

FACTORES QUE DETERMINAN EL DESARROLLO DE LA “RAÍZ ROSADA” DE LA CEBOLLA CAUSADA POR *Pyrenochaeta terrestris*

EDUARDO HENRIQUE DE ALBUQUERQUE MARANHÃO
ELIZABETH ARAUJO DE ALBUQUERQUE MARANHÃO

Estação Exoerimentão Luiz Jorge da Gama Wanderley, Instituto Agronômico de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, Pernambuco.

RESUMEN

FACTORES QUE DETERMINAN EL DESARROLLO DE LA “RAÍZ ROSADA” DE LA CEBOLLA CAUSADA POR *Pyrenochaeta terrestris*

La cebolla es una de las hortalizas más importantes cultivada a nivel mundial, sin embargo, entre los factores que pueden ocasionar bajos rendimientos en este cultivo destacan la incidencia de enfermedades. La Raíz Rosada de la cebolla, cuyo agente causal es el hongo *Pyrenochaeta terrestris*, una de las enfermedades más extendidas de este cultivo, es especialmente severa en climas tropicales y subtropicales, y puede adquirir gran importancia en latitudes más bajas como la Cuenca Mediterránea occidental. La incidencia creciente de la Raíz Rosada en las áreas productoras de cebolla de la Región Nordeste del Brasil está originando una reducción progresiva y continua de la producción así como del beneficio económico que proporciona el cultivo de esta hortaliza, que es de gran importancia en el desarrollo socioeconómico de dicha Región. Este hecho se ve agravado por la falta de conocimiento sobre muchos aspectos de la ecología del patógeno y la epidemiología de la enfermedad, y en particular por la ausencia de información para las condiciones específicas del cultivo de cebolla en la Región Nordeste de Brasil, lo que ha impedido la adopción de medidas de lucha para el control eficiente de la Raíz Rosada. La principal medida de control de la Raíz Rosada de la cebolla es la utilización de cultivares resistentes; sin embargo, la disponibilidad de genotipos de cebolla con niveles adecuados de resistencia a la enfermedad y buenas características comerciales es escasa. Trabajos realizados en otros patosistemas demuestran la importancia de las condiciones ambientales en el desarrollo y severidad de la enfermedad. Por todo ello, el determinar la influencia de factores bióticos y abióticos sobre el desarrollo de ésta es de gran importancia para una mejor comprensión sobre los factores que condicionan el desarrollo de la Raíz Rosada. Por otro lado, el diseño de medidas efectivas de control, como la utilización de cultivares resistentes requiere el desarrollo de métodos rápidos y simples para

determinar la virulencia de los aislados del patógeno, así como la reacción a la infección por ellos de cultivares de cebolla obtenidos en programas de mejora o de interés comercial.

Termos para indexación: *Allium cepa*, *Pyrenochaeta terrestris*, patogenicidad, epidemiología.

ABSTRACT

FACTORS THAT DETERMINE THE DEVELOPMENT OF ONION PINK ROOT CAUSED BY *Pyrenochaeta terrestris*

The onion is one of the most important vegetable crop worldwide, however, among the factors that may cause low yields of this crop include the incidence of diseases. The pink root of the onion, whose causal agent is the fungus *Pyrenochaeta terrestris*, one of the most widespread diseases of this crop, is particularly severe in tropical and subtropical climates, and can acquire great importance in lower latitudes such as the western Mediterranean Region. The increasing incidence of pink root in onion-producing areas of the Northeast region of Brazil are causing a gradual and continuing reduction of production and the economic benefit provided by the cultivation of this vegetable, which is of great importance in the development socioeconomic status of these regions. This is compounded by lack of knowledge about many aspects of the ecology of the pathogen and the epidemiology of the disease, and in particular by the lack of information for the specific conditions of the onion crop in the Northeast region of Brazil, which has prevented the adoption of measures for the efficient control of the pink root. The principal measure of control of the onion pink root is the use of resistant cultivars, but the availability of onion genotypes with adequate levels of disease resistance and good commercial characteristics are scarce. Works with others pathosystems have shown the importance of environmental conditions on the development and severity of the disease. Therefore, determining the influence of biotic and abiotic factors on the development of it is of great importance for a better understanding of the factors influencing the development of pink root. Furthermore, the design of effective control measures, such as the use of resistant cultivars requires the development of rapid and simple methods to determine the virulence of isolates of the pathogen, and the reaction to infection by them in onion cultivars obtained in breeding programs or commercial interests.

