

Micobiota asociada a semillas de cebolla (*Allium cepa* L.) y ajo (*A. sativum* L.) producidas en Cuba.

José A. Fresneda, Pedro Oliva y Juana L. Camacho

Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT)
“Alejandro de Humboldt”

RESUMEN

Con el fin de conocer los hongos que encuentran alojamiento en las semillas de cebolla (*Allium cepa* L.) y los propágulos de ajo (*Allium sativum* L.), se realizaron evaluaciones sanitarias empleando los métodos de observación directa e incubación en cámara húmeda. Fueron identificadas quince especies pertenecientes a nueve géneros de hongos, la mayor parte de los cuales causan enfermedad en los cultivos de aliaceas en crecimiento, como son los casos de *Alternaria porri*, *Pleospora herbarum*, *Colletotrichum dematium* f. sp. *circinans*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotium cepivorum* y *Pyrenochaeta terrestris*, mientras que otras especies como *A. alternata*, *Fusarium equiseti*, *Penicillium* spp. y *Aspergillus* spp. sólo producen el deterioro de las semillas en etapa de germinación, principalmente aquellas cuyas umbelas sufrieron algún daño mecánico o cayeron al terreno por fractura del tallo floral. Algunos de estos hongos tienden a alojarse en el suelo, afectando la sanidad del sustrato. Los desechos generados en la preparación de la semilla para la siembra deben ser eliminados de manera conveniente para evitar la diseminación de los hongos.

Micobiota asociada a semillas de cebolla (*Allium cepa* L.) y ajo (*A. sativum* L.) producidas en Cuba.

José A. Fresneda, P. Oliva y J. L. Camacho

Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT)
“Alejandro de Humboldt”

INTRODUCCION

Con frecuencia la planta completa o parte de sus órganos y tejidos están sujetos al ataque de alguna enfermedad, constituyendo esta una vía propicias para la diseminación casi todas las estructuras vegetativas que se emplean en la propagación. Tanto las semillas propiamente, así como los esquejes, yemas, raíces, rizomas, bulbos o cormos que son más idóneos para el transporte de algunos organismos patógenos y más difíciles de sanear, juegan un papel importante en la epidemiología de la enfermedad (Hewitt y Chiarappa, 1977). Al quedar expuestos de manera particular a la contaminación, puede ocurrir la diseminación efectiva de las enfermedades, tanto en términos de frecuencia de transmisión, como en lo que respecta al número de diferentes patógenos comprometidos (Neergaard, 1979).

Los daños causados por patógenos que se encuentran abrigados en el material de propagación pueden ser evaluados de manera precisa si se emplean adecuados procedimientos de inspección (Richardson, 1985), incluso los riesgos en cuanto a la diseminación pueden ser disminuidos en aquellas plantas multiplicadas vegetativamente, como es el caso del ajo (*Allium sativum* L.), mediante el saneamiento de los clones o a partir de fuentes que estén libres de plagas y enfermedades (USDA, 1961).

El objeto del presente trabajo es la detección de los microorganismos que pueden ser transportados de manera específica en la semilla de cebolla y los propágulos de ajo, así como localización del inóculo potencial en el material de propagación.

MATERIALES Y METODOS

Entre los años 1995 y 2000 se realizaron muestreos en 5 lotes de semilla de cebolla producidas en Banao, provincia Sancti Spíritus y Consolación del Sur, provincia Pinar del Río. Se tomaron al azar 400 semillas por muestra, para situar 25 por placa, las cuáles fueron incubadas sobre papel absorbente humedecido, en placas petri plásticas, a la temperatura de 25 +/- 1°C, en alternancia de 12 horas luz cercana a la ultravioleta y 12 horas oscuridad, durante 7 días (Neergaard, 1979), tras lo cual se evaluó la presencia de hongos bajo microscopio estéreo 60x y microscopio compuesto. Los organismos fueron identificados con el auxilio de claves y descripciones elaboradas por Ellis (1971 y 1976) y Hanlin y Tortolero (1990).

