	2,70
L3	50	2,50
L4	44	2,20
L5	53	2,65
L6	49	2,45
Media	-	2,46

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	39	1,95
E2	63	3,15
E3	53	2,65
E4	56	2,80
E5	48	2,40
E6	52	2,60
Media	-	2,59

**Subparcela 2**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	47	2,35
L2	53	2,65
L3	54	2,70
L4	63	3,15
L5	52	2,60
L6	45	2,25
Media	-	2,62

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	52	2,60
E2	55	2,75
E3	48	2,40
E4	45	2,25
E5	61	3,05
E6	52	2,60
Media	-	2,61

**Subparcela 3**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	48	2,40
L2	58	2,90
L3	67	3,35
L4	65	3,25
L5	53	2,65
L6	51	2,55
Media	-	2,85

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	53	2,65
E2	46	2,30
E3	39	1,95
E4	45	2,25
E5	48	2,40
E6	39	1,95
Media	-	2,25

**Subparcela 4**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	80	4,00
L2	69	3,45
L3	72	3,60
L4	73	3,65
L5	65	3,25
L6	81	4,05
Media	-	3,67

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	36	1,80
E2	46	2,30
E3	51	2,55
E4	51	2,55
E5	45	2,25
E6	39	1,95
Media	-	2,23

<b>Media Total L</b>	2,90
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	2,42
----------------------	------



**Subparcela 1**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	60	3,00
L2	88	4,40
L3	74	3,70
L4	76	3,80
L5	63	3,15
L6	54	2,70
Media	-	3,46

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	52	2,60
E2	48	2,40
E3	47	2,35
E4	42	2,10
E5	38	1,90
E6	44	2,20
Media	-	2,26

**Subparcela 2**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	82	4,10
L2	79	3,95
L3	65	3,25
L4	91	4,55
L5	69	3,45
L6	80	4,00
Media	-	3,88

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	34	1,70
E2	40	2,00
E3	42	2,10
E4	38	1,90
E5	43	2,15
E6	35	1,75
Media	-	1,93

**Subparcela 3**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	81	4,05
L2	85	4,25
L3	91	4,55
L4	88	4,40
L5	166	8,30
L6	163	8,15
Media	-	5,62

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	58	2,90
E2	47	2,35
E3	52	2,60
E4	53	2,65
E5	65	3,25
E6	56	2,80
Media	-	2,76

**Subparcela 4**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	128	6,40
L2	115	5,75
L3	119	5,95
L4	105	5,25
L5	102	5,10
L6	117	5,85
Media	-	5,72

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	67	3,35
E2	65	3,25
E3	71	3,55
E4	59	2,95
E5	58	2,90
E6	76	3,80
Media	-	3,30

<b>Media Total L</b>	4,67
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	2,56
----------------------	------

MUESTREO N° 9

FECHA: 10/09/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Final del cultivo

## Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	81	4,05
L2	76	3,80
L3	70	3,50
L4	82	4,10
L5	65	3,25
L6	90	4,50
Media	-	3,87

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	65	3,25
E2	60	3,00
E3	44	2,20
E4	71	3,55
E5	53	2,65
E6	54	2,70
Media	-	2,89

## Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	59	2,95
L2	68	3,40
L3	72	3,60
L4	66	3,30
L5	63	3,15
L6	77	3,85
Media	-	3,38

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	87	4,35
E2	83	4,15
E3	70	3,50
E4	64	3,20
E5	73	3,65
E6	80	4,00
Media	-	3,81

## Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	102	5,10
L2	64	3,20
L3	84	4,20
L4	93	4,65
L5	82	4,10
L6	78	3,90
Media	-	4,19

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	71	3,55
E2	67	3,35
E3	80	4,00
E4	49	2,45
E5	59	2,95
E6	71	3,53
Media	-	3,31

## Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	71	3,55
L2	79	3,95
L3	82	4,10
L4	63	3,15
L5	91	4,55
L6	70	3,50
Media	-	3,80

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	88	4,40
E2	79	3,95
E3	80	4,00
E4	90	4,50
E5	63	3,15
E6	82	4,10
Media	-	4,02

Media Total L	3,81
---------------	------

Media Total E	3,51
---------------	------

**IX.6.: Anexo 6:** Ascosporas por gramo de suelo (ags) en el cultivo de sandía injertada del Campo 1 (apartado V)

**MUESTREO N° 1    FECHA:** 25/04/03    **SITUACIÓN DEL CULTIVO:** Plantación

**Subparcela 1**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	47	2,35
L2	45	2,25
L3	41	2,05
L4	38	1,90
L5	37	1,85
L6	40	2,00
Media	-	2,07

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	47	2,35
E2	41	2,05
E3	37	1,85
E4	42	2,10
E5	40	2,00
E6	45	2,25
Media	-	2,10

**Subparcela 2**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	41	2,05
L2	48	2,40
L3	50	2,50
L4	36	1,80
L5	43	2,15
L6	41	2,05
Media	-	2,16

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	45	2,25
E2	43	2,15
E3	41	2,05
E4	42	2,10
E5	38	1,90
E6	37	1,85
Media	-	2,05

**Subparcela 3**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	35	1,75
L2	29	1,45
L3	43	2,15
L4	48	2,40
L5	42	2,10
L6	44	2,20
Media	-	2,01

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	28	1,40
E2	27	1,35
E3	33	1,65
E4	39	1,95
E5	32	1,60
E6	48	2,40
Media	-	1,73

**Subparcela 4**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	32	1,60
L2	40	2,00
L3	54	2,70
L4	48	2,40
L5	48	2,40
L6	40	2,00
Media	-	2,18

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	47	2,35
E2	57	2,85
E3	68	3,40
E4	53	2,65
E5	45	2,25
E6	45	2,25
Media	-	2,63

<b>Media Total L</b>	2,10
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	2,13
----------------------	------

MUESTREO N° 2

FECHA: 09/05/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	58	2,90
L2	33	1,65
L3	45	2,25
L4	38	1,90
L5	39	1,95
L6	52	2,60
Media	-	2,21

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	49	2,45
E2	37	1,85
E3	51	2,55
E4	43	2,15
E5	35	1,75
E6	44	2,20
Media	-	2,16

Subparcela 2

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	42	2,10
L2	55	2,75
L3	33	1,65
L4	51	2,55
L5	28	1,40
L6	58	2,90
Media	-	2,23

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	49	2,45
E2	39	1,95
E3	47	2,35
E4	53	2,65
E5	60	3,00
E6	33	1,65
Media	-	2,34

Subparcela 3

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	44	2,20
L2	39	1,95
L3	25	1,25
L4	48	2,40
L5	53	2,65
L6	39	1,95
Media	-	2,07

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	49	2,45
E2	59	2,95
E3	55	2,75
E4	53	2,65
E5	32	1,60
E6	34	1,70
Media	-	2,35

Subparcela 4

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	41	2,05
L2	33	1,65
L3	41	2,05
L4	47	2,35
L5	49	2,45
L6	55	2,75
Media	-	2,22

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	42	2,10
E2	57	2,85
E3	38	1,90
E4	43	2,15
E5	49	2,45
E6	45	2,25
Media	-	2,28

Media Total L	2,18
---------------	------

Media Total E	2,28
---------------	------

MUESTREO N° 3

FECHA: 19/05/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	52	2,60
L2	40	2,00
L3	36	1,80
L4	41	2,05
L5	32	1,60
L6	29	1,45
Media	-	1,92

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	32	1,60
E2	35	1,75
E3	43	2,15
E4	48	2,40
E5	45	2,25
E6	31	1,55
Media	-	1,95

Subparcela 2

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	26	1,30
L2	38	1,90
L3	31	1,55
L4	35	1,75
L5	43	2,15
L6	40	2,00
Media	-	1,78

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	32	1,60
E2	17	0,85
E3	27	1,35
E4	37	1,85
E5	33	1,65
E6	36	1,80
Media	-	1,52

Subparcela 3

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	19	0,95
L2	25	1,25
L3	44	2,20
L4	32	1,60
L5	51	2,55
L6	38	1,90
Media	-	1,74

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	43	2,15
E2	35	1,75
E3	33	1,65
E4	32	1,60
E5	27	1,35
E6	33	1,65
Media	-	1,69

Subparcela 4

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	22	1,10
L2	41	2,05
L3	38	1,90
L4	50	2,50
L5	46	2,30
L6	73	3,65
Media	-	2,25

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	61	3,05
E2	43	2,15
E3	42	2,10
E4	38	1,90
E5	57	2,85
E6	49	2,45
Media	-	2,42

Media Total L	1,92
---------------	------

Media Total E	1,89
---------------	------

MUESTREO N° 4

FECHA: 29/05/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	40	2,00
L2	52	2,60
L3	47	2,35
L4	32	1,60
L5	42	2,10
L6	38	1,90
Media	-	2,09

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	65	3,25
E2	53	2,65
E3	49	2,45
E4	35	1,75
E5	43	2,15
E6	46	2,30
Media	-	2,43

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	51	2,55
L2	37	1,85
L3	40	2,00
L4	33	1,65
L5	35	1,75
L6	36	1,80
Media	-	1,93

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	38	1,90
E2	49	2,45
E3	29	1,45
E4	37	1,85
E5	43	2,15
E6	35	1,75
Media	-	1,93

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	34	1,70
L2	44	2,20
L3	41	2,05
L4	24	1,20
L5	35	1,75
L6	37	1,85
Media	-	1,79

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	39	1,95
E2	32	1,60
E3	41	2,05
E4	45	2,25
E5	38	1,90
E6	31	1,55
Media	-	1,88

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	36	1,80
L2	43	2,15
L3	29	1,45
L4	43	2,15
L5	47	2,35
L6	38	1,90
Media	-	1,97

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	41	2,05
E2	25	1,25
E3	29	1,45
E4	32	1,60
E5	36	1,80
E6	50	2,50
Media	-	1,78