Index terms: *Allium cepa*, *Pyrenochaeta terrestris*, pathogenicity, epidemiology.

1. LA RAIZ ROSADA DE LA CEBOLLA

Las enfermedades constituyen un factor limitante en la producción de cebolla en

muchas partes del mundo. Se han descrito 50 enfermedades que afectan este cultivo, 30 de las cuales son causadas por hongos, 10 por bacterias, seis por nematodos, dos por virus, una por fitoplasma y una por planta parásita (Mohan y Schwartz, 2000). En su mayoría, estas enfermedades afectan a la cebolla durante las distintas fases de desarrollo del cultivo en campo, reduciendo de forma significativa la producción y la calidad del producto cosechado. Por otro lado, son también importantes las pérdidas debidas a enfermedades en post-cosecha, que ocurren durante la fase de almacenamiento.

Entre las enfermedades causadas por hongos de suelo cabe destacar la Raíz Rosada causada por *Pyrenochaeta terrestris* (E.M. Hans.) Gorenz, J.C. Walker, & R.H. Larson (Ahmed y Harrington, 1974; Gorenz *et al.*, 1949; Hansen, 1929; Jaccoud Filho *et al.*, 1985). La Raíz Rosada es una de las enfermedades más importantes de la cebolla en regiones de clima cálido. La enfermedad ocurre en todo el mundo y es especialmente severa en cultivos de cebolla que se desarrollan en climas tropicales y subtropicales (Sumner, 1995). En Europa, la Raíz Rosada sólo se ha descrito como una enfermedad importante en la parte más septentrional del continente (i.e., en Francia al final del ciclo del cultivo); no obstante, se la considera con el potencial de causar ataques severos en latitudes más meridionales que incluyen la Región Mediterránea Occidental (Messiaen *et al.*, 1995; Sumner, 1995).

1.1. Distribución geográfica

Pyrenochaeta terrestris ha sido descrito en países de los cinco continentes que incluyen: Argentina (Klingner y Pontis-Videla, 1961), Australia, Alemania, África del Sur, Brasil (Chaves y Erickson, 1960), Canadá, Egipto, EE.UU. (Gorenz *et al.*, 1949), Grecia (Lascaris, 1986), Hong-Kong, Isla Mauricio, Nueva Zelanda, Pakistán, Reino Unido, Sierra Leona, Sudán (Yasin *et al.*, 1982), Uganda y Venezuela (Aponte y Salazar, 1972; Punithalingam y Holliday, 1973). En España, hasta que se comenzó este trabajo en 1998, *P. terrestris* no había sido descrito en cultivos comerciales de cebolla (SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FITOPATOLOGÍA, 2000).

En Brasil, la Raíz Rosada está ampliamente distribuida en las áreas cultivadoras de cebolla del Sur y Sudeste, siendo la enfermedad descrita por vez primera en cultivos comerciales de cebolla de Ubá, Rodeiro, Guidoal en el Estado de Minas Gerais en 1960 (Chaves y Erickson, 1960). Posteriormente la presencia de la enfermedad ha sido asimismo descrita en los Estados de Rio Grande do Sul en 1967 (Luz, 1967) y São Paulo en 1981 (Noda *et al.*, 1981).

1.2. Importancia económica

La Raíz Rosada de la cebolla se ha asociado como causante de pérdidas importantes de producción sólo en áreas de clima tropical o subtropical. No obstante, en muchos casos el efecto negativo de los ataques de *P. terrestris* sobre la producción no ha podido ser diferenciado del producido por otros patógenos de suelo (Hansen, 1929; Levy y Gornik, 1981; Mohamed—Ali *et al.*, 1984). Sin embargo, diversas investigaciones realizadas en suelos naturalmente infestados por *P. terrestris* demuestran la ocurrencia de pérdidas severas de producción en cultivos de cebolla, aunque son escasas las investigaciones en que dichas pérdidas hayan sido cuantificadas de forma precisa en cultivos comerciales.

