

## SINTOMATOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DEL TIZÓN GOMOSO DEL TALLO EN SANDÍA (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum y Nakai) EN LA ISLA DE LA JUVENTUD

J. Pérez\*, B. Martínez\*\*, B. Covas\*, H. García\*

\*Universidad Isla de la Juventud «Jesús Montané Oropesa», Carretera al Aeropuerto Km 3 ½, Nueva Gerona, Cuba. \*\*Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Apartado 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. Correo electrónico: jperez@cuij.edu.cu

**RESUMEN:** El Tizón gomoso del tallo, se considera la enfermedad de origen fungoso más importante en sandía para la Isla de la Juventud. La enfermedad causa daño en hojas, tallos y reduce los rendimientos de plantaciones infectadas. A menudo se encuentra asociada con otros hongos en las plantas provocando confusión. El objetivo del trabajo fue identificar al agente causal del Tizón gomoso del tallo y describir los síntomas que lo caracterizan. Las observaciones de la enfermedad en el campo mostraron que las manchas aparecen en hojas y tallos, y avanzan del centro de la planta de sandía hacia los extremos o guías. Cuando avanza la enfermedad, en el centro de las manchas se observan fructificaciones de color negro, que en las hojas viejas generalmente son peritecios de color castaño negruzcos, con ascas bien definidas y ascosporas en forma de huso con un septo, mientras que en hojas jóvenes aparecen fundamentalmente picnidios, globosos con picnidiosporas redondeadas en los extremos y con un septo truncado en su centro. La similitud observada entre las lesiones desarrolladas a partir de la inoculación artificial y aquellas descritas para la infección natural, así como la semejanza entre las colonias y estructuras reproductivas del patógeno obtenidas en ambos casos, se corresponden con las informadas para el agente causal de Tizón gomoso del tallo (fase teleomórfica *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm y en su fase anamórfica *Phoma cucurbitacearum* (Fr.:Fr) Sacc.) Estas son las primeras descripciones que se realizan del agente causal del Tizón gomoso del tallo en Cuba.

(Palabras clave: sandía; *Didymella bryoniae*; *Phoma cucurbitacearum*; Cuba)

---

## SYMPTOMS AND IDENTIFICATION OF THE CAUSAL AGENT OF THE GUMMY STEM BLIGHT IN WATERMELON (*Citrullus lanatus* (Thunb) Matsum y Nakai) IN THE ISLE OF YOUTH

**ABSTRACT:** The gummy stem blight is considered the most important fungal disease in watermelon for the Isle of Youth. The disease causes damages to leaves and stems; it reduces the yield of the infested crops. Often, it is associated with other fungi in the infested plants causing confusion. The objective of this work was to identify the causal agent of the gummy stem blight and to describe its characteristic symptoms. The observations of the disease in the field showed that the spots appeared on leaves and stems, and they advanced from the center of the watermelon plants towards the tips of the main stems. In the advanced state of the disease, black colored fructifications were observed in the center of the spots. Generally, in the old leaves, they were perithecia of blackish chestnut color with very well defined asci and spindle shaped ascospores with a septum, whereas in the young leaves, mainly spherical pycnidia appeared with end-rounded pycnidiospores with a truncated septum in the center. In The similarity observed between the lesions developed from the artificial inoculation and those described for natural infections, as well as the likeness of the pathogen colonies and reproductive structures obtained in both cases, corresponded to those informed for the causal agent of the gummy stem blight / teleomorphic phase *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm and in their anamorphic phase (*Phoma cucurbitacearum* (Fr.:Fr) Sacc), These are the first descriptions of the causal agent of the gummy stem blight carried out in Cuba.

(Key words: watermelon; *Didymella bryoniae*; *Phoma cucurbitacearum*; Cuba)

---

## INTRODUCCIÓN

Los cultivos que pertenecen a la familia de las cucurbitáceas son afectados por diversas enfermedades fungosas que merman su producción (1). Entre las principales está el Tizón gomoso del tallo, que puede causar destrucción total de la planta, en caso de que no se adopten medidas preventivas y/o curativas (1, 2, 3), o disminuir el rendimiento y calidad de los frutos, pues afecta la apariencia externa de los mismos. Esta enfermedad es provocada por el hongo *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm, (sinonimia *Mycosphaerella melonis* (Pass) W. F. Chiu y J. C. Walker) (fase telemórfica) y *Phoma cucurbitacearum* (Fr.:Fr) Sacc, (sinonimia *Ascochyta cucumis* Fautr y Roum) (fase anamórfica) (4).