Por otra parte se realizaron muestreos en tres áreas tradicionalmente productoras de ajo ubicadas en Güira de Melena y San Antonio de los Baños (provincia La Habana) y Banao (provincia Sancti Spíritus); en ellos se tomaron al azar 50 bulbos de los clones Criollo y Vietnamita, cada uno por separado, para un total de 10 lotes.

Las cabezas de ajo fueron sometidas al método observación directa bajo microscopio-estereoscopio 60 X para realizar el aislamiento y estudio de los microorganismos encontrados en las túnicas externas que las recubren y en los discos o platos (Guenkov, 1969). Ante la presencia de hongos que sólo manifestaban micelios, las partes enfermas fueron incubadas en agar malta.

Posteriormente se realizó el desgrane de las 50 cabezas por localidad para situar 50 discos basales, así como 200 dientes escogidos al azar en cámara húmeda, en iguales condiciones de incubación. Entre los dientes remanentes se escogieron de forma diferenciada aquellos en cuyo extremo apical se podía distinguir una coloración oscura, por oposición a los que mantenían un color blanco uniforme, de igual manera estos fueron sometidos a incubación en cámara húmeda. Con el auxilio de las claves y descripciones elaboradas por Ashby (1927), Booth (1971), Ellis (1971), Mordue (1976) y Sutton (1980) se identificaron los microorganismos presentes.

RESULTADOS Y DISCUSION

La Tabla 1 recoge en orden alfabético la relación de hongos encontrados en semillas de cebolla y las diversas estructuras de las cabezas de ajo que habían sido seleccionadas.

Tabla 1 MICROBIOTA ASOCIADA LOS PROPAGULOS DE AJO Y CEBOLLA

	Ajo	Cebolla
<i>Alternaria porri</i> (Ell.) Cif.	x	x
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler		x
<i>Aspergillus flavus</i> Link ex Fr.	x	x
<i>Aspergillus niger</i> Van Tiegh	x	x
<i>Aspergillus ochraceus</i> Wilhelm	x	x
<i>Colletotrichum dematium</i> (Pers. Ex Fr.) Grove f. sp. <i>circinans</i> (Berk.) Arx.	x	
<i>Fusarium equiseti</i> (Corda) Sacc.		x
<i>Fusarium proliferatum</i> (Matsushima) Nirenberg (= <i>F. moniliforme</i> Sheldon)	x	x
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht. ex Fr.	x	x
<i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goid.		x
<i>Penicillium</i> spp.	x	x
<i>Pleospora herbarum</i> (Pers. ex Fr.) Rabenh. (= <i>Stemphylium botryosum</i> Wallr.)	x	x
<i>Pleospora</i> sp. (= <i>Stemphylium vesicarium</i> (Wallr.) Simmond		x
<i>Sclerotium cepivorum</i> Berk.	x	
<i>Pyrenochaeta terrestris</i> (Hansen) Gorez, Walker & Larson	x	

En los propágulos de ambas especies aparece el inóculo de hongos potencialmente peligrosos para el cultivo subsecuente como *A. porri*, *F. oxysporum* y *P. herbarum*; en adición los dientes de ajo son capaces de transportar además de los mencionados *C. dematium*, *M. phaseolina*, *S. cepivorum* y *P. terrestris*, hongos que permanecen en el suelo y son capaces reafectar incluso la sanidad del suelo.

Por otra parte, algunos de los microorganismos encontrados en semillas de cebolla, como *A. alternata*, las especies de *Aspergillus*, *F. equiseti* y *Penicillium* sp. sólo causan pudriciones en semillas, particularmente en aquellas procedentes de umbelas que quedaron en contacto con el suelo por fractura del vástago floral.

Tabla 2. PORCENTAJE PROMEDIO DE INFECCION PRODUCIDO POR HONGOS SEMILLAS DE CEBOLLA.

HONGOS PRESENTES	% Incidencia
<i>Alterania porri</i>	0,3
<i>Alternaria alternata</i>	1,2
<i>Aspergillus spp.</i>	0,5
<i>Fusarium equiseti</i>	0.25
<i>Fusarium oxysporum</i>	0,1
<i>Fusarium proliferatum</i>	0,1
<i>Penicillium spp.</i>	2,3
<i>Pleospora herbarum</i>	3.6
<i>Pleospora sp.</i>	0,5

Aún cuando el inóculo de *A. porri* en semillas es importante pues puede dar inicio a la enfermedad mancha púrpura en el campo, su incidencia es baja en general, siempre inferior al 1 %. Sólo fueron sobresalientes las pudriciones de semillas causadas por *P. herbarum* , que en ocasiones superó el 20 % del total.