En EE.UU., la Raíz Rosada es considerada como el factor limitante fundamental del cultivo de la cebolla, especialmente en las principales áreas productoras situadas en los Estados de Texas y California. En estos Estados, la alta incidencia de esta enfermedad ha dado lugar al abandono temporal del cultivo en aquellas áreas altamente infestadas por lo patógeno, y ha hecho que la obtención de variedades resistentes a *P. terrestris* sea uno de los objetivos prioritarios en los programas de mejora de cebolla (Kimati, 1980; Messiaen *et al.*, 1995). En California, se han descrito pérdidas severas de producción debidas a la Raíz Rosada desde 1929 (Hansen, 1929). En este Estado, el cultivo continuado de cebolla en suelos infestados por *P. terrestris* ha dado lugar a pérdidas de producción que oscilan entre el 50 a 96% (Porter y Jones, 1933). En Iowa se observaron en 1930 ataques generalizados en las áreas de cultivo de cebolla por un complejo de enfermedad caracterizado por la presencia de raíces con coloración rosada y podredumbre del bulbo. En algunos de los campos murieron entre el 10 y 90% de las plántulas, y el 30% de los bulbos que llegaron a la madurez presentaban síntomas de podredumbre seca en extensión variable. Además, el 15% de los bulbos de apariencia externa sana desarrollaron podredumbres asociadas con *Fusarium* spp. durante la fase de almacenamiento posterior. Este complejo de enfermedad originó el abandono de más de 80 has de suelo fértil para el cultivo de cebolla en Iowa, y probablemente en otras áreas de cultivo (Davis y Henderson, 1937). En el Estado de Nueva York, experimentos en campo realizados en suelo artificialmente infestado por *P. terrestris* resultaron en una incidencia de la Raíz Rosada de 52% comparada con el 40% alcanzado en suelo natural no infestado; sin embargo este incremento de incidencia de 12% no se tradujo en una reducción significativa de la producción de cebolla. Por el contrario, en experimentos realizados en invernadero, la infestación artificial del suelo por *P. terrestris* incrementó la incidencia de la enfermedad desde

el 0% hasta niveles comprendidos entre el 62 y 71%, incremento que tuvo como consecuencia una reducción significativa de la producción de cebolla. De acuerdo a estos autores, la incidencia de Raíz Rosada en campos comerciales del Estado de Nueva York puede superar el 90% cuando el cultivo se acerca a la recolección, por lo que, aunque no ha sido cuantificada, es muy probable que la Raíz Rosada esté ocasionando una importante reducción de los rendimientos de cebolla en aquel área (Coleman y Ellerbrock, 1992).

En Australia, la Raíz Rosada de la cebolla fue observada por primera vez en 1945 en el Estado de Victoria; y en 1960, tan solo 15 años después, la enfermedad se había extendido a las principales áreas de cultivo de cebolla del Estado. Sin embargo, a pesar de ello, la Raíz Rosada no es considerada por los agricultores de dicha región como la principal enfermedad causada por hongos de suelo en sus cultivos (Porter *et al.*, 1989). Posiblemente, este hecho, es debido a que los síntomas de la Raíz Rosada quedan ensombrecidos por los de enfermedades que presentan síntomas más obvios y fácilmente apreciables, como la Podredumbre Blanca causada por *Sclerotium cepivorum* Berk. (Merriman y Sutherland, 1978).

En Venezuela, *P. terrestris* está ampliamente distribuido en los suelos de cultivo de la Región Centro Occidental donde se localiza el 92% del área dedicada al cultivo de cebolla, estimándose para el período 1980 a 1982 pérdidas de producción debidas a la Raíz Rosada que oscilaron entre 25 y 40% en suelos altamente infestados por el patógeno (Delgado, 1989).

Perry *et al.* (1964), en investigaciones llevadas a cabo durante 4 años con cultivares de cebolla de ciclo precoz, establecieron pérdidas del 20% de la producción en cultivares susceptibles (i.e., 'Texas Early Grano-502' y '-591'), comparadas con la producción obtenida de cultivares resistentes (i.e., 'Excel', 'L 39', 'Eclipse' ('L 303'), 'Early Cristal 281' y 'L 365').

La principal causa de la reducción de producción del cultivo de cebolla como consecuencia de la infección por *P. terrestris* es la disminución del calibre del bulbo (Ahmed y Harrington, 1974; Rabinowitch *et al.*, 1981; Thornton y Mohan, 1996). Además, es frecuente que las plantas infectadas por *P. terrestris* permanezcan enanas, atrofiadas, con una subdivisión excesiva de los bulbos y emisión prematura de un tallo floral que originan una alta incidencia de bulbos no comerciales (Perry y Jones, 1955). En ocasiones, los bulbos pueden permanecer sanos, aunque son de menor tamaño y escasa calidad (Ahmed y Harrington, 1974). La baja repercusión de los ataques de Raíz Rosada en la producción observada en muchos casos, puede

ser debida a la emisión de nuevas raíces en el disco basal que permiten a la planta compensar la pérdida de raíces infectadas por *P. terrestris* (Colleman *et al.*, 1992; Levy y Gornik, 1981).

