

# Hongos asociados al cultivo de cebolla (*Allium cepa* L.) en la zona sur de Puerto Rico<sup>1,2</sup>

Lorraine Vélez<sup>3</sup>, Lydia I. Rivera<sup>4</sup>,  
Rocío del P. Rodríguez<sup>5</sup> e Irma Cabrera<sup>6</sup>

J. Agric. Univ. P.R. 88(1-2):55-72 (2004)

## RESUMEN

Se realizó un catastro en siembras de cebolla (*Allium cepa* L.) experimentales y comerciales de la zona sur de Puerto Rico con el propósito de aislar e identificar los hongos asociados al cultivo. Se aislaron hongos de muestras de aire, suelo, y de tejido de hojas y bulbos que mostraron síntomas típicos de enfermedad. Se examinaron semillas de tres cultivares comerciales de cebolla comúnmente utilizados en Puerto Rico. De todos los hongos aislados, *Aspergillus niger* fue el hongo más frecuente en el suelo, bulbos y semillas de cebollas; *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp. fueron aislados frecuentemente del aire; *A. niger*, *Fusarium* y *Cladosporium* del suelo; y *A. niger*, *Penicillium* y *Sclerotium rolfsii* de los bulbos. En el follaje de la cebolla, *Alternaria* fue el género más común, seguido por *Stemphylium* y *Nigrospora*. En semillas comerciales de cebolla, *A. niger* y *Rhizopus* en combinación fueron los más frecuentes.

**Palabras clave:** hongos, cebolla, catastro, *Allium cepa*, *Alternaria* spp., *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp., *Fusarium* spp., *Nigrospora* sp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* sp., *Sclerotium rolfsii*, *Stemphylium*

## ABSTRACT

**Fungi associated with onion (*Allium cepa* L.) fields in southern Puerto Rico**

A survey was conducted in experimental and commercial onion (*Allium cepa* L.) fields in the southern region of Puerto Rico to isolate and identify fungi associated with this crop. Fungi were isolated from air, soil, and tissue

<sup>1</sup>Manuscrito sometido a la junta editorial el 3 de diciembre de 2003.

<sup>2</sup>Esta investigación fue realizada gracias a la colaboración de los agrónomos de la industria privada: Marcos Morales, Orlando Escalera, Javier Lugo, Jaime Acevedo, Samuel Pérez y José A. Correa; de los investigadores Evelyn Rosa, Luis R. Santiago, Guillermo Fornaris, Jaime Escudero y Enid Lizardi de la Estación Experimental Agrícola en Río Piedras y del Departamento de Protección de Cultivos, Recinto Universitario de Mayagüez, Universidad de Puerto Rico.

<sup>3</sup>Ex-estudiante graduada, Depto. Protección de Cultivos.

<sup>4</sup>Catedrática, Depto. Protección de Cultivos, P.O. Box 9030, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez, Mayagüez, PR 00681-9030. e-mail: lydia\_rivera@cca.uprm.edu.

<sup>5</sup>Fitopatóloga Ad-Honorem, Depto. Protección de Cultivos.

<sup>6</sup>Investigadora Asociada, Depto. Protección de Cultivos.

from leaves and bulbs that showed typical disease symptoms. Commercial seeds from three onion cultivars commonly used in Puerto Rico were examined. Overall, *Aspergillus niger* was the fungus most frequently isolated from soil, bulbs and seeds. *Fusarium* spp. and *Penicillium* spp. were frequently isolated from air; *A. niger*, *Fusarium* and *Cladosporium*, from soil; and *A. niger*, *Penicillium* and *Sclerotium rolfsii*, from bulbs. In onion foliage, *Alternaria* was the most common genus, followed by *Stemphylium* and *Nigrospora*. In commercial onion seeds, *A. niger* and *Rhizopus* in combination were the most frequent.

**Key words:** fungi, onion, survey, *Allium cepa*, *Alternaria* spp., *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp., *Fusarium* spp., *Nigrospora* sp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* sp., *Sclerotium rolfsii*, *Stemphylium*

## INTRODUCCIÓN

La producción de cebolla en el Caribe ha aumentado de 40,000 t en el 1994 hasta 60,000 t en el 2000, lo que representa un 67% de aumento (FAO STAT, 2002). Para 1999-2000, se produjeron 6,400 t de cebolla en Puerto Rico. La cebolla aportó \$2.54 millones de los \$400 millones del ingreso bruto agrícola de la isla para ese año, ocupando el cuarto lugar entre las hortalizas de importancia económica (Departamento de Agricultura, 2001). Datos más recientes para Puerto Rico reportan la producción en 4,675 y 5,247 t para 2000-2001 y 2001-2002, respectivamente, aportando alrededor de \$2.0 millones al ingreso bruto agrícola por año (Departamento de Agricultura, 2002).

Las siembras de cebolla se encuentran localizadas principalmente en la costa sur de Puerto Rico, en los municipios de Guánica, Juana Díaz y Santa Isabel. Durante los años 1999 al 2000 los cultivares utilizados en esos municipios fueron Mercedes y Candy, Nikita y Excalibur. El cultivo de cebolla tiene un gran potencial de crecimiento para la producción local y de exportación a los Estados Unidos, particularmente durante los períodos de escasez en ese mercado (Estación Experimental Agrícola, 1999). El aumento en la producción y la gran demanda del mercado actual enfatizan la importancia de reanudar estudios con el fin de identificar las especies de hongos que limitan dicho cultivo en condiciones tropicales. Existen muy pocos estudios relacionados con hongos patógenos de cebolla en Puerto Rico, con la excepción de algunos estudios que datan de las décadas de 1920, 1970 e informes de clínicas de diagnóstico (Toro, 1923; Nolla, 1926 y 1927; Stevenson, 1975; R. Rodríguez, 1993 y 1994, com. pers. Departamento de Protección de Cultivos, UPR; R. Woodward, 1999, com. pers. Micro Macro Analytical Laboratories, Georgia). El objetivo de esta investigación fue realizar un catastro detallado de los hongos asociados al follaje, los bulbos y las semillas de cebolla, y aislados del aire y del suelo cercano a las siembras de cebolla en la zona sur de Puerto Rico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Predio Experimental de Cebollas*

Se tomaron muestras del aire y suelo, simultáneamente, en un predio de la Estación Experimental Agrícola de Juana Díaz. El predio (A = 1,457 m<sup>2</sup>) se dividió en cuatro cuadrantes, donde cada cuadrante identificaba un lugar de muestreo. Los muestreos de aire y suelo en el predio comenzaron 28 días después de la cosecha de bulbos de cebolla del cultivar Mercedes. Se realizaron tres muestreos para los días 15, 22 y 29 de junio de 1999.