Observación directa de los bulbos de ajo.

En las hojas modificadas que envuelven las cabezas y particularmente en los plegamientos que se forman en la zona del cuello fueron detectados microorganismos potencialmente peligrosos para el cultivo, por el daño que suelen causar en la fase de crecimiento de las plantas. Adheridos a las túnicas externas, principalmente en la parte

superior de estas, se encontraron hifas de color pardo oscuro, ramificadas, septadas, que cuando se situaron en cámara húmeda bajo alternancia de luz/oscuridad reiniciaron el crecimiento para producir nuevo micelio, conidioforos y esporas características de *Alternaria porri*, según las descripciones de Ellis (1971). Anteriormente Sandoval et. al. (1981) interceptaron este hongo en semillas que habían sido importadas con fines agrícolas.

La enfermedad “mancha púrpura” causada por *A. porri* es considerada el problema mayor de enfermedad para el ajo bajo las condiciones de Cuba, donde está ampliamente distribuida (Urutiaga, 1986), pues produce pérdidas considerables en los campos de producción y es una de las limitantes para obtener semillas de calidad (Muñoz de Con et. al., 1991).

Los signos que evidencian la presencia de *A. porri* fueron encontrados principalmente en las cabezas de ajo peor conservadas, según se pudo apreciar por el deterioro de las catáfilas y la presencia de áreas necrosadas en la superficie de estas, no obstante, también se encontraron dichos signos en cabezas de ajo cuya apariencia externa no evidenciaba tal deterioro, si bien de manera menos profusa que la anterior; la apariencia sana de los bulbos de ajo no significa que el microorganismo esté ausente

Mediante observación directa se encontraron conidioforos y conidios de *Pleospora herbarum* (*Stemphylium botryosum*), los cuales también fueron más frecuentes en las túnicas estériles y plegamientos de los bulbos peor conservados; cuando se incubaron en cámara húmeda fracciones de esas túnicas dicho hongo creció y esporuló abundantemente (Fig. 1), estando siempre asociado a pequeñas áreas necrosadas sobre las cuales fue posible observar los signos del patógeno causante de la enfermedad tizón o moho de las aliáceas, que es frecuente y causa daños tanto en Cuba (Arnold, 1986) como en otras regiones donde estas se cultivan (Tylkowska y Dorna, 2001). Junto a esa especie fue encontrado *Stemphylium vesicarium*, el cual se considera de importancia en plantas de *Allium* sp. bajo condiciones desfavorables para los cultivos (Bisht et al., 1990)

También con el método de examen directo fue posible detectar sobre las túnicas exteriores acérvulos de abundantes setas largas y conidios fusiformes característicos del hongo *Colletotrichum dematium* f. sp. *circinans* (Fig 2), el cual produce la denominada mancha en los bulbos (Arnold, 1986) o tizne. Aunque en la literatura consultada se le concede poca importancia al ataque de este hongo bajo las condiciones de Cuba (Fernández, 1973; Urtiaga, 1986 y Arnold, 1986), en otros países se considera que tiende a afectar de manera severa a las plántulas en forma de damping-off (Richardson, 1979 y FAO, 1985).

De igual manera *Macrophomina phaseolina* encontró alojamiento en esa estructura que sirve de protección al fruto agrícola, pudiéndose observar los microesclerocios de color negro en su superficie (Fig. 3), los cuales afectaban una y raramente dos de las capas. Al tomar partes del tejido afectado y situarlas en agar malta se manifestó un crecimiento rápido y abundante del hongo y ya a los tres días aparecieron los esclerocios característicos en el agar.

