



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

**IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DE LA PUDRICIÓN RADICAL DE LA
CEBOLLA (*Allium cepa* L.) Y ALTERNATIVAS DE CONTROL EN EL VALLE DE LA
TRINIDAD, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO**

ARMANDO PULIDO HERRERA

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE**

DOCTOR EN CIENCIAS

MEXICALI, BAJA CALIFORNIA

2010

La presente tesis titulada “**IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DE LA PUDRICIÓN RADICAL DE LA CEBOLLA (*Allium cepa* L.) Y ALTERNATIVAS DE CONTROL EN EL VALLE DE LA TRINIDAD, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO**”, realizada por el alumno **Armando Pulido Herrera**, bajo la dirección del Comité Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

COMITÉ PARTICULAR

Director: Dra. Emma Zavaleta Mejía

Co-Director: Dra. Lourdes Cervantes Díaz

Asesor: Onecimo Grimaldo Juárez

Asesor: Daniel González Mendoza

Asesor: Silvia Mónica Avilés Marín

Mexicali, Baja California, a 10 de diciembre de 2010.

AGRADECIMIENTOS

Al instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Fundación Produce de Baja California por el apoyo recibido para realizar mis estudios de doctorado y proyecto de investigación.

A la Dra. Emma Zavaleta Mejía por sus valiosos consejos y sugerencias para mi formación académica y dirección del proyecto de investigación.

A la Dra. Lourdes Cervantes Díaz por su paciencia y sus valiosas aportaciones para llevar a buen término el grado de Doctor en Ciencias, mi más profundo agradecimiento por su calidad humana.

Al Dr. Onecimo Grimaldo Juárez por su amistad y apoyo incondicional en la parte estadística de la presente investigación.

Al Dr. Daniel González Mendoza por su entusiasmo y sus valiosas sugerencias en la elaboración del presente escrito.

A la Dra. Silvia Mónica Avilés Marín por su amistad y asesoría en la realización de esta investigación.

A la Biol. Ma de los Ángeles Capiz Ángeles, mi esposa, quien colaboró de manera importante en esta investigación auxiliándome en trabajos de laboratorio

A mis compañeros Rubén Corella, Arnoldo y Jesús por su afecto y estímulo durante el periodo estudios.

DEDICATORIA

A mis padres† por darme la vida, sustento y por darme el apoyo para realizarme profesionalmente, por darme principios morales como la honestidad ganarme el pan con el producto de mi trabajo.

A Ángeles mi compañera incondicional y amorosa, quien me ha apoyado y motivado para llegar a cumplir con mis metas.

A mis hijos Sofía y Ángel por ser los que me motivan cotidianamente a ser un buen profesionalista, y por supuesto un buen Padre.

A mis Hermanos con mucho afecto Roberto, Guillermo, Cecilia, José Luis, María Elda, Graciela, Florentino†, Jesús y Tomás.

A mi amigo y compañero de toda la vida Víctor Coria Avalos.

CONTENIDO

Página

Nota aclaratoria -----	viii
Resumen general -----	ix

Capítulo I

Introducción general -----	1
Objetivos -----	5
Hipótesis -----	6
Literatura citada -----	6

Capítulo II

Identificación de los hongos causantes de la pudrición radical de la cebolla (<i>Allium cepa</i> L.) en el Valle de la Trinidad, Baja California, México -----	10
Resumen -----	10
Introducción -----	11
Materiales y métodos -----	12
Resultados y discusión -----	17
Conclusiones -----	22
Literatura Citada -----	22

Capítulo III

Alternativas de control para la pudrición radical de la cebolla (*Allium cepa* L.)
 en el Valle de la Trinidad, Baja California, México. ----- 24

Resumen ----- 24

Introducción ----- 25

Materiales y métodos ----- 27

Resultados ----- 30

Discusión ----- 40

Conclusiones ----- 44

Literatura Citada ----- 44

LISTA DE CUADROS

Capítulo II

Tabla 1. Características de parcelas con producción comercial de cebolla muestreadas
 durante 2007 y 2008 en el Valle de la Trinidad, Baja California, México ----- 13

Tabla 2. Características morfométricas de *Fusarium oxysporum*, *F. subglutinans* y
Pyrenochaeta terrestris causantes de la pudrición radical de la cebolla durante 2007 a 2008, en
 el Valle de la Trinidad, B. C., México ----- 20

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Microfotografías de estructuras reproductivas de los hongos involucrados en
 la pudrición radical en cebolla. *Fusarium oxysporum*: a) microconidios en falsas
 cabezas, fialides simples y cortas, b) esporodoquios y macroconidios, c) clamidosporas
 y d) macroconidios y microconidios. *Fusarium subglutinans*: e) microconidios en
 polifialides, f) macroconidios delgados, microconidios ovales y sin septos----- 19

-

Figura 2. *Pyrenochaeta terrestris*, asociada a la pudrición radical en cebolla: a)
 microesclerocio, b) picnidio globoso de color café oscuro con numerosas setas
 alrededor del ostiolo. c y d) reacción negativa y reacción positiva en medio de cultivo
 para la identificación de *P. terrestris*----- 19

Figura 3. Árbol filogenético construido con base a la región ITS del rADN de aislamientos de *Fusarium* y *Pyrenochaeta* obtenidos de plantas de cebolla con síntomas de pudrición radical y secuencias de otras especies relacionadas provenientes del GenBank. Para la construcción del árbol filogenético se utilizó el método neighbor-joining algorithm y el programa Lasergene 8 software (DNASTar Inc. Madison, USA). Los valores de confianza se estimaron con un análisis bootstrap con 1,000 repeticiones - 21

LISTA DE CUADROS

Capítulo III

Cuadro 1. Temperatura del suelo en parcelas solarizadas y no solarizadas: Experimento I (agosto de 2006 a julio de 2007) y II (abril a septiembre de 2008) y III (abril a septiembre de 2009). Valle de la Trinidad, B. C. México -----	32
Cuadro 2. Efecto de la solarización, incorporación de materia orgánica y control químico y biológico sobre las características químicas del suelo del experimento I (agosto de 2006 a julio de 2007) antes del trasplante de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C. México -----	33
Cuadro 3. Efecto de la solarización, incorporación de materia orgánica y control químico y biológico sobre las características químicas del suelo del experimento I (agosto de 2006 a julio de 2007) al momento de la cosecha de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C. México-----	34
Cuadro 4. Efecto de la solarización, incorporación de materia orgánica y control químico y biológico sobre la biota del suelo del experimento I (agosto de 2006 a julio de 2007) antes del trasplante de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C. México. 2007 -----	35
Cuadro 5. Efecto de la solarización, incorporación de materia orgánica y control químico y biológico sobre la biota del suelo del experimento II (abril a septiembre de 2008) antes del trasplante de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C. México. 2008 -----	36
Cuadro 6. Efecto de la solarización, incorporación de materia orgánica y control químico y biológico sobre las bacterias, la severidad y rendimiento del experimento II (abril a septiembre de 2008) al momento de la cosecha de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C. México. 2007	37
Cuadro 7. Efecto de la solarización, incorporación de materia orgánica y control químico y biológico sobre los nematodos de vida libre, severidad y rendimiento del experimento I (agosto de 2006 a julio de 2007) al momento de la cosecha de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C. México -----	38
Cuadro 8. . Efecto de la solarización, incorporación de materia orgánica y control químico y biológico en el rendimiento del experimento III (abril a septiembre de 2009) al momento de la cosecha de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C. México -----	40

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Incidencia y severidad de la pudrición radical de la cebolla, en el Valle de la Trinidad, B. C. México -----	39

NOTA ACLARATORIA

Esta tesis consta de la introducción general y de dos artículos, que corresponden al capítulo 2 y 3. Se redactó de acuerdo a las normas de la Revista Mexicana de Micología y Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. En ocasiones fue necesario repetir cierta información en algunos capítulos.

RESUMEN GENERAL

En el Valle de la Trinidad, Baja California, México, se presentan pudriciones radicales en el cultivo de cebolla (*Allium cepa* L.), que repercute en su calidad y producción. No se tiene información sobre la etiología de la enfermedad. De plántulas de cebolla establecidas en campo se aislaron 20 cepas de *Fusarium* y 33 cepas de *Pyrenochaeta*. Los aislamientos se identificaron como *Fusarium oxysporum* Schlecht y *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas, asociadas a la pudrición radical de color café y a *Pyrenochaeta terrestris* (E.M. Hans) asociada con síntomas de pudrición radical con coloración rosada mediante morfología y análisis del al región intergenica (ITS) del rADN. Las secuencias de los nucleótidos obtenidos de los aislamientos representativos se depositaron en el GenBank y están en proceso de registro. Las pruebas de patogenicidad *in vitro* con semilla de cebolla indicaron que 13 de las 20 cepas de *Fusarium* invadieron la semilla y la radícula desarrolló pudrición con síntomas de color café. En plántulas de cebolla las cepas de *Fusarium* ocasionaron pudrición radical de color café, a los 65 días después de la inoculación (ddi), mientras que con *Pyrenochaeta* a los 37 ddi pudrición radical con coloración rosa. Estos resultados sugieren que *Pyrenochaeta* fue más virulenta que *Fusarium*. Es el primer reporte donde se identifica morfológica y molecularmente a los géneros *Fusarium* y *Pyrenochaeta* asociados a cebolla de Baja California. Por otra parte con el propósito de evaluar estrategias de control para la enfermedad, se realizaron experimentos durante el 2007, 2008 y 2009. En el experimento I (2007) los tratamientos fueron: 1) Tiofanato metílico, 2) Smicobac (*Trichoderma* + *Bacillus* sp. + *Azospirillum* sp. + *Pseudomonas* sp.), 3) estiércol de bovino (EB), 4) residuos de cebolla (RC), 5) Solarización plástico transparente (SPT), 6) Solarización plástico negro (SPN), 7) SPT + EB, 8) SPT + RC, 9) SPN + EB, 10) SPN + RC, 11) Trichodef (*Trichoderma harzianum*) y 12) testigo. En el experimento II (2008), los tratamientos fueron los mismos excepto el tratamiento 2 sustituido por el producto Protector (extractos vegetales); y en el

experimento III (2009) los tratamientos fueron: 1) SPT + estiércol de ovino (EO), 2) SPN + EO, 3) SPT, 4) SPN, 5) Control biológico (*Trichoerma* spp. (Biol) y 6) control químico (Q) (2-(tiocianometiltio) benzotiazol 30%. Los resultados indicaron que los tratamientos SPT con o sin enmiendas orgánicas presentaron los mejores rendimientos y diámetro del bulbo con respecto al biológico y químico. En el experimento III, los tratamientos Biol, Q y SPT no mostraron diferencia significativa en el rendimiento. La severidad en los experimentos I y II fue menor en SPT y SPN con y sin enmiendas orgánicas y en el experimento III la incidencia y severidad fue menor en el tratamiento Biol y Q. Los resultados indican que el control físico y biológico son promisorios para el control de enfermedades con origen en suelo en el Valle de la Trinidad Baja California.

Capítulo I

INTRODUCCIÓN GENERAL

La cebolla (*Allium cepa* L.) es una de las principales hortalizas que se cultivan en México debido a su alto consumo, superficie sembrada, generación de empleos y divisas que genera. Para el 2007 se sembraron aproximadamente 48, 000 ha con producción de 1, 400,000 ton (FAOSTAT, 2007). En el estado de Baja California en el 2008 se tuvo una producción de 102,000 ton en una superficie de 2,100 ha, generando ingresos por un total de \$4, 272, 248,900 y favoreciendo la generación de empleos (61 jornales por hectárea) (SAGARPA-SIAP, 2009).

Entre los diversos patógenos que afectan al cultivo de la cebolla, destacan los hongos fitopatógenos causantes de pudriciones radicales asociadas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* (Havey, 1996), *Sclerotium cepivorum* (Crowe, 1996), *Pyrenochaeta terrestris* (Summers, 1996; Montes-Belmont *et al.*, 2003), *Pythium* spp. (Vincelli y Lorbeer, 1990) *Fusarium solani*, *Fusarium* spp., *Pythium* spp. y *Rhizoctonia solani* (Vincelli y Lorbeer, 1990). Su amplia distribución en las principales áreas productoras de cebolla en el mundo indica su alta adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales (Sumner, 1996; Havey, 1996; Crowe, 1996). El establecimiento de estos patógenos en las raíces de cebolla, puede ser por penetración directa o por aberturas naturales y heridas, produciendo síntomas como amarillamiento parcial del follaje, marchitamiento y muerte de la planta, a consecuencia de la pudrición de raíz que desarrolla coloración café (Summers, 1996) o rosada Montes-Belmont *et al.*, 2003).

En el Valle de la Trinidad, B.C., el cultivo de la cebolla presenta serios problemas de pudrición radical, esta situación ha impactado la economía de los productores de la región, obligándolos a cambiar de parcelas cada 2 años y abrir nuevos campos de cultivo con las consecuencias que esta práctica ocasiona al medio ambiente. El monocultivo y el manejo fitosanitario poco exitoso de las enfermedades de raíz en el Valle de la Trinidad, ha ocasionando que el problema se presente continuamente ocasionando pérdidas de alrededor de las 15 ton/ha en el rendimiento.

La identificación de los hongos se realiza tradicionalmente de acuerdo a sus características morfométricas; sin embargo, el uso de técnicas moleculares complementan y confirman resultados ya que permiten

analizar secuencias de los espaciadores internos transcritos (ITS, Internal Transcribed Spacer, por sus siglas en inglés) de genes conservados del rADN (18S-5.8S-28S) útiles en la identificación y relación genética de los hongos involucrados en la enfermedad (White *et al.*, 1990).

El manejo de las enfermedades que tienen su origen en el suelo comúnmente se realiza con productos químicos; así con la aplicación de bromuro de metilo 67% + cloropricrina 33% y cloropricrina se redujeron significativamente las poblaciones de *Phoma terrestris*, *Pythium* spp, *Fusarium* spp, y *Rhizoctonia solani*; mientras que el metam sodio y el 1,3 Dicloropropeno + cloropricrina 17% afectaron en menor grado a esos patógenos (Sumner *et al.*, 1997). También con la aplicación de los fungicidas Benomil y Vinclozolin se inhibió la pudrición de raíz y bulbo de la cebolla (Oezer y Oemeroglu, 1995). Sin embargo, depender exclusivamente de esta estrategia atenta contra la sustentabilidad de la productividad agrícola ya que la contaminación del ambiente por el uso excesivo de plaguicidas ha impactado negativamente reduciendo la biodiversidad de los agroecosistemas, lo que ha repercutido en la inestabilidad de los mismos que se manifiesta, entre otros efectos negativos, en una mayor incidencia de plagas y enfermedades de los cultivos (Zavaleta-Mejía, 1999).

Una alternativa ambientalmente más amigable la constituye la biofumigación, con la cual se puede lograr la reducción de enfermedades con origen en el suelo a través del efecto tóxico de los gases liberados durante el proceso de descomposición de la materia orgánica incorporada al suelo (Zavaleta-Mejía, 1999; Bello, *et al.*, 2002). La incidencia de enfermedades inducidas por patógenos de la raíz (*Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum* f. sp *radicis cucumerinum*, *Pythium aphanidermatum*, y *Rhizoctonia solani*, entre otros) se ha reducido con la incorporación de residuos de especies del genero *Allium*, como resultado de la liberación de gases azufrados y tiosulfatos (Auger *et al.*, 2004). También especies de plantas de la familia de las brasicáceas, tienen un alto potencial para el manejo de enfermedades con origen en el suelo, ya que se caracterizan por contener niveles altos de glucosinalatos a partir de los cuales se generan compuestos volátiles tóxicos como mercaptanos, sulfuros e isotiocianatos al ser incorporadas al suelo. Con la incorporación de residuos de algunas brasicáceas se redujo el número de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* (61 a 75%) y la severidad de la pudrición blanca de la cebolla (28 a 44%) en

comparación con el testigo (Zavaleta-Mejía *et al.*, 1992) . Otra especie con propiedades biofumigantes es el “cempasúchil” (*Tagetes erecta*), que tiene propiedades fungicidas, nematicidas e insecticidas debido a la presencia de compuestos tertiarios en sus tejidos (Zavaleta-Mejía, 1999; Zavaleta-Mejía y Gómez, 2003).