**Muestras de aire:** Se utilizaron dos métodos para recolectar esporas de hongos del aire: exposición de platos petri (100 × 15 mm) conteniendo agar de papa y dextrosa acidulado (APDA) y un recolector de esporas de aire (Biotest RCS Plus Air Sampler, Biotest Diagnostics, Alemania).<sup>7</sup> Los dos primeros muestreos se realizaron utilizando la técnica de exposición de platos petri por tres minutos para cada cuadrante a los 28 y 35 días después de la cosecha de bulbos, el 15 y 22 de junio de 1999, respectivamente. Se expusieron cinco platos petri sobre el nivel del suelo en la esquina derecha de cada cuadrante. El tercer muestreo se realizó utilizando el recolector de esporas a los 42 días después de la cosecha, el 29 de junio de 1999. El recolector de esporas se mantuvo a una altura de 30 cm del suelo y se caminó en zig-zag desde la esquina derecha de cada cuadrante de muestreo. Este instrumento recoge 100 L de aire durante 121.4 sec. En el recolector de esporas se colocó una tirilla de contacto conteniendo agar de extracto de malta (Difco, Detroit, MI).

Los platos petri y las tirillas de contacto se colocaron en bolsas plásticas en el campo y se llevaron al laboratorio donde se incubaron por tres días a 28 °C. Luego de este período, se contó el total de colonias por plato y/o tirilla de contacto y se reaislaron en APDA para su identificación. Para la caracterización e identificación de las colonias de hongos, se prepararon cámaras húmedas y se utilizaron diferentes medios de cultivo como el agar de avena y agar Czapek. Se utilizaron claves taxonómicas para la identificación de los hongos (Domsch y Gams, 1980; Watanabe, 1994; Barnett y Hunter, 1998).

Los datos obtenidos en el muestreo con platos petri se expresaron como promedios de las 20 repeticiones de los cuatro cuadrantes, esto es, de la exposición de cinco placas petri por cuadrante. Los datos obteni-

<sup>7</sup>Las marcas registradas se mencionan para proveer información específica. Su mención no constituye garantía ni endoso o preferencia de la Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico. La información aquí contenida es producto de investigación y ni el *J. Agric. Univ. P.R.* ni la Universidad de Puerto Rico se hacen responsables de la misma.

dos al utilizar el recolector de esporas se expresaron como números totales de los cuatro cuadrantes. Estos datos se utilizaron para comparar la eficiencia entre los dos métodos. Se calculó el porcentaje de colonias por género en cada muestreo utilizando la siguiente fórmula: número de colonias del género dividido por el número total de colonias  $\times 100$ .

Se realizó un análisis de correlación ( $r$ ) entre el número de colonias aisladas de cada género de hongo por cada día de evaluación y los promedios de temperatura, precipitación y velocidad del viento medidos en la Estación Experimental Agrícola en Juana Díaz. Se utilizaron los datos climatológicos del día del muestreo y de seis días previos a éste.

**Muestreo de suelo:** De cada uno de los cuatro cuadrantes se tomó una muestra de 10 g de suelo a una profundidad de 2.5 cm de una esquina de un banco seleccionado al azar. Este procedimiento de muestreo se realizó durante los tres períodos de evaluación: 28, 35 y 42 días después de la cosecha según indicado en el muestreo de aire.

Se prepararon diluciones en serie de cada una de las muestras de suelo, y se colocaron 500  $\mu$ l de la dilución de  $10^{-2}$  en platos petri con agar de Ohio (OHA) por duplicado. Los platos petri se incubaron por cinco días a 28 °C (Johnson y Curl, 1972). Las colonias resultantes se aislaron e identificaron según descrito anteriormente. Los datos obtenidos se expresaron como promedios de las cuatro muestras, una de cada cuadrante. El porcentaje de colonias por género se calculó según descrito en el muestreo de aire. Se realizó un análisis de correlación entre el número de colonias aisladas de cada género de hongo por cada día de evaluación y los promedios de temperatura, velocidad del viento y precipitación de los seis días antes y del día del muestreo.

**Muestreo de bulbos de cebolla:** Durante tres semanas se evaluaron bulbos recién cosechados y de las áreas de almacenaje, que mostraron lesiones. En el laboratorio, se prepararon cámaras húmedas y se aisló directamente del tejido vegetal lesionado. Para aislar los hongos del tejido vegetal, se cortaron cinco pedazos del borde de cada lesión (3 mm), se desinfectaron superficialmente utilizando hipoclorito de sodio al 0.5% y alcohol etílico al 70% por un minuto cada vez, y se enjuagaron con agua destilada estéril. Los pedazos de tejido se transfirieron a medio de cultivo de agar de papa y dextrosa acidulado (APDA) de donde se aislaron e identificaron las colonias de hongos asociados a las lesiones.