Evidentemente, los microorganismos hasta aquí relacionados avanzaron por el follaje colonizando hasta la zona del bulbo y estos pueden ser disminuidos, incluso eliminados, al realizar el desgrane del ajo previo a la siembra, pero es muy beneficioso que los restos sean situados en lugares apartados del área de siembra o convenientemente incinerados, por la cantidad y diversidad de inóculo que transportan y que pueden servir como fuente primaria de enfermedades.

Incubación en cámara húmeda.

Los dientes en cuyo extremo apical se apreció una coloración inusual fueron cubiertos con el micelio pardo oscuro característico de *A. porri* (Fig. 4), pero en esta oportunidad el hongo no produjo sus esporas características, que únicamente aparecieron cuando quedaron adheridas en los dientes porciones de las túnicas estériles que recubrían al bulbo, con lo cual se reafirmó la presencia del organismo causante de la mancha púrpura.

Al establecerse en la nueva planta utilizando la semilla agámica como vehículo, se puede convertir en una fuente segura para el establecimiento de la enfermedad en el campo. La afectación producida por dicho hongo en las muestras fue baja en general, pues osciló entre 0,5 y 1,5 % promedio como puede verse en la Tabla 3.

Tabla 3. PORCENTAJE PROMEDIO DE INFECCION PRODUCIDO POR HONGOS EN LOS DIENTES DE AJO

HONGOS PRESENTES	CLONES EVALUADOS	
	CRIOLLO	VIETNAMITA
<i>Alterania porri</i>	1,5	0,5
<i>Aspergillus spp.</i>	4,0	1,5
<i>Fusarium oxysporum</i>	1,3	0
<i>Fusarium proliferatum</i>	8,9	6,5
<i>Penicillium spp.</i>	13,9	9,0
<i>Macrophomina phaseolina</i>	0,5	0,5
<i>Pleospora herbarum</i>	4,0	2,5
<i>Pleospora sp.</i>	1,3	0
<i>Sclerotium cepivorum</i>	1,0	0,5

De igual manera, los hongos *Pleospora herbarum* y *Pleospora* sp., que habían sido detectados inicialmente sobre los bulbos, también fueron capaces de afectar los dientes, incluso limitando la germinación hasta el 4,0 y 1,3% respectivamente.

Con mayor frecuencia se encontraron hongos del género *Fusarium* causando pudriciones en todas las muestras, entre los que sobresalía de manera reiterada *F. proliferatum* (*F. moniliforme*), cuya tasa de inóculo osciló entre 6,5 y 8,9 %; también apareció *F. oxysporum*, pero en este caso alcanzó hasta el 1,3 % de daño en las muestras. Ambas especies habían sido encontradas con anterioridad en ajo procedente de diversas regiones donde este se cultiva (Richardson, 1979).

Es importante destacar la presencia de *M. phaseolina* también en los dientes, no obstante la baja tasa de inóculo mostrada (0,5%), pues no se encontraron referencias

anteriores al respecto en la literatura consultada, pero no sólo aparecieron los microesclerocios, sino además la fase picnidial que contribuye a la mayor dispersión del hongo. Aún más dañina puede resultar la presencia de *Sclerotium cepivorum* (Fig. 5), adherido a la superficie de los dientes en forma de micelio durmiente; durante la incubación aparecieron las estructuras de reposo características del hongo, que por esta vía puede ser diseminado a nuevas áreas y sus esclerocios tienden a permanecer viables durante años en el terreno donde se cultivó el ajo. Los porcentajes promedios de infección variaron entre 0,5 y 1,0%.

También fueron encontrados otros microorganismos, algunos de los cuales tienen determinada importancia como son los casos de *Penicillium* spp. (9,0 a 13,9%), causante de pudriciones que pueden llegar a ser severas (Brammal, 1989), *Aspergillus flavus* que puede producir aflatoxina carcinogénica (Geeta y Reddy, 1990), así como *A. ochraceous* y *A. niger*, los cuales producen de conjunto el deterioro del 1,5 al 4,0% de la semilla.