El Tizón gomoso del tallo es una enfermedad típica del follaje en las cucurbitáceas (5, 6). Los síntomas ocasionados por esta pueden ser confundidos con los de otras enfermedades fungosas y bacterianas. Además del follaje, puede producir manchas en frutos, sobre todo en la pulpa y corteza donde aparecen áreas de color amarillo a carmelita, mientras que en las semillas aparecen moteados con estructuras reproductivas del hongo. En la Isla de la Juventud (Cuba) no se ha descrito el cuadro sintomático de la enfermedad, ni identificado su agente causal. Los especialistas en el territorio utilizan para su diagnóstico lo referido en la literatura internacional y por otro lado más del 40% de los productores líderes en el cultivo no saben diferenciar la enfermedad en todas sus fases de desarrollo y la confunden con otras enfermedades. El objetivo del trabajo fue identificar al agente causal del Tizón gomoso del tallo y describir los síntomas que la caracterizan en las condiciones de la Isla de la Juventud.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sintomatología

Para describir la sintomatología de la enfermedad se realizaron observaciones en cultivos de sandía (*Citrullus lunatus*) variedad Charleston Gray en condiciones de campo, en ambas épocas de siembra (mayo y noviembre), en áreas productivas ubicadas en los poblados de Ciro Redondo, Maniadero, Julio Antonio Mella y La Tumbita (Municipio Especial Isla de la Juventud). Se colectaron muestras con síntomas semejantes a la enfermedad, durante la emisión de las primeras guías, la floración y fructificación.

Las descripciones de los síntomas se realizaron a través de observaciones macro y microscópicas en hojas y tallos enfermos, en los laboratorios de Biología y Protección de Plantas de la Universidad de la Isla de la Juventud.

### Aislamiento e identificación del agente causal del Tizón gomoso del tallo

Los aislamientos se realizaron a partir de hojas y tallos que poseían síntomas y signos asociados a la enfermedad. Las muestras se cortaron en pequeños fragmentos con un bisturí de los márgenes de las manchas que posteriormente se desinfectaron con etanol al 70% (45 s), y se lavaron tres veces con agua destilada estéril. Pequeños fragmentos de hojas y tallos desinfectados se colocaron sobre medio de cultivo PDA (Oxoid), dispensado en placas Petri de 90 mm de diámetro y se incubaron a oscuridad y temperatura de  $25 \pm 2$  °C durante 10 días. A partir de las colonias obtenidas se procedió a su purificación para la posterior descripción de los cultivos puros. La identificación del agente causal se realizó tomando como criterio la información referida en la literatura para el patógeno (4, 7, 8) a partir de observaciones y mediciones microscópicas (con tornillo micrométrico y con un aumento total de 375x600X en un microscopio Novel) de 25 réplicas de cada una de las estructuras reproductivas procedentes de muestras de campo y de aislamientos puros (18 días de edad) obtenidos en el laboratorio.

La identificación se completó con la comprobación de los postulados de Koch y para ello se empleó la variedad Charleston Gray, señalada por Schenck (9) como susceptible al Tizón gomoso del tallo.