#### *Muestreo en Fincas Comerciales de Cebolla*

**Muestreo de follaje de plantas de cebolla:** Durante los meses de febrero y abril de 2000 se realizaron dos muestreos del follaje de plan-

tas de cebolla (cv. Excalibur) en dos fincas comerciales del área sur de Puerto Rico, localizadas en Santa Isabel y Guánica. Los muestreos se llevaron a cabo a los 59 y 107 días después de la siembra. En cada muestreo se recolectaron 22 hojas de plantas, previamente identificadas en el predio, que presentaban síntomas de enfermedad, para un total de 44 muestras por finca. Se describió la morfología de las lesiones, se realizaron cinco cortes del borde de las lesiones de cada hoja y se procesaron según descrito anteriormente para los bulbos.

Se contaron, aislaron e identificaron las colonias de hongos por cada pedazo (3 mm) de hoja según descrito anteriormente para los bulbos. Los datos obtenidos se expresaron como promedios de colonias por género de las 22 hojas recolectadas y se calculó el porcentaje de colonias por género de hongo. Se correlacionó el número de colonias aisladas de cada género de hongo por localidad y día de evaluación con la precipitación total durante el mes previo a la evaluación.

**Muestreo de suelo:** Se realizaron tres muestreos del suelo de las dos fincas comerciales visitadas para el muestreo de follaje. Se tomaron 10 g del suelo superficial (2.5 cm) antes de establecida la siembra (0 días) y de la superficie de la raíz y rizósfera a los 59 y 107 días después de la siembra (5 a 7.5 cm de profundidad). Estos últimos dos muestreos se realizaron del suelo de cada una de las 22 plantas de las que se tomaron muestras de follaje.

Según descrito anteriormente, se realizaron diluciones en serie del suelo, se caracterizaron, contaron, aislaron e identificaron las colonias de hongos resultantes en medio de OHA. Los datos obtenidos se expresaron como promedios de colonias por género de 22 muestras de suelo y se calculó el porcentaje de colonias por género. Se correlacionó el número promedio de colonias aisladas por localidad y fecha de evaluación con la precipitación total durante el mes previo a la evaluación.

Los fungicidas aplicados luego de establecidas las siembras fueron: clorotalonil en Guánica, y aceite de neem y mancozeb en Santa Isabel. En la finca de Guánica se utilizó el herbicida oxifluorfen y en Santa Isabel paraquat, ambos preemergentes y de contacto.

**Muestreo de semillas de cebolla:** Se realizó una prueba para determinar los hongos presentes en las semillas certificadas de cebolla tratadas previamente con un fungicida a base de dimetil ditiocarbamato. Éstas se utilizaron directamente del empaque sellado. Se evaluaron semillas de tres cultivares de cebolla sembrados comúnmente en Puerto Rico: Nikita y Excalibur (Río Colorado Seeds®, CA), y Mercedes (Petoseeds®, CA). El diseño experimental fue completamente aleatorizado con dos tratamientos: desinfección de las semillas según descrito para el tejido de bulbos, y semillas directamente de su em-

paque (control). Cada tratamiento se repitió cinco veces con 10 semillas por repetición. Las semillas se colocaron en los platos petri con APDA y se incubaron a 28 °C por cuatro días.

Los hongos se identificaron según descrito anteriormente. Se tomaron datos de la cantidad total de semilla germinada e infectada por hongos y la cantidad de semilla infectada por cada género de hongo por plato petri. Los datos obtenidos se expresaron como promedios de las cinco repeticiones. El diseño estadístico fue uno completamente aleatorizado con un arreglo factorial  $3 \times 2 \times 4$  (tres cultivares de cebolla, dos tratamientos y géneros y/o combinación de hongos). Se realizó un análisis de varianza y la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) utilizando el programa estadístico SAS.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Muestreo de un Predio Experimental de Cebollas*

**Muestreo de aire:** *Aspergillus niger*, *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp. fueron los géneros y especies más frecuentes en los muestreos de aire realizados en los predios experimentales (Cuadro 1). A los 35 días después de la cosecha de bulbos del cv. Mercedes el número de colonias aisladas aumentó a 26 comparado con las 16 colonias obtenidas en el primer muestreo realizado a los 28 días después de la cosecha utilizando la técnica de exposición de platos petri. A los 42 días luego de la cosecha, el número total de colonias aisladas fue mayor utilizando el recolector de esporas, 109.6 colonias totales.

Al comparar las técnicas de muestreo de aire utilizadas, se recomienda la exposición de platos de petri sobre el instrumento recolector de esporas. Aunque este último permite recuperar el máximo de esporas presentes en el aire, es más difícil el aislar y contar las colonias de hongos. Las tirillas con medio de cultivo que se utilizan poseen encasillados muy pequeños que no permiten la separación de las colonias, y el crecimiento de éstas se solapa.

*Aspergillus niger* está reportado como el componente mayor de la microbiota del aire y del suelo en siembras de cebolla en regiones de las zonas templadas y tropicales (Hayden et al., 1994). *Aspergillus niger* produce grandes cantidades de conidias que son fácilmente diseminadas por el aire, lo cual podría explicar su alta frecuencia medida con ambos métodos de muestreo.

No se encontró correlación entre los factores ambientales examinados: precipitación ( $r = 0.22$ ) y velocidad del viento ( $r = 0.22$ ) y las colonias recuperadas de cada género de hongo por muestreo en el predio experimental. La probabilidad de error fue de 0.49 para ambos factores examinados.

CUADRO 1. Número de colonias de hongos aislados del aire a los 28, 35 y 42 días después de la cosecha de bulbos de cebolla cv. Mercedes, de un predio experimental en Juana Díaz.

Hongos	Promedio y porcentaje de colonias aisladas					
	28 días <sup>1,2</sup>		35 días <sup>1,2</sup>		42 días <sup>2,3</sup>	
	Promedio	%	Promedio	%	Promedio	%
<i>Aspergillus</i> spp.	0.1	0.6	0.1	0.4	0.0	0.0
<i>A. niger</i>	1.5	9.0	4.7	17.7	43.8	39.9
<i>Cladosporium</i> spp.	0.1	0.6	10.6	39.8	35.0	32.0
<i>Curvularia</i> sp.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5
<i>Fusarium</i> spp.	7.1	42.8	8.2	30.8	18.8	17.0
<i>Nigrospora</i> sp.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5
<i>Penicillium</i> spp.	7.8	47.0	2.9	10.9	10.5	9.6
<i>Periconia</i> sp.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5
<i>Phoma</i> spp.	0.0	0.0	0.1	0.4	0.0	0.0
Total	16.6	100	26.6	100	109.6	100

<sup>1</sup>Muestreo utilizando la técnica de exposición de platos petri. Cada valor es el promedio de 20 repeticiones (platos petri).