Por último, en los discos basales sometidos a incubación fueron encontrados patógenos de gran importancia para el cultivo; además de *M. phaseolina* aparecieron *S. cepivorum*,

F. oxysporum y *Pyrenochaeta terrestris*, los cuales tienen la facultad de alojarse en el suelo y afectar de forma progresiva el estado sanitario del mismo.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- La micobiota asociada a los propágulos del ajo obtenido en dos áreas de producción está compuesta por 11 especies perteneciente a 9 géneros de hongos.
- La micobiota asociada a las semillas de cebollas está compuesta por 12 especies perteneciente a 9 géneros de hongos.
- Las túnicas externas que recubren la cabeza de ajo albergan los hongos *Alternaria porri*, *Pleospora herbarum* *Pleospora sp.*, *Colletotrichum dematium* f. sp. *circinans* y *Macrophomina phaseolina*, que afectan a las plantas durante la etapa de crecimiento.
- Los discos de los bulbos de ajo transportan los hongos de suelo *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotium cepivorum*, *Fusarium. oxysporum* y *Pyrenochaeta terrestris*, los cuales pueden ser diseminados por esta vía.
- La preparación de la semilla para la siembra genera desechos que deben ser eliminados de manera conveniente para evitar la introducción del inóculo en nuevas áreas.
- En los dientes de ajo se pueden encontrar infecciones producidas por *Alternaria . porri*, *Fusarium. oxysporum*, *Fusarium proliferatum*, *Pleospora herbarum*, *Pleospora sp.*, *Macrophomina phaseolina* y *Sclerotium cepivorum*, las cuales constituyen un punto de partida para el desarrollo de enfermedades en campo, así como hongos de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* que producen el deterioro de las semillas, en almacenamiento.

BIBLIOGRAFIA

- Arnold, G. R. W. (1986): Lista de hongos fitopatógenos de Cuba. Editorial Científico-Técnica. La Habana, Cuba. 206 pp.
- Ashby, J. F. (1927): *Macrophomina phaseolina* Maubl. comb. nev. The picnidial stage of *Rhizoctonia bataticola* Taub. Transaction British Mycological Society 12: 141- 147.
- Bisht, I. S., K. Venkatescauron y T. A. Thomas (1990): Evaluation of onion germplasm for resistance against *Stemphylium blight*. Onion Newsletter for the Tropics 2 : 36-37.
- Booth, C. (1971): The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey. England. 237pp.
- Brammal, R. A. (1989): Resistance to benomyl in isolates of *Penicillium* sp. causing clove decay of garlic. Canadian Journal of Plant Pathology 11(4): 409-414.
- Ellis, M. B. (1971): Dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey. England. 608 pp.
- Ellis, M. B. (1976): More dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey. England. 907 pp.
- Fernández, M. (1973): Catálogo de enfermedades de plantas cubanas. Academia de Ciencias de Cuba. Serie Agrícola. 27:1-78.
- FAO (Oficina Regional para América Latina y el Caribe) (1985): Manual para patólogos vegetales. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey. England. 438 pp.
- Geeta, G. S. y T. K. Reddy (1990): *Aspergillus flavus* Link and its occurrence in relation to other mycoflora on stored spices. Journal of Stored Products Research 26(4): 211-213.
- Guenkov G. (1969): Fundamentos de la horticultura cubana. Instituto del Libro. La Habana, Cuba. 355 pp.
- Hewitt, W. S. y L. Chiarappa (1977): Plant health and quarantine in the international transfer of genetic resources. CRC Press. Cleveland, Ohio. 346pp.
- ISTA (International Seed Testing Association) (1999): International Rules for Seed Testing. Seed Sciences and Technology 27: 1-333.
- Mordue, J. E. N. (1976): *Sclerotium cepivorum*. Commonwealth Mycological Institute. Description of pathogenic fungi and bacteria. 512 pp.