Las semillas se desinfectaron con etanol 70% (1 min) e hipoclorito de sodio 1% (20 min). Posteriormente, se lavaron con agua destilada estéril y se sembraron en suelo estéril (Alítico de baja actividad arcillosa) en bolsas de polietileno de 5 kg, previamente desinfectadas con formol 5%. Cuando las plantas tenían 33 días, se inocularon hojas y tallos con ocho aislamientos puros obtenidos de plantas con síntomas asociados con la enfermedad, seleccionados de acuerdo a sus características morfológicas. Se emplearon cuatro plantas (réplicas) por aislamiento y se dejaron los correspondientes testigos sin inocular. La inoculación se realizó en dos hojas por planta, a las que se le hizo una lesión con una aguja desinfectada, sobre la cual se depositaron tres gotas de suspensiones (esporas y micelio) de *D. bryoniae*  $4,2 \times 10^5$  UFC.mL<sup>-1</sup> y de *P. cucurbitacearum*  $8,27 \times 10^7$  UFC.mL<sup>-1</sup>, según Pascholati *et al.* (10). Las suspensiones fueron obtenidas a partir de colonias puras desarrolladas en medio PDA (Oxoid) e incubadas a temperatura de  $25 \pm 2$  °C por 18 días (11). El agua utilizada para las suspensiones se acidificó con ácido láctico pH entre 3,4 - 4,2 y se le añadieron dos gotas de Tween-80 (12). A los testigos se les practicó el mismo procedimiento, sustituyendo la suspensión de micelio y esporas por tres gotas de agua des-

tilada estéril.

Las observaciones se realizaron diariamente. Después de la aparición de los primeros síntomas con presencia de estructuras reproductivas, se procedió al reaislamiento del patógeno en medio PDA (Oxoid), empleando la metodología descrita anteriormente. Los resultados se compararon con los obtenidos a partir de los síntomas observados en campo.

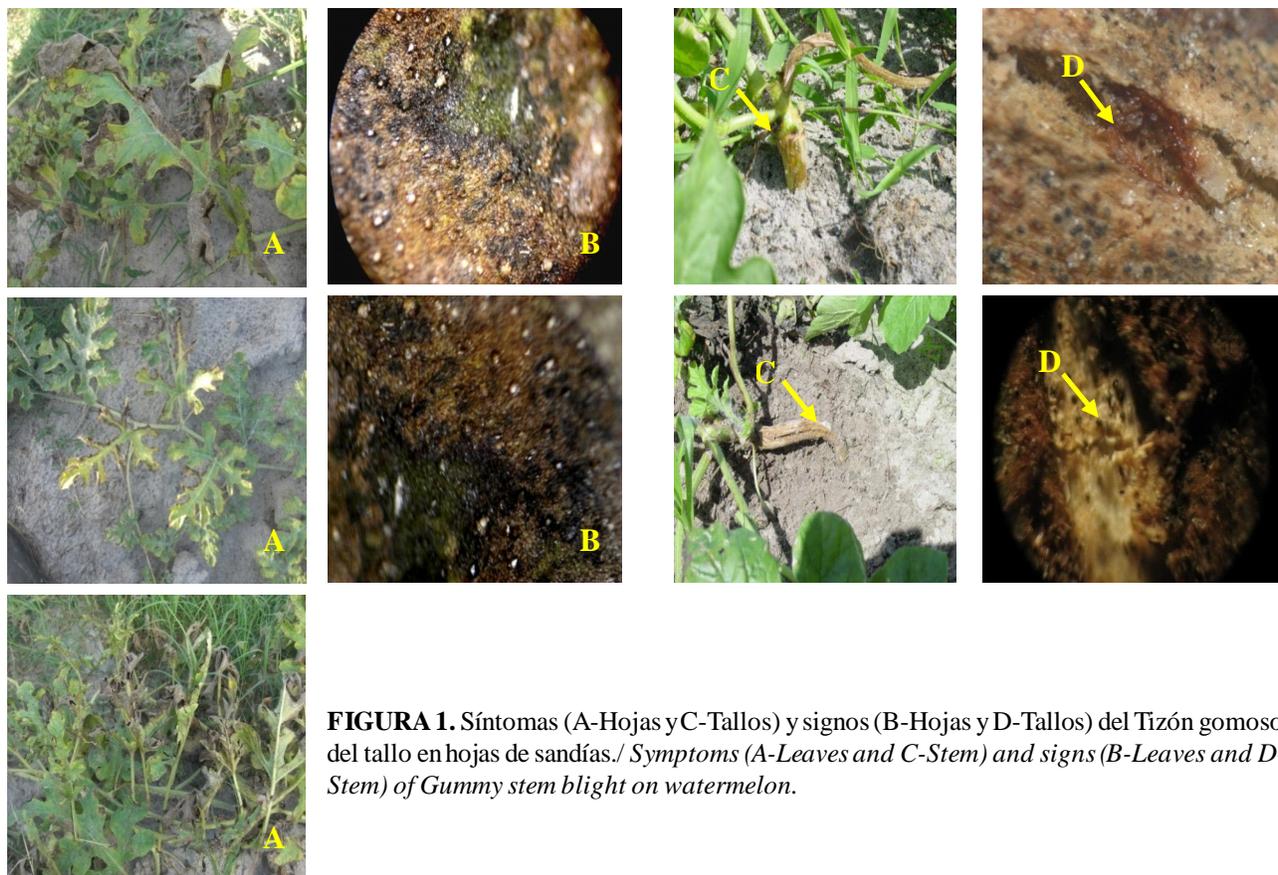
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las observaciones en campo del Tizón gomoso del tallo corroboraron que la enfermedad aparece en hojas y tallos y se extiende desde el centro de la planta de sandía hacia los extremos o guías, similar a lo informado en melón (*Cucumis melo* Schrad.) y pepino (*Cucumis sativus* L.) por Sikora (13). Las manchas al inicio se muestran como pequeñas áreas cloróticas o puntos que crecen rápidamente, cambiando a pardo oscuro, momento en que pueden ser confundidas con los síntomas de antracnosis (*Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ell. et Halst).