La implementación de prácticas ecológicas como la solarización, es otra alternativa de control de plagas del suelo con reducidos efectos al ambiente. El principio de esta práctica es el calentamiento del suelo por medio de la radiación solar mediante el uso de laminas de plástico (Katan, 1980; 1981). Al combinar la incorporación de materia orgánica con la solarización se puede incrementar la eficacia en el control de plagas del suelo (Katan, 1981). Sobre esta técnica se han realizado experimentos en diferentes países para el control de *Verticillium dahliae*, *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., *Phytium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Meloidogyne* spp., (Chistensen y Thinggaard ,1999; Elmore *et al.*, 1997; Yossen *et al.* 2004). Para optimizar el uso de agua y mejorar las condiciones del suelo durante la producción de cebolla, Adetunji (1994) comparó la solarización con polietileno transparente, cubiertas orgánicas y un control sin cubierta, observando que la solarización duplicó la concentración de nitrógeno disponible en forma de amonio (NH₄) y nitratos (NO₃), de tal manera que el rendimiento de cebolla fue 25% mayor que con cubierta orgánica y 85% mas alto que sin cubierta.

El efecto de la solarización para el control de pudrición rosada (*Pyrenochaeta terrestris*) de la cebolla fue estudiado durante 4 años consecutivos en Israel; ningún síntoma de la enfermedad se observó en el primer año. Sin embargo, el rendimiento y calidad se incrementaron por 29% y 57%, respectivamente, lo que indicó un fenómeno de respuesta de mayor crecimiento (Satour *et al.*, 1989). En Montecillos, estado de México se realizó un estudio en los ciclo 1987- 1988 con la finalidad de conocer el efecto de la incorporación de residuos de brasicáceas, solas y en combinación con cobertura de plástico, en la pudrición blanca de la cebolla *Sclerotium cepivorum* Berk en campo. La severidad de la enfermedad fue significativamente reducida (P = 0.05), con los tratamientos con col 28%, cobertura con plástico 44%, y col + brócoli 28%. En todos estos casos hubo incremento significativo (P = 0.05) en la producción de bulbos 28, 28 y 39%, respectivamente (Zavaleta-Mejía *et al.*, 1992). En España, se realizaron estudios

donde se evaluó el efecto de la biofumigación con solarización sobre *Phytophthora capsici* en el cultivo de pimiento bajo condiciones de invernadero, teniendo como referencia el bromuro de metilo y tres tipos de enmiendas estiércol de oveja, harina de soya y gallinaza; cuando los tratamientos se aplicaron en fechas con insolación alta (Julio y Agosto) se obtuvo con la combinación biofumigación + solarización un nivel de control de la enfermedad significativamente ($P > 0.05$) superior que el testigo. Guerrero *et al.*, (2004) reportan que el porcentaje de plantas muertas, no fue significativamente diferente entre los tratamientos biofumigación con solarización utilizando estiércol fresco de ovino con urea (0 -1.1%), harina de soya (0.04 -0%) y fumigación con bromuro de metilo (0%).

Los microorganismos antagonistas son ampliamente utilizados en la actualidad como agentes de control biológico, tal es el caso del hongo *Trichoderma* spp., que es reconocido como agente de control biológico contra enfermedades causadas por hongos fitopatógenos del suelo. Se han reportado una gran cantidad de aislados de *Trichoderma* spp., sin embargo, su eficacia es muy variable como lo demuestran estudios realizados en España en el cultivo de aguacate, donde se probaron tres especies: *T. aureoviride*, *T. longibrachiatum* y *T. harzianum* contra *Phytophthora cinnamomi* y *Rosellinia necatrix*. Al final del experimento *T. harzianum* fue la más efectiva al reducir el inóculo de *P. cinnamomi* en un 91% y de *R. necatrix* en un 37% (López-Herrera, 1999). En un ensayo similar se probó *T. harzianum* contra *P. capsici* en el cultivo de pimiento, obteniendo hasta un 65% de reducción de la enfermedad (Ezziyyani *et al.*, 2004). En otro estudio, los hongos antagonistas más efectivos en el control de la marchites del tomate inducido por *F. oxysporum* fueron dos cepas de *F. oxysporum* y *F. solani* no patogénicas, las cuales redujeron la incidencia de la enfermedad del 50% hasta el 80% en diferentes pruebas, mientras que con *Trichoderma harzianum* la máxima reducción obtenida fue 68% (Larkin y Fravel, 1998).

La adición de materia orgánica al suelo puede suprimir las enfermedades radicales. Numerosas investigaciones han demostrado que los microorganismos del suelo pueden ayudar al control de enfermedades causadas por *F. solani*, *R. solani* y *S. rolfesii* (Chaney y Pettygrove, 1992; Aly, *et al.*, 2003).

La adición de materia orgánica no afecta de igual manera a todo tipo de microorganismos y tanto la composición como el equilibrio de las poblaciones de microorganismos pueden ser manipulados

intencionalmente mediante la adición de diferentes tipos de materia orgánica, para favorecer el desarrollo microorganismos antagonistas a fitopatógenos (Rosado-May, 1989; Chaney y Pettygrove, 1992). Sin embargo, en algunos casos se puede tener el efecto contrario; por ejemplo, con la aplicación de estiércol de bovino hubo un incremento de la incidencia de la pudrición de raíz en frijol causada por *R. solani* y *F. solani* a 27% y severidad de la misma a 25% con respecto a los tratamientos donde no se aplicó (Pedroza-Sandoval y Samaniego-Gaxiola, 2003). Tales resultados se obtienen cuando no se tiene un conocimiento adecuado de la relación C/N de la materia orgánica que se está incorporando, de la biología del patógeno a controlar, y de las características físicas, químicas y biológicas del suelo.

En el Valle de la Trinidad, para el manejo de las enfermedades con origen en el suelo con mayor frecuencia se aplican los fungicidas Tiofanato metílico y (2-(tiocianometiltio) benzotiazol 30%, extractos vegetales (Protector), y productos biológicos a base de *Trichoderma* spp. (Trichodef) y *Trichoderma* + *Bacillus* sp. + *Azospirillum* sp. + *Pseudomonas* sp. (Smicobac). Generalmente la aplicación de estos últimos se lleva a cabo sin que se hayan realizado evaluaciones previas en la región por técnicos agrícolas o casas comerciales; de ahí el interés de probarlos en la presente investigación.

Con la idea de desarrollar una estrategia de manejo de esta enfermedad los objetivos de este estudio fueron:

OBJETIVOS

1. Identificar el agente causal de la pudrición radical de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C.
2. Conocer el efecto de control químico, biológico, enmiendas orgánicas y solarización con plástico transparente y negro en la incidencia y severidad de la pudrición radical de la cebolla;
3. Evaluar el impacto de estas prácticas en la diversidad biológica, indicadores de fertilidad del suelo y rendimiento de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C.

HIPÓTESIS

1. La pudrición de la raíz de la cebolla es causada por hongos fitopatógenos del suelo, la incidencia y la severidad de la enfermedad es mayor conforme se desarrolla el cultivo y se incrementa la temperatura
2. La solarización, incorporación de estiércol de bovino y desechos de cebolla o la combinación de estos disminuyen la densidad de hongos fitopatógenos en el suelo e incrementan la biota del suelo.
3. La utilización de las alternativas de control son igual de efectivas en el control de enfermedades con origen en el suelo que el control químico y no afectan significativamente las características físicas, químicas y biológicas del suelo

LITERATURA CITADA

- Adetunji, I.A. 1994. Response of onion to soil solarization and organic mulching in semi-arid tropics
Scientia Horticulturae, 60: 161-166
- Aly, A.Z., Tohamy, M.R.A., Atia, M.M.M., Abd-El-Moity, T.H. y Abed-El-Moneim, M.L. 2003. Role of organic matter in controlling some soil-borne and foliage disease of cucumber. *Acta Hort.* 608:209-217
- Auger, J., Arnault, I., Diwo-Allain, S., Rabvier, M., Molia, F., y Pettiti, M. 2004. Insecticidal and fungicidal potential of *Allium* substances as biofumigants. *Agroindustria* 3:5-8.
- Bello, A., López-Pérez, A.J., y Díaz, V. 2002. Biofumigación y solarización como alternativas al bromuro de metilo. Departamento Agroecología, CCA, CSC. Madrid, España.
- Chaney, D.E., Drinkwater, L.E., y Pettygrove, L.E.. 1992. Organic soil amendments and fertilizers: UC Sustainable Agriculture Research and Education Program University of California. Division of Agriculture and Natural Resources.
- Chistensen, L.K., y Thinggaard, K. 1999. Solarization of greenhouse soil for prevention of phytiom root rot in organically grown cucumber. *Journal of Plant Pathology* 81:137-144.

- Crowe, F., 1996. White rot. pp. 14– 16. In H.F., Schwrtz, S.K., Mohan. Compendium of onion and garlic diseases. APS PRESS. Minnesota, USA.
- Elmore, C.L., Stapleton, J.J., Bell C.E. and DeVay, J. E. 1997. Sol solarization: a nopesticidal method for controlling diseases, nematodes, and weeds. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 21377.
- Ezziyyani, M., Pérez S.C., Ahmed S.A., Requena M.E., y Candela M.E.. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida par el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). Anales de Biología 26: 35-45.
- FAOSTAT, 2007. Producción de productos alimentarios y agrícolas. <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=339&lang=es>
- Guerrero, M.M, Lacasa A., Ros C., Bello A., Martínez M.C., Torres J., y Fernández P. 2004. Efecto de la biofumigación con solarización sobre los hongos del suelo y la producción: Fechas de desinfección y enmiendas. pp. 209-238 In Lacasa-Placencia, A., Guerrero-Díaz, M. M. y Oncina-Deltell, M. Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento: II Jornada sobre alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento en invernadero. Serie: Jornadas y congresos 16, Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Murcia, España. 335 p.
- Havey, M. J., 1996. Fusarium basal plate rot. pp. 10 -11. In H.F., Schwrtz, S.K., Mohan. Compendium of onion and garlic diseases. APS PRESS. Minnesota, USA.
- Katan, J. 1980. Solar pasteurization of soils for disease control: status and prospects. Plant Disease 64:450-454.
- Katan, J. 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests. Annual Review Phytopathology 19:211-236.
- Larkin, R.P., y Fravel, D.R. 1998. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of fusarium Wilt of tomato. Plant Disease 82:1022-1028.
- López-Herrera, C. J. 1999. Estudios in vivo de *Trichoderma* como agente de biocontrol contra *Phytophthora cinnamomi* y *Rosellinia necatrix* en aguacate. Revista Chapingo Serie Horticultura

- Montes-Belmont, R., Nava-Juárez, R., Flores-Moctezuma, H.E., y Mundo-Ocampo, M. 2003. Hongos y Nematodos en Raíces y Bulbos de Cebolla (*Allium cepa* L.) en el Estado de Morelos, México. Revista Mexicana de Fitopatología 21-3:300-304.
- Oezer, N. y Oemeroglu, M. 1995. Chemical control and determination of fungal causal agents of wilt disease of onion in Tekirdag Province. Turkish Phytopathology 24:47-55.
- Pedroza-Sandoval A., Samaniego-Gaxiola, J. A. 2003 Efecto del subsoleo, materia orgánica y diferentes variedades en el patosistema del frijol. (*Phasiolus vulgaris* L.). Revista Mexicana de Fitopatología. 21(3): 272-277.
- Rosado-May, F. J. 1989. Efecto de dos fuentes de materia orgánica sobre la incidencia de *Thanatephorus cucumeris* Frank Donk, en frijol común bajo condiciones de trópico húmedo. Revista Mexicana de Fitopatología. 7: 104-112.
- SAGARPA-SIAP. 2009. Cierre de la producción agrícola por cultivo. http://www.siap.sagarpa.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350
- Satour, M.M., Abdel-Rahim, M.F., El-Yamani, T., Radwan. A., Rabinowich, H.D., Katan, J, y Grinstein, A. 1989. Soil solarization in onion fields in Egypt and Israel: short - and long - term. Paper read at III International symposium on soil desinfestations, at Leuven, Belgium.
- Summers D. R., 1996. Pink root. pp. 12 – 13. In H.F., Schwrtz, S.K., Mohan. Compendium of onion and garlic diseases. APS PRESS. Minnesota, USA.
- Sumner, D. R., Ronald D. G., Gay, J. D., Smittle, D. A., Bryan, W. M., Tollner, E. W. and Hung Y. C. 1997. Control of soilborne pathogenic fungi in fields of sweet onion. Plant Pathology 81:885-891.
- Vincelli, P.C., y Lorbeer J.W. 1990. Root rot of onion caused by *Pythium irregulare* and *Pythium coloratum*. Mycopathologia 111:67-72.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J.1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications. Innis,

- M.A, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T.J. White. (eds). Academic Press, Inc., San Diego U.S.A. pp. 315–322.
- Yossen, V., Zumelzu G., Kobayashi K., y Gasoni L. 2004. Soil reductive sterilization and alternative to methyl bromide in Córdoba. Paper read at Argentina Proceedings of the International Seminar on Biological Control of Soil Borne Plant Diseases. Japan-Argentina Joint Study at Buenos Aires, Argentina.
- Zavaleta-Mejía, E., Villar, A.C., Reyna, R.M. I, y García, E.R. 1992. Efecto de la incorporación de residuos de crucíferas (Brassicae) en fitopatógenos del suelo. IV efecto de la incorporación de col y brócoli en la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk.) de la cebolla. Revista Mexicana de Fitopatología 10 (2): 179-185.
- Zavaleta-Mejía, E. 1999. Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. Terra 17:201-207.
- Zavaleta-Mejía, E., y Gómez, R.O. 2003. Plantas antagonistas. pp. 14-22. In E. Zavaleta-Mejía, R.I. Rojas-Martínez y. D.L. Ochoa-Martínez. (eds.) Manejo ecológico de enfermedades. Colegio de Postgraduados. Texcoco, México. 114 p.

Capítulo II

IDENTIFICACIÓN DE LOS HONGOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN RADICAL DE LA CEBOLLA (*Allium cepa* L.) EN EL VALLE DE LA TRINIDAD, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

RESUMEN

En el Valle de la Trinidad, Baja California, México, se presentan pudriciones radicales en el cultivo de cebolla (*Allium cepa* L.), que repercute en su calidad y producción. No se tiene información sobre la etiología de la enfermedad. De plántulas de cebolla establecidas en campo se obtuvieron 20 aislamientos de *Fusarium* y 33 cepas de *Pyrenochaeta*. Los aislamientos se identificaron como *Fusarium oxysporum* Schlecht y *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas, asociadas a la pudrición radical de color café y a *Pyrenochaeta terrestris* (E.M. Hans) asociada con síntomas de pudrición radical con coloración rosada mediante morfología y análisis del al región intergenica (ITS) del rADN. Las secuencias de los nucleótidos obtenidos de los aislamientos representativos se depositaron en el GenBank y están en proceso de registro. Las pruebas de patogenicidad *in vitro* con semilla de cebolla indicaron que 13 de las 20 cepas de *Fusarium* invadieron la semilla y la radícula desarrolló pudrición con síntomas de color café. En plántulas de cebolla las cepas de *Fusarium* ocasionaron pudrición radical de color café, a los 65 días después de la inoculación (ddi), mientras que con *Pyrenochaeta* a los 37 ddi. Estos resultados sugieren que *Pyrenochaeta* fue más virulenta que *Fusarium*. El conocimiento de los agentes causales involucrados en la pudrición radical en cebolla permitirá establecer mejores estrategias de control para el manejo de la enfermedad. Es el primer reporte donde se identifica morfológica y molecularmente a los géneros *Fusarium* y *Pyrenochaeta* asociados a cebolla de Baja California.