- Muñoz de Con, L.; A. Prats Pérez y G. Brito Iglesias (1991): Manual de producción de semillas hortícolas. Reporte de Investigación 1:80. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical. MINAGRI. Cuba.
- Neergaard, P. (1979): Seed pathology. The Mc Millan Press LTD. Vol I and II. London, England. 1191 pp.
- Richardson, M. (1979): An annotated list of seed-borne diseases. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 320 pp.
- Richardson, M. J. (1985) : Análisis patológico de semillas. En Manual para Patólogos Vegetales. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey. England. 320pp
- Sandoval, I.; E. Andrew; G. Gomez y A. Fernandez (1981): Principales enfermedades fungosas en plantas de ajo, cebolla, gladiolos y tulipán. Instituto de Investigaciones en Sanidad Vegetal. Unidad Sistemática y Biología. MINAG. 18 pp.
- Sutton, B. C. (1980): The *Coelomycetes*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey. England. 696 pp.
- Tylkowska, K. y H. Dorna (2001): Onion (*Allium cepa*) seed and plant health with special reference to *Botrytis allii*. *Phytopathologia Polonica* 21:55-68.
- Urtiaga, R. (1986): Índice de enfermedades en plantas de Venezuela y Cuba Ed. Nuevo Siglo Barquisimeto. 202 pp.
- USDA (United States Department of Agriculture) (1961): Semillas. Edición Revolucionaria. La Habana. 1020 pp.

FIGURAS

Fig. 1. Conidioforos y conidios de *Stemphylium botryosum*.

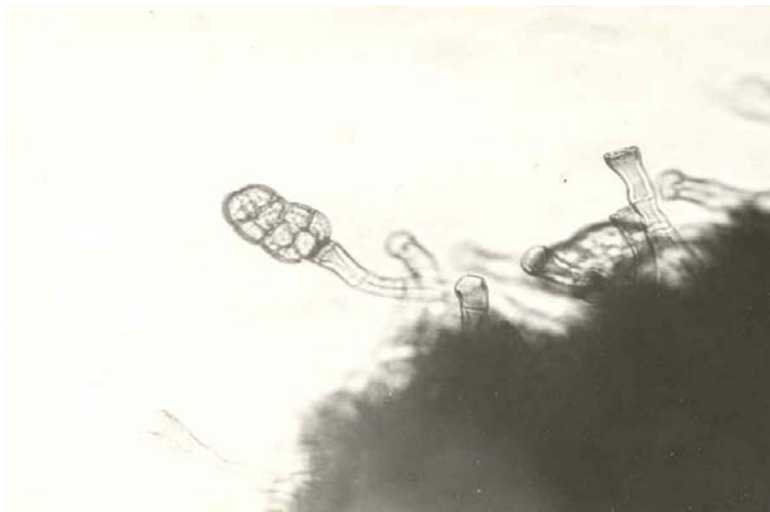


Fig. 2. Acérvulos de *Colletotrichum dematium* f. sp. *circinans* sobre las túnicas



Fig. 3. Microesclerocios de *Macrophomina phaseolina* en las túnicas.



Fig. 4. Dientes de ajo afectados por *A. porri*

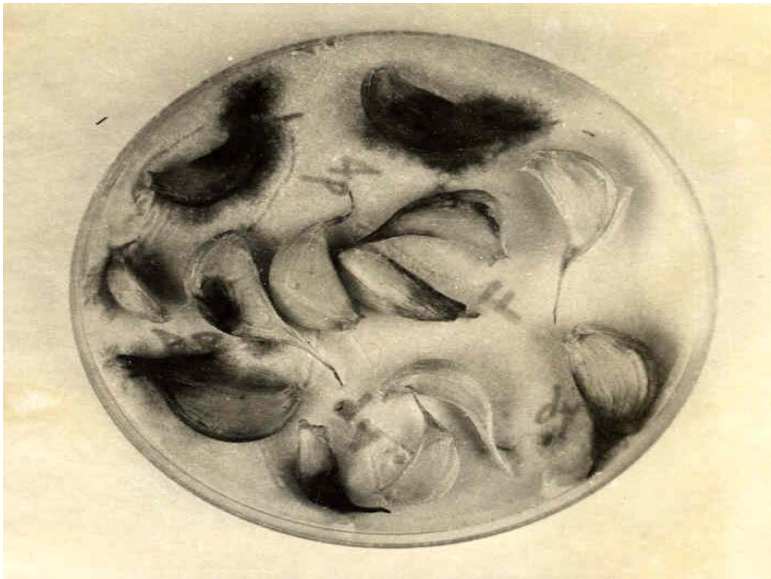


Fig.5. Esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en ensayo *in vitro*