Media Total L	1,95
---------------	------

Media Total E	2,00
---------------	------

MUESTREO N° 5

FECHA: 16/06/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

## Subparcela 1

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	45	2,25
L2	37	1,85
L3	57	2,85
L4	27	1,35
L5	43	2,15
L6	34	1,70
Media	-	2,03

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	28	1,40
E2	31	1,55
E3	25	1,25
E4	42	2,10
E5	44	2,20
E6	32	1,60
Media	-	1,68

## Subparcela 2

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	30	1,50
L2	29	1,45
L3	41	2,05
L4	27	1,35
L5	32	1,60
L6	35	1,75
Media	-	1,62

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	63	3,15
E2	31	1,55
E3	45	2,25
E4	19	0,95
E5	32	1,60
E6	30	1,50
Media	-	1,83

## Subparcela 3

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	48	2,40
L2	39	1,95
L3	34	1,70
L4	43	2,15
L5	50	2,50
L6	43	2,15
Media	-	2,14

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	42	2,10
E2	50	2,50
E3	25	1,25
E4	29	1,45
E5	37	1,85
E6	47	2,35
Media	-	1,92

## Subparcela 4

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	38	1,90
L2	42	2,10
L3	35	1,75
L4	43	2,15
L5	44	2,20
L6	38	1,90
Media	-	2,00

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	25	1,25
E2	29	1,45
E3	33	1,65
E4	38	1,90
E5	43	2,15
E6	44	2,20
Media	-	1,77

Media Total L	1,95
---------------	------

Media Total E	1,80
---------------	------

MUESTREO N° 6 FECHA: 01/07/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	57	2,85
L2	53	2,65
L3	49	2,45
L4	43	2,15
L5	44	2,20
L6	50	2,50
Media	-	2,47

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	40	2,00
E2	64	3,20
E3	43	2,15
E4	39	1,95
E5	51	2,55
E6	58	2,90
Media	-	2,46

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	41	2,05
L2	47	2,35
L3	41	2,05
L4	39	1,95
L5	30	1,50
L6	31	1,55
Media	-	1,91

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	53	2,65
E2	43	2,15
E3	62	3,10
E4	50	2,50
E5	59	2,95
E6	54	2,70
Media	-	2,68

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	48	2,40
L2	57	2,85
L3	45	2,25
L4	32	1,60
L5	52	2,60
L6	49	2,45
Media	-	2,36

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	46	2,30
E2	54	2,70
E3	48	2,40
E4	56	2,80
E5	51	2,55
E6	48	2,40
Media	-	2,53

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	40	2,00
L2	32	1,60
L3	43	2,15
L4	46	2,30
L5	39	1,95
L6	40	2,00
Media	-	2,00

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	36	1,80
E2	30	1,50
E3	35	1,75
E4	36	1,80
E5	39	1,95
E6	40	2,00
Media	-	1,80

Media Total L	2,18
---------------	------

Media Total E	2,36
---------------	------



MUESTREO N° 7    FECHA: 15/07/03    SITUACIÓN DEL CULTIVO: Recolección

**Subparcela 1**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	56	2,80
L2	42	2,10
L3	50	2,50
L4	45	2,25
L5	47	2,35
L6	42	2,10
Media	-	2,35

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	46	2,30
E2	37	1,85
E3	41	2,05
E4	39	1,95
E5	52	2,60
E6	50	2,50
Media	-	2,21

**Subparcela 2**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	43	2,15
L2	49	2,45
L3	41	2,05
L4	45	2,25
L5	34	1,70
L6	47	2,35
Media	-	2,16

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	42	2,10
E2	52	2,60
E3	50	2,50
E4	43	2,15
E5	35	1,75
E6	39	1,95
Media	-	2,18

**Subparcela 3**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	36	1,80
L2	52	2,60
L3	40	2,00
L4	44	2,20
L5	38	1,90
L6	39	1,95
Media	-	2,08

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	40	2,00
E2	24	1,20
E3	28	1,40
E4	30	1,50
E5	33	1,65
E6	31	1,55
Media	-	1,55

**Subparcela 4**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	41	2,05
L2	43	2,15
L3	39	1,95
L4	38	1,90
L5	45	2,25
L6	35	1,75
Media	-	2,01

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	39	1,95
E2	41	2,05
E3	52	2,60
E4	40	2,00
E5	45	2,25
E6	32	1,60
Media	-	2,08

<b>Media Total L</b>	2,15
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	2,00
----------------------	------

**Subparcela 1**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	47	2,35
L2	39	1,95
L3	38	1,90
L4	53	2,65
L5	43	2,15
L6	51	2,55
Media	-	2,26

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	55	2,75
E2	46	2,30
E3	38	1,90
E4	48	2,40
E5	45	2,25
E6	54	2,70
Media	-	2,38

**Subparcela 2**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	40	2,00
L2	46	2,30
L3	62	3,10
L4	51	2,55
L5	50	2,50
L6	48	2,40
Media	-	2,48

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	41	2,05
E2	45	2,25
E3	37	1,85
E4	42	2,10
E5	43	2,15
E6	50	2,50
Media	-	2,15

**Subparcela 3**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	52	2,60
L2	36	1,80
L3	55	2,75
L4	43	2,15
L5	31	1,55
L6	47	2,35
Media	-	2,20

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	34	1,70
E2	31	1,55
E3	33	1,65
E4	48	2,40
E5	57	2,85
E6	42	2,10
Media	-	2,04

**Subparcela 4**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	43	2,15
L2	29	1,45
L3	41	2,05
L4	39	1,95
L5	35	1,75
L6	39	1,95
Media	-	1,88

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	43	2,15
E2	38	1,90
E3	25	1,25
E4	29	1,45
E5	37	1,85
E6	39	1,95
Media	-	1,76

<b>Media Total L</b>	2,20
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	2,08
----------------------	------

MUESTREO N° 9 FECHA: 10/09/03 SITUACIÓN DEL CULTIVO: Final del cultivo

Subparcela 1

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	45	2,25
L2	35	1,75
L3	41	2,05
L4	43	2,15
L5	48	2,40
L6	33	1,65
Media	-	2,04

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	52	2,60
E2	43	2,15
E3	40	2,00
E4	50	2,50
E5	37	1,85
E6	49	2,45
Media	-	2,26

Subparcela 2

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	33	1,65
L2	42	2,10
L3	51	2,55
L4	32	1,60
L5	38	1,90
L6	50	2,50
Media	-	2,05

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	41	2,05
E2	37	1,85
E3	22	1,10
E4	35	1,75
E5	52	2,60
E6	29	1,45
Media	-	1,80

Subparcela 3

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	62	3,10
L2	47	2,35
L3	42	2,10
L4	38	1,90
L5	42	2,10
L6	39	1,95
Media	-	2,25

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	33	1,15
E2	37	1,35
E3	41	2,05
E4	42	2,10
E5	45	2,25
E6	41	2,05
Media	-	1,83

Subparcela 4

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	29	1,45
L2	38	1,90
L3	35	1,75
L4	27	1,35
L5	54	2,70
L6	53	2,65
Media	-	1,97

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	43	2,15
E2	53	2,65
E3	31	1,55
E4	31	1,55
E5	45	2,25
E6	48	2,40
Media	-	2,09

Media Total L	2,08
---------------	------

Media Total E	1,99
---------------	------

**IX.7.: Anexo 7:** Ascosporas por gramo de suelo (ags) en el cultivo de tomate del Campo 1 (apartado V).

**MUESTREO N° 1**  
Plantación

**FECHA:** 25/04/03

**SITUACIÓN DEL CULTIVO:**

**Subparcela 1**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	17	0,85
L2	23	1,15
L3	31	1,55
L4	43	2,15
L5	42	2,10
L6	30	1,50
Media	-	1,55

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	22	1,10
E2	41	2,05
E3	19	0,95
E4	23	1,15
E5	40	2,00
E6	31	1,55
Media	-	1,47

**Subparcela 2**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	10	0,50
L2	55	2,75
L3	43	2,15
L4	47	2,35
L5	42	2,10
L6	28	1,40
Media	-	1,88

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	30	1,50
E2	33	1,65
E3	43	2,15
E4	25	1,25
E5	21	1,05
E6	35	1,75
Media	-	1,56

**Subparcela 3**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	18	0,90
L2	32	1,60
L3	33	1,65
L4	25	1,25
L5	34	1,70
L6	18	0,90
Media	-	1,33

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	22	1,10
E2	29	1,45
E3	25	1,25
E4	35	1,75
E5	19	0,95
E6	34	1,70
Media	-	1,37

**Subparcela 4**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	40	2,00
L2	27	1,35
L3	11	0,55
L4	14	0,70
L5	53	2,65
L6	51	2,55
Media	-	1,63

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	29	1,45
E2	31	1,55
E3	32	1,60
E4	50	2,50
E5	19	0,95
E6	40	2,00
Media	-	1,68

<b>Media Total L</b>	1,60
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	1,52
----------------------	------

MUESTREO N° 2

FECHA: 09/05/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	52	2,60
L2	34	1,70
L3	39	1,95
L4	47	2,35
L5	29	1,45
L6	43	2,15
Media	-	2,03

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	28	1,40
E2	44	2,20
E3	34	1,70
E4	42	2,10
E5	25	2,25
E6	33	1,65
Media	-	1,88

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	44	2,20
L2	40	2,00
L3	48	2,40
L4	51	2,55
L5	23	1,15
L6	25	1,25
Media	-	1,93

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	27	1,35
E2	29	1,45
E3	33	1,65
E4	45	2,25
E5	44	2,20
E6	40	2,00
Media	-	1,82

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	32	1,60
L2	39	1,95
L3	46	2,30
L4	45	2,25
L5	38	1,90
L6	36	1,80
Media	-	1,97

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	36	1,80
E2	30	1,50
E3	25	1,25
E4	44	2,20
E5	30	1,50
E6	41	2,05
Media	-	1,72