Cuando el ataque de la enfermedad en el cultivo es severo, las manchas pueden alcanzar una longitud aproxima-

mada de 75 mm y es frecuente que aparezcan por el borde de las hojas y entre las nerviaciones. Las manchas activas muestran un halo muy pequeño de color amarillo con exudado gomoso (Fig. 1 A). Al envejecer las manchas, se observan en el centro fructificaciones de color negro (Fig. 1 B), que generalmente en las hojas jóvenes se corresponden con picnidios y en las viejas con peritecios. Cuando las manchas son numerosas coalescen y aparecen zonas necróticas (Fig. 1 A-B). Estos síntomas en hojas de sandía, observados en condiciones de campo en la Isla de la Juventud, se semejan a los informados por Zitter (14) Sitterly y Keinath (15), Ferguson *et al.* (16), y Ariasi y Gatica (17) para dicha patología.

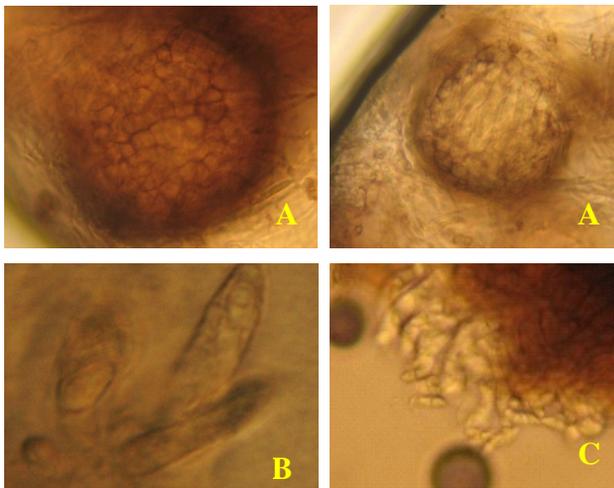
Las lesiones en el tallo primario comienzan por la base y se manifiestan a todo lo largo del mismo e incluso en los secundarios. Al inicio son de forma elipsoidal y de color parduzco pálido, que rápidamente se alargan, con una hendidura en su centro, difícil de distinguir cuando la longitud es inferior a 7 mm, resultando necesaria en ese momento una lupa 10X para el diagnóstico. Posteriormente la enfermedad se identifica porque en la mancha se hace visible una lesión en forma de cráter en el tejido, con presencia de exudado gomoso de color amarillo y ocasionalmente pardo rojizo con cuerpos fructíferos (picnidios y peritecios) (Fig. 1 C-D). Los picnidios



**FIGURA 1.** Síntomas (A-Hojas y C-Tallos) y signos (B-Hojas y D-Tallos) del Tizón gomoso del tallo en hojas de sandías./ *Symptoms (A-Leaves and C-Stem) and signs (B-Leaves and D-Stem) of Gummy stem blight on watermelon.*

están parcialmente introducidos en el tejido y los peritecios sobre el mismo. Estos síntomas concuerdan con los notificados por Kothera *et al.* (6), Buzi *et al.* (18), Ferguson *et al.* (16), Ariasi y Gatica (17).