<sup>2</sup>Porcentaje expresado como el número de colonias del hongo dividido entre el total de colonias × 100.

<sup>3</sup>Muestreo con un instrumento de recolección de esporas del aire (Biotest RCS<sup>+</sup> Plus Air Sampler). Cada valor es el promedio de cuatro repeticiones (tirillas con medio de agar de malta).

**Muestreo de suelo:** Se obtuvo un número mayor de colonias aisladas del suelo a los 42 días después de la cosecha de los bulbos (cv. Mercedes). Los hongos encontrados fueron *Aspergillus* spp., *A. niger*, *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp. y *Penicillium* sp., siendo *A. niger* el más frecuentemente aislado (Cuadro 2). Los géneros de hongos identificados probablemente sobreviven en residuos de cosechas (bulbos, hojas, raíces) que se encuentran en la superficie del suelo en el predio de cebolla (Agrios, 1997; Jordan et al., 1990).

No se encontró correlación entre las colonias aisladas de cada género en el suelo del predio experimental y los factores ambientales examinados. Estos fueron velocidad de viento ( $r = 0.14$ ) y precipitación ( $r = -0.18$ ). La probabilidad de error fue de 0.59 y 0.47, respectivamente. No se observó fluctuación en la temperatura durante el periodo de evaluación.

*Aspergillus niger*, *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp. fueron los hongos más frecuentes en las muestras de aire y suelo en el predio experimental localizado en la Estación Experimental Agrícola de Juana Díaz.

CUADRO 2. Número de colonias de hongos aislados del suelo a los 28, 35 y 42 días después de la cosecha de bulbos de cebolla cv. Mercedes, de un predio experimental de Juana Díaz.

Hongos	Promedio y porcentaje de colonias aisladas <sup>1,2</sup>					
	28 días		35 días <sup>1,2</sup>		42 días <sup>2,3</sup>	
	Promedio	%	Promedio	%	Promedio	%
<i>Aspergillus</i> spp.	0.0	0.0	0.2	1.5	0.2	0.8
<i>A. niger</i>	9.2	48.7	5.5	41.0	13.0	55.8
<i>Cladosporium</i> spp.	3.8	20.1	3.0	22.4	3.8	16.3
<i>Fusarium</i> spp.	2.2	11.6	1.5	11.2	5.8	25.0
<i>Penicillium</i> spp.	1.5	8.0	2.0	15.0	0.5	2.1
Desconocidos <sup>3</sup>	2.2	11.6	1.2	8.9	0.0	0.0
Total	18.9	100	13.4	100	23.3	100

<sup>1</sup>Cada valor es el promedio de cuatro repeticiones (platos petri).

<sup>2</sup>Porcentaje expresado como el número de colonias del hongo dividido entre el total de colonias  $\times 100$ .

<sup>3</sup>Colonias de hongos que no produjeron estructuras de reproducción para su clasificación.

**Muestreo de bulbos de cebolla:** De los bulbos almacenados se aislaron *Aspergillus* spp. y *A. niger*, mientras que en los bulbos recién cosechados se identificaron *A. niger*, *Penicillium* spp. y *Sclerotium rolfsii*. *Aspergillus niger* se aisló frecuentemente de los bulbos de cebolla del cv. Mercedes evaluados en el predio experimental. Esta especie es muy común y puede ser altamente destructiva en condiciones de almacenaje en climas cálidos y secos (Thompson y Mohan, 1996). En Sudán este hongo es causante de la enfermedad más importante en los bulbos de la cebolla en condiciones de almacenaje, ya que ocurre en más de un 80% y posee el potencial para destruir los mismos (Musa et al., 1973). En Puerto Rico, debido a la alta demanda local del producto, el almacenamiento de bulbos es mínimo o ninguno, lo que evita pérdidas en el rendimiento. Si se deseara prolongar el tiempo de almacenaje o exportar el producto sería necesario aplicar medidas de control post-cosecha.

#### *Muestreo en Fincas Comerciales de Cebolla*

**Muestreo de follaje de plantas de cebolla:** En los predios comerciales evaluados se encontraron en total 11 géneros de hongos asociados al follaje de cebolla y un grupo de hongos desconocidos que no esporularon durante el estudio. El número total de colonias de hongos aisladas del follaje del cv. Excalibur fue similar para ambas localidades a los 59 días después de la siembra (Cuadro 3). Los géneros de hongos más frecuentes fueron *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp., *Fusarium*



CUADRO 3. Promedio y porcentaje de colonias de hongos aislados del follaje de plantas de cebolla (cv. Excalibur) a los 59 y 107 días después de la siembra en las localidades de Guánica y Santa Isabel del área sur de Puerto Rico.

Géneros de hongos	Días después de la siembra							
	59 días				107 días			
	Guánica		Santa Isabel		Guánica		Santa Isabel	
	Promedio <sup>1</sup>	% <sup>2</sup>	Promedio	%	Promedio	%	Promedio	%
<i>Alternaria</i> spp.	1.5	47.0	1.8	51.0	1.4	45.0	1.3	52.0
<i>Cladosporium</i> spp.	0.5	16.0	0.1	3.0	0.1	3.0	0.1	4.0
<i>Curvularia</i> sp.	0.1	3.0	0.1	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Fusarium</i> spp.	0.4	13.0	0.1	3.0	0.2	6.5	0.2	8.0
<i>Helminthosporium</i> sp.	0.1	3.0	0.1	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Humicola</i> sp.	0.0	0.0	0.1	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Nigrospora</i> sp.	0.1	3.0	0.4	11.0	0.8	26.0	0.2	8.0
<i>Papulospora</i> sp.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	3.0	0.0	0.0
<i>Phoma</i> sp.	0.1	3.0	0.1	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Sporidesmium</i> sp.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	4.0
<i>Stemphylium</i> spp.	0.1	3.0	0.4	11.0	0.3	10.0	0.5	20.0
Desconocidos <sup>3</sup>	0.3	9.0	0.3	9.0	0.2	6.5	0.1	4.0
Total	3.2	100	3.5	100	3.1	100	2.5	100

<sup>1</sup>Cada valor es el promedio de 22 observaciones (22 plantas de cebolla).