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	35	1,75
L2	45	2,25
L3	43	2,15
L4	34	1,70
L5	44	2,20
L6	38	1,90
Media	-	1,99

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	41	2,05
E2	40	2,00
E3	28	1,40
E4	52	2,60
E5	51	2,55
E6	42	2,10
Media	-	2,12

Media Total L	1,98
---------------	------

Media Total E	1,88
---------------	------

MUESTREO N° 3

FECHA: 19/05/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	24	1,20
L2	42	2,10
L3	33	1,65
L4	25	1,25
L5	8	0,40
L6	35	1,75
Media	-	1,39

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	11	0,55
E2	14	0,70
E3	33	1,65
E4	36	1,80
E5	39	1,95
E6	42	2,10
Media	-	1,46

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	28	1,40
L2	33	1,65
L3	34	1,70
L4	22	1,10
L5	43	2,15
L6	41	2,05
Media	-	1,68

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	32	1,60
E2	56	2,80
E3	43	2,15
E4	23	1,15
E5	36	1,80
E6	40	2,00
Media	-	1,92

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	38	1,90
L2	41	2,05
L3	22	1,10
L4	30	1,50
L5	43	2,15
L6	17	0,85
Media	-	1,59

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	40	2,00
E2	35	1,75
E3	37	1,85
E4	33	1,65
E5	29	1,45
E6	30	1,50
Media	-	1,70

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	31	1,55
L2	30	1,50
L3	28	1,40
L4	37	1,85
L5	42	2,10
L6	32	1,60
Media	-	1,67

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	27	1,35
E2	33	1,65
E3	40	2,00
E4	32	1,60
E5	25	1,25
E6	30	1,50
Media	-	1,56

Media Total L	1,58
---------------	------

Media Total E	1,66
---------------	------

MUESTREO N° 4

FECHA: 29/05/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	43	2,15
L2	25	1,25
L3	26	1,30
L4	34	1,70
L5	17	0,85
L6	33	1,65
Media	-	1,48

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	21	1,05
E2	15	0,75
E3	9	0,45
E4	52	2,60
E5	47	2,35
E6	42	2,10
Media	-	1,55

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	33	1,65
L2	41	2,05
L3	33	1,65
L4	30	1,50
L5	43	2,15
L6	31	1,55
Media	-	1,76

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	28	1,40
E2	46	2,30
E3	35	1,75
E4	34	1,70
E5	44	2,20
E6	21	1,05
Media	-	1,73

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	42	2,10
L2	51	2,55
L3	18	0,90
L4	22	1,10
L5	32	1,60
L6	22	1,10
Media	-	1,56

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	36	1,80
E2	41	2,05
E3	29	1,45
E4	35	1,75
E5	30	1,50
E6	23	1,15
Media	-	1,62

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	16	0,80
L2	29	1,45
L3	39	1,95
L4	42	2,10
L5	23	1,15
L6	44	2,20
Media	-	1,61

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	41	2,05
E2	35	1,75
E3	35	1,75
E4	41	2,05
E5	30	1,50
E6	28	1,40
Media	-	1,75

Media Total L	1,60
---------------	------

Media Total E	1,66
---------------	------

MUESTREO N° 5

FECHA: 16/06/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

## Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	38	1,90
L2	37	1,85
L3	43	2,15
L4	37	1,85
L5	44	2,20
L6	39	1,95
Media	-	1,98

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	28	1,40
E2	39	1,95
E3	40	2,00
E4	45	2,25
E5	47	2,35
E6	42	2,10
Media	-	2,01

## Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	32	1,60
L2	36	1,80
L3	38	1,90
L4	41	2,05
L5	23	1,15
L6	35	1,75
Media	-	1,71

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	42	2,10
E2	40	2,00
E3	25	1,25
E4	30	1,50
E5	17	0,85
E6	36	1,80
Media	-	1,58

## Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	45	2,25
L2	51	2,55
L3	39	1,95
L4	37	1,85
L5	47	2,35
L6	38	1,90
Media	-	2,14

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	35	1,75
E2	37	1,85
E3	32	1,60
E4	41	2,05
E5	43	2,15
E6	38	1,90
Media	-	1,88

## Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	25	1,25
L2	50	2,50
L3	33	1,65
L4	37	1,85
L5	42	2,10
L6	36	1,80
Media	-	1,86

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	33	1,65
E2	43	2,15
E3	19	0,95
E4	47	2,35
E5	23	1,15
E6	31	1,55
Media	-	1,63

Media Total L	1,92
---------------	------

Media Total E	1,78
---------------	------



MUESTREO N° 6 FECHA: 01/07/03

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	28	1,40
L2	51	2,55
L3	30	1,50
L4	27	1,35
L5	29	1,45
L6	31	1,55
Media	-	1,63

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	44	2,20
E2	29	1,45
E3	33	1,65
E4	36	1,80
E5	39	1,95
E6	12	0,60
Media	-	1,61

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	56	2,80
L2	46	2,30
L3	30	1,50
L4	28	1,40
L5	35	1,75
L6	39	1,95
Media	-	1,95

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	34	1,70
E2	24	1,20
E3	37	1,85
E4	35	1,75
E5	42	2,10
E6	44	2,20
Media	-	1,80

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	33	1,65
L2	40	2,00
L3	22	1,10
L4	39	1,95
L5	21	1,05
L6	16	0,80
Media	-	1,43

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	28	1,40
E2	32	1,60
E3	34	1,70
E4	28	1,40
E5	17	0,85
E6	25	1,25
Media	-	1,37

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	28	1,40
L2	32	1,60
L3	34	1,70
L4	28	1,40
L5	17	0,85
L6	25	1,25
Media	-	1,37

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	41	2,05
E2	36	1,80
E3	39	1,95
E4	42	2,10
E5	28	1,40
E6	20	1,00
Media	-	1,72

Media Total L	1,66
---------------	------

Media Total E	1,62
---------------	------

MUESTREO N° 7

FECHA: 15/07/03  
Recolección

SITUACIÓN DEL CULTIVO:

**Subparcela 1**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	29	1,45
L2	42	2,10
L3	33	1,65
L4	35	1,75
L5	17	0,85
L6	48	2,40
Media	-	1,70

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	36	1,80
E2	25	1,25
E3	40	2,00
E4	32	1,60
E5	19	0,95
E6	37	1,85
Media	-	1,58

**Subparcela 2**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	41	2,05
L2	35	1,75
L3	33	1,65
L4	45	2,25
L5	39	1,95
L6	37	1,85
Media	-	1,92

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	31	1,55
E2	41	2,05
E3	32	1,60
E4	33	1,65
E5	33	1,65
E6	37	1,85
Media	-	1,73

**Subparcela 3**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	28	1,40
L2	35	1,75
L3	38	1,90
L4	41	2,05
L5	43	2,15
L6	36	1,80
Media	-	1,84

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	33	1,65
E2	37	1,85
E3	32	1,60
E4	39	1,95
E5	40	2,00
E6	35	1,75
Media	-	1,80

**Subparcela 4**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	26	1,30
L2	31	1,55
L3	27	1,35
L4	41	2,05
L5	25	1,25
L6	32	1,60
Media	-	1,52

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	29	1,45
E2	32	1,60
E3	40	2,00
E4	26	1,30
E5	17	0,85
E6	21	1,05
Media	-	1,38

<b>Media Total L</b>	1,74
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	1,62
----------------------	------

**Subparcela 1**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	44	2,20
L2	37	1,85
L3	34	1,70
L4	23	1,15
L5	32	1,60
L6	31	1,55
Media	-	1,68

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	28	1,40
E2	32	1,60
E3	33	1,65
E4	27	1,35
E5	26	1,30
E6	34	1,70
Media	-	1,50

**Subparcela 2**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	31	1,55
L2	49	2,45
L3	40	2,00
L4	27	1,35
L5	33	1,65
L6	44	2,20
Media	-	1,87

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	25	1,25
E2	41	2,05
E3	45	2,25
E4	28	1,40
E5	38	1,90
E6	31	1,55
Media	-	1,73

**Subparcela 3**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	35	1,75
L2	63	3,15
L3	29	1,45
L4	43	2,15
L5	44	2,20
L6	12	0,60
Media	-	1,88

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	23	1,15
E2	19	0,95
E3	50	2,50
E4	32	1,60
E5	42	2,10
E6	27	1,35
Media	-	1,61

**Subparcela 4**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	53	2,65
L2	43	2,15
L3	47	2,35
L4	28	1,40
L5	24	1,20
L6	31	1,55
Media	-	1,88

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	29	1,45
E2	48	2,40
E3	32	1,60
E4	27	1,35
E5	42	1,10
E6	36	1,80
Media	-	1,62

<b>Media Total L</b>	1,83
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	1,61
----------------------	------

MUESTREO N° 9 FECHA: 10/09/03 SITUACIÓN DEL CULTIVO: Final del cultivo

Subparcela 1

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	40	2,00
L2	23	1,15
L3	25	1,25
L4	29	1,45
L5	33	1,65
L6	35	1,75
Media	-	1,54

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	35	1,75
E2	32	1,60
E3	37	1,85
E4	38	1,90
E5	29	1,45
E6	31	1,55
Media	-	1,68

Subparcela 2

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	28	1,40
L2	52	2,60
L3	47	2,35
L4	27	1,35
L5	19	0,95
L6	37	1,85
Media	-	1,75

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	49	2,45
E2	19	0,95
E3	39	1,95
E4	41	2,05
E5	22	1,10
E6	35	1,75
Media	-	1,71

Subparcela 3

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	52	2,60
L2	54	2,70
L3	38	1,90
L4	29	1,45
L5	44	2,20
L6	47	2,35
Media	-	2,20

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	43	2,15
E2	29	1,45
E3	18	0,90
E4	35	1,75
E5	39	1,95
E6	42	2,10
Media	-	1,72