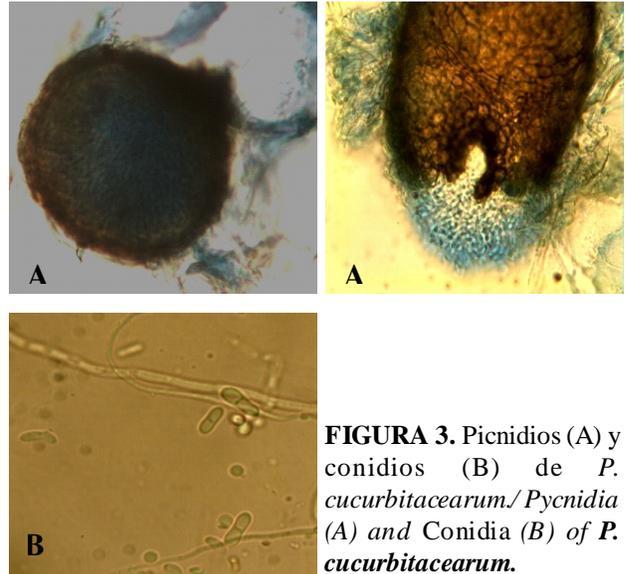
Las estructuras reproductivas obtenidas del material infectado a partir de las ascosporas de los diferentes aislamientos, tuvieron poca diferencia en sus características morfológicas. Los peritecios fueron de color castaño oscuro, las ascas hialinas bien definidas en ascosporas hialinas de forma *elipsoidal*, ahusadas en los extremos y con un septo (Fig. 2). Las dimensiones de peritecios y ascosporas de los aislamientos de *Didymella* sp. se encuentran en un intervalo entre 131,9µm y 153,7µm de diámetro y de 10,5x3,5 a 14,3x5,9µm, respectivamente, y los obtenidos en medios de cultivos, un diámetro de 124,9 a 144,18µm y las ascosporas de 9,9x3,7 a 14x5,3µm, respectivamente. Estas observaciones coinciden con las realizadas por Sitterly y Keinath (15), Furukawa y Kishi (19), y Santos *et al.* (20) que describieron peritecios oscuros con ascas bitunicadas, que normalmente producen ocho ascosporas hialinas en su interior y suelen formarse fundamentalmente en hojas y tallos.



**FIGURA 2.** Peritecios (A), ascas (B) y ascosporas (C) de *D. bryoniae*./ *Perithecia* (A), *asci* (B) and *ascospores* (C) of *D. bryoniae*.

Las observaciones de los tres aislamientos de la fase anamórfica mostraron picnidios de forma globosa con ostiolos (Fig. 3 A) y algunos presentaron «cetas». Las picnidiosporas fueron hialinas, de forma cilíndrica, redondeadas en los extremos, y con un septo truncado en su centro (Fig. 3 B). Los picnidios de *Phoma* sp. obtenidos de las muestras de campo, presentaron un intervalo de 128,2 a 141,6µm de diámetro, mientras que los obtenidos en medio de cultivo fueron de 121,5 a 130,9µm. Las dimensiones de las picnidiosporas de

las muestras de campo fueron de 8,8x3,5 a 10,2x4,3µm y las desarrolladas en medio de cultivo, de 8,67x3,6 a 9,16x3,2µm. Estos resultados se corresponden con los informados por Tsay *et al.* (21), Zitter (14), Boerema *et al.* (22), Santos *et al.* (20) y Furukawa y Kishi (19) cuando describieron los picnidios, presentes en la superficie de las hojas, tallos y frutos.