<sup>2</sup>Porcentaje expresado como el número de colonias de hongos dividido entre el total de colonias observadas × 100.

<sup>3</sup>Colonias de hongos que no produjeron estructuras de reproducción para su clasificación.

spp., *Nigrospora* spp. y *Stemphylium* spp., siendo *Alternaria* spp. el género más frecuentemente aislado en las dos localidades.

Podemos inferir que *Alternaria* spp. está asociado a las lesiones en el follaje observadas en el campo. Se ha evidenciado que *A. porri* causa daños severos al follaje de plantas de cebolla en la zona norte de Puerto Rico (Nolla, 1927); sin embargo, no existen reportes que informen sobre este respecto en la zona sur. Se está realizando investigación para identificar las especies de *Alternaria* asociadas a lesiones en el campo, y para determinar su patogenicidad. Además, en ambas localidades se identificó a *Stemphylium* spp. Este hongo ha sido reportado patógeno al follaje de cebolla y asociado a las lesiones causadas por *Alternaria* spp. (Schwartz y Mohan, 1996).

No se encontró correlación entre el número promedio de colonias aisladas del follaje de cada género y la precipitación total durante la evaluación en las localidades de Guánica ( $r = 0.01$ ) y Santa Isabel ( $r = -0.09$ ) ( $P < 0.05$ ).

**Muestreo de suelo:** En los predios comerciales evaluados se encontraron en total 19 géneros de hongos asociados a la superficie del suelo y un grupo de hongos desconocidos que no esporularon durante el estudio (Cuadro 4). En la localidad de Santa Isabel se observó el mayor número total de colonias de hongos en los tres muestreos realizados comparado con la localidad de Guánica. La mayor frecuencia de colonias aisladas del suelo se obtuvo del suelo superficial (13.6) en la localidad de Santa Isabel, observándose una reducción en la frecuencia de las colonias a los 59 y 107 días después de la siembra (Cuadro 4).

Antes de la siembra, en ambas localidades, los géneros más frecuentes fueron *Aspergillus* spp., *A. niger*, *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. y un grupo de hongos desconocidos (Cuadro 4). Luego de la siembra, en el suelo superficial se detectaron los géneros *Alternaria* spp., *Colletotrichum gloeosporioides*, *Paecilomyces* spp. y *Stemphylium* spp. Los géneros *Chaetomium* spp., *Memnoniella* sp., *Myrothecium* sp., *Papulospora* sp. y *Sporidesmium* sp. se aislaron del suelo antes de la siembra pero no aparecen luego de establecida la misma.

En relación a los hongos asociados a la rizósfera en los predios comerciales evaluados, se aislaron en total 11 géneros y un grupo de hongos desconocidos que no esporularon durante el estudio (Cuadro 5). A los 59 y 107 días después de la siembra, los géneros más frecuentes fueron *Aspergillus* spp., *A. niger*, *Fusarium* spp., y *Penicillium* spp. (Cuadro 5), siendo *Aspergillus* spp. el hongo más frecuentemente aislado en los dos muestreos de suelo realizados (Cuadros 4 y 5). En la localidad de Guánica se observó una disminución en el porcentaje de colonias aisladas de la rizósfera a los 107 días después de la siembra; esta

CUADRO 4. Promedio y porcentaje de colonias de hongos aislados de la superficie del suelo (2.5 cm de profundidad) de plantas de cebolla (cv. Excalibur) durante tres períodos de muestreo en las localidades de Guánica y Santa Isabel (S.I.) del área sur de Puerto Rico.

Géneros de hongos	Días después de la siembra											
	0				59				107			
	Guánica		S.I.		Guánica		S.I.		Guánica		S.I.	
	Prom. <sup>1</sup>	% <sup>2</sup>	Prom.	%	Prom.	%	Prom.	%	Prom.	%	Prom.	%
<i>Alternaria</i> spp.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	16.0	0.4	7.0	0.5	7.5
<i>Aspergillus</i> spp.	2.0	27.0	2.4	18.0	1.1	23.0	2.2	35.5	0.8	14.0	2.8	42.0
<i>Aspergillus niger</i>	0.4	5.3	1.9	14.0	0.1	2.0	0.9	14.5	0.2	3.4	1.1	16.0
<i>Chaetomium</i> spp.	0.2	3.0	0.1	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Cladosporium</i> spp.	0.1	1.0	0.6	4.0	1.1	23.0	0.6	10.0	1.1	19.0	0.1	1.5
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	1.7	0.0	0.0
<i>Curvularia</i> sp.	0.1	1.0	0.4	3.0	0.1	2.0	0.1	2.0	0.1	1.7	0.0	0.0
<i>Fusarium</i> spp.	1.2	16.0	2.0	15.0	0.6	13.0	0.4	6.0	1.6	27.6	1.2	18.0
<i>Humicola</i> sp.	0.1	1.0	0.3	2.0	0.1	2.0	0.0	0.0	0.1	1.7	0.0	0.0
<i>Memnoniella</i> sp.	0.1	1.0	0.1	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Myrothecium</i> sp.	0.5	7.0	0.4	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Nigrospora</i> sp.	0.1	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Papulospora</i> sp.	0.0	0.0	0.1	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Paecilomyces</i> sp.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Penicillium</i> spp.	0.9	12.0	1.8	13.0	0.9	19.0	0.4	6.0	0.5	8.6	0.6	9.0
<i>Phoma</i> sp.	0.2	3.0	1.1	8.0	0.5	10.0	0.4	6.0	0.5	8.6	0.2	3.0
<i>Sporidesmium</i> sp.	0.1	1.0	0.1	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

<sup>1</sup>Cada valor es el promedio de 22 repeticiones.