En experimentos realizados en condiciones controladas se ha demostrado que *P. terrestris* puede asimismo reducir la emergencia de plántulas de cebolla. En este sentido, Koguishu *et al.* (1971) observaron que el porcentaje de emergencia de plántulas del cv Excel en sustrato artificialmente infestado por *P. terrestris* osciló entre 80,7 y 88,2% respecto del de plántulas que crecieron en sustrato no infestado.

En Brasil, la Raíz Rosada de la cebolla tiene una importancia variable en las diferentes regiones productoras. Hasta el momento, la Raíz Rosada ha sido descrita únicamente en las zonas de cultivo de cebolla de la Región Sur y Sudeste. En ambas regiones, la cebolla es cultivada en invierno, y por tanto bajo condiciones de temperatura poco favorables para el desarrollo de *P. terrestris* durante la mayor parte del ciclo del cultivo, lo que habría podido minimizar la importancia de la enfermedad (Noda, 1981). Sin embargo, la enfermedad podría constituirse en un factor limitante del cultivo en dichas regiones si el cultivo se establece en verano, bajo condiciones de temperatura no limitantes para el patógeno (Noda, 1981; Melo, 1989; Nunes y Kimati, 1997). Así, en el Estado de Minas Gerais, la Raíz Rosada ha ocurrido extensamente en los cultivos de cebolla, siendo señalado como uno de los factores que han contribuido al declive del cultivo en esta provincia (Mascarenhas, 1990; Melo, 1989).

En las zonas productoras de la Región Nordeste de Brasil, la incidencia e importancia de la Raíz Rosada han aumentado de forma significativa en los últimos 5 años. Este hecho podría estar determinado por varios factores. De una parte, se trata de una región de clima semiárido donde las condiciones ambientales de temperatura no son restrictivas para el desarrollo de *P. terrestris* durante la mayor parte del ciclo del cultivo. Además, en esta región la escasez de recursos hace que el agricultor se vea obligado a practicar el monocultivo de cebolla durante años, utilizando cultivares susceptibles a la enfermedad, lo que podría estar originando un incremento de la densidad de inóculo de *P. terrestris* en el suelo (Melo, 1989; Nunes y Kimati, 1997; Pinto *et al.*, 1995).

2. SINTOMATOLOGÍA

P. terrestris infecta solamente el sistema radical de la planta, aunque los síntomas que manifiestan el perjuicio que causa pueden afectar a toda ella. Las raíces de cebolla

afectadas por la enfermedad presentan un característico color rosado, cuya tonalidad varía en función de la severidad y el tiempo transcurrido desde la infección (Hansen, 1929). Así, justo después de la infección, la raíz presenta una coloración rosada que a medida que la enfermedad progresa adquiere una tonalidad rojiza y más raramente púrpura, marrón o negra. En los estadios finales de la enfermedad, las raíces afectadas pierden turgencia, adquieren una apariencia semitransparente y acuosa, y finalmente se secan y desintegran. El desarrollo de este complejo sintomático conlleva una reducción en la planta de capacidades para la captación de agua y nutrientes que interfiere con el normal desarrollo de ésta.

La coloración rosada en raíces infectadas por *P. terrestris* ha sido considerado como el síntoma más característico para el diagnóstico de la Raíz Rosada (Hansen, 1929). Sin embargo, Kreutzer (1939) considera que la ausencia de ésta no indica necesariamente la ausencia de infección por *P. terrestris*. Así, de acuerdo a este autor, en suelos infestados por el patógeno se pueden observar raíces infectadas por *P. terrestris* que no muestran la característica coloración rosada, a excepción de pequeñas manchas en raíces turgentes y aparentemente sanas que son detectables sólo tras un examen cuidadoso.