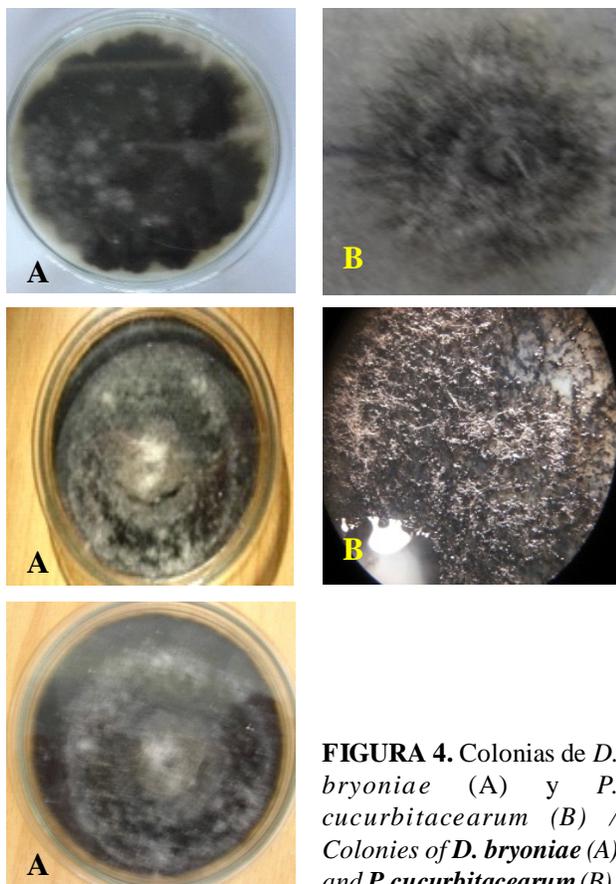


**FIGURA 3.** Picnidios (A) y conidios (B) de *P. cucurbitacearum*./ *Pycnidia* (A) and *Conidia* (B) of *P. cucurbitacearum*.

Las colonias de los aislamientos obtenidos a partir de tejidos de hojas y tallos en plantas enfermas de sandías, colectadas en diferentes localidades de la Isla de la Juventud que correspondían a la fase telemórfica presentaron micelio septado muy profuso, de color blanco en el área de crecimiento y verde olivo pálido alrededor de su centro, que se oscurece con el tiempo, para finalmente adoptar un color oscuro que tiende a negro.

Con el envejecimiento de las colonias aparecen los peritecios de color castaño negruzco y dispersos sobre las mismas (Fig. 4 A). Las colonias de la fase anamórfica son de color verde y con su centro negro, (Fig. 4 B) y en ellas se observaron picnidios inmersos en el medio.

La similitud observada entre las lesiones desarrolladas a partir de la inoculación artificial y aquellas descritas para la infección natural, así como la semejanza entre las colonias y estructuras reproductivas del patógeno obtenidas para los aislamientos de *Didymella* y *Phoma* confirmaron los postulados de Koch y se corresponden con las informadas para el agente causal de Tizón gomoso del tallo, [fase telemórfica *Didymella bryoniae* y su fase anamórfica *Phoma cucurbitacearum*], por otros autores (8,23).



**FIGURA 4.** Colonias de *D. bryoniae* (A) y *P. cucurbitacearum* (B) / Colonies of *D. bryoniae* (A) and *P. cucurbitacearum* (B).

Es de destacar, que tanto el inóculo proveniente de ascosporas como de picnidiosporas, provocaron síntomas semejantes en los diferentes órganos de la planta probados. Las descripciones morfológicas del agente causal del Tizón gomoso del tallo son las primeras que se realizan para la Isla de la Juventud y este informe contribuirá a que los especialistas y productores, cuenten con una descripción de la enfermedad de las principales zonas donde se produce sandía en el territorio.