Palabras clave: *Fusarium oxysporum*, *Pyrenochaeta terrestris*, identificación molecular

INTRODUCCIÓN

La cebolla (*Allium cepa* L.), es una de las hortalizas con mayor demanda en el mundo debido a sus cualidades que enriquecen el sabor de los alimentos. En México, es un cultivo importante por su alto consumo y recursos obtenidos por su exportación. Los estados de Baja California, Chihuahua, Guanajuato, Michoacán y Tamaulipas destacan como los principales productores de esta legumbre. En el 2008 en Baja California fueron sembradas aproximadamente 6000 ha de cebolla con producción de más de 153,000 toneladas obteniéndose divisas de \$4, 272, 248,900 y favoreciendo la generación de empleos (61 jornales por hectárea) (SIAP, 2008).

El cultivo de la cebolla está expuesto a diversas enfermedades entre las que destacan las causadas por hongos fitopatógenos con origen en el suelo como *Fusarium oxysporum* f.sp *cepae* (McDonald, 1994; Havey, 1996), *Sclerotium cepivorum* (Banks, 1996, Crowe 1996), *Pyrenochaeta terrestris* (McDonald, 1994; Sumners, 1996; Montes-Belmont *et al.*, 2003), *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* y *Pythium* spp. (Vincelli y Lorbeer 1990). Estos fitopatógenos sobreviven en el suelo y sobre residuos vegetales y pueden infectar al hospedante a través de aberturas naturales y heridas ocasionadas por labores de labranza u otros microorganismos. Los síntomas que inducen estos patógenos son amarillamiento, marchitez o muerte descendente del follaje de la planta, a consecuencia de la pudrición radical que dependiendo del patógeno involucrado se manifiesta de coloración café o rosada (Schwartz y Mohan, 1995, Banks, 1996; Crowe 1996; McDonald, 1994; Sumners, 1996; Montes-Belmont *et al.*, 2003). Los factores que favorecen la persistencia y desarrollo de las enfermedades radicales son el monocultivo, residuos de cosecha, presencia de maleza, temperaturas en el suelo entre los 21 y 32 °C, así como compactación y fertilidad deficiente en el mismo (Vincelli *et al.*, 1990).

En Baja California (BC) las pudriciones radicales son problemas fitosanitarios comunes en las zonas donde se cultiva cebolla. Actualmente se reportan los géneros de *Fusarium* y *Pyrenochaeta* asociados a las pudriciones radicales en cultivos de cebolla establecidos en el Valle de la Trinidad, BC (Pulido *et al.*, 2008); sin embargo, a la fecha no existe evidencias concluyentes sobre la identificación de los hongos involucrados. La pudrición radical de la cebolla ha impactado la economía de los productores de la zona,

obligándolos a cambiar de parcelas cada 2 años y abrir nuevos campos de cultivo con las consecuencias que esta práctica ocasiona al ambiente. Aunado a esto, el monocultivo y el manejo fitosanitario poco exitoso de las enfermedades con origen en el suelo, en el Valle de la Trinidad, provoca que el problema se presente continuamente ocasionando pérdidas que oscilan del 5 al 10% de la producción (Pulido *et al.*, 2008).

La identificación de los hongos se realiza tradicionalmente de acuerdo a sus características morfométricas; sin embargo, el uso de técnicas moleculares complementan y confirman resultados ya que permiten analizar secuencias de los espaciadores internos transcritos (ITS, Internal Transcribed Spacer, por sus siglas en inglés) de genes conservados del rADN (18S-5.8S-28S) útiles en la identificación y relación genética de los hongos involucrados en la enfermedad (White *et al.*, 1990).

Con la idea de desarrollar una estrategia de manejo de esta enfermedad el objetivo de este estudio fue identificar el patógeno causante de la pudrición radical en el cultivo de cebolla, en la zona productora del Valle de la Trinidad, BC.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

En el Valle de la Trinidad, (31° 21' 22" N, 115° 44' 56" W y 780 m de altitud), Baja California, México se muestrearon cuatro parcelas con producción comercial de cebolla en dos fechas de siembra: de mayo a octubre de 2007 y de abril a julio de 2008. Los criterios para la selección de parcelas fueron posición geográfica, superficie sembrada, textura de suelo, años de monocultivo o rotación así como tipo de siembra (Tabla 1).

Tabla 1. Características de parcelas con producción comercial de cebolla, muestreadas durante 2007 y 2008 en el Valle de la Trinidad, Baja California, México.

Año	Superficie (ha)	Textura de suelo	Monocultivo/rotación	Trasplante/siembra directa	Geoposición
2007	8	Arcillo arenoso	Seis años	Trasplante	N 31°22'19" W 115° 43' 30.4"
	10	Franco arenoso	Cuatro años	Trasplante	N 31°27'23.7" W 115° 43' 28.2"
	12	Franco arenoso	Dos Años	Trasplante	N 31°20'32.3" W 115° 45' 53.6"
	18	Franco arenoso	Dos años	Trasplante	N 31°21'36.5" W 115° 46' 31.4"
2008	6	Franco arenoso	Rotación años	2 Trasplante	N 31°34'55.4" W 115° 73' 87.7"
	10	Arcillo arenoso	Rotación años	3 Siembra directa	N 31°36'28.7" W 115° 71' 10.0"
	10	Franco arenoso	Rotación años	6 Trasplante	N 31°38'94.4" W 115° 75' 51.6"
	20	Franco arenoso	Rotación años	4 Trasplante	N 31°36'38.5" W 115° 76' 80.6"

Se tomaron 50 plantas al azar de cada una de las parcelas antes mencionadas, con el propósito de tener plantas con daños evidentes de pudrición radical el muestreo se realizo en zig-zag que cubrió la parcela en estudio. Se colectaron plantas sin daños aparentes que sirvieron como testigos. Las plantas de cada parcela fueron colocadas en bolsas de papel dentro de una hielera a 5 °C para su transporte al laboratorio de fitopatología del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California.

Aislamiento del patógeno

Raíces de plantas de cebolla de un mes de edad, con síntomas de pudrición radical y asintomáticas, colectadas de las parcelas comprendidas en este estudio, fueron lavadas con agua de la llave y desinfectadas con hipoclorito de sodio al 5% por 3 minutos y después se enjuagaron con agua destilada estéril (ADE). Posteriormente se secaron con papel estéril, se pasaron a una cámara deflujo laminar en donde se cortaron en fragmentos de 1 cm. De cada planta se colocaron 5 fragmentos en cajas Petri con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) y 200 ppm de sulfato de estreptomicina y se incubaron

(Biotronette Mark III, Lab. Line Instruments, Inc.) a 27 ± 1 °C. Las cajas se revisaron al microscopio compuesto a las 24, 48 y 72 hrs para observar crecimiento de hongos, posteriormente se realizaron cultivos monospóricos en medio PDA (250 gramos de papa, 20 g de dextrosa y 20 g de agar), medio de clavel (CLA) (Ficher *et al.*, 1983) y medio de Watson (Watson 1961); con la finalidad de producir las estructuras de reproducción (esporodocios, macroconidios, microconidios, clamidosporas o picnidios) y realizar la identificación de acuerdo a las características morfológicas y utilizando las claves de Barnett y Hunter (1997), Nelson *et al.* (1983) y Watson (1961), las cajas con los diferentes medios se mantuvieron a 24° C, con un fotoperiodo de 12:12 h luz/oscuridad durante 10 días. Las características de las estructuras se fotografiaron con una cámara digital (Nikon COOLPIX 5000, Japón).

Pruebas de patogenicidad

Se seleccionaron 20 aislamientos de *Fusarium*, y uno de *Pyrenochaeta* para la realización de las pruebas de patogenicidad. Los aislamientos obtenidos se inocularon en semillas y plántulas de cebolla de la variedad Aspen. Las semillas fueron desinfectadas con peróxido de hidrógeno al 6% por 60 min; después lavadas tres veces con ADE. Se tomaron grupos de 10 semillas y se sumergieron en una suspensión de conidios a concentración de 1×10^6 ufc/mL de cada aislamiento de *Fusarium*. En seguida se colocaron en cajas Petri con medio agua-agar (AA) y se incubaron a 27 ± 1 °C. El testigo consistió de semillas sumergidas en ADE. A los cinco días después de la siembra, se registró la presencia de pudrición en la raíz de las plántulas germinadas y/o maceración de tejido. Se tuvieron 5 cajas por aislamiento, cada una de ellas conteniendo 10 semillas.

Al mismo tiempo, en cajas Petri con AA se pusieron a germinar semillas de cebolla desinfectadas como se menciono anteriormente y a los 7 días después de germinadas fueron trasplantadas en macetas con capacidad de 300 g con suelo estéril. A los 35 días del trasplante fueron inoculadas. Para el caso de los aislamientos de *Fusarium* se colocó en la base de la planta una suspensión de conidios de 1×10^6 UFC mL⁻¹ y para *Pyrenochaeta* un inóculo de 1×10^8 UFC por gramo de suelo. Para cada aislamiento se tuvieron 3 repeticiones con cinco plántulas por maceta para cada aislamiento. Las macetas fueron colocadas en una cámara de crecimiento (Biotronette Mark III, Lab. Line Instruments, Inc.) a 24 ± 1 °C y 12

h luz (General Electric 50 W). Se mantuvieron en observación durante 60 días para el registro de síntomas.

Extracción del ADN genómico

Siete aislamientos de *Fusarium* (CVTBCMx-27, CVTBCMx-36, CVTBCMx-49, CVTBCMx-50, CVTBCMx-53, CVTBCMx-60, CVTBCMx-105) y uno de *Pyrenochaeta* (CVTBCMx-16) fueron seleccionados para su análisis molecular. A partir de cultivos monospóricos y después de cuatro días de desarrollo de micelio, se tomó una porción de aproximadamente 5 mm de micelio para la extracción del ADN con el kit QIAamp® (Qiagen, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante. El ADN se verificó por electroforesis en un gel de agarosa al 1.2 % preparado con 1X TAE búfer (Tris Acetate-EDTA) y corrido a 87 V cm³ durante 1 h. El gel se tiñó con bromuro de etidio (0.5 µg mL⁻¹) y las bandas se visualizaron en un transiluminador de luz ultravioleta. La concentración del ADN se cuantificó en un espectrofotómetro UV-VIS (NanoDroop ND-1000; Thermo Fisher Scientific Inc.). El ADN extraído se mantuvo a -20 °C hasta la realización de las PCR.

Amplificación por PCR del ADN ribosomal

Para la amplificación de la region ITS se utilizaron los iniciadores universales ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') y NL4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3') (White *et al.*, 1990). Para amplificar un fragmento de 1,100 bp que incluyó la región ITS y ~600 bp del gen 28S rRNA. La mezcla de reacción para PCR se preparó en un volumen final de 50 µL conteniendo 1.25 unidades de Taq DNA (Invitrogen Corp.), 200 µM deoxinucleosido trifosfatos, 1 mM MgSO₄, 20 pmol de cada iniciador y 50 ng de ADN molde. Las amplificaciones se realizaron con un ciclo inicial de desnaturalización a 94°C por 5 min; 30 ciclos de desnaturalización a 94°C por 1 min; el alineamiento a 60°C por 45 segundos y una extensión final a 68°C por 10 min. Todas las reacciones de PCR se realizaron en un Peltier Thermal Cycler PTC-200 (BIORAD, México). Las amplificaciones se verificaron por electroforesis en un gel de agarosa al 1.2% preparado con 1x TAE búfer (Tris Acetate-EDTA) y corrido a 87 V cm⁻³ durante 1 h. El gel se tiñó con bromuro de etidio (3 mg L⁻¹), y las bandas se visualizaron en un transiluminador de luz ultravioleta. Los productos amplificados se limpiaron con el kit de purificación QIAquick PCR (Qiagen,

USA), siguiendo las instrucciones del fabricante. Los productos fueron secuenciados en ambas direcciones con el método estándar dideoxy CSUPERB, en el Laboratorio Microchemical (Universidad de San Diego California, USA).

Análisis filogenético de la región ITS

Las secuencias consenso se obtuvieron con el programa Finch TV 1.4.0 (Geospiza Inc.). Las secuencias se depositaron en el GenBank (National Center for Biotechnology Information) y están en proceso de registro.

Las secuencias se compararon con las secuencias depositadas en el GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI) mediante la opción BLAST 2.2.22 (Zhang *et al.*, 2000). Los alineamientos múltiples se realizaron con el programa Clustal V y el árbol filogenético se construyó con el programa Lasergene 8 neighbor-joining (DNASTAR Inc. Madison, USA) y secuencias de ITS disponibles de las mismas especies relacionadas de la base de datos del GenBank. Para determinar los valores de confianza de los agrupamientos dentro del árbol resultante, un análisis de bootstrap se estimó con 5000 repeticiones (Felsestein, 1985).

Los números de acceso de las secuencias utilizadas como referencia fueron: *Fusarium oxysporum* ATCC 20422, FJ545244; *F. oxysporum* ATCC MYA-3931, FJ196767; *F. oxysporum* ATCC MYA-3970, FJ614642; *F. oxysporum* f. sp. *melonis* HKU-956, DQ535184; *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, AY188919; *F. oxysporum* NBAIM:4998, EU214568; *Fusarium subglutinans* ATCC 38016, AY898251; *F. subglutinans* F2, EU091040; *F. subglutinans* NRRL:22002, GQ167234; *F. subglutinans* NRRL:22034, GQ167235; *Pyrenochaeta terrestris* 3545, FN394730; *P. terrestris* MAFF 306341, AB499793 and *P. terrestris* MAFF 306339, AB499791.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento del patógeno y pruebas de patogenicidad

La identificación adecuada de organismos patógenos de las plantas cultivadas es importante en la implementación de estrategias para el manejo y control de enfermedades (Weiland y Sundsbak, 2000). En el presente estudio, especies del género *Fusarium oxysporum*, *F. subglutinans* y *Pyrenochaeta terrestris* se aislaron de raíces de cebolla enfermas que mostraron pudrición radical de coloración café o rosada, respectivamente. A partir de los ocho sitios de muestreo, se obtuvo un total de 72 aislamientos de *Fusarium* y 33 de *Pyrenochaeta* y con base al color y morfología colonial de los aislamientos en medio de cultivo PDA y Watson fueron agrupados en 20 aislamientos de *Fusarium* y una de *Pyrenochaeta*, respectivamente. El 65% de los aislamientos de *Fusarium* (13 de 20) indujeron pudrición en la radícula de semillas de cebolla germinadas, a los cinco días después de haber sido inoculadas (ddi).

Las pruebas de patogenicidad *in vitro* mostraron la capacidad de las cepas de *F. oxysporum*, *F. subglutinans* y *P. terrestris* para invadir los tejidos radiculares de las plantas de cebolla. En plántulas de cebolla se corroboró la patogenicidad de las 13 cepas de *Fusarium*, las cuales presentaron pudrición radical de color café, a los 65 ddi. La severidad causada por *F. subglutinans* fue de 52% a 72% y la de *F. oxysporum* de 67% a 80%. La cepa representativa de *P. terrestris* resultó patogénica, provocando en las raíces de las plántulas pudrición radical de color rosado a los 37 ddi, con severidad del 93%. Los resultados sugieren que *P. terrestris* fue más virulento que *Fusarium*. lo cual no coincide con lo encontrado por Montes-Belmont y colaboradores (2003), quienes reportan la presencia de *P. terrestris* afectando cultivos de cebolla en el estado de Morelos, con incidencias de aproximadamente el 80%; sin embargo, mencionan que la severidad es mínima ya que solo se presentan manchas pequeñas en las capas externas de los bulbos. Por otro lado se menciona que la enfermedad denominada raíz rosada inducida por *P. terrestris* es de distribución mundial y se considera una de las más devastadoras en climas cálidos (Schwartz y Mohan, 1995). Probablemente las condiciones ambientales presentes en el Valle de la

Trinidad fueron determinantes para que la severidad de la pudrición rosada se incrementara en las plántulas de cebolla.

De los aislamientos obtenidos no se identificó *F. oxysporum*, f. sp. *cepae*, especie que induce marchitamiento vascular y pudrición de raíces en las principales áreas productoras de cebolla en el mundo (Schwartz y Mohan, 1995).