<sup>2</sup>Porcentaje expresado como el número de colonias de hongos dividido por el total de colonias observadas × 100.

CUADRO 4. (CONTINUED) Promedio y porcentaje de colonias de hongos aislados de la superficie del suelo (2.5 cm de profundidad) de plantas de cebolla (cv. Excalibur) durante tres periodos de muestreo en las localidades de Guánica y Santa Isabel (S.I.) del área sur de Puerto Rico.

Géneros de hongos	Días después de la siembra											
	0				59				107			
	Guánica		S.I.		Guánica		S.I.		Guánica		S.I.	
	Prom. <sup>1</sup>	% <sup>2</sup>	Prom.	%	Prom.	%	Prom.	%	Prom.	%	Prom.	%
<i>Stemphylium</i> spp.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	5.0	0.0	0.0
<i>Trichoderma</i> spp.	0.5	7.0	0.9	6.0	0.1	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	1.5
Desconocidos <sup>3</sup>	1.0	13.3	1.4	10.0	0.1	2.0	0.1	2.0	0.1	1.7	0.1	1.5
Total	7.5	99.6	13.6	100	4.8	100	6.2	100	5.8	100	6.7	100

<sup>1</sup>Cada valor es el promedio de 22 repeticiones.

<sup>2</sup>Porcentaje expresado como el número de colonias de hongos dividido por el total de colonias observadas × 100.

<sup>3</sup>Colonias de hongos que no produjeron estructuras de reproducción para su clasificación.

CUADRO 5. Promedio y porcentaje de colonias de hongos aislados del suelo de la rizósfera (5.0 a 7.5 cm de profundidad) de plantas de cebolla (cv. Excalibur) a los 59 y 107 días después de la siembra en las localidades de Guánica y Santa Isabel del área sur de Puerto Rico.

Géneros de hongos	Días después de la siembra							
	59				107			
	Guánica		Santa Isabel		Guánica		Santa Isabel	
	Promedio <sup>1</sup>	% <sup>2</sup>	Promedio	%	Promedio	%	Promedio	%
<i>Alternaria</i> spp.	0.0	0.0	0.1	2.0	0.0	0.0	0.3	7.0
<i>Aspergillus</i> spp.	2.3	64.0	2.0	43.0	1.5	56.0	1.8	42.0
<i>A. niger</i>	0.0	0.0	0.7	15.0	0.1	4.0	0.4	9.0
<i>Cladosporium</i> spp.	0.1	3.0	0.3	6.4	0.2	7.0	0.0	0.0
<i>Curvularia</i> sp.	0.0	0.0	0.1	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Fusarium</i> spp.	0.6	16.0	0.8	17.0	0.3	11.0	1.4	33.0
<i>Paecilomyces</i> sp.	0.0	0.0	0.1	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Penicillium</i> spp.	0.4	11.0	0.1	2.0	0.3	11.0	0.2	5.0
<i>Phoma</i> sp.	0.0	0.0	0.1	2.0	0.2	7.0	0.0	0.0
<i>Trichoderma</i> spp.	0.1	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	2.0
<i>Zygosporium</i> sp.	0.0	0.0	0.1	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Desconocidos <sup>3</sup>	0.1	3.0	0.3	6.4	0.1	4.0	0.1	2.0
Total	3.6	100	4.7	99.8	2.7	100	4.3	100

<sup>1</sup>Cada valor es el promedio de 22 repeticiones (22 platos petri por localidad).

<sup>2</sup>Porcentaje expresado como el número de colonias de hongos dividido entre el total de colonias observadas × 100.

<sup>3</sup>Colonias de hongos que no produjeron estructuras de reproducción para su clasificación.

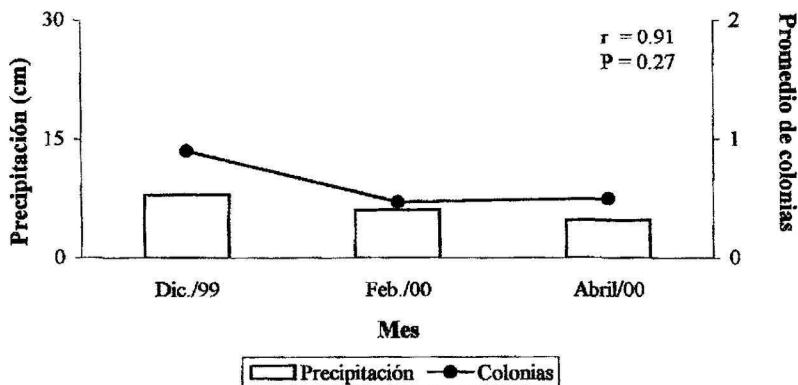
disminución no se observó en la localidad de Santa Isabel (Cuadro 5). Los géneros *Alternaria* spp., *Curvularia* sp., *Paecilomyces* sp. y *Zygosporium* sp. se aislaron solamente del suelo de Santa Isabel, mientras que *Trichoderma* sp. se aisló solamente del suelo de Guánica.

Se observó una correlación directamente proporcional entre la precipitación que ocurrió un mes previo al muestreo y el número promedio de colonias aisladas del suelo (Figura 1). A mayor precipitación, mayor número de colonias aisladas de suelo. Este factor ambiental nos permite explicar el aumento en el número de colonias de hongos aisladas del suelo ya que la humedad del suelo promueve la esporulación y germinación de las esporas de los hongos.