Subparcela 4

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	53	2,65
L2	48	2,40
L3	31	1,55
L4	30	1,50
L5	33	1,65
L6	27	1,35
Media	-	1,85

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	40	2,00
E2	32	1,60
E3	28	1,40
E4	35	1,75
E5	37	1,85
E6	31	1,55
Media	-	1,69

Media Total L	1,84
---------------	------

Media Total E	1,70
---------------	------

**IX.8.: Anexo 8:** Ascosporas por gramo de suelo (ags) en el cultivo de melón del Campo 2 (apartado V).

**MUESTREO N° 1    FECHA:** 25/05/04    **SITUACIÓN DEL CULTIVO:** Plantación

**Subparcela 1**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	70	3,50
L2	65	3,25
L3	50	2,50
L4	68	3,40
L5	64	3,20
L6	64	3,20
Media	-	3,17

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	61	3,05
E2	70	3,50
E3	67	3,35
E4	57	2,85
E5	65	3,25
E6	63	3,15
Media	-	3,19

**Subparcela 2**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	56	2,80
L2	66	3,30
L3	61	3,05
L4	69	3,45
L5	50	2,50
L6	63	3,15
Media	-	3,04

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	57	2,85
E2	61	3,05
E3	62	3,10
E4	58	2,90
E5	64	3,20
E6	59	2,95
Media	-	3,01

**Subparcela 3**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	52	2,60
L2	58	2,90
L3	68	3,40
L4	59	2,95
L5	74	3,70
L6	63	3,15
Media	-	3,12

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	51	2,55
E2	69	3,45
E3	56	2,80
E4	60	3,00
E5	62	3,10
E6	55	2,75
Media	-	2,94

**Subparcela 4**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	59	2,95
L2	68	3,40
L3	56	2,80
L4	67	3,35
L5	70	3,50
L6	61	3,05
Media	-	3,17

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	62	3,10
E2	72	3,60
E3	75	3,75
E4	69	3,45
E5	66	3,30
E6	63	3,15
Media	-	3,39

<b>Media Total L</b>	3,13
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	3,13
----------------------	------

MUESTREO N° 2

FECHA: 10/06/04

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	76	3,80
L2	57	2,85
L3	47	2,35
L4	56	2,80
L5	57	2,85
L6	60	3,00
Media	-	2,94

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	65	3,25
E2	68	3,40
E3	55	2,75
E4	51	2,55
E5	59	2,95
E6	62	3,10
Media	-	3,00

Subparcela 2

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	66	3,30
L2	68	3,40
L3	65	3,25
L4	54	2,70
L5	73	3,65
L6	65	3,25
Media	-	3,26

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	64	3,20
E2	67	3,35
E3	72	3,60
E4	57	2,85
E5	59	2,95
E6	63	3,15
Media	-	3,18

Subparcela 3

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	69	3,45
L2	65	3,25
L3	57	2,85
L4	64	3,20
L5	66	3,30
L6	64	3,20
Media	-	3,21

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	61	3,05
E2	65	3,25
E3	59	2,95
E4	58	2,90
E5	67	3,35
E6	69	3,45
Media	-	3,16

Subparcela 4

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	61	3,05
L2	65	3,25
L3	59	2,95
L4	58	2,90
L5	67	3,35
L6	69	3,45
Media	-	3,16

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	71	3,55
E2	66	3,30
E3	47	2,35
E4	55	2,75
E5	65	3,25
E6	64	3,20
Media	-	3,07

Media Total L	3,12
---------------	------

Media Total E	3,10
---------------	------

MUESTREO N° 3

FECHA: 21/06/04

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	49	2,45
L2	38	1,90
L3	32	1,60
L4	35	1,75
L5	39	1,95
L6	41	2,05
Media	-	1,95

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	38	1,90
E2	46	2,30
E3	39	1,95
E4	50	2,50
E5	47	2,35
E6	41	2,05
Media	-	2,17

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	31	1,55
L2	44	2,20
L3	40	2,00
L4	46	2,30
L5	29	1,45
L6	35	1,75
Media	-	1,87

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	34	1,70
E2	42	2,10
E3	39	1,95
E4	48	2,40
E5	40	2,00
E6	37	1,85
Media	-	2,00

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	40	2,00
L2	35	1,75
L3	46	2,30
L4	39	1,95
L5	49	2,45
L6	41	2,05
Media	-	2,08

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	43	2,15
E2	51	2,55
E3	42	2,10
E4	29	1,45
E5	34	1,70
E6	44	2,20
Media	-	2,04

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	43	2,15
L2	48	2,40
L3	42	2,10
L4	53	2,65
L5	33	1,65
L6	44	2,20
Media	-	2,19

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	38	1,90
E2	35	1,75
E3	28	1,40
E4	36	1,80
E5	44	2,20
E6	40	2,00
Media	-	1,84

Media Total L	2,02
---------------	------

Media Total E	2,01
---------------	------

MUESTREO N° 4

FECHA: 01/07/04

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	27	1,35
L2	41	2,05
L3	33	1,65
L4	45	2,25
L5	37	1,85
L6	39	1,95
Media	-	1,85

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	34	1,70
E2	44	2,20
E3	38	1,90
E4	41	2,05
E5	43	2,15
E6	47	2,35
Media	-	2,06

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	47	2,35
L2	41	2,05
L3	38	1,90
L4	42	2,10
L5	40	2,00
L6	32	1,60
Media	-	2,00

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	40	2,00
E2	36	1,80
E3	29	1,45
E4	35	1,75
E5	40	2,00
E6	45	2,25
Media	-	1,87

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	30	1,50
L2	46	2,30
L3	45	2,25
L4	31	1,55
L5	39	1,95
L6	42	2,10
Media	-	1,94

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	33	1,65
E2	38	1,90
E3	37	1,85
E4	44	2,20
E5	50	2,50
E6	45	2,25
Media	-	2,06

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	37	1,85
L2	43	2,15
L3	42	2,10
L4	38	1,90
L5	52	2,60
L6	32	1,60
Media	-	2,03

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	39	1,95
E2	44	2,20
E3	36	1,80
E4	31	1,55
E5	40	2,00
E6	35	1,75
Media	-	1,87

Media Total L	1,96
---------------	------

Media Total E	1,97
---------------	------



MUESTREO N° 5

FECHA: 12/07/04

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	47	2,35
L2	56	2,80
L3	49	2,45
L4	52	2,60
L5	42	2,10
L6	51	2,55
Media	-	2,47

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	51	2,55
E2	53	2,65
E3	39	1,95
E4	49	2,45
E5	42	2,10
E6	44	2,20
Media	-	2,32

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	56	2,80
L2	42	2,10
L3	43	2,15
L4	45	2,25
L5	53	2,65
L6	57	2,85
Media	-	2,47

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	39	1,95
E2	60	3,00
E3	43	2,15
E4	33	1,65
E5	56	2,80
E6	49	2,45
Media	-	2,33

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	55	2,75
L2	54	2,70
L3	45	2,25
L4	41	2,05
L5	52	2,60
L6	64	3,20
Media	-	2,59

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	44	2,20
E2	42	2,10
E3	50	2,50
E4	43	2,15
E5	47	2,35
E6	53	2,65
Media	-	2,32

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	55	2,75
L2	42	2,10
L3	53	2,65
L4	58	2,90
L5	45	2,25
L6	51	2,55
Media	-	2,53

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	47	2,35
E2	46	2,30
E3	61	3,05
E4	41	2,05
E5	51	2,55
E6	53	2,65
Media	-	2,49

Media Total L	2,52
---------------	------

Media Total E	2,37
---------------	------

MUESTREO N° 6

FECHA: 20/07/04

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

**Subparcela 1**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	92	4,60
L2	117	5,85
L3	89	4,45
L4	87	4,35
L5	101	5,05
L6	106	5,30
Media	-	4,93

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	64	3,20
E2	69	3,45
E3	55	2,75
E4	70	3,50
E5	81	4,05
E6	58	2,90
Media	-	3,31

**Subparcela 2**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	104	5,20
L2	86	4,30
L3	79	3,95
L4	97	4,85
L5	100	5,00
L6	83	4,15
Media	-	4,57

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	55	2,75
E2	65	3,25
E3	66	3,30
E4	74	3,70
E5	77	3,85
E6	60	3,00
Media	-	3,31

**Subparcela 3**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	93	4,65
L2	116	5,80
L3	121	6,05
L4	99	4,95
L5	88	4,40
L6	111	5,55
Media	-	5,23

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	91	4,55
E2	72	3,60
E3	88	4,40
E4	68	3,40
E5	75	3,75
E6	67	3,35
Media	-	3,84

**Subparcela 4**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	139	6,95
L2	117	5,85
L3	98	4,90
L4	103	5,15
L5	106	5,30
L6	109	5,45
Media	-	5,60

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	84	4,20
E2	90	4,50
E3	101	5,05
E4	73	3,65
E5	86	4,30
E6	76	3,80
Media	-	4,25

<b>Media Total L</b>	5,08
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	3,68
----------------------	------

MUESTREO N° 7    FECHA: 29/07/04    SITUACIÓN DEL CULTIVO: Recolección

**Subparcela 1**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	113	5,65
L2	106	5,30
L3	90	4,50
L4	111	5,55
L5	95	4,75
L6	105	5,25
Media	-	5,17

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	74	3,70
E2	61	3,05
E3	64	3,20
E4	59	2,95
E5	65	3,25
E6	75	3,75
Media	-	3,32

**Subparcela 2**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	84	4,20
L2	103	5,15
L3	114	5,70
L4	88	4,40
L5	83	4,15
L6	93	4,65
Media	-	4,71

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	77	3,85
E2	58	2,90
E3	54	2,70
E4	71	3,55
E5	73	3,65
E6	68	3,40
Media	-	3,34

**Subparcela 3**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	89	4,45
L2	106	5,30
L3	93	4,65
L4	102	5,10
L5	107	5,35
L6	96	4,80
Media	-	4,94