Identificación de los patógenos relacionados con la pudrición radical en cebolla

Trece cepas de *Fusarium* fueron fitopatógenas y de acuerdo a sus características morfológicas se identificaron siete como *F. oxysporum* (CVTBCM-27, CVTBCM-33, CVTBCM-35, CVTBCM-36, CVTBCM-60, CVTBCM-72 y CVTBCM-122) y seis como *F. subglutinans* (CVTBCM-49, CVTBCM-50, CVTBCM-53, CVTBCM-79, CVTBCM-120, CVTBCM-105). La cepa de *P. terrestris* (CVTBCM-16) que resultó patogénica causó pudrición radical de coloración rosada. Las características morfométricas y comparación entre especies se describen en la Tabla 2.

Las cepas de *Fusarium oxysporum* presentaron microconidios en falsas cabezas, filides simples y corta, macroconidios y clamidosporas (Figura 1 a-d); mientras que las cepas de *F. subglutinans* microconidios en polifialides, ovales y sin septos y macroconidios con pared delgada (Figura 1 e y f). El aislamiento de *P. terrestris* presentó microesclerocios, picnidios globosos de color oscuro con setas alrededor del ostiolo y tinción positiva en medio de cultivo Watson (coloración rosa en paja de trigo) (Figura 2 a-c). Las características mencionadas concuerdan con la descripción de Nelson *et al.* (1983) y Barnett y Hunter (1997), para *F. oxysporum*, *F. subglutinans* y Watson (1961) para *P. terrestris*.

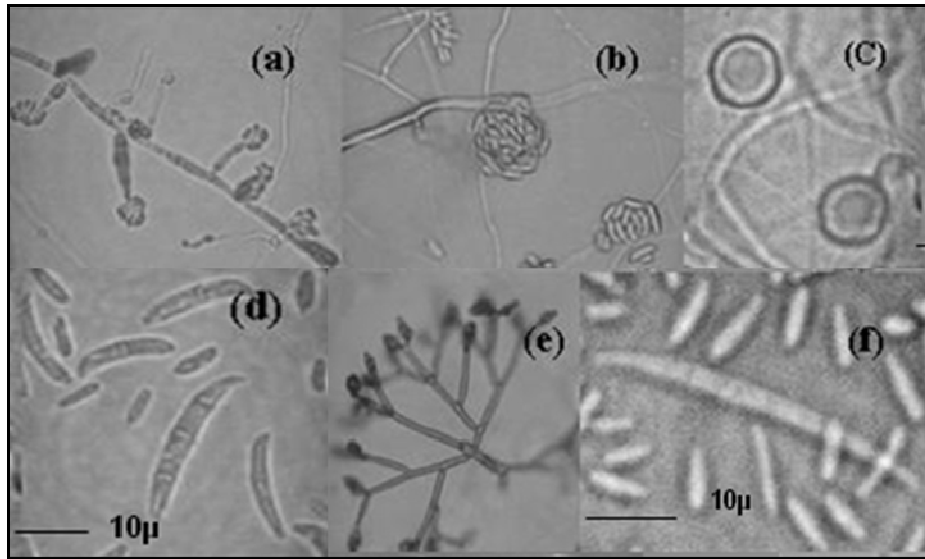


Figura 1. Microfotografías de estructuras reproductivas de los hongos involucrados en la pudrición radical en cebolla. *Fusarium oxysporum*: a) microconidios en falsas cabezas, fialides simples y cortas, b) esporoquios y macroconidios, c) clamidosporas y d) macroconidios y microconidios. *Fusarium subglutinans*: e) microconidios en polifialides, f) macroconidios delgados, microconidios ovales y sin septos.

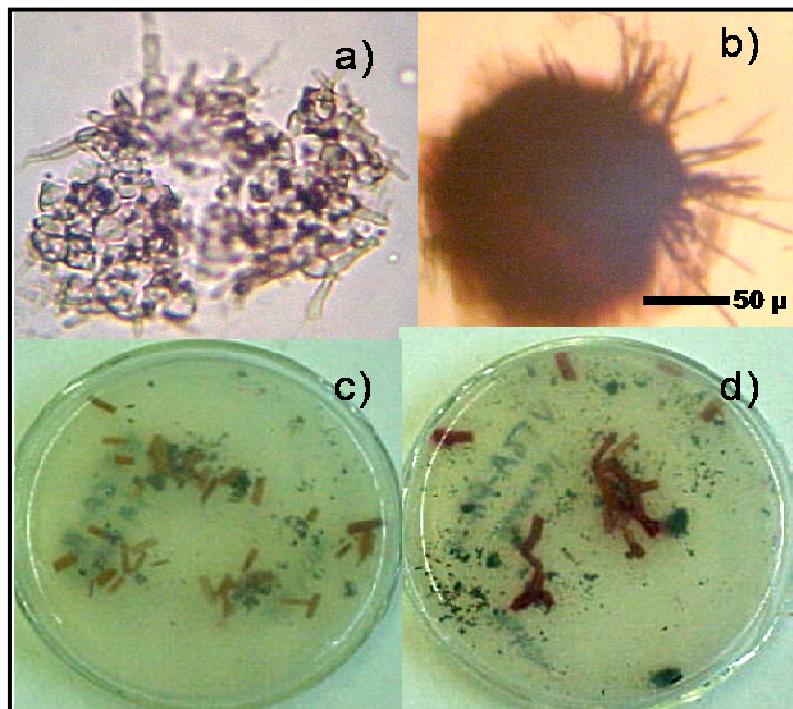


Figura 2. *Pyrenochaeta terrestris*, asociada a la pudrición radical en cebolla: a) microesclerocio, b) picnidio globoso de color café oscuro con numerosas setas alrededor del ostiolo. c y d) reacción negativa y reacción positiva en medio de cultivo para la identificación de *P. terrestris*.

Tabla 2. Características morfométricas de *Fusarium oxysporum*, *F. subglutinans* y *Pyrenochaeta terrestris* causantes de la pudrición radical de la cebolla durante 2007 a 2008, en el Valle de la Trinidad, B. C., México.

Característica morfológicas	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>F. subglutinans</i>	<i>Pyrenochaeta terrestris</i>
Crecimiento radial en cm a los cuatro días	4.3	4.1	-
Color de la colonia en PDA	Blanco–naranja pálido	Blanco - violeta	-
Microconidos (long x ancho en μ)	8 x 2.8	10 x 2.6	-
Microconidios en cadena	- ¹	-	-
Microconidios en falsas cabezas	+ ²	+	-
Conidioforo	Simple	Ramificado	-
Macroconidos (long x ancho en μ)	28.6 x 3.5	35.8 x 3.5	-
Clamidosporas	+	-	-
Microesclerocios	-	-	+
Formación de Picnidios	-	-	+
Color de Picnidios	-	-	Café Oscuro
Diámetro de Picnidio	-	-	120-350 μ m
Setas	-	-	25 a 115 μ m
Esporodoquio	+	+	-
Tinción de paja en medio Watson	-	-	+
Aislamientos	46	26	33

¹ No presente, ²Presente

Análisis filogenético de la región ITS

Las amplificaciones realizadas con los iniciadores ITS5/NL4 amplificaron el fragmento esperado de 1,100 pb. Sin embargo, para la construcción del árbol filogenético solo se utilizaron de 642 a 746 nucleótidos y de 757 a 787 nucleótidos amplificados con los iniciadores ITS1y NL4, respectivamente. Los resultados de BLAST del NCBI indicaron una identidad del 99% con *F. oxysporum* f.sp. melonis (AY188919), 96%

con *F. subglutinans* (NRRL:22002, GQ167234) y 96% con *Pyrenochaeta terrestris* (MAFF 306341, AB499793)

Con respecto al árbol filogenético, mostró el agrupamiento de los aislamientos en dos grupos concordantes con la identificación morfológica. El grupo I correspondió al género *Fusarium* y el grupo II al género *Pyrenochaeta* (Figura 3). El resultado BLASTN, así como el árbol filogenético construido confirmó que las cepas representativas aisladas de cebolla que mostraban pudrición radical correspondieron a *F. oxysporum*, *F. subglutinans* y *P. terrestris*. Las secuencias obtenidas en este estudio se depositaron en el GenBank-NCBI (en registro). (Figura 3).

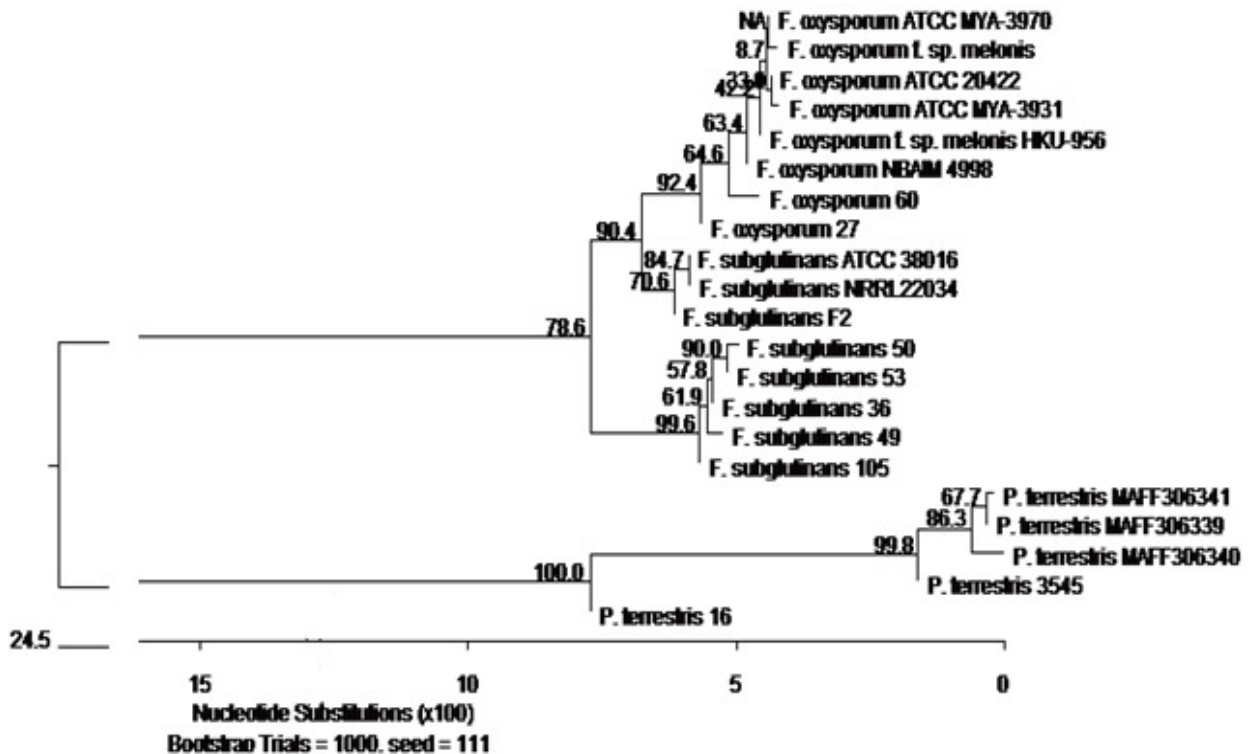


Figura 3. Árbol filogenético construido con base a la región ITS del rADN de aislamientos de *Fusarium* y *Pyrenochaeta* obtenidos de plantas de cebolla con síntomas de pudrición radical y secuencias de otras especies relacionadas provenientes del GenBank. Para la construcción del árbol filogenético se utilizó el método neighbor-joining algorithm y el programa Lasergene 8 software (DNASTAR Inc. Madison, USA). Los valores de confianza se estimaron con un análisis bootstrap con 1,000 repeticiones.

CONCLUSIONES

Por características morfológicas y análisis molecular se identificaron las especies de *F. oxysporum* y *F. subglutinans* asociadas a la pudrición radical de color café y a *Pyrenochaeta terrestris* asociada con la pudrición de color rosa, en cebolla.

Los resultados obtenidos permitirán el establecimiento de mejores estrategias para el control de los agentes involucrados en la pudrición radical de la cebolla en el Valle de la Trinidad, Municipio de Ensenada, Baja California.

Es el primer reporte donde se identifica molecularmente a *Fusarium oxysporum*, *F. subglutinans* y *Pyrenochaeta terrestris* asociados a cultivos de cebolla, en Baja California.

LITERATURA CITADA

- Banks, E. 1996. White rot. In: Schwrtz, H.F., S.K. Mohan. (eds.). Compendium of onion and garlic diseases. APS Press. Minnesota, USA. pp. 14-16.
- Barnett H. L., B.B. Hunter, 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. APS Press. Saint Paul, Minnesota.
- Crowe, F. 1996. White rot. In: Schwrtz, H.F., S.K. Mohan. (eds.) Compendium of onion and garlic diseases. APS Press. Minnesota, USA. pp. 14-16.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- Fisher, N. L., W. F. O., Marasas and T. A., Toussoun. 1983. Taxonomic importance of microconidial chains in *Fusarium* section *Liseola* and effects of water potencial on their formation. *Mycologia* 75: 693-698. (2, *proliferatum*).
- Havey, M. J. 1996. *Fusarium* basal plate rot. In: Compendium of onion and garlic diseases. APS Press. Minnesota, USA. pp. 10 -11.
- McDonald, M. R. 1994. Basal root *Fusarium oxisporum* f. sp. cepae. In: Diseases and pests of vegetable crops in Canada. Howard, R. J., W.L.Seaman. (eds). Ottawa, Ontario, Canada. The canadian Phytopathological Society. pp. 315-322

- Montes-Belmont, R., R. Nava-Juárez, H. E. Flores-Moctezuma, M. Mundo-Ocampo, 2003. Hongos y nematodos en raíces y bulbos de cebolla (*Allium cepa* L.) en el Estado de Morelos, México. Revista Mexicana de Fitopatología 21:300-304.
- Nelson, P.E, T.A.Toussoun, W.F.O. Marasas, 1983. Fusarium species. An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University.
- Schwartz H. F., K. Mohan, 1995. Compendium of onion and garlic disease. American Phytopathological Society. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA. 54 p.
- SIAP. 2008. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA. Acceso en enero 2009.
- Summers D.R. 1996. Pink root. In: Schwartz, H.F., S.K. Mohan. (eds.) Compendium of onion and garlic diseases. APS Press. Minnesota, USA. pp. 12 - 13.
- Pulido-Herrera, A., E. Zavaleta-Mejía, L. Cervantes-Díaz, O. Grimaldo-Juárez, S.M. Avilés-Marín, 2008. Incidencia, severidad e identificación del agente causal de la pudrición radical de la cebolla (*Allium cepa* L.) en el Valle de la Trinidad, Baja California, México. XI Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas, Baja California. México. octubre 24-25, p. 201-205.
- Vincelli, P.C., J.W. Lorbeer, 1990. Root rot of onion caused by *Pythium irregulare* and *Pythium coloratum*. Mycopathologia 111:67-72.
- Watson, R.D. 1961. Rapid identification of the onion root fungus. Plant Disease 45:289.
- Weiland, J.J., J. L. Sundsbak, 2000. Differentiation and detection of sugar beet fungal pathogens using PCR amplification of actin coding sequences and the ITS region of the rRNA gene. Plant Disease 84: 475-482.
- White, T.J., T. Bruns, S. Lee, J. Taylor, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications. Innis, M.A, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T.J. White. (eds). Academic Press, Inc., San Diego U.S.A. pp. 315-322.
- Zhang, Z, S. Schwartz, L. Wagner, W. Miller, 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. Journal of Computational Biology 7:203-14

Capítulo III

ALTERNATIVAS DE CONTROL PARA LA PUDRICIÓN RADICAL DE LA CEBOLLA (*Allium cepa* L.) EN EL VALLE DE LA TRINIDAD, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

RESUMEN

La pudrición radical en cebolla es la enfermedad más importante en el Valle de la Trinidad, Baja California, México. Con el propósito de evaluar estrategias de control para la enfermedad se realizaron tres experimentos durante el 2007, 2008 y 2009. En el experimento I (2007) los tratamientos fueron: 1) Tiofanato metílico, 2) Smicobac (*Trichoderma* + *Bacillus* sp. + *Azospirillum* sp. + *Pseudomonas* sp.), 3) estiércol de bovino (EB), 4) residuos de cebolla (RC), 5) solarización plástico transparente (SPT), 6) solarización plástico negro (SPN), 7) SPT + EB, 8) SPT + RC, 9) SPN + EB, 10) SPN + RC, 11) Trichodef (*Trichoderma harzianum*) y 12) testigo. En el experimento II (2008), los tratamientos fueron los mismos excepto el tratamiento 2, sustituido por Protector (extractos vegetales); y en el experimento III (2009) los tratamientos fueron: 1) SPT + estiércol de ovino (EO), 2) SPN + EO, 3) SPT, 4) SPN, 5) control biológico (*Trichoderma* spp. (Biol) y 6) control químico (Q) (2-(tiocianometiltio) benzotiazol 30%. Los resultados indicaron que los tratamientos SPT con o sin enmiendas orgánicas presentaron incrementos significativos ($p \leq 0.05$) del 22 al 34% en el rendimiento y diámetro del bulbo con respecto al Biol y Q; sin embargo, en estos dos últimos tratamientos la incidencia y severidad se redujo significativamente ($p \leq 0.05$), por lo que la solarización con plástico transparente y el control biológico son alternativas viables para el control de la pudrición radical en cultivos de cebolla en Baja California, México.