En general, durante los períodos evaluados, observamos una gran diversidad de géneros de hongos aislados tanto del follaje como del suelo en las localidades evaluadas. Estos incluyen hongos saprófitos como *Aspergillus* spp., *Chaetomium* spp., *Humicola* sp., *Memnoniella* sp., *Nigrospora* sp., *Papulospora* sp., *Penicillium* spp. y *Zygosporium* sp. (Barnett y Hunter, 1998). Se identificaron varios hongos patógenos al cultivo de cebolla, como *Alternaria*, *A. niger*, *Cladosporium* spp., *C. gloeosporioides*, *Helminthosporium* sp., *Fusarium* spp., *Phoma* spp. y *Stemphylium* spp. (Toro, 1923; Nolla, 1926 y 1927; Stevenson, 1975; R. Rodríguez, 1993 y 1994, com. pers., Departamento de Protección de Cultivos, UPR; Schwartz y Mohan, 1995). *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp., *Helminthosporium* sp. y *Stemphylium* spp. han sido asociados a enfermedades del follaje. *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Phoma* spp. y *Aspergillus* spp. son patógenos importantes en los bulbos o raíces (R. Woodward, 1999, com. pers., Micro Macro Analytical Laboratories, Georgia; Schwartz y Mohan, 1995). Algunos géneros aislados contienen especies utilizadas en el control biológico: *Sporidesmium* sp., *Trichoderma* sp. y *Paecilomyces* sp. (Agrios, 1997; Baker y Paulitz, 1996; Kerry y Evans, 1996; Tronsmo, 1996).

Las poblaciones de hongos en el suelo en las dos localidades pueden haber sido afectadas por las prácticas de manejo de las siembras evaluadas, como el período de tiempo y tipo de plaguicida que se aplicaba. Los fungicidas utilizados después de establecidas las siembras fueron de tipo protector del follaje, de contacto, orgánicos en su composición química y de amplio espectro en el control de enfermedades de la cebolla. Se observó una reducción en el número de colonias de hongos aislados del suelo luego de establecidas las siembras en ambas localidades. El uso de herbicidas podría considerarse otro factor determinante en las poblaciones de hongos del suelo ya que muchas malezas sirven de reservorio a hongos patógenos (Curl y Truelove, 1987).

**(a) Guánica**



**(b) Santa Isabel**

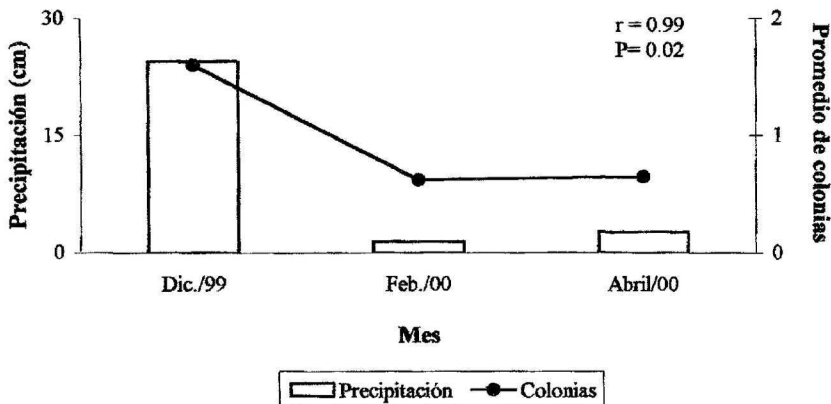


FIGURA 1. Relación entre la precipitación total durante el mes previo al muestreo y el promedio de colonias aisladas del suelo de siembras de cebolla en las localidades de Guánica (a) y Santa Isabel (b) en la zona sur de Puerto Rico.

*Muestreo de Semillas de Cebolla*

La incidencia de hongos fue significativamente menor en las semillas de cebolla desinfestadas superficialmente. Sin embargo, con este tratamiento la germinación fue menor que en el grupo control (Cuadro 6). No encontramos diferencias significativas en la germinación de

semillas entre los tres cultivares evaluados (Cuadro 6). El número de semillas con presencia de hongos en el cultivar Mercedes fue significativamente menor al de los cultivares Nikita y Excalibur. Encontramos a *Aspergillus* spp. asociado al cultivar Mercedes; *A. niger*, principalmente a los cultivares Nikita y Excalibur; y *Rhizopus* sp. al cultivar Excalibur (Cuadro 6). Es importante indicar que en una semilla podían aparecer asociados diferentes hongos, siendo la combinación más frecuente *A. niger* con *Rhizopus* spp. Entre los hongos aislados, el de mayor frecuencia fue *A. niger*, seguido por *Rhizopus* spp.

A pesar de que las semillas comerciales utilizadas estaban tratadas con fungicida, *Aspergillus* spp., *A. niger* y *Rhizopus* sp., mostraron resistencia al mismo. *Aspergillus niger* fue el hongo más frecuentemente aislado de las semillas. Esto compara con los hallazgos de Hayden y Maude (1992) en el Sudán, quienes reportaron a *A. niger* como el patógeno dominante contaminando las semillas de cebollas. Además, éstos catalogan a la semilla como la fuente de inóculo primario en la infección de los bulbos.

Encontramos a *Rhizopus* sp. asociado a las semillas con la misma frecuencia que *A. niger*. Sin embargo, *Rhizopus* sp. se reporta como poco frecuente en bulbos de cebollas, siendo de poca importancia económica a pesar de poseer el potencial para causar infección a través de mecanismos enzimáticos. Los hongos pueden invadir la semilla o permanecer latente hasta infectar los bulbos de cebolla y causar la desintegración de su tejido (Schwartz y Mohan, 1995). En este estudio la

CUADRO 6. Promedio de semillas de cebolla germinadas e identificación de hongos asociados a éstas.