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	63	3,15
E2	61	3,05
E3	67	3,35
E4	69	3,45
E5	70	3,50
E6	65	3,25
Media	-	3,29

**Subparcela 4**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	98	4,90
L2	115	5,75
L3	104	5,20
L4	120	6,00
L5	101	5,05
L6	106	5,30
Media	-	5,37

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	60	3,00
E2	82	4,10
E3	59	2,95
E4	66	3,30
E5	71	3,55
E6	64	3,20
Media	-	3,35

<b>Media Total L</b>	5,05
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	3,33
----------------------	------

MUESTREO N° 8 FECHA: 10/08/04 SITUACIÓN DEL CULTIVO: Recolección

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	108	5,40
L2	95	4,75
L3	125	6,25
L4	132	6,60
L5	117	5,85
L6	121	6,05
Media	-	5,82

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	86	4,30
E2	94	4,70
E3	99	4,95
E4	74	3,70
E5	99	4,95
E6	71	3,55
Media	-	4,38

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	107	5,35
L2	114	5,70
L3	130	6,50
L4	173	8,65
L5	138	6,90
L6	101	5,05
Media	-	6,36

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	87	4,35
E2	79	3,95
E3	82	4,10
E4	96	4,80
E5	87	4,35
E6	91	4,55
Media	-	4,35

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	97	4,85
L2	105	5,25
L3	142	7,10
L4	115	5,75
L5	224	11,20
L6	85	4,25
Media	-	6,40

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	123	6,15
E2	83	4,15
E3	112	5,60
E4	121	6,05
E5	70	3,50
E6	104	5,20
Media	-	5,11

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	122	6,10
L2	103	5,15
L3	118	5,90
L4	92	4,60
L5	113	5,65
L6	97	4,85
Media	-	5,37

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	78	3,80
E2	91	4,55
E3	84	4,20
E4	97	4,85
E5	93	4,65
E6	86	4,30
Media	-	4,41

Media Total L	5,99
---------------	------

Media Total E	4,56
---------------	------

MUESTREO N° 9 FECHA: 06/10/04 SITUACIÓN DEL CULTIVO: Final del cultivo

Subparcela 1

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	63	3,15
L2	58	2,90
L3	65	3,25
L4	68	3,40
L5	58	2,90
L6	64	3,20
Media	-	3,13

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	87	4,35
E2	70	3,50
E3	58	2,90
E4	50	2,50
E5	65	3,25
E6	59	2,95
Media	-	3,24

Subparcela 2

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	73	3,65
L2	60	3,00
L3	64	3,20
L4	67	3,35
L5	57	2,85
L6	62	3,10
Media	-	3,19

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	52	2,60
E2	59	2,95
E3	80	4,00
E4	62	3,10
E5	66	3,30
E6	61	3,05
Media	-	3,17

Subparcela 3

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	62	3,10
L2	59	2,95
L3	49	2,45
L4	72	3,60
L5	77	3,85
L6	58	2,90
Media	-	3,14

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	56	2,80
E2	70	3,50
E3	63	3,15
E4	53	2,65
E5	66	3,30
E6	75	3,75
Media	-	3,19

Subparcela 4

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	85	4,25
L2	74	3,70
L3	70	3,50
L4	73	3,65
L5	80	4,00
L6	62	3,10
Media	-	3,70

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	75	3,75
E2	65	3,25
E3	78	3,90
E4	60	3,00
E5	63	3,15
E6	79	3,95
Media	-	3,50

Media Total L	3,29
---------------	------

Media Total E	3,28
---------------	------

**IX.9.: Anexo 9:** Ascosporas por gramo de suelo (ags) en el cultivo de sandía del Campo 2 (apartado V).

**MUESTREO N° 1    FECHA:** 25/05/04    **SITUACIÓN DEL CULTIVO:** Plantación

**Subparcela 1**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	64	3,20
L2	66	3,30
L3	68	3,40
L4	56	2,80
L5	62	3,10
L6	47	2,35
Media	-	3,03

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	47	2,35
E2	70	3,50
E3	53	2,65
E4	67	3,35
E5	51	2,55
E6	63	3,15
Media	-	2,93

**Subparcela 2**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	56	2,80
L2	48	2,40
L3	54	2,70
L4	65	3,25
L5	58	2,90
L6	54	2,70
Media	-	2,79

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	63	3,15
E2	58	2,90
E3	52	2,60
E4	53	2,65
E5	62	3,10
E6	58	2,90
Media	-	2,88

**Subparcela 3**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	59	2,95
L2	63	3,15
L3	65	3,25
L4	59	2,95
L5	68	3,40
L6	57	2,85
Media	-	3,09

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	59	2,95
E2	65	3,25
E3	60	3,00
E4	64	3,20
E5	60	3,00
E6	61	3,05
Media	-	3,08

**Subparcela 4**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	66	3,30
L2	71	3,55
L3	69	3,45
L4	62	3,10
L5	72	3,60
L6	60	3,00
Media	-	3,33

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	68	3,40
E2	67	3,35
E3	65	3,25
E4	62	3,10
E5	66	3,30
E6	65	3,25
Media	-	3,28

<b>Media Total L</b>	3,06
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	3,04
----------------------	------

MUESTREO N° 2

FECHA: 10/06/04

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	52	2,60
L2	63	3,15
L3	50	2,50
L4	69	3,45
L5	63	3,15
L6	57	2,85
Media	-	2,95

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	58	2,90
E2	60	3,00
E3	71	3,55
E4	66	3,30
E5	68	3,40
E6	63	3,15
Media	-	3,22

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	65	3,25
L2	55	2,75
L3	63	3,15
L4	75	3,75
L5	53	2,65
L6	47	2,35
Media	-	2,98

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	56	2,80
E2	55	2,75
E3	52	2,60
E4	69	3,45
E5	72	3,60
E6	62	3,10
Media	-	3,05

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	50	2,50
L2	60	3,00
L3	59	2,95
L4	64	3,20
L5	62	3,10
L6	65	3,25
Media	-	3,00

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	55	2,75
E2	58	2,90
E3	63	3,15
E4	67	3,35
E5	63	3,15
E6	57	2,85
Media	-	3,03

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	58	2,90
L2	64	3,20
L3	68	3,40
L4	60	3,00
L5	67	3,35
L6	61	3,05
Media	-	3,15

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	65	3,25
E2	66	3,30
E3	69	3,45
E4	63	3,15
E5	67	3,35
E6	60	3,00
Media	-	3,25

Media Total L	3,02
---------------	------

Media Total E	3,14
---------------	------

MUESTREO N° 3

FECHA: 21/06/04

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	37	1,85
L2	34	1,70
L3	49	2,45
L4	46	2,30
L5	52	2,60
L6	43	2,15
Media	-	2,18

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	58	2,90
E2	53	2,65
E3	42	2,10
E4	39	1,95
E5	43	2,15
E6	55	2,75
Media	-	2,42

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	42	2,10
L2	49	2,45
L3	50	2,50
L4	57	2,85
L5	41	2,05
L6	41	2,05
Media	-	2,33

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	58	2,90
E2	39	1,95
E3	53	2,65
E4	60	3,00
E5	48	2,40
E6	50	2,50
Media	-	2,57

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	49	2,45
L2	61	3,05
L3	55	2,75
L4	43	2,15
L5	50	2,50
L6	54	2,70
Media	-	2,60

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	55	2,75
E2	50	2,50
E3	57	2,85
E4	49	2,45
E5	60	3,00
E6	59	2,95
Media	-	2,75

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	39	1,95
L2	45	2,25
L3	57	2,85
L4	49	2,45
L5	51	2,55
L6	57	2,85
Media	-	2,48

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	53	2,65
E2	48	2,40
E3	55	2,75
E4	54	2,70
E5	50	2,50
E6	59	2,95
Media	-	2,66

Media Total L	2,40
---------------	------

Media Total E	2,60
---------------	------



MUESTREO N° 4

FECHA: 01/07/04

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	45	2,25
L2	54	2,70
L3	52	2,60
L4	43	2,15
L5	46	2,30
L6	55	2,75
Media	-	2,46

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	40	2,00
E2	42	2,10
E3	47	2,35
E4	39	1,95
E5	45	2,25
E6	39	1,95
Media	-	2,10

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	43	2,15
L2	54	2,70
L3	38	1,90
L4	56	2,80
L5	47	2,35
L6	39	1,95
Media	-	2,31

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	41	2,05
E2	56	2,80
E3	44	2,20
E4	48	2,40
E5	55	2,75
E6	53	2,65
Media	-	2,48

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	52	2,60
L2	52	2,60
L3	42	2,10
L4	47	2,35
L5	44	2,20
L6	46	2,30
Media	-	2,36

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	48	2,40
E2	55	2,75
E3	47	2,35
E4	53	2,65
E5	49	2,45
E6	52	2,60
Media	-	2,53

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	51	2,55
L2	32	1,60
L3	37	1,85
L4	38	1,90
L5	46	2,30
L6	43	2,15
Media	-	2,06

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	45	2,25
E2	35	1,75
E3	44	2,20
E4	49	2,45
E5	36	1,80
E6	44	2,20
Media	-	2,11

Media Total L	2,30
---------------	------

Media Total E	2,30
---------------	------

MUESTREO N° 5

FECHA: 12/07/04

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	44	2,20
L2	42	2,10
L3	47	2,35
L4	38	1,90
L5	45	2,25
L6	40	2,00
Media	-	2,13

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	43	2,15
E2	41	2,05
E3	47	2,35
E4	36	1,80
E5	50	2,50
E6	44	2,20
Media	-	2,18

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	38	1,90
L2	57	2,85
L3	49	2,45
L4	55	2,75
L5	40	2,00
L6	54	2,70
Media	-	2,44