Palabras clave: Solarización, *Fusarium oxysporum*, *Pyrenochaeta terrestris*; *Trichoderma*.

INTRODUCCIÓN

La cebolla (*Allium cepa* L.) es una de las principales hortalizas que se cultivan en México debido a su alto consumo, superficie sembrada, generación de empleos y divisas que genera. Para el 2007 se sembraron aproximadamente 48, 000 ha con producción de 1, 400,000 ton (FAOSTAT, 2007). En el estado de Baja California en el 2008 se tuvo una producción de 102,000 ton en una superficie de 2,100 ha, generando ingresos por un total de \$4, 272, 248,900 y favoreciendo la generación de empleos (61 jornales por hectárea) (SAGARPA-SIAP, 2009).

Entre los diversos patógenos que afectan al cultivo de la cebolla, destacan los hongos fitopatógenos causantes de pudriciones radicales asociadas a la presencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* (Havey, 1996), *Sclerotium cepivorum* (Crowe, 1996), *Pyrenochaeta terrestris* (Sumners, 1996; Montes-Belmont *et al.*, 2003), *Pythium* spp. (Vincelli y Lorbeer, 1990) y otros patógenos del suelo como *Fusarium solani*, *Fusarium* spp., *Pythium* spp. y *Rhizoctonia solani* (Vincelli y Lorbeer, 1990). Su amplia distribución en las principales áreas productoras de cebolla en el mundo (Sumner, 1994; Havey, 1996; Crowe, 1996), indica su alta adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales. El establecimiento de estos patógenos en las raíces de cebolla, puede ser por penetración directa o por aberturas naturales y heridas, produciendo síntomas como amarillamiento parcial del follaje, marchitamiento y muerte de la planta, a consecuencia de la pudrición de raíz que desarrolla coloración café (Sumners, 1996) o rosada (Sumners, 1996; Montes-Belmont *et al.*, 2003).

En el Valle de la Trinidad, B.C., el cultivo de la cebolla presenta serios problemas de pudrición radical, causada por *Fusarium oxysporum*, *F. subglutinans*, y *Pyrenochaeta terrestris* (Pulido *et al.*, 2008). Esta situación ha impactado la economía de los productores de la región, obligándolos a cambiar de parcelas cada 2 años y abrir nuevos campos de cultivo con las consecuencias que esta práctica ocasiona al medio ambiente. El monocultivo y el manejo fitosanitario poco exitoso de las enfermedades de raíz en el Valle de la Trinidad, ha ocasionado que el problema se presente continuamente ocasionando pérdidas de alrededor de las 15 ton/ha en el rendimiento.

Entre las diferentes practicas de manejo de las enfermedades que tienen su origen en el suelo comúnmente se realiza con productos químicos como fumigantes y fungicidas (Sumner *et al.*, 1997; Oezer y Oemeroglu, 1995; Zavaleta-Mejía, 1999); la biofumigación es una alternativa ambientalmente más amigable, con la cual se puede lograr la reducción de enfermedades con origen en el suelo a través del efecto tóxico de los gases liberados durante el proceso de descomposición de la materia orgánica incorporada al suelo (Zavaleta-Mejía, 1999; Bello, et al, 2002); la incorporación de residuos de especies del género *Allium* (Auger *et al.*, 2004; Yañez-Juárez *et al.*, 2001); también especies de plantas de la familia de las brasicáceas, (Zavaleta-Mejía et al., 1992); otra especie con propiedades biofumigantes es el “cempazúchil (*Tagetes erecta* (Zavaleta-Mejía, 1999; Zavaleta-Mejía y Gómez, 2003). La incorporación de estiércoles (ovino, bovino, gallina, etc.) puede suprimir las enfermedades radicales, debido a la riqueza biológica (Yañez-Juárez et al., 2001; Ulacio-Osorio *et al.*, 2006; Chaney y Pettygrove, 1992; Aly, *et al.*, 2003). La implementación de prácticas ecológicas como la solarización, es otra alternativa de control de plagas del suelo con reducidos efectos al ambiente. El principio de esta práctica es el calentamiento del suelo por medio de la radiación solar mediante el uso de laminas de plástico (Katan, 1980; 1981). Otros beneficios del efecto de la solarización es el incremento de de nitrógeno disponible en forma de amonio (NH_4) y nitratos (NO_3), de tal manera que el rendimiento es de 25 hasta 85% mas alto que sin solarizar (Adetunji, 1994) . Los microorganismos antagonistas son ampliamente utilizados en la actualidad como agentes de control biológico, tal es el caso del hongo *Trichoderma* spp., que es reconocido como agente de control biológico contra enfermedades causadas por hongos fitopatógenos del suelo. Se han reportado una gran cantidad de aislados de *Trichoderma* spp., sin embargo, su eficacia es muy variable (Larkin y Fravel, 1998; López-Herrera, 1999; Ezziyyani *et al.*, 2004).

En el Valle de la Trinidad, para el manejo de las enfermedades con origen en el suelo con mayor frecuencia se aplican los fungicidas Tiofanato metílico 70% y (2-(tiocianometiltio) benzotiazol 30%, extractos vegetales (Protector), y productos biológicos a base de *Trichoderma* spp. (Trichodef) y *Trichoderma* + *Bacillus* sp. + *Azospirillum* sp. + *Pseudomonas* sp. (Smicobac). Generalmente la aplicación de estos últimos se lleva a cabo sin que se hayan realizado evaluaciones previas en la región

por técnicos agrícolas o casas comerciales; de ahí el interés de probarlos en la presente investigación. Con base a lo anterior los objetivos de este estudio fueron: conocer el efecto de control químico, biológico, enmiendas orgánicas y solarización con plástico transparente y negro en la incidencia y severidad de la pudrición radical de la cebolla; y evaluar el impacto de estas prácticas en la diversidad biológica, indicadores de fertilidad del suelo y rendimiento de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se establecieron tres experimentos en el Valle de la Trinidad, municipio de Ensenada, B.C., México, ubicado en las coordenadas N 31° 21' 22" y W 115° 44' 56" y 780 msnm. En los tres experimentos, se utilizó planta producida en almacigo por los agricultores de la zona. En el primer experimento se utilizó la variedad Aspen y en el segundo y tercero la variedad Sterling; las plántulas se trasplantaron en cuatro hileras por surco. Para la solarización se utilizó plástico transparente y negro de 100 µm de espesor, los cuales se retiraron al momento del trasplante.

Experimento I. Comprendió el periodo de agosto de 2006 a julio de 2007 y se estableció en una parcela con suelo de textura arcillosa con pH 8, con un historial de 3 años de monocultivo con cebolla y naturalmente infestada con *F. oxysporum*, *F. subglutinans* y *P. terrestris* causantes de la pudrición radical en cebolla (Pulido *et al.*, 2008).

Los tratamientos fueron: 1) Control químico (Q) con Tiofanato metílico 70% 1.0 kg ha⁻¹; 2) Control biológico (Biol) con Smicobac (*Trichoderma* + *Bacillus* sp. + *Azospirillum* sp. + *Pseudomonas* sp.) 4 L ha⁻¹; 3) 7 kg de estiércol de bovino (EB) por 1.5 m²; 4) 4 kg de residuos de cebolla (RC) por 1.5 m²; 5) Solarización plástico transparente (SPT); 6) solarización plástico negro (SPN); 7) SPT + 7 kg de EB por 1.5 m²; 8) SPT + 4 kg de RC por 1.5 m²; 9) SPN + 7 kg de EB por 1.5 m²; 10) SPN + 4 kg de RC por 1.5 m²; 11) Control biológico (Biol) con Trichodef (*Trichoderma harzianum*) 4 L ha⁻¹; y 12) testigo sin tratamiento. La aplicación de los microorganismos antagonistas y fungicida fue por aspersion manual dirigida al cuello de las plantas a intervalos de 15 días.

Experimento II. Se realizó de abril a septiembre de 2008, en un terreno contiguo al primero con condiciones y aplicación de tratamientos similares al experimento anterior, solo cambió el tratamiento 2) Control Biológico (Biol) donde se utilizó Protector (extractos vegetales) 1.0 L ha⁻¹ cada 15 días.

Experimento III. Con base a información obtenida de los experimento I y II, se eligieron los tratamientos que mostraron mejor respuesta en el control de la pudrición radical en cebolla sustituyendo el estiércol de bovino por el de ovino. El experimento consto de cuatro repeticiones y se realizo de abril a septiembre de 2009 en una parcela con suelo de textura franco arenosa, pH de 8.1, con 3 años de monocultivo con cebolla y naturalmente infestada con los patógenos mencionados. Los tratamientos que se aplicaron fueron: 1) SPT + 4 kg de estiércol de ovino (EO) por 1.5 m²; 2) SPN + 4 kg de EO por 1.5 m²; 3) SPT; 4) SPN; 5) Control químico (2-(tiocianometiltio) benzotiazol 30% 4 L ha⁻¹); y 6) control biológico con cepas de *Trichoderma* spp. (1X10¹² UFC/m²) provenientes de la zona de estudio (Cervantes *et al.*, 2009). El hongo antagonista y el fungicida se aplicaron cada 15 días a través del sistema de riego por goteo.

Variables Evaluadas.

Temperatura del suelo. En un sola de las parcelas de los tratamientos SPT, SPN + EB y Testigo se registró la temperatura cada 60 min a una profundidad de 10 y 30 cm en los experimentos I y II; en el experimento III solamente se registró la temperatura a 20 cm de profundidad en los tratamiento SPT y SPN. Se utilizaron sensores EL-USB-1, El Esasy Log® para registrar las temperaturas promedio y máxima del suelo; con los datos obtenidos se estimo el número de horas en las que se obtuvieron temperaturas mayores de 30°, >35° y > 40°C. Los periodos de solarización en los experimentos I, II y III fueron de 7, 6 y 8 semanas en 2007, 2008 y 2009, respectivamente.

Características químicas del suelo. En los I y II experimentos se determinó el contenido de nitrato (NO₃), fosfato (PO₄), potasio (K), potencial hidrógeno (pH) y conductividad eléctrica (CE) en extracto de suelo con los siguientes equipos portátiles: Horiba® cardy twin nitrate meter, Hanna instruments phosphate low range y Horiba® cardy potassium meter y Hanna Instruments® pH/EC/TDS, respectivamente.

Variabes biológicas. En el Experimento I y II al momento del trasplante y de la cosecha se colectó suelo de 0 a 30 cm de profundidad de todos los tratamientos para su análisis. Con la finalidad de conocer el efecto de los métodos de control sobre la diversidad biológica del suelo, se estimaron las unidades formadoras de colonias de las bacterias fluorescente (BF), bacterias no fluorescentes (B) y de los hongos (H), mediante la técnica de diluciones seriadas sembrando las diluciones 1×10^6 , 1×10^6 y 1×10^4 , respectivamente. Para las bacterias se utilizó el medio de cultivo B de King (King *et al.*, 1954) y el medio de Martin para los hongos (Martin, 1950). Las cajas sembradas se incubaron a 28°C por 8 días. También se determinó el número de nematodos de vida libre (NVL) y fitopatógenos (NP) en 50 cm³ de suelo, realizando la extracción de los mismos con la técnica de centrifugación – flotación (Jenkins, 1964).

Incidencia y severidad. En los experimentos I y II, la incidencia y severidad de la enfermedad se estimó al final del cultivo y se determinó en 16 plantas colectadas por tratamiento. En el experimento III, se registró la incidencia y severidad de la enfermedad a los 23, 45 y 90 días después del trasplante de la cebolla (DDT). Para la incidencia de plantas enfermas, se registró el número de plantas con raíces de color café (INCRRC), rosado (INCRR) y muertas (INCRM) y el porcentaje de incidencia se calculó con la fórmula siguiente:

$$\text{Incidencia (\%)} = \frac{\text{de plantas enfermas Número} \times 100}{\text{No. Total de plantas observadas}}$$

La severidad se evaluó mediante una escala arbitraria, donde: 1 = 1 – 2% de raíces de color café (SEVRC), o rosa (SEVRR) o de raíces muertas (SEVRM); 2 = 3 – 15%; 3 = 16 – 40%; 4 = 41 – 65%; y 5 = 66 – 100%. Para calcular el porcentaje de severidad se utilizó la fórmula de Townsend y Heuberger:

$$P = [\sum(n \cdot v) / CM \cdot N] \cdot 100$$

Donde: P= media ponderada de severidad, n= número de hojas por cada clase en la escala, v= valor numérico de cada clase, CM= categoría mayor y N= número total de hojas en la muestra

Rendimiento y calidad de la cebolla. El rendimiento total (REN) se estimó tomando una muestra al azar de 100 bulbos de cebolla por tratamiento. Para evaluar la calidad se consideró el diámetro del bulbo,

considerando las siguientes categorías: chica < 5 cm (RENCH), mediana-chica 5 a 6.9 cm (RENMCH), mediana-grande 7 a 8.9 cm (RENMG) y grande >9 cm (RENG) (FAO, 2006)

Diseño Experimental y Análisis estadístico.

Los tres experimentos se establecieron bajo un diseño de bloques al azar con cinco repeticiones para el experimento I y cuatro para el experimento II y III. El tamaño de la parcela experimental fue de 4.8 m² para los experimentos I y II y de 12.8 m² para el experimento III. En los tres experimentos la parcela útil consistió de las dos líneas centrales.

Con la finalidad de conocer el efecto de las diferentes estrategias probadas en las variables que se evaluaron se llevó a cabo la agrupación de tratamientos que se sometieron a un análisis por contrastes ortogonales utilizando el programa SAS para Windows versión 9.1. (SAS, 2002-2003).

RESULTADOS

Condiciones ambientales. Las condiciones ambientales durante los periodos de solarización de los experimentos I, II y III fueron, respectivamente: temperatura mínima 12, 3 y 4 °C; máxima 33, 25 y 27 °C; promedio de 22, 15 y 17°C; radiación solar promedio 553, 655, 648 Cal/cm²; 3 días de precipitación con 25 mm, 22 días de precipitación con 428 mm y 10 días de precipitación con un total de 305 mm; humedad relativa de 51, 57 y 59%; velocidad del viento de 6.5, 9 y 9 km h⁻¹. En el experimento I establecido en verano, se presentaron las mejores condiciones para la solarización ya que las temperaturas mínima, máxima y promedio fueron de 9 y 8°C, 8 y 6°C, 7 y 5°C por arriba del experimento II y III, respectivamente, los cuales se establecieron en primavera. La precipitación pluvial, humedad relativa y velocidad del viento fueron superiores en primavera con 403 y 280 mm, 6 y 8% y 2.5 km h⁻¹ respecto al experimento I; la radiación solar fue 95-102 Cal/cm² mayor en primavera que en verano; sin embargo, acumuló menor cantidad de horas de temperatura >30, >35 y > 40°C, en los tratamientos solarizados, esto debido a las bajas temperaturas, alta humedad y precipitación pluvial registrada durante el periodo de solarización.