## REFERENCIAS

- Keinath AP. Survival of *Didymella bryoniae* in infested muskmelon crowns in South Carolina. *Plant Disease*. 2008;92(8):1223-1228.
- Santos GR, Café-Filho AC. Reação de genótipos de melancia ao crestamento gomoso do caule mela. *Horticultura Brasileira*. 2005;23:945-950.
- Babadoost M, Zitter TA. Fruit Rots of Pumpkin: A serious threat to the pumpkin industry. *Plant diseases*. 2009;93(8):772-782.
- Keinath AP, Farnham MW, Zitter TA. Morphological, pathological and genetic differentiation of *Didymella bryoniae* and *Phoma* spp. isolated from cucurbits. *Phytopathology*. 1995;85:364-369.
- Peterson PD, Campbell CL. Prevalence and ecological association of foliar pathogens of cucumber in North Carolina. *Plant Dis*. 2002; 86:1094-1100.
- Kothera RT, Keinath AP, Dean RA, Farnham MW. AFLP analysis of worldwide collection of *D. bryoniae*. *Mycological research*. 2003;107:297-304.
- Chiu WF, Walker JC. Morphology and variability of the cucurbit black rot fungus. *Res J Agric*. 1949;78:81-102.
- Punithalingam E, Holliday P. *Didymella bryoniae*. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. (Commonwealth Mycological Institute). Kew, Surrey, England. 1972;34(332).
- Schenck NC. *Mycosphaerella* Fruit Rot of Watermelon. *Phytopatologia*. 1962;52:635-638.
- Pascholati SF, Figueiredo MB, Moraes WBC. Effect of temperature and age of the culture on germination, mycelial growth and sporulation of *Mycosphaerella melonis* (Pass.) Chiu y Walder. *Fitopat Bras*. 1983;8(1):109-116.
- Tadayuki W, Ohara T, Ishiuchi D, Kojima A. Petiole mediated Inoculation Method for Seedling Test for Gummy Stem Blight (*Didymella bryoniae*) Resistance in Melon. *Bull. Natl. Res. Inst. Veg. Orn. Plants and Tea, Japan*. 2000;15:71-80.
- Amand PC, Wehner TC. Eight isolates of *Didymella bryoniae* from geographically diverse areas exhibit variation in virulence but no isolate by cultivar interaction on *Cucumis sativus*. *Plant Dis*. 1995;79:1136-1139.
- Sikora EJ. Gummy stem blight of cucurbits. *Plant Disease*. 1994; ANR-871. Oct. [Consultada: 31 de mayo 2004]. Disponible en <http://www.desaveal.ual.es/sifa/ayudas/tmelon.htm>.
- Zitter T. Gummy Stem Blight. *Vegetable Crops. Fact Sheet*. 1992: 732.
- Sitterly WR, Keinath AP. Gummy stem blight, University Coastal R and E Center Charleston. 2000; SC 29414-5332.

16. Ferguson G, Cerkauskas, R., y Khosla, S. Gummy stem blight of greenhouse cucumber. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. Ontario. 2009; ISSN 1198-712X. [Consultada: 29 de septiembre 2010]. Disponible en <http://www.ontario.ca/omafra>.
17. Ariasi MF, Gatica ME. *Didymella bryoniae*, causante de la podredumbre negra en frutos de zapallo. XIII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. [CD ROM:004]. Termas de Río Hondo. Santiago del Estero. 2009; 1-2 de octubre.
18. Buzi A, Chilosi G, Magro P. Approfondimenti sul cancro gommoso causato da *Didymella bryoniae* sul melone. *Petria*. 2003;13(1/2):1-27.
19. Furukawa T, Ono Y, Kishi K. Gummy stem blight of balsam pear caused by *Didymella bryoniae* and its anamorph *Phoma cucurbitacearum*. *Jour. General Plant Pathology*. 2007;73(2):125-128.
20. Santos GR, Café-Filho AC. Occurrence of gummy stem blight in watermelon in the state of Tocantins caused by *Didymella bryoniae*. *Fitopatol Brasileira*. 2004;31(2):3166.
21. Tsay JG, Tzen SL, Tung BK. Enhancement of sporulation of *Didymella bryoniae* by near-ultraviolet radiation. *Plant Prot Bull*. 1990;32:229-232.
22. Boerema GH, De Gruyter J, Noordeloos ME, Hamers MEC. *Phoma cucurbitacearum*. In: Boerema GH (ed) *Phoma identification manual: differentiation of specific and infraspecific taxa in culture*, CABI. 2004; Cambridge MA: 236-238.
23. Zitter TA, y Kyle MM. Impact of powdery mildew and gummy stem blight on collapse of pumpkins (*Cucurbita pepo* L.). *Cucurbit Genetics Coop*. 1992; 15:93-96.

(Recibido 19-10-2011; Aceptado 13-12-2011)