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	51	2,55
E2	45	2,25
E3	35	1,75
E4	37	1,85
E5	48	2,40
E6	36	1,80
Media	-	2,10

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	39	1,95
L2	31	1,55
L3	48	2,40
L4	43	2,15
L5	40	2,00
L6	47	2,35
Media	-	2,07

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	51	2,55
E2	29	1,45
E3	46	2,30
E4	45	2,25
E5	37	1,85
E6	43	2,15
Media	-	2,09

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	44	2,20
L2	42	2,10
L3	51	2,55
L4	43	2,15
L5	46	2,30
L6	33	1,65
Media	-	2,16

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	47	2,35
E2	52	2,60
E3	48	2,40
E4	50	2,50
E5	39	1,95
E6	47	2,35
Media	-	2,36

Media Total L	2,20
---------------	------

Media Total E	2,18
---------------	------

MUESTREO N° 6 FECHA: 20/07/04

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	34	1,70
L2	48	2,40
L3	55	2,75
L4	33	1,65
L5	43	2,15
L6	41	2,05
Media	-	2,12

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	35	1,75
E2	37	1,85
E3	34	1,70
E4	41	2,05
E5	52	2,60
E6	32	1,60
Media	-	1,93

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	28	1,40
L2	43	2,15
L3	31	1,55
L4	40	2,00
L5	35	1,75
L6	37	1,85
Media	-	1,78

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	37	1,85
E2	36	1,80
E3	52	2,60
E4	45	2,25
E5	38	1,90
E6	44	2,20
Media	-	2,10

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	53	2,65
L2	34	1,70
L3	32	1,60
L4	42	2,10
L5	35	1,75
L6	38	1,90
Media	-	1,95

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	46	2,30
E2	48	2,40
E3	33	1,65
E4	45	2,25
E5	30	1,50
E6	34	1,70
Media	-	1,97

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	42	2,10
L2	39	1,95
L3	44	2,20
L4	47	2,35
L5	41	2,05
L6	36	1,80
Media	-	2,08

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	45	2,25
E2	38	1,90
E3	42	2,10
E4	47	2,35
E5	40	2,00
E6	39	1,95
Media	-	2,09

Media Total L	1,98
---------------	------

Media Total E	2,02
---------------	------

**Subparcela 1**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	89	4,45
L2	83	4,15
L3	77	3,85
L4	88	4,40
L5	73	3,65
L6	80	4,00
Media	-	4,08

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	69	3,45
E2	58	2,90
E3	53	2,65
E4	60	3,00
E5	65	3,25
E6	57	2,85
Media	-	3,02

**Subparcela 2**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	85	4,25
L2	84	4,20
L3	91	4,55
L4	94	4,70
L5	89	4,45
L6	84	4,20
Media	-	4,39

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	61	3,05
E2	69	3,45
E3	74	3,70
E4	64	3,20
E5	68	3,40
E6	56	2,80
Media	-	3,27

**Subparcela 3**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	74	3,70
L2	77	3,85
L3	73	3,65
L4	69	3,45
L5	85	4,25
L6	87	4,35
Media	-	3,88

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	73	3,65
E2	61	3,05
E3	65	3,25
E4	69	3,45
E5	71	3,55
E6	50	2,50
Media	-	3,24

**Subparcela 4**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	105	5,25
L2	81	4,05
L3	84	4,20
L4	95	4,75
L5	99	4,95
L6	86	4,30
Media	-	4,58

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	57	2,85
E2	95	4,75
E3	61	3,05
E4	64	3,20
E5	79	3,95
E6	68	3,40
Media	-	3,53

<b>Media Total L</b>	4,23
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	3,26
----------------------	------

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	121	6,05
L2	113	5,65
L3	136	6,80
L4	168	8,40
L5	139	6,95
L6	149	7,45
Media	-	6,88

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	95	4,75
E2	83	4,15
E3	112	5,60
E4	100	5,00
E5	88	4,40
E6	106	5,30
Media	-	4,87

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	115	5,75
L2	102	5,10
L3	128	6,40
L4	138	6,90
L5	130	6,50
L6	109	5,45
Media	-	6,02

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	85	4,25
E2	68	3,40
E3	101	5,05
E4	79	3,95
E5	94	4,70
E6	87	4,35
Media	-	4,28

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	125	6,25
L2	107	5,35
L3	114	5,70
L4	134	6,70
L5	128	6,40
L6	112	5,60
Media	-	6,00

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	91	4,55
E2	101	5,05
E3	88	4,40
E4	77	3,85
E5	92	4,60
E6	86	4,30
Media	-	4,46

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	96	4,80
L2	122	6,10
L3	130	6,50
L4	147	7,35
L5	129	6,45
L6	111	5,55
Media	-	6,13

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	78	3,90
E2	94	4,70
E3	87	4,35
E4	84	4,20
E5	105	5,25
E6	79	3,95
Media	-	4,39

Media Total L	6,26
---------------	------

Media Total E	4,50
---------------	------

MUESTREO N° 9 FECHA: 06/10/04 SITUACIÓN DEL CULTIVO: Final del cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	59	2,95
L2	47	2,35
L3	60	3,00
L4	67	3,35
L5	68	3,40
L6	78	3,90
Media	-	3,16

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	54	2,70
E2	75	3,75
E3	66	3,30
E4	71	3,55
E5	65	3,35
E6	58	2,90
Media	-	3,24

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	57	2,85
L2	81	4,05
L3	98	4,90
L4	65	3,25
L5	59	2,95
L6	63	3,15
Media	-	3,52

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	64	3,20
E2	78	3,90
E3	83	4,15
E4	68	3,40
E5	58	2,90
E6	73	3,65
Media	-	3,53

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	70	3,50
L2	77	3,85
L3	63	3,15
L4	72	3,60
L5	59	2,95
L6	60	3,00
Media	-	3,34

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	62	3,10
E2	82	4,10
E3	58	2,90
E4	85	4,25
E5	66	3,30
E6	69	3,45
Media	-	3,52

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	69	3,45
L2	66	3,30
L3	61	3,05
L4	68	3,40
L5	75	3,75
L6	62	3,10
Media	-	3,34

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	67	3,35
E2	66	3,30
E3	73	3,65
E4	62	3,10
E5	70	3,50
E6	63	3,15
Media	-	3,34

Media Total L	3,34
---------------	------

Media Total E	3,41
---------------	------

**IX.10.: Anexo 10:** Ascosporas por gramo de suelo (ags) en el cultivo de sandía injertada del Campo 2 (apartado V).

**MUESTREO N° 1      FECHA:** 25/05/04      **SITUACIÓN DEL CULTIVO:** Plantación

**Subparcela 1**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	66	3,30
L2	65	3,25
L3	61	3,05
L4	69	3,45
L5	64	3,20
L6	59	2,95
Media	-	3,20

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	51	2,55
E2	64	3,20
E3	56	2,80
E4	62	3,10
E5	63	3,15
E6	63	3,15
Media	-	2,99

**Subparcela 2**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	59	2,95
L2	47	2,35
L3	65	3,25
L4	79	3,95
L5	66	3,30
L6	60	3,00
Media	-	3,13

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	53	2,65
E2	50	2,50
E3	49	2,45
E4	67	3,35
E5	63	3,15
E6	61	3,05
Media	-	2,86

**Subparcela 3**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	50	2,50
L2	71	3,55
L3	63	3,15
L4	58	2,90
L5	61	3,05
L6	59	2,95
Media	-	3,02

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	73	3,65
E2	63	3,15
E3	60	3,00
E4	57	2,85
E5	58	2,90
E6	61	3,05
Media	-	3,10

**Subparcela 4**

Línea	N° ascosporas	ags
L1	62	3,10
L2	67	3,35
L3	54	2,70
L4	62	3,10
L5	59	2,95
L6	64	3,20
Media	-	3,07

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	68	3,40
E2	81	4,05
E3	71	3,55
E4	56	2,80
E5	54	2,70
E6	53	2,65
Media	-	3,19

<b>Media Total L</b>	3,10
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	3,04
----------------------	------

MUESTREO N° 2

FECHA: 10/06/04

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	53	2,65
L2	65	3,25
L3	59	2,95
L4	62	3,10
L5	78	3,90
L6	65	3,25
Media	-	3,18

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	64	3,20
E2	65	3,25
E3	60	3,00
E4	69	3,45
E5	68	3,40
E6	62	3,10
Media	-	3,23

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	67	3,35
L2	75	3,75
L3	60	3,00
L4	66	3,30
L5	56	2,80
L6	63	3,15
Media	-	3,23

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	65	3,25
E2	64	3,20
E3	57	2,85
E4	68	3,40
E5	65	3,25
E6	66	3,30
Media	-	3,21

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	57	2,85
L2	66	3,30
L3	55	2,75
L4	74	3,70
L5	79	3,95
L6	64	3,20
Media	-	3,29

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	58	2,90
E2	63	3,15
E3	64	3,20
E4	67	3,35
E5	55	2,75
E6	74	3,70
Media	-	3,18

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	73	3,65
L2	59	2,95
L3	61	3,05
L4	69	3,45
L5	65	3,25
L6	64	3,20
Media	-	3,26

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	62	3,10
E2	58	2,90
E3	59	2,95
E4	67	3,35
E5	69	3,45
E6	63	3,15
Media	-	3,15

Media Total L	3,24
---------------	------

Media Total E	3,19
---------------	------



MUESTREO N° 3

FECHA: 21/06/04

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	60	3,00
L2	65	3,25
L3	65	3,25
L4	72	3,60
L5	70	3,50
L6	69	3,45
Media	-	3,34

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	64	3,20
E2	72	3,60
E3	55	2,75
E4	59	2,95
E5	67	3,35
E6	63	3,15
Media	-	3,17

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	60	3,00
L2	67	3,35
L3	63	3,15
L4	65	3,25
L5	57	2,85
L6	55	2,75
Media	-	3,06