Temperatura del suelo. En los experimentos I y II, las temperaturas más altas se observaron a los 10 cm de profundidad. Las temperaturas más altas siempre se registraron cuando se solarizó con plástico transparente (SPT) en comparación con el plástico negro (SPN), y en ambos casos las temperaturas fueron más altas que en el testigo. En el experimento I, la temperatura fue mayor que en los experimentos II y III. La temperatura promedio fue similar en SPT y SPN con una diferencia de 2 a 4°C con respecto al testigo. La temperatura máxima en SPT fue de 47.2°C a 10 cm de profundidad, con 4.7 y 6.2°C por arriba del tratamiento SPN y el testigo, respectivamente. La temperatura en la SPT fue de 44.3°C a 30 cm de profundidad y fue 3.3°C mayor que la SPN y el testigo. En los experimentos I y II a 10 y 30 cm de profundidad y en el III a 20 cm, se calcularon las horas térmicas acumuladas superiores a 30, 35, y 40°C. El tratamiento SPT fue el que acumuló mayor cantidad de horas a las diferentes profundidades con respecto a los tratamientos SPN y testigo (Cuadro 1).

Variabes químicas del suelo. En el experimento I, con la solarización se incrementó en 30% el NO₃ con respecto a los tratamientos no solarizados (P = 0.05). La cantidad de PO₄ en los tratamientos solarizados presentaron 18.5% por encima de los no solarizados y el mayor contenido de PO₄ (3.42 ppm) se estimó en el tratamiento Biol.(P = 0.01). En las parcelas solarizadas y no solarizados no hubo diferencia significativa en la concentración de K en el suelo, el pH fue ligeramente mayor en las parcelas solarizadas, mientras que CE fue menor (Cuadro 2).

En el experimento II, el comportamiento del NO₃ y PO₄ fue similar al experimento I. Mientras que el K fue 28.6% superior en los tratamientos solarizados (P = 0.01). El pH y CE fueron similares que en el experimento I (Datos no presentados). Al momento de la cosecha en el experimento I, los tratamientos solarizados presentaron 13% más de NO₃ con respecto a los tratamientos no solarizados (P = 0.01). La cantidad de PO₄ y K se mantuvieron en la misma proporción, mientras que el pH y la CE se incrementó en las parcelas solarizadas (P = 0.01) (Cuadro 3).

Cuadro 1. Temperatura del suelo en parcelas solarizadas y no solarizadas: Experimento I (agosto de 2006 a julio de 2007) y II (abril a septiembre de 2008) y III (abril a septiembre de 2009). Valle de la Trinidad, B. C. México.

Periodo de solarización	Tratamientos		Temperatura del suelo (°C)		Horas acumuladas		
	Plástico	Profundidad (cm)	Promedio	Máximo	>30° C	>35° C	>40° C
14 Ago-30 Sep 2006	Transparente	10	31.6	47.2	369.5	230.5	40
		30	29.7	44.3	609.7	40.5	1.8
	Negro	10	32.48	42.5	257	105	1.5
		30	27.3	41	101	8	1.5
	Testigo	10	24.8	41	156	7.5	2
		30	25	41	74	7	2.5
19 Abr-30 May 2008	Transparente	10	28.3	45	397	233	51
		30	21	34.5	41	0	0
	Negro	10	NR	NR	NR	NR	NR*
		30	23.9	30.5	12	0	0
	Testigo	10	21	32	10	0	0
		30	19	30.5	1	0	0
4 Abr-30 May 2009	Transparente	20	28	40	277	174	0
	Negro	20	24	34	142	0	0
	Testigo	20	NR	NR	NR	NR	NR

*NR = datos no registrados

Cuadro 2. Efecto de la solarización, incorporación de materia orgánica y control químico y biológico sobre las características químicas del suelo del experimento I (agosto de 2006 a julio de 2007) antes del trasplante de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C. México.

Contrastes	pH	C E (mmhos g ⁻¹)	NO ₃ (ppm)	PO ₄ (ppm)	K (ppm)
EB vs RC	7.8 vs 8.09**	3.11 vs 1.68**	113.6 vs 73.6**	3.02 vs 1.93**	37.6 vs 39.3
Q vs RC	8.06 vs 8.09*	3.07 vs 1.68**	42.4 vs 73.6**	1.67 vs 1.93**	45 vs 39.3**
Q vs. SPT	8.06 vs 8.07	3.07 vs 2.19*	42.4 vs 104.6**	1.67 vs 2.42**	45 vs 37.3**
Q vs SPN	8.06 vs 8.12**	3.07 vs 1.75**	42.4 vs 76.6**	1.67 vs 2.78**	45 vs 40.3**
Q vs Biol	8.06 vs 8.1**	3.07 vs 2.12*	42.4 vs 52*	1.67 vs 3.42**	45 vs 39**
Biol vs RC	8.1 vs 8.09	2.12 vs 1.68	52 vs 73.6**	3.42 vs 1.93**	39 vs 39.3
Biol vs SPT	8.1 vs 8.07**	2.12 vs 2.19	52 vs 104.6**	3.42 vs 2.42**	39 vs 37.3
Biol vs SPN	8.1 vs 8.12	2.12 vs 1.75	52 vs 76.6**	3.42 vs 2.78**	39 vs 40.3
SPT vs SPN	8.07 vs 8.12**	2.19 vs 1.75	104.6 vs 76.6**	2.42 vs 2.78**	37.3 vs 40.3**
Sol vs No sol	8.1 vs 7.92**	1.97 vs 2.47*	90.7 vs 63.23**	2.6 vs 2.18**	38.83 vs 38.5

pH = potencial hidrogeno, CE = conductividad eléctrica, NO₃ = nitrato, PO₄ = fosfato, K = potasio, Q = control químico, Biol = control biológico, EB = estiércol bovino, RC = residuos de cebolla, SPT = solarización con plástico transparente, SPN = solarización con plástico negro * = Significativo al 0.5%; ** Significativo al 0.01%.

En el experimento II, el comportamiento fue diferente, el NO₃ y K en los tratamientos no solarizados fueron superiores en un 44.7% y 12.4% respectivamente ($P \leq 0.01$). En tanto que el PO₄ fue mayor con 22.7% con respecto a los no solarizados ($P \leq 0.01$). El pH varió ligeramente, mientras que la CE disminuyó 0.7 mmhos en ambos tratamientos (datos no mostrados).

Variables biológicas. En el experimento I y II, ni con la solarización ni con la incorporación de enmiendas orgánicas se observaron cambios significativos en la densidad de B, H, y NP al momento del trasplante, solamente el experimento I se incrementó el número de nematodos de vida libre (NVL) en 37.5% en los tratamientos solarizados y en los que se incorporaron las enmiendas ($P \leq 0.01$ y 0.05). En el

Cuadro 3. Efecto de la solarización, incorporación de materia orgánica y control químico y biológico sobre las características químicas del suelo del experimento I (agosto de 2006 a julio de 2007) al momento de la cosecha de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C. México.

Contrastes	pH	C E(mmhos g ⁻¹)	NO ₃ (ppm)	PO ₄ (ppm)	K (ppm)
EB vs. RC	8.02 vs 8.09**	1.97 vs 1.85**	18 vs 18.3	5.3 vs 2.9**	43.3 vs 31.3**
Q vs. EB	8.11 vs 8.02**	1.87 vs 1.97**	13 vs 18**	2.5 vs 5.3**	33 vs 43.3**
Q vs. RC	8.11 vs 8.09	1.87 vs 1.85	13 vs 18.3**	2.5 vs 3**	33 vs 31.3
Q vs. SPT	8.11 vs 8.1	1.87 vs 1.98**	13 vs 18**	2.5 vs 3.12**	33 vs 32
Q vs. SPN	8.11 vs 8.09	1.87 vs 1.82**	13 vs 20.3**	2.5 vs 4.1**	33 vs 35
Q vs. Biol	8.11 vs 8.16**	1.87 vs 1.72**	13 vs 13.5**	2.5 vs 3.9**	33 vs 42.5**
Biol vs. RC	8.16 vs 8.09**	1.72 vs 1.85**	13.5 vs 18.3**	3.9 vs 3*	42.5 vs 31.3**
Biol vs. SPT	8.16 vs 8.1**	1.72 vs 1.82**	13.5 vs 18**	3.9 vs **	42.5 vs 32**
Biol vs. SPN	8.16 vs 8.09**	1.72 vs 1.98**	13.5 vs 20.3**	3.9 vs 3.12	42.5 vs 35**
SPT vs. SPN	8.1 vs 8.09	1.82 vs 1.98**	18 vs 20.3**	3.12 vs 4.1**	32 vs 35
Sol vs. No sol	8.1 vs 8.1	1.9 vs 1.78**	19.16 vs 16.66**	3.61 vs 3.58	33.5 vs 39.16

pH = potencial hidrogeno, CE = conductividad eléctrica, NO₃ = nitrato, PO₄ = fosfato, K = potasio, Q = controlquímico, Biol = control biológico, EB = estiércol bovino, RC = residuos de cebolla, SPT = solarización con plástico transparente, SPN = solarización con plástico negro * = Significativo al 0.5%; ** Significativo al 0.01%.

experimento II *Fusarium* spp. (F), se incrementó significativamente 65.7% ($P \leq 0.01$) en los tratamientos no solarizados y RC con respecto a EB y Q; la cantidad de H y NVL fue mayor en SPN que en Q y SPT ($P \leq 0.01$ y 0.05) (Cuadro 4 y 5). Al momento de la cosecha, no se detectaron diferencias estadísticas entre tratamientos en las poblaciones de B, BF, H, F y NP, únicamente en el experimento I se observó disminuida la población de NVL en los tratamientos solarizados y aumentó en los tratamientos RC y Biol ($P \leq 0.05$) (cuadro 8). En el experimento II, se incrementó significativamente la densidad de B en el tratamiento de RC comparado con el Q y Biol, ($P \leq 0.01$) y SPN comparado con Q ($P \leq 0.01$) (Cuadro 6).

Cuadro 4. Efecto de la solarización, incorporación de materia orgánica y control químico y biológico sobre la biota del suelo del experimento I (agosto de 2006 a julio de 2007) antes del trasplante de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C. México. 2007.

Contrastes	F (10^4 UFC g^{-1})	H (10^4 UFC g^{-1})	NP (50 cm^3)	NVL (50 cm^3)
EB vs. RC	0.32 vs 0.06**	0.54 vs 1.14*	1.86 vs 1.26	48.8 vs 52.5
Q vs. EB	0.06 vs 0.32*	0.6 vs 0.54	1.4 vs 1.86	10.4 vs 48.8**
Q vs. RC	0.06 vs 0.06	0.6 vs 1.14	1.4 vs 1.26	10.4 vs 52.53**
Q vs. SPT	0.06 vs 0.2	0.6 vs 0.5	1.4 vs 1.4	10.4 vs 30.5*
Q vs. SPN	0.06 vs 0.12	0.6 vs 0.32	1.4 vs 2.6	10.4 vs 45.6**
Q vs. Biol	0.06 vs 0.03	0.6 vs 0.57	1.4 vs 2.2	10.4 vs 13.7
Biol vs. RC	0.03 vs 0.06	0.57 vs 1.14	2.2 vs 1.26	13.7 vs 52.53**
Biol vs. SPT	0.03 vs 0.2*	0.57 vs 0.5	2.2 vs 1.4	13.7 vs 30.5*
Biol vs. SPN	0.03 vs 0.12	0.57 vs 0.32	2.2 vs 2.6	13.7 vs 45.6**
SPT vs. SPN	0.2 vs 0.12	0.5 vs 0.32	1.4 vs 2.6*	30.5 vs 45.6*
Sol vs. No sol	0.16 vs 0.09	0.64 vs 0.75	2.0 vs 4.6	39.73 vs 24.83**

F = unidades formadoras de colonias de *Fusarium* spp., H = unidades formadoras de colonias de hongos saprofitos, NP = nematodos patógenos, NVL = nematodos de vida libre, Q = control químico, Biol = control biológico, EB = estiércol bovino, RC = residuos de cebolla, SPT = solarización con plástico transparente, SPN = solarización con plástico negro * = Significativo al 0.5%; ** Significativo al 0.01%.

Incidencia y severidad. Todos los tratamientos evaluados en los experimentos I y II mostraron el 100% de incidencia de la enfermedad al final del cultivo (datos no mostrados). En el experimento I, al momento de la cosecha no se observaron diferencias significativas en la SEVRC y SEVRR, solo en los tratamientos con solarización se redujo significativamente ($P \leq 0.05$) la SEVRM de 71.3 a 63.7% en comparación con los no solarizados (Cuadro 7).

Cuadro 5. Efecto de la solarización, incorporación de materia orgánica y control químico y biológico sobre la biota del suelo del experimento II (abril a septiembre de 2008) antes del trasplante de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C. México. 2008.

Contrastes	F (10 ⁴ UFC g ⁻¹)	H (10 ⁴ UFC g ⁻¹)	NVL (50 cm ³ suelo)
EB vs. RC	0.4 vs 2.4*	0.78 vs 0.95	103.9 vs 70.6
Q vs. EB	1.0 vs 0.4	0.37 vs 0.78	12.5 vs 103.9
Q vs. RC	1.0 vs 2.4*	0.37 vs 0.95	12.5 vs 70.6
Q vs. SPT	1.0 vs 0.5	0.37 vs 0.76	12.5 vs 58.5
Q vs. SPN	1.0 vs 0.6	0.37 vs 1.15**	12.5 vs 108
Q vs. Biol	1.0 vs 1.5	0.37 vs 0.55	12.5 vs 27.8
Biol vs. RC	1.5 vs 2.4	0.55 vs 0.95	27.8 vs 70.6
Biol vs. SPT	1.5 vs 0.5	0.55 vs 0.76	27.8 vs 58.5
Biol vs. SPN	1.5 vs 0.6	0.55 vs 1.15	27.8 vs 108
SPT vs. SPN	0.5 vs 0.6	0.76 vs 1.15	58.5 vs 108*
Sol vs. No sol	0.6 vs 1.75**	0.96 vs 0.84	63.9 vs 42.3

F = unidades formadoras de colonias de *Fusarium* spp., H = unidades formadoras de colonias de hongos saprofitos, NVL = Nematodos de vida libre, Q = control químico, Biol = control biológico, EB = estiércol bovino, RC = residuos de cebolla, SPT = solarización con plástico transparente, SPN = solarización con plástico negro, Sol = solarizado, No Sol = sin solarizar * = Significativo al 0.5%; ** Significativo al 0.01%.

La SEVRM fue menor con 6.4% en el tratamiento RC con respecto a Biol ($P \leq 0.05$), mientras que los tratamientos solarizados presentaron 3.33% por debajo a lo no solarizados, aunque estadísticamente no significativa. (Cuadro 6).

En el experimento III, se observó la incidencia y severidad de la pudrición radical de la cebolla a los 23, 45 y 90 días después del trasplante (DDT). La INCRC fue menor en SPN con valores de 50%, 84% y 94% respectivamente, seguido de Biol, Q y SPT (Figura 1A). La INCRR fue menor en SPT con 31%, 85% y 97%; posteriormente SPN, Biol y Q (Figura 1B). El tratamiento SPT presentó la menor INCRM con 0%, 64% y 100% seguido de los tratamientos Biol, SPN y Q. (Figura 1 C).

Cuadro 6. Efecto de la solarización, incorporación de materia orgánica y control químico y biológico sobre las bacterias, la severidad y rendimiento del experimento II (abril a septiembre de 2008) al momento de la cosecha de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C. México. 2007.