Tratamiento	Germinación	Promedio de semillas germinadas <sup>1,2</sup>			
		<i>Aspergillus</i> spp.	<i>A. niger</i>	<i>Rhizopus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> spp. y <i>Rhizopus</i> sp.
Control	6.5 a	0.9 a	5.5 a	4.9 a	8.0 a
Desinfestación <sup>3</sup>	3.7 b	0.0 b	0.1 b	0.1 b	0.1 b
Cultivares					
Mercedes	5.7 a	1.3 a	0.3 a	0.5 a	2.1 a
Nikita	5.1 a	0.0 b	5.0 b	2.1 b	5.1 b
Excalibur	4.6 a	0.0 b	3.1 b	4.9 c	5.0 b

<sup>1</sup>Promedio de 15 repeticiones (platos petri con 10 semillas por plato).

<sup>2</sup>Promedios en las columnas con la misma letra no difieren estadísticamente ( $P < 0.05$ ) utilizando la Prueba de Tukey.

<sup>3</sup>Las semillas fueron desinfestadas con alcohol etílico al 70% e hipoclorito de sodio al 0.05% por 1 min cada uno y transferidas a agar de papa y dextrosa acidulado. Los platos petri fueron incubados por cuatro días a 28 °C.



semilla se puede catalogar como fuente de inóculo de *A. niger* y *Rhizopus* sp. Al comparar los tres cultivares de cebolla encontramos una mayor cantidad de hongos asociados a las semillas de Nikita y Excalibur que a las de Mercedes.

Estudios futuros permitirán evaluar la patogenicidad de los hongos aislados sobre los tejidos de los cultivares de cebolla examinados durante este catastro realizado en la zona sur de Puerto Rico.

#### LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N., 1997. *Plant Pathology*. Fourth edition. Academic Press, Inc., San Diego, CA, 635 pp.
- Estación Experimental Agrícola, 1999. Conjunto tecnológico para la producción de cebolla. Publicación 156, Río Piedras, PR, 35 pp.
- Baker, R. y T. C. Paulitz, 1996. Theoretical basis for microbial interactions leading to biological control of soilborne plant pathogens. pp. 58-59 *In: Principles and Practices of Managing Soilborne Plant Pathogens*. R. Hall (ed.). APS Press, St. Paul, MN.
- Barnett, H. L. y B. B. Hunter, 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. Fourth Edition APS Press, MN, 218 pp.
- Curl, E. A. y B. Truelove, 1987. *The rhizosphere*. Springer-Verlag, Berlin. 288 pp.
- Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2001. Ingreso Bruto de la Agricultura de Puerto Rico. Cifras revisadas 1999/2000 y preliminares 2000/2001. Oficina de Estadísticas Agrícolas. San Juan, PR.
- Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2002. Ingreso Bruto de la Agricultura de Puerto Rico. Cifras revisadas 2000/2001 y preliminares 2001/2002. Oficina de Estadísticas Agrícolas. San Juan, PR.
- Domsch, K. M. y W. Gams, 1980. *Compendium of soil fungi*. Academic Press, London. Vol. 1. 859 pp.
- FAO STAT Online, 2002. [www http://apps.fao.org](http://apps.fao.org)
- Gierbolini, R. E., 1979. *Soil survey of Ponce Area of Southern Puerto Rico*. USDA, Soil Conservation Service, Washington, D.C., 80 pp.
- Hayden, N. J. y R. B. Maude, 1992. The role of seed-borne *Aspergillus niger* in transmission of black mold of onion. *Plant Pathology* 41:573-581.
- Hayden, N. J., R. B. Maude y F. J. Proctor, 1994. Studies on the biology of black mold (*Aspergillus niger*) on temperate and tropical onions. 1. A comparison of sources of the disease in temperate and tropical field crops. *Plant Pathology* 43:562-569.
- Johnson, L. F. y E. A. Curl, 1972. *Methods for research on the ecology of soil-borne plant pathogens*. Burgess Publishing Company, Minneapolis, MN, pp. 247.
- Jordan, M. M., R. B. Maude y R. T. Burchill, 1990. Sources, survival, and transmission of *Cladosporium allii* and *C. allii-cepae*, leaf blotch pathogens of leek and onion. *Plant Pathology* 39:237-241.
- Kerry B. R. y K. Evans, 1996. New strategies for the management of plant parasitic nematodes. pp. 143-148. *In: Principles and Practices of Managing Soilborne Plant Pathogens*. R Hall (ed.). APS Press, St. Paul, MN.
- Musa, S. K., H. A. Habish, A. A. Alodalla y B. B. Adlan, 1973. Problems of onions storage in Sudan. *Tropical Science* 15(4):319-327.
- Nolla, J. A. B., 1926. *Colletotrichum gloeosporioides*: Onion-leaf antracnosis. *J. Dept. Agric. P.R.* 10:245-256.
- Nolla, J. A. B., 1927. New *Alternaria* disease of onions (*Allium cepa* L.). *Phytopathology* 17:115-132.

- Salvaggio, J. y L. Aukrust, 1981. Mold-induced asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 68:27-346.
- Schwartz, H. F. y S. K. Mohan, 1995. Compendium of onion and garlic diseases. APS Press, St. Paul, MN, 54 pp.
- Stevenson, J. A., 1975. Fungi of Puerto Rico and the American Virgin Islands. Braun-Brumfield, Inc., Ann Arbor, MI, pp. 520.
- Thompson, A. K. y S. K. Mohan, 1996. Response of sweet spanish onion cultivars and numbered hybrids to basal rot and pink rot. *Plant Disease* 80(6):660-663.
- Toro, R. A., 1923. Una enfermedad importante de las cebollas en Puerto Rico. Estación Experimental Insular, Río Piedras, PR. Circular 71, pp. 3-6.
- Tronsmo, A., 1996. *Trichoderma harzianum* in biological control of fungal diseases. pp. 215-217. In: Principles and Practices of Managing Soilborne Plant Pathogens. R Hall (ed.). APS Press, St. Paul, MN.
- Watanabe, T., 1994. Pictorial atlas of soil and seed fungi. Lewis Publishers. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, 400 pp.