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	69	3,45
E2	68	3,40
E3	53	2,65
E4	59	2,95
E5	61	3,05
E6	63	3,15
Media	-	3,11

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	54	2,70
L2	66	3,30
L3	65	3,25
L4	73	3,65
L5	57	2,85
L6	70	3,50
Media	-	3,21

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	62	3,10
E2	67	3,35
E3	63	3,15
E4	66	3,30
E5	65	3,25
E6	69	3,45
Media	-	3,27

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	64	3,20
L2	68	3,40
L3	65	3,25
L4	72	3,60
L5	61	3,05
L6	66	3,30
Media	-	3,30

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	61	3,05
E2	71	3,55
E3	65	3,25
E4	66	3,30
E5	72	3,60
E6	60	3,00
Media	-	3,29

Media Total L	3,23
---------------	------

Media Total E	3,21
---------------	------

MUESTREO N° 4

FECHA: 01/07/04

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	61	3,05
L2	65	3,25
L3	67	3,35
L4	56	2,80
L5	71	3,55
L6	52	2,60
Media	-	3,10

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	69	3,45
E2	69	3,45
E3	55	2,75
E4	71	3,55
E5	66	3,30
E6	64	3,20
Media	-	3,28

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	74	3,70
L2	61	3,05
L3	65	3,25
L4	72	3,60
L5	67	3,35
L6	62	3,10
Media	-	3,34

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	64	3,20
E2	65	3,25
E3	73	3,65
E4	49	2,45
E5	57	2,85
E6	61	3,05
Media	-	3,08

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	65	3,25
L2	64	3,20
L3	69	3,45
L4	71	3,55
L5	59	2,95
L6	58	2,90
Media	-	3,22

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	69	3,45
E2	60	3,00
E3	57	2,85
E4	70	3,50
E5	54	2,70
E6	73	3,65
Media	-	3,19

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	67	3,35
L2	75	3,75
L3	67	3,35
L4	70	3,50
L5	65	3,25
L6	65	3,25
Media	-	3,41

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	55	2,75
E2	51	2,55
E3	76	3,80
E4	58	2,90
E5	62	3,10
E6	66	3,30
Media	-	3,07

Media Total L	3,27
---------------	------

Media Total E	3,15
---------------	------

MUESTREO N° 5

FECHA: 12/07/04

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	74	3,70
L2	71	3,55
L3	49	2,45
L4	69	3,45
L5	53	2,65
L6	58	2,90
Media	-	3,12

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	67	3,35
E2	63	3,15
E3	66	3,30
E4	60	3,00
E5	71	3,55
E6	65	3,25
Media	-	3,27

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	76	3,80
L2	66	3,30
L3	75	3,75
L4	64	3,20
L5	62	3,10
L6	70	3,50
Media	-	3,44

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	63	3,15
E2	56	2,80
E3	74	3,70
E4	69	3,45
E5	58	2,90
E6	65	3,25
Media	-	3,21

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	64	3,20
L2	68	3,40
L3	51	2,55
L4	65	3,25
L5	69	3,45
L6	64	3,20
Media	-	3,18

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	58	2,90
E2	61	3,05
E3	70	3,50
E4	69	3,45
E5	58	2,90
E6	63	3,15
Media	-	3,16

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	60	3,00
L2	72	3,60
L3	57	2,85
L4	68	3,40
L5	66	3,30
L6	50	2,50
Media	-	3,11

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	72	3,60
E2	55	2,75
E3	64	3,20
E4	56	2,80
E5	73	3,65
E6	62	3,10
Media	-	3,18

Media Total L	3,21
---------------	------

Media Total E	3,20
---------------	------

MUESTREO N° 6 FECHA: 20/07/04

SITUACIÓN DEL CULTIVO: Cultivo

Subparcela 1

Línea	N° ascosporas	ags
L1	54	2,70
L2	60	3,00
L3	72	3,60
L4	69	3,45
L5	63	3,15
L6	58	2,90
Media	-	3,13

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	64	3,20
E2	66	3,30
E3	62	3,10
E4	63	3,15
E5	59	2,95
E6	68	3,40
Media	-	3,18

Subparcela 2

Línea	N° ascosporas	ags
L1	65	3,25
L2	71	3,55
L3	70	3,50
L4	58	2,90
L5	63	3,15
L6	64	3,20
Media	-	3,26

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	60	3,00
E2	75	3,75
E3	56	2,80
E4	69	3,45
E5	55	2,75
E6	58	2,90
Media	-	3,11

Subparcela 3

Línea	N° ascosporas	ags
L1	66	3,30
L2	61	3,05
L3	73	3,65
L4	59	2,95
L5	62	3,10
L6	58	2,90
Media	-	3,16

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	68	3,40
E2	61	3,05
E3	54	2,70
E4	63	3,15
E5	52	2,60
E6	70	3,50
Media	-	3,07

Subparcela 4

Línea	N° ascosporas	ags
L1	72	3,60
L2	75	3,75
L3	64	3,20
L4	51	2,55
L5	63	3,15
L6	66	3,30
Media	-	3,26

Entre línea	N° ascosporas	ags
E1	61	3,05
E2	68	3,40
E3	59	2,95
E4	65	3,25
E5	61	3,05
E6	63	3,15
Media	-	3,14

Media Total L	3,20
---------------	------

Media Total E	3,13
---------------	------

**Subparcela 1**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	62	3,10
L2	59	2,95
L3	53	2,65
L4	56	2,80
L5	66	3,30
L6	59	2,95
Media	-	2,96

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	68	3,40
E2	58	2,90
E3	71	3,55
E4	61	3,05
E5	73	3,65
E6	54	2,70
Media	-	3,21

**Subparcela 2**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	57	2,85
L2	60	3,00
L3	72	3,60
L4	49	2,45
L5	64	3,20
L6	68	3,40
Media	-	3,08

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	69	3,45
E2	65	3,25
E3	53	2,65
E4	61	3,05
E5	75	3,75
E6	56	2,80
Media	-	3,16

**Subparcela 3**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	65	3,25
L2	60	3,00
L3	71	3,55
L4	58	2,90
L5	59	2,95
L6	56	2,80
Media	-	3,08

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	61	3,05
E2	63	3,15
E3	65	3,25
E4	73	3,65
E5	53	2,65
E6	60	3,00
Media	-	3,13

**Subparcela 4**

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	68	3,40
L2	63	3,15
L3	55	2,75
L4	49	2,45
L5	70	3,50
L6	66	3,30
Media	-	3,09

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	67	3,35
E2	66	3,30
E3	75	3,75
E4	54	2,70
E5	60	3,00
E6	74	3,70
Media	-	3,30

<b>Media Total L</b>	3,05
----------------------	------

<b>Media Total E</b>	3,20
----------------------	------

Subparcela 1

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	65	3,25
L2	63	3,15
L3	72	3,60
L4	66	3,30
L5	69	3,45
L6	64	3,20
Media	-	3,33

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	68	3,40
E2	66	3,30
E3	63	3,15
E4	65	3,25
E5	56	2,80
E6	66	3,30
Media	-	3,20

Subparcela 2

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	49	2,45
L2	64	3,20
L3	57	2,85
L4	64	3,20
L5	70	3,50
L6	52	2,60
Media	-	2,97

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	53	2,65
E2	50	2,50
E3	55	2,75
E4	50	2,50
E5	60	3,00
E6	68	3,40
Media	-	2,80

Subparcela 3

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	60	3,00
L2	67	3,35
L3	58	2,90
L4	63	3,15
L5	67	3,35
L6	59	2,95
Media	-	3,12

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	68	3,40
E2	67	3,35
E3	57	2,85
E4	71	3,55
E5	65	3,25
E6	69	3,45
Media	-	3,31

Subparcela 4

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	67	3,35
L2	74	3,70
L3	64	3,20
L4	56	2,80
L5	57	2,85
L6	62	3,10
Media	-	3,17

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	69	3,45
E2	53	2,65
E3	51	2,55
E4	65	3,25
E5	68	3,40
E6	66	3,30
Media	-	3,10

Media Total L	3,14
---------------	------

Media Total E	3,10
---------------	------

MUESTREO N° 9 FECHA: 06/10/04 SITUACIÓN DEL CULTIVO: Final del cultivo

Subparcela 1

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	61	3,05
L2	54	2,70
L3	62	3,10
L4	69	3,45
L5	52	2,60
L6	56	2,80
Media	-	2,95

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	55	2,75
E2	66	3,30
E3	60	3,00
E4	63	3,15
E5	57	2,85
E6	64	3,20
Media	-	3,04

Subparcela 2

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	47	2,35
L2	50	2,50
L3	56	2,80
L4	61	3,05
L5	49	2,45
L6	55	2,75
Media	-	2,65

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	55	2,75
E2	59	2,95
E3	47	2,35
E4	53	2,65
E5	57	2,85
E6	54	2,70
Media	-	2,71

Subparcela 3

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	77	3,85
L2	71	3,55
L3	66	3,30
L4	57	2,85
L5	63	3,15
L6	48	2,40
Media	-	3,18

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	47	2,35
E2	51	2,55
E3	64	3,20
E4	68	3,40
E5	65	3,25
E6	59	2,95
Media	-	2,95

Subparcela 4

Línea	Nº ascosporas	ags
L1	56	2,80
L2	69	3,45
L3	62	3,10
L4	60	3,00
L5	63	3,15
L6	67	3,35
Media	-	3,14

Entre línea	Nº ascosporas	ags
E1	56	2,80
E2	69	3,45
E3	62	3,10
E4	60	3,00
E5	63	3,15
E6	67	3,35
Media	-	3,14

Media Total L	2,98
---------------	------

Media Total E	2,92
---------------	------

**IX.11.: Anexo 11:** Incidencia de la enfermedad (evaluación de daños en la parte aérea), en una escala de 0 a 1 (0 = planta sana; 1 = planta con síntomas) en los Campos 1 y 2 (apartado V)