Contrastes	B (10^6 UFC g^{-1})	SEVRC(%)	SEVRR(%)	SEVRM(%)	REN(ton/ha)
EB vs. RC	6.01 vs 7.48	42.23 vs 36.68**	69.43 vs 63.88**	63.36 vs 57.78*	13.62 vs 16.19
Q vs. EB	4.01 vs 6.01	46.65 vs 42.23	58.33 vs 69.43**	63.35 vs 63.88	13.73 vs 13.62
Q vs. RC	4.01 vs 7.48**	46.65 vs 36.68**	58.33 vs 63.88	63.35 vs 57.78	13.73 vs 16.19
Q vs. SPT	4.01 vs 6.18	46.65 vs 38.34**	58.33 vs 63.32	63.35 vs 58.35	13.73 vs 16.8
Q vs. SPN	4.01 vs 7.16**	46.65 vs 40.56*	58.33 vs 67.23**	63.35 vs 58.9	13.73 vs 14.94
Q vs. Biol	4.01 vs 4.88	46.65 vs 44.17	58.33 vs 62.51	63.35 vs 64.18	13.73 vs 14.17
Biol vs. RC	4.88 vs 7.48**	44.17 vs 36.68**	62.51 vs 63.88	64.18 vs 57.78*	14.17 vs 16.19
Biol vs. SPT	4.88 vs 6.18	44.17 vs 38.34**	62.51 vs 63.32	64.18 vs 58.35	14.17 vs 16.8
Biol vs. SPN	4.88 vs 7.16	44.17 vs 40.56	62.51 vs 67.23	64.18 vs 58.9	14.17 vs 14.94
SPT vs. SPN	6.18 vs 7.16	38.34 vs 40.56	63.32 vs 67.23	58.35 vs 58.9	16.8 vs 14.94
Sol vs. No sol	7.3 vs 4.21	39.45 vs 44.17**	62.28 vs 64.16	58.62 vs 61.95	15.38 vs 13.86

B = unidades formadoras de bacterias no fluorescentes, SEVRC = severidad de raíces café, SEVRR = severidad de raíces rosadas, SEVRM = severidad de raíces muertas, Q = control químico, Biol = control biológico, EB = estiércol bovino, RC = residuos de cebolla, SPT = solarización con plástico transparente, SPN = solarización con plástico negro, Sol = solarizado, No Sol = sin solarizar, * = Significativo al 0.5%; ** = Significativo al 0.01%.

Con respecto a la severidad, los resultados mostraron que el tratamiento Biol presentó la menor SEVRC con valores de 13%, 36% y 36% con respecto a tratamiento Q, SPT y SPN (Figura 1d). El tratamiento SPT presentó la menor SEVRR y SEVRM durante el desarrollo del cultivo con 14, 33, 61% y, 0%, 26% y 69% respectivamente; seguido del Q, SPN y Biol (Figura 1 e y f).

Rendimiento y calidad de la cebolla. El efecto de la solarización en el REN (33.8 ton ha^{-1}) y RENMG (19.8 ton ha^{-1}) en el experimento I, fue de 22.5 y 34.3% superior ($P \leq 0.01$) a los tratamientos no solarizados, respectivamente. El tratamiento SPT el REN fue 34.6 ton ha^{-1} , 18.5% por encima del Q y 24.9% más que Biol ($P \leq 0.05$ y 0.01), el tratamiento RC el REN fue 32.2 ton ha^{-1} , 19.3% más que Biol ($P \leq 0.01$), y el REN en SPN fue de 33 ton ha^{-1} , 21.2% más que Biol ($P \leq 0.01$) (Cuadro 7).

Cuadro 7. Efecto de la solarización, incorporación de materia orgánica y control químico y biológico sobre los nematodos de vida libre, severidad y rendimiento del experimento I (agosto de 2006 a julio de 2007) al momento de la cosecha de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C. México.

Contrastes	NVL (50 cm³)	SEVRM (%)	REN (ton/ha)	RENMG (ton/ha)
EB vs. RC	17.5 vs 32.7*	69.3 vs 66.2	31.1 vs 32.2	17.5 vs 19.5
Q vs. EB	14.8 vs 17.5	61.3 vs 69.3	28.2 vs 31.1	15.5 vs 17.5
Q vs. RC	14.8 vs 32.7*	61.3 vs 66.2	28.2 vs 32.2	15.5 vs 19.5
Q vs. SPT	14.8 vs 20	61.3 vs 65.3	28.2 vs 34.6*	15.5 vs 21
Q vs. SPN	14.8 vs 27.7	61.3 vs 62.6	28.2 vs 33	15.5 vs 18.4
Q vs. Biol	14.8 vs 31.3*	61.3 vs 72.6	28.2 vs 26	15.5 vs 17.5
Biol vs. RC	31.3 vs 32.7	72.6 vs 66.2	26 vs 32.2**	12.4 vs 19.5*
Biol vs. SPT	31.3 vs 20*	72.6 vs 65.3	26 vs 34.6**	12.4 vs 21**
Biol vs. SPN	31.3 vs 27.7	72.6 vs 62.6	26 vs 33**	12.4 vs 18.4*
SPT vs. SPN	20 vs 27.7	61.3 vs 62.6	34.6 vs 33	21 vs 18.4
Sol vs. No sol	23.8 vs 24.83	63.7 vs 71.3*	33.8 vs 26.2**	19.8 vs 13**

NVL = nematodos de vida libre, SEVRM = severidad de raíces muertas, REN = rendimiento total, RENMG = rendimiento cebolla mediana grande, Q = control químico, Biol = control biológico, EB = estiércol bovino, RC = residuos de cebolla, SPT = solarización con plástico transparente, SPN = solarización con plástico negro * = Significativo al 0.5%; ** Significativo al 0.01%.

En el Experimento II, no hubo diferencia significativa en las comparaciones con rendimiento, sin embargo, los tratamientos con solarizados y RC tendieron a ser mayores que Biol, Q y EB (Cuadro 7).

En el experimento III el REN con la aplicación de control biológico (Biol) fue de 42.9 ton ha⁻¹, con incrementos de 16.1 y 19.58% ($P \leq 0.05$) en comparación con los tratamientos Q y SPN respectivamente, el Q 36.2 ton ha⁻¹ 4.7% por encima de SPN ($P \leq 0.05$) y el tratamiento SPT no presentó diferencias significativas con Biol y Q. Con respecto al RENMG no hubo diferencia estadística (datos no presentados), Biol fue el que obtuvo el RENMG de 40 ton ha⁻¹ 29.6, 29.2 y 28.4% por arriba de Q, SPT y SPN respectivamente ($P \leq 0.05$) (Cuadro 8).

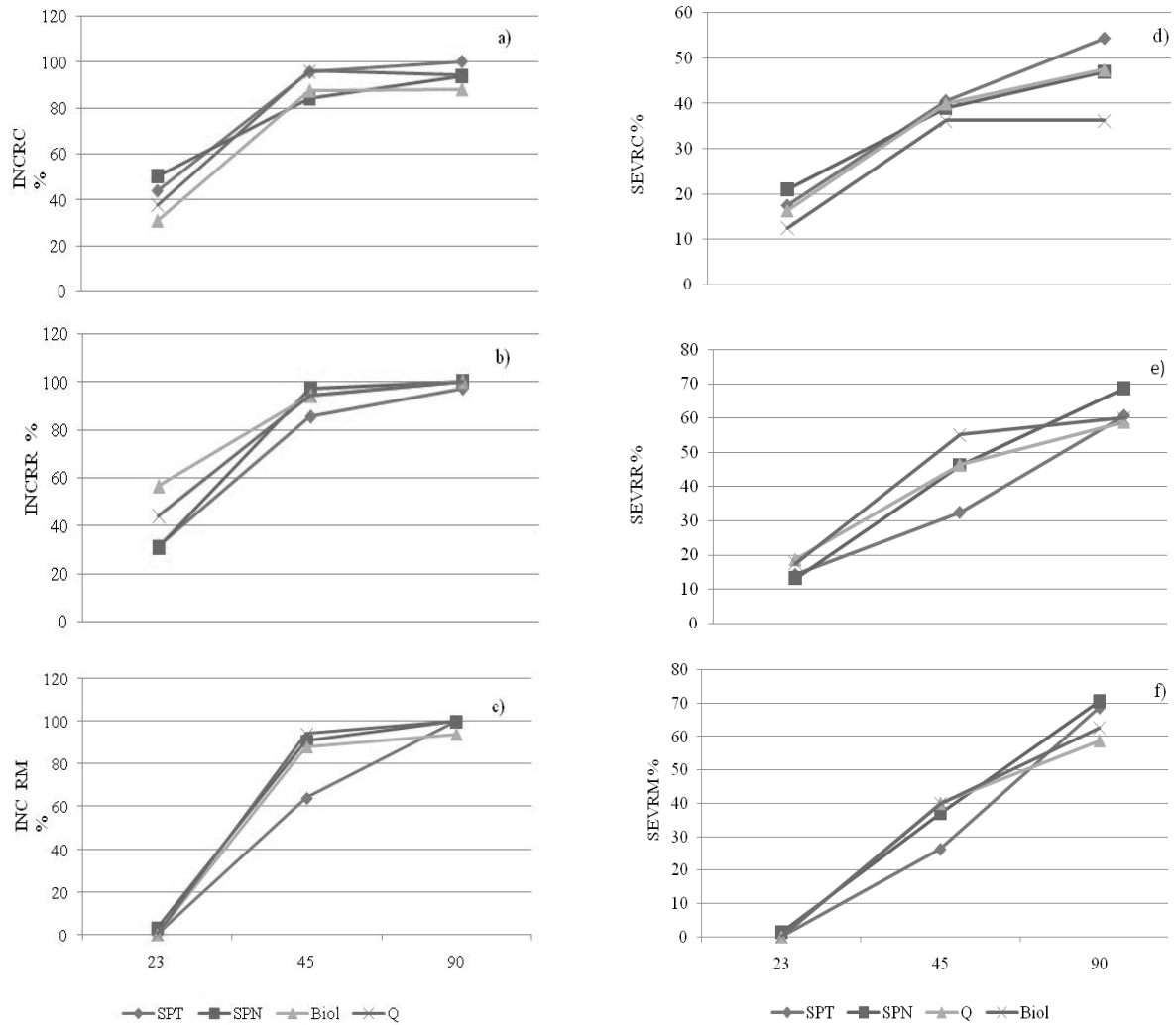


Figura 1. Incidencia y severidad de la pudrición radical de la cebolla, en el Valle de la Trinidad, B. C. México.

*DDT = días después del trasplante, SPT = solarización con plástico transparente, SPN = solarización con plástico negro, Q = control químico, Biol = control biológico, INCRC = incidencia de raíz café, INCRR = incidencia raíz rosada, INCRM = incidencia de raíces muertas, SEVRC = severidad de raíz café, SEVRR = severidad de raíz rosada, SEVRM = severidad de raíces muertas

Cuadro 8. . Efecto de la solarización, incorporación de materia orgánica y control químico y biológico en el rendimiento del experimento III (abril a septiembre de 2009) al momento de la cosecha de la cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C. México.

Contrastes	REN (Ton/ha)	RENMCH (ton/ha)	RENCH (ton/ha)
Q vs. SPT	36.2 vs 37.4	29.6 vs 29.2	1.84 vs 6.28*
Q vs. SPN	36.2 vs 34.5*	29.6 vs 28.4	1.84 vs 6.56
Q vs. Biol	36.2 vs 42.9*	29.6 vs 40*	1.84 vs 3.72
Biol vs. SPT	42.9 vs 37.4	40 vs 29.2*	3.72 vs 6.28
Biol vs. SPN	42.9 vs 34.5*	40 vs 28.4*	3.72 vs 6.56

REN = rendimiento total, RENMCH = rendimiento cebolla mediana chica, RENCH = rendimiento cebolla chica, Q = control químico, Biol = control biológico, SPT = solarización con plástico transparente, SPN = solarización con plástico negro * = Significativo al 0.5%.

DISCUSIÓN

Evidentemente, el periodo durante el cual se evalúa la solarización, es determinante para emplearse con fines de control de patógenos del suelo. El tiempo mínimo de duración de acuerdo los trabajos de diversos autores debe ser de 4 semanas durante los meses con mayor temperatura ambiente, mayor radiación y menor nubosidad (Stapleton y DeVay, 1982; Katan *et al.*, 1983; Elmore *et al.*, 1997).

La mayor temperatura acumulada en el experimento I se debió a que se estableció a finales del verano por un tiempo de 7 semanas y las condiciones ambientales como la temperatura fueron más elevadas y no hubo precipitación pluvial; en cambio en los experimentos II y III establecidos en primavera, hubo temperaturas bajas y precipitación pluvial. Las temperaturas máximas alcanzadas en este estudio estuvieron dentro de los rangos reportados por otros autores para ser efectivas en el control de patógenos con origen en el suelo. En los experimentos I y II, a la profundidad de 10 cm la temperatura máxima en SPT fue de 45-47.2°C. Datos similares han sido reportados por diversos autores en tratamientos de solarización realizados en Oregon, Florida, Korea e Israel (Katan, 1976; Pinkerton *et al.*, 2000;

Delgadillo-Sánchez *et al.*, 2003; Chan-Jung *et al.*, 2007). Al comparar la temperatura promedio y máxima entre SPT y SPN se observó que es mayor en SPT y la acumulación de horas térmicas fue 50% mayor en SPT que en SPN. Resultados semejantes reportan diversos investigadores al comparar plásticos de color negro y transparente (Chase *et al.*, 1997; Chávez-Alfaro *et al.*, 1995, y Yañez-Juárez *et al.*, 2001). Con respecto a la diferencia de temperaturas entre SPT y SPN se debe a que los plásticos oscuros absorben las longitudes de onda del espectro visible (380 – 760 nm), por lo que es menor el calor que se trasmite de las radiaciones solares hacia el interior del suelo (Garnaud, 1974).

La solarización es considerada como un tratamiento para el control de patógenas con origen en el suelo, inductor de cambios cualitativos y cuantitativos en los ecosistemas del suelo, especialmente en lo que respecta al incremento y disponibilidad de ciertos nutrientes (Chen y Katan, 1980; Stapleton *et al.* 1985). El incremento de NO₃ y PO₄ en los experimentos I y II, por el efecto de la solarización, fue del 30 y 18.5% por encima de los tratamientos no solarizados, estos resultados son similares a los reportados por Chen y Katan (1980), Kaewruang *et al.* (1989) y Adetunji (1994). El incremento de nutrientes se debe al contenido de materia orgánica en el suelo y mineralización de la misma que a la postre se refleja en el rendimiento del cultivo (Gelsomino *et al.*, 2006). En las parcelas solarizadas y no solarizados no hubo diferencia significativa en la concentración de K en el suelo excepto en el experimento II, mientras que el pH fue mayor en las parcelas solarizadas y la CE en las no solarizadas, como lo reporta Stapleton *et al.* (1985) y Chen y Katan (1980), El pH es uno de los factores más importantes como modulador de las reacciones químicas del suelo, por lo que las variaciones que en él se produzcan van a condicionar no solo el estado, naturaleza y disponibilidad de los macro y microelementos presentes en el suelo, sino que también el desarrollo y composición de los microorganismos presentes en el agroecosistema (Fernández *et al.*, 2004). La diferencia de los nutrientes en los tres experimentos al final del cultivo se puede atribuir al manejo del cultivo, presencia de maleza e incorporación de fertilizantes.

En el experimento I y II en los tratamientos con solarización no se detectó un efecto significativo en la fracción biológica con respecto a los tratamientos no solarizados, la densidad de hongos y bacterias fue de 17 y 9.5% por debajo de los no solarizados (datos no presentados), en cambio las poblaciones de NVL se

incrementaron significativamente (37.%) en congruencia con lo reportado por Arauz–Cavallini (1998); ya que los NVL se alimentan de los hongos y bacterias del suelo el incremento de las poblaciones de nematodos no fitoparásitos es un indicativo de la riqueza biológica. Dentro de los mecanismos que intervienen en el control biológico asociado a la solarización destaca la estimulación del parasitismo, antibiosis y competencia de organismos antagonistas. Organismos antagonistas como *Trichoderma* spp., *Talaromyces* spp, *Aspergillus* spp. y *Bacillus* spp. al igual que bacterias saprofiticas y actinomicetos muestran mayor resistencia a las altas temperaturas en comparación con los microorganismos fitopatógenos (Elmore *et al.*, 1997; Cebolla *et al.*, 2000). Las temperaturas que se obtuvieron con la solarización del suelo se consideran como moderadas, por lo que especies a termofílica y termotolerantes se mantienen en densidades poblacionales altas después de la solarización del suelo (Stapleton *et al.*, 1982). La densidad biológica del suelo es importante, debido que es un indicador de fertilidad y además, va a condicionar, en parte, numerosas propiedades físico químicas del suelo (Fernández *et al.*, 2004). Sin embargo, otros investigadores mencionan que dichas bacterias disminuyen durante la solarización pero recolonizan rápidamente el suelo después del tratamiento (Elmore *et al.*, 1997). En los experimentos I y II, se observo que ninguno de los tratamiento eliminó la enfermedad sólo la redujeron. En este sentido SPT fue el tratamiento de mayor respuesta en la disminución de la incidencia y severidad de la pudrición radical de la cebolla causada por *F. oxysporum*, *F. subglutinans* y *Pyrenochaeta terrestres* (Pulido *et al.*, 2008). En el experimento III, los tratamientos Q y Biol la INCRR, INCRM, SEVRR y SEVRM presentaron un comportamiento similar durante el desarrollo del cultivo, estos resultados se pueden atribuir a que *Trichoderma* spp y (2-(tiocianometiltio) benzotiazol 30% son más efectivos cuando se aplican en sistema de riego por goteo, que cuando se realiza por aspersión, como sucedió en el experimento I y II. (Figura 1 y 2); el tratamiento SPT, fue el que presentó menor incidencia, severidad en los primeros 45 DDT (Figura 1), periodo crítico en la cebolla para la formación de follaje el cual está relacionado directamente con el rendimiento del cultivo (Valenzuela, *et al.*, 1999). De acuerdo a estos resultados se podría inferir que el progreso de la enfermedad en el tratamiento SPT tuvo un comportamiento similar en el experimento I y II. En estudios similares en campos sembrados con cebolla,

la solarización redujo de 73 a 100% la incidencia y la severidad de *Pyrenochaeta terrestris* (Katan *et al.*, 1980b; Chang-Jung *et al.*, 2007). Además, la infección por *Rhizoctonia solani* y *Fusarium* spp. también se disminuyeron (Katan *et al.*, 1980). Por otro lado Chan-Jung *et al.*, (2007), reportan severidades menores de 20% de pudrición rosada en el cultivos de cebolla establecidos en parcelas solarizadas por periodo de de 40 días. Con base en estos resultados, se puede inferir que el efecto de la solarización en el control de las enfermedades, está relacionado básicamente con el periodo de la solarización, temperaturas prevalecientes y calibre del plástico. El experimento I, mostro claramente el efecto de la solarización en la fertilidad del suelo, mantenimiento de los microorganismos benéficos y el aumento del rendimiento (Gamliel, 1989). La diferencia en los rendimientos en el experimento I con respecto a los experimentos II, se atribuye a que la solarización en el primero se realizó en el verano (temporada caliente) favoreciendo la acumulación térmica y fertilidad del suelo, y en el segundo y el tercero en primavera (temporada fría-templada) con presencia de lluvias durante el periodo de solarización y durante el desarrollo del cultivo, daño por otras plagas (trips y *Alternaria porri*) y el establecimiento del cultivo en verano, cuando las condiciones son optimas para el desarrollo de la enfermedad (Pulido, *et al.*,2008). De acuerdo a las condiciones ambientales en las parcelas solarizadas el rendimiento del cultivo de la cebolla se incrementa hasta 125% en regiones caliente y 62% en regiones frías con respecto a las no solarizadas (Katan *et al.*, 1980b). En los tratamientos solarizados, el incremento del REN y RENMG en 22.5 y 34.3% respectivamente en el primer experimento, es similar al encontrado por otros investigadores quienes reportan incrementos de 17.5 a 34.8% por efecto de la solarización en un periodo de 6 semanas (Maudarbaccus y Benimadhu, 2003). Chan-Jung, *et al.*, (2007), reportan bulbos de cebolla, de 71.8 a 72.4 mm de diámetro y de 168g a 172 g de peso en parcelas solarizadas y de 63.8 mm y 66.5 g en las no solarizadas. En el tercer experimento, no mostro diferencias significativas en el rendimiento entre las comparaciones de SPT con Biol, y Q. El tratamiento SPN fue el que menor rendimiento y calidad obtuvo.

CONCLUSIONES

En el contexto de sustentabilidad en la agricultura, de acuerdo con los resultados obtenidos en los tres experimentos se concluye:

La solarización con plástico transparente y de acuerdo al experimento III el control biológico fueron los que presentaron mayor respuesta en el control de la enfermedad y rendimiento, por lo tanto se consideran como alternativas para el control de enfermedades con origen en suelo en cultivos de cebolla en el Valle de la Trinidad, B. C., México.

La cantidad de NO_3 y PO_4 en los tratamientos solarizados se incrementaron significativamente con respecto a los no solarizados. En las parcelas solarizadas y no solarizadas no hubo diferencia significativa en la concentración de K en el suelo, el pH fue ligeramente mayor en las parcelas solarizadas, mientras que CE fue menor.

LITERATURA CITADA

- Adetunji, I.A. 1994. Response of onion to soil solarization and organic mulching in semi-arid tropics
Scientia Horticulture, 60: 161-166
- Aly, A.Z., Tohamy, M.R.A., Atia, M.M.M., Abd-El-Moity, T.H. y Abed-El-Moneim, M.L. 2003. Role of organic matter in controlling some soil-borne and foliage disease of cucumber. *Act Hort. (ISHS)* 608:209-217
- Auger, J., Arnault, I., Diwo-Allain, S., Rabvier, M., Molia, F., y Pettiti, M. 2004. Insecticidal and fungicidal potential of *Allium* substances as biofumigants. *Agroindustria* 3:5-8.
- Arauz – Cavallini, L. F., 1998. Fitopatología un enfoque agroecológico. 1^{ra} Ed. Editorial de la Universidad de Costa Rica. Costa Rica pp. 137-138.
- Bello, A., López-Pérez, A.J., y Díaz, V. 2002. Biofumigación y solarización como alternativas al bromuro de metilo. Departamento de Agroecología, CCA, CSC. Madrid, España.

- Cebolla, V., Martínez, P.F., Del Busto, A.,G. de Barreda, D.Y del busto, C.A. 2000. La desinfección del suelo por energía solar (Solarización). Una técnica no contaminante para la agricultura del futuro: En la horticultura española en la C. E. 2da Ed. Sociedad española de ciencias hortícolas. p 446-455.
- Chaney, D.E., Drinkwater, L. E., y Pettygrove, L. E.. 1992. Organic soil amendments and fertilizers: UC Sustainable Agriculture Research and Education Program University of California. Division of Agriculture and Natural Resources.
- Chan-Jung, L., Jong-Tae, L., Jin Seong, M. *et al.*, 2007. Effects of solar heating for control of pink root and other soil-borne diseases of onion. *Plant Pathology Journal* 23(4):295-299.
- Chase, C.A., Sinclair, T. R., Locascio, S. J., Gilreath, J. P., Jones, J. P. and Dickson, D. W. 1997. An evaluation of improved polyethylene films for cool-season soil solarization. *Selected Proceedings of the Florida State Horticultural Society.* 110: 326-329.
- Chávez-Alfaro, J.J., Zavaleta-Mejía E., y Téliz-Ortiz, D. 1995. Control integrado de la marchitez del chile *Capsicum annuum* ocasionada por el hongo *Phytophthora capsici* Leo., en la región de Valsequillo, Puebla, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 30(1):47-50.
- Chen Y., Katan J. 1980. Effect of solar heating of soils by transparent polyethylene mulching on their chemical properties. *Soil Science* 130: 271-277.
- Crowe,F., 1996. White rot. pp. 14– 16. In H.F., Schwrtz, S.K., Mohan. *Compendium of onion and garlic diseases.* APS PRESS. Minnesota, USA.
- Delgadillo-Sánchez, Zavaleta-Mejía E., Aguilar-Laguna, A., Arévalo-Valenzuela, A., Torres-Pacheco, I., Valdivia-Alcalá, R. y Garzon- Tiznado, J. A. 2003. Manejo de la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk.) del ajo en Guanajuato, México. *Agricultura Técnica en México.* 30: 41-52.
- Elmore, C.L., Stapleton, J.J., Bell C.E. and DeVay, J. E. 1997. Sol solarization: a nopesticidal method for controlling diseases, nematodes, and weeds. University of California. Division of agriculture and natural resources. Publication 21377.

- Ezziyyani, M., Pérez S.C., Ahmed S.A., Requena M.E., y Candela M.E.. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). Anales de Biología 26 (35-45).
- FAO, 2006. Fichas técnicas. Productos frescos y procesados. <http://www.fao.org/inpho/content/documents/vlibrary/ae620s/Pfrescos/CEBOLLA.HTM>
- FAOSTAT, 2007. Producción de productos alimentarios y agrícolas. <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=339&lang=es>
- Fernández, P., Guirao, P., Ros, G., Guerrero, M. M., Quinto, V. y Lacasa, A. 2004. Efectos de la biofumigación con solarización sobre las características físicas y químicas del suelo. pp. 259-278 In Lacasa-Placencia, A., Guerrero-Díaz, M. M. y Oncina-Deltell, M. Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento: II Jornada sobre alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento en invernadero. Serie: Jornadas y congresos 16, Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Murcia, España. 335 p.
- Gamliel, A. Hadar, E. y Katan, J. 1989. Soil Solarization to improve yield on *Gypsophila* in monoculture systems. Act Horticulture 255:119-121.
- Garnaud, J. C. 1974. The intensification of horticultural crop production in the Mediterranean basin by protected cultivation. FAO of the United Nations, Rome.
- Gelsomino, A., Badalucco, L., Landi, L. y Cacco, G. 2006. Soil carbon, nitrogen and phosphorus dynamics as affected by solarization alone or combined with organic amendment. Plant and soil 279: 307-325.
- Havey m. J., 1996. Fusarium basal plate rot. pp. 10 -11. In H.F., Schwrtz, S.K., Mohan. Compendium of onion and garlic diseases. APS PRESS. Minnesota, USA.
- Jenkins, W. R. 1964. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil, Plant, Disease Report 48:692.

- Kaewruang, W. Sivasithamparam, K. Hardy, G.E. 1989. Effect of solarization of soil within plastic bags on root rot of gerbera (*Gerbera jamesonii* L). Plant and Soil 120: 303 -306.
- Katan J., Greenberger A., Alon A. and Grinstein A. 1976. Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soil-borne pathogens. Phytopathology. 66: 683-688.
- Katan, J. 1980. Solar pasteurization of soils for disease control: status and prospects. Plant Disease 64:450-454.
- Katan, J., Rotem, I., Finkel Y., y Danie, L. J. 1980. Solar heating of the soil for the control of pink root and other soilborne diseases in onion. Phytoparasitica 8:39-50.
- Katan, J. 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soil borne pests. Annual Review Phytopathology 19:211-236.
- Katan, J., 1983. Fishler, G. y Grinstein, A. 1983. Short and long term effects of soil solarization and crop sequence on Fusarium wilt and yield of cotton in Israel. Phytopathology. 73:1215-1219.
- King, E.O., Ward, M.K. y Raney, D.E. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. Journal Laboratory Clinic Med 44 (2): pp. 301-7.
- Larkin, R.P., y Fravel, D.R. 1998. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of Fusarium Wilt of Tomato. Plant Disease 82:1022-1028.
- López-Herrera, C. J. 1999. Estudios in vivo de *Trichoderma* como agente de biocontrol contra *Phytophthora cinnamomi* y *Rosellinia necatrix* en aguacate. Revista Chapingo Serie Horticultura 5:261-265.
- Maudarbaccus, F., y Benimadhu S. P. 2003. Pink root disease in onion and its management in Mauritius. Food and agricultural research Council, Réduit Mauritius.
- Martin, J. P. 1950. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. Soil Science 69: 215-232.

- Montes-Belmont, R., Nava-Juárez, R., Flores-Moctezuma, H.E., y Mundo-Ocampo, M. 2003. Hongos y Nematodos en Raíces y Bulbos de Cebolla (*Allium cepa* L.) en el Estado de Morelos, México. Revista Mexicana de Fitopatología 21-3:300-304.
- Oezer, N. y Oemeroglu, M. 1995. Chemical control and determination of fungal causal agents of wilt disease of onion in Tekirdag Province. Turkish phytopathology 24:47-55.
- Pinkerton, J.N., Ivors, K.L., Miller, M. L., y Moor, L.W. 2000. Effect of soil solarization and cover crop on populations of selected soilborne plant pathogens in western Oregon. Plant Disease 84: 952-960.
- Pulido-Herrera A., Zavaleta-Mejía E., Cervantes-Díaz L. *et al.*, 2008. Incidencia, severidad e identificación del agente causal de la pudrición radical de la cebolla (*Allium cepa* L.) en el Valle de la Trinidad, Baja California, México. XI Congreso Internacional de ciencias Agrícolas, Baja California. p. 201-205.
- SAGARPA-SIAP. 2009. Cierre de la producción agrícola por cultivo. http://www.siap.sagarpa.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350
- SAS Institute Inc. 2002-2003. SAS/STAT guía del usuario, versión 9.1.3. Cary, NC, USA.
- Sumners D. R., 1996. Pink root. pp. 12 – 13. In H.F., Schwrtz, S.K., Mohan. Compendium of onion and garlic diseases. APS PRESS. Minnesota, USA.
- Sumner, D. R., Ronald, D. G., Gay J. D., Smittle D. A., Bryan W. M., Tollner, E. W. and Hung Y. C. 1997. Control of soilborne pathogenic fungi in fields of sweet onion. Plant Pathology 81:885-891.
- Stapleton, J.J., Quick, J., DeVay, J.E. 1982. Effects on soil solarization on populations of selected soilborne microorganisms and growth of deciduous fruit tree seedlings. Phytopathology 72: 323-326.
- Stapleton, J.J., Quick J., DeVay, J.E. 1985. Soil solarization: Effects on soil properties, crop fertilization and plant growth. Soil Biology and Biochemistry. 17:369-373.

- Ulacio-Osorio, D., Zavaleta-Mejía, E., Martínez-Garza y A. Pedroza-Sandoval. 2006. Strategies for management of *Sclerotium cepivorum* Berk. In garlic. Journal of Plant Pathology 88: 253-261
- Valenzuela, H., Shimabuku, R. y Hamasaki, R. 1999. Bulb Onion Production in Hawaii. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa. Hawaii, USA.
- Vincelli, P.C., y Lorbeer J.W. 1990. Root rot of onion caused by *Pythium irregulare* and *Pythium coloratum*. Mycopathologia 111:67-72.
- Yañez-Juárez, G.M., Zavaleta-Mejía, E., Flores-Revilla, C., Chávez-Alfaro, J.J., y Valdivia-Alcalá, R. 2001. Managament of wilting (*Phytophthora capsici* Leo.), root galling (*Nacobbus aberrans* Thorne and Allen), and virosis in pepper (*Capsicum annuum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 19: 40-48.
- Zavaleta-Mejía, E., Villar, A.C., Reyna, R.M. I, y García, E.R. 1992. Efecto de la incorporación de residuos de crucíferas (Brassicaceae) en fitopatógenos del suelo. IV efecto de la incorporación de col y brócoli en la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk.) de la cebolla. Revista Mexicana de fitopatología 10 (2): 179-185.
- Zavaleta-Mejía, E. 1999. Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. Terra 17:201-207.
- Zavaleta-Mejía, E., y Gómez, R.O. 2003. Plantas antagonistas. pp. 14-22. In E. Zavaleta-Mejía, R.I. Rojas-Martínez y. D.L. Ochoa-Martínez. (eds.) Manejo ecológico de enfermedades. Colegio de Postgraduados. Texcoco, México. 114 p.