**Año 2003 (Campo 1)**

Muestreos	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>Subparcela</b>	<b>Melón</b>							
1	0 <sup>a</sup>	0	0	0	0,05	0,37	0,87	1
2	0	0	0	0	0,03	0,19	0,5	1
3	0	0	0	0	0,04	0,1	0,44	1
4	0	0	0	0	0,12	0,33	0,82	1
	<b>Sandía no injertada</b>							
1	0	0	0	0	0,05	0,5	1	1
2	0	0	0	0	0,08	0,42	0,92	1
3	0	0	0	0	0,38	0,36	0,82	1
4	0	0	0	0	0,41	0,27	0,69	1

**Año 2004 (Campo 2)**

Muestreos	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>Subparcela</b>	<b>Melón</b>							
1	0	0	0	0	0,1	0,67	0,9	1
2	0	0	0	0	0,2	0,9	1	1
3	0	0	0	0	0,17	0,63	0,83	1
4	0	0	0	0	0,3	0,73	0,9	1
	<b>Sandía no injertada</b>							
1	0	0	0	0	0	0,13	0,4	1
2	0	0	0	0	0	0,1	0,37	1
3	0	0	0	0	0	0,13	0,5	1
4	0	0	0	0	0	0,2	0,9	1

<sup>0</sup>: Planta sana; 1: Planta con cualquier tipo de síntoma de "colapso" o planta muerta



**IX.12.: Anexo 12:** Peso fresco en la parte aérea (g) e Índice de daños en raíces (IDR, en una escala de 0 a 4) en cada repetición (P<sub>i</sub>) para los dos tipos de suelo y los dos años de duración del estudio (apartado VI).

**Año 2002**

Tesis	Peso fresco parte aérea					IDR				
	P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P5
<b>Suelo autoclavado</b>										
<b>Control</b>	10,97	7,72	9,78	18,8	11,81	0,92	0,85	0,83	1,21	0,77
<b>Ac</b>	15,89	20,26	10,92	18,8	16,46	3,33	3	3,33	3,33	3,67
<b>Mc</b>	2,99	2,63	4,37	0	3,33	3,92	4	4	3,67	4
<b>Rv</b>	3,27	1,95	8,25	5,12	4,64	2,17	2	2,17	2,33	2,17
<b>Pt</b>	13,08	15,63	8,71	11,58	12,25	2,33	2,33	2	2,67	2,33
<b>Ac+ Mc</b>	2,23	0	0	0	2,23	4	4	4	4	4
<b>Ac+ Rv</b>	10,87	6,45	12,02	5,16	8,62	3,25	3	3,50	3,25	3,25
<b>Ac+ Pt</b>	17,62	9,81	9,87	9,95	11,81	2,75	2,25	3,25	3,00	2,50
<b>Mc+ Rv</b>	5,07	14,27	0	0	9,67	3,83	4	4	3,75	3,58
<b>Mc+ Pt</b>	1,11	0	0	0	1,11	4	4	4	4	4
<b>Ac+ Mc+ Rv</b>	6,18	1,48	4,77	3,36	3,94	4	4	4	4	4
<b>Ac+ Mc+ Pt</b>	2,07	1,58	4,15	0	2,6	3,83	4	3,75	4	3,58
<b>Ac+ Rv+ Pt</b>	6,7	2,85	9,93	5,3	6,19	3,50	3,25	4	3	3,75
<b>Mc+ Rv+ Pt</b>	2,11	1,57	5,82	3,89	3,34	3,25	3	3	3,50	3,50
<b>Ac+ Mc+ Rv+ Pt</b>	0,87	0	0	0	0,87	4	4	4	4	4
<b>Suelo no autoclavado</b>										
<b>Control</b>	6,82	6,08	8,24	5,16	6,57	0,42	0,67	0,33	0,33	0,33
<b>Ac</b>	13,38	8,07	5,89	9,49	9,21	1,92	2	2	1,67	2
<b>Mc</b>	14,89	5,63	9,6	6,97	9,27	2,83	2,67	3	3	2,67
<b>Rv</b>	8,98	10,62	7,8	11,01	9,6	2,33	2	2,67	2,33	2,33
<b>Pt</b>	14,68	2,17	10,05	13,17	10,02	2,5	2,25	2,25	2,75	2,75
<b>Ac+ Mc</b>	3,12	0	12,62	10,66	8,8	3,17	3	3	3,33	3,33
<b>Ac+ Rv</b>	3,67	10,84	4	3,1	5,4	3	2,67	3,33	3,33	2,67
<b>Ac+ Pt</b>	9,73	11,7	16,29	8,86	11,64	2,75	3	2,5	2,5	3
<b>Mc+ Rv</b>	13,39	6,63	14,43	4,38	9,71	2,5	2,75	2,25	3	2
<b>Mc+ Pt</b>	12,98	17,34	14,05	10,91	13,82	3,17	3	3,33	3,33	3
<b>Ac+ Mc+ Rv</b>	13,73	5,96	9,42	5,03	8,53	3,42	3,33	3,67	3,33	3,33
<b>Ac+ Mc+ Pt</b>	8,48	13,29	11	13,69	11,62	2,75	2,5	2,5	3	3
<b>Ac+ Rv+ Pt</b>	10,68	14,03	8,33	11,12	11,04	3,42	3,67	3,33	3,33	3,33
<b>Mc+ Rv+ Pt</b>	6,42	6,56	10,65	5,26	7,22	3,83	4	3,58	3,75	4
<b>Ac+ Mc+ Rv+ Pt</b>	5,29	2,37	4,55	6,47	4,67	3,33	3,33	3,67	3	3,33

**Año 2003**

Tesis	Peso fresco parte aérea					IDR				
	P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P5
<b>Suelo autoclavado</b>										
Control	24,65	29	24,5	43	21,75	0	0	0	0	0
Ac	20,4	31	14,25	11,55	16,7	3,6	3,3	3,9	3,9	3,3
Mc	6,15	1,3	2,6	6,2	6,35	3,5	3,25	3,75	3,75	3,25
Rv	22	20,6	28,5	16,4	14,2	2	2,33	1,67	2	2
Pt	13,35	21,9	16,35	18,4	18,45	1,8	1,7	1,9	1,8	1,8
Ac+ Mc	23,5	18	26,5	10,95	20,15	3,5	3,75	3,25	3,5	3,5
Ac+ Rv	27,8	26,55	18,05	47	26,3	2,9	3	2,8	2,8	3
Ac+ Pt	22,05	11,75	18	12,65	13	3,3	3	3,6	3,3	3,3
Mc+ Rv	23,4	18,3	22,2	23,1	21,3	2,8	3	2,6	2,8	2,8
Mc+ Pt	23,1	21	22,45	26,4	20,5	2,6	2,9	2,6	2,3	2,6
Rv+ Pt	24,9	24,25	15,4	14,3	22,5	1,6	1,3	1,3	1,9	1,9
Ac+ Mc+ Rv	-	-	-	-	-	4	4	4	4	4
Ac+ Mc+ Pt	14,25	18,1	16,75	15,25	18,3	3,2	3,3	3,1	3	3,4
Ac+ Rv+ Pt	21	19,6	19,35	14,75	16,55	3,4	3,3	3,5	3,6	3,2
Mc+ Rv+ Pt	18,4	22,6	13,7	16,05	22,01	3,1	3	3,2	3,3	2,9
Ac+ Mc+ Rv+ Pt	14,7	16,1	17,75	13,9	11,7	3	3	3,33	2,66	3
<b>Suelo no autoclavado</b>										
Control	22,75	33	22,15	29,6	22,8	0	0	0	0	0
Ac	14,4	20,9	20,8	12,6	18,9	2,5	2,75	2,5	2,5	2,25
Mc	18,9	19,65	36,1	24,35	12,65	2,5	2,25	2,25	2,75	2,75
Rv	21,7	10,7	16,25	21,15	12,85	1,5	1,25	1,5	1,75	1,5
Pt	11,15	16,4	15,95	14	13,85	1,9	2	2,1	1,8	1,7
Ac+ Mc	8,9	22,6	10,1	15,05	4,4	3	3	2,67	2,33	3
Ac+ Rv	28,4	17	12,7	19,1	17,5	2,9	2,9	2,8	2,9	3
Ac+ Pt	17,6	15,8	19	38,7	16,15	2,5	2	3	2,25	2,75
Mc+ Rv	23,8	11,1	19,3	11,2	12,7	2,3	2,2	2,4	2,3	2,3
Mc+ Pt	13,25	9,6	8,3	14,55	11	2,9	3,3	2,5	2,9	2,9
Rv+ Pt	8,8	9,35	8,8	8	11	1,9	1,9	1,9	2	1,8
Ac+ Mc+ Rv	12,6	14,75	19,3	28,8	27,8	2,6	2,9	2,6	2,6	2,3
Ac+ Mc+ Pt	7,85	6,75	12,8	8,65	7,75	2,9	3	2,8	2,7	3,1
Ac+ Rv+ Pt	11,15	8,75	16,5	13,15	19,25	2,9	3	2,8	2,9	2,9
Mc+ Rv+ Pt	10	5,75	6,15	7,2	5,9	2,7	2,9	2,5	2,7	2,7
Ac+ Mc+ Rv+ Pt	11,5	10,15	12,7	14,3	13,3	2,8	3	2,6	2,6	3

**IX.13:** Estudio de regresión lineal entre los parámetros de peso fresco en la parte aérea e índice de daños en raíces, para cada año y tipo de suelo

Datos de regresión <sup>a</sup>	$r^2$	P
Año 2002-suelo autoclavado	26,07	0,0000
Año 2002-suelo no autoclavado	0,01	0,9200
Año 2003-suelo autoclavado	26,41	0,0000
Año 2003-suelo no autoclavado	14,24	0,0006

<sup>a</sup> $r^2$ : proporción de variación explicada; P: probabilidad ANOVA