En la parte aérea de la planta, los síntomas de la Raíz Rosada son indicativos de falta de nutrientes o sequía. Frecuentemente, las plantas afectadas por la enfermedad están etioladas y suelen presentar síntomas de marchitez y muerte regresiva. Esta sintomatología no es específica de la Raíz Rosada y puede ser inducida por otros microorganismos patógenos o por condiciones ambientales o nutritivas desfavorables para el crecimiento de la planta. En casos de infecciones severas, las plantas suelen presentar una reducción del tamaño del bulbo que los invalidan comercialmente (Hansen, 1929; Taubenhau y Johnson, 1917).

3. ETIOLOGÍA

3.1. Taxonomía y nomenclatura del agente

El agente causal de la Raíz Rosada de la cebolla fue inicialmente identificado como una especie del género *Fusarium* por Taubenhau y Mally (1921), quienes lo describieron como *Fusarium mallyi* Taub.. Esta identificación estuvo basada en una serie de estudios en los que evaluaron el desarrollo de enfermedad en plantas de cebolla cultivadas en suelo esterilizado e infestado artificialmente por el hongo. En este suelo, entre el 5 y 15% de las plantas resultaron infectadas comparado con el

100% de plantas infectadas que se produjo en el suelo no esterilizado. De acuerdo a estos autores, tales diferencias eran debidas a otros organismos presentes en el suelo no estéril, especialmente otras especies del género *Fusarium*, que actuaron en combinación con *F. malli*. Posteriormente Sideris (1929) identificó otras especies de *Fusarium* que, aunque con un bajo porcentaje de infección, tenían la capacidad de inducir la enfermedad en condiciones artificiales.

En un extenso trabajo que coincidió en el tiempo con los de Sideris (1929), Hansen (1929) llevó a cabo inoculaciones artificiales con varias especies de *Fusarium*, incluyendo algunos de los aislados originales obtenidos por Sideris (1929) y diversos aislados de *F. malli* y *F. cromeocephorum* en los que no pudo reproducir los síntomas de la Raíz Rosada descrita en las investigaciones citadas. En estos trabajos, Hansen (1929) utilizó plantas adultas y secas obtenidas de campos severamente afectados. Los resultados inconcluyentes llevaron a este autor a utilizar en su investigación material vegetal fresco, obtenido en diversas áreas de cultivo de cebolla de California, que le proporcionaron resultados marcadamente diferentes. Así, cuando utilizó raíces de plantas infectadas en los primeros estadios de desarrollo de la enfermedad, consistentes en raíces aún turgentes y firmes con una distintiva coloración rosada, no obtuvo ningún aislamiento de *Fusarium*, siendo una especie del género *Phoma*, el único organismo aislado. En cambio, los aislamientos realizados de plantas en estadios avanzados en el desarrollo de la enfermedad, dieron lugar a diversas especies de *Fusarium* y la misma especie de *Phoma* antes mencionada. Las pruebas de patogenicidad realizadas con estos organismos fueron concluyentes, demostrando que el agente de la Raíz Rosada es *Phoma* spp. y no *F. malli*, *F. cromeocephorum* o cualquier otra especie de este género (Hansen, 1929). No obstante, especies de *Fusarium* pueden actuar como invasores secundarios y contribuir a una mayor severidad de la enfermedad y dificultan su diagnóstico (Davis y Henderson, 1937; Hansen, 1929).

Originalmente, Hansen (1929) identificó el agente de la Raíz Rosada como *Phoma terrestris* Hansen, en base a sus características morfológicas. Este hongo forma picnidios de color marrón a negro, subglobosos, ostiolados y papilados de 170 a 350 μm de diámetro, que se desarrollan de forma aislada o agregada, en los cuales se producen conidias unicelulares bigutuladas (Hansen, 1929). Posteriormente Gorenz *et al.* (1948), contrastaron las características de diversos aislados del agente de la Raíz Rosada con las descritas por Hansen (1929), coincidiendo en todos los aspectos a excepción de la formación de picnidios con setas de longitud, número y posición variable. Este carácter no pudo ser contrastado en el trabajo de Hansen (1929) o

trabajos posteriores (Carvajal, 1945; Sprague, 1943) por carecer de microfotografías o esquemas apropiados de las estructuras fúngicas descritas en los mismos. En base a la presencia de picnidios con setas, el agente causal de la Raíz Rosada de la cebolla pasó a ser denominado *Pyrenochaeta terrestris* (Hansen) Gorenz, Walker & Larson (Gorenz *et al.*, 1948). *P. terrestris* pertenece a la Subdivisión Deuteromycotina, Clase Coelomycetes, Orden Sphaeropsidales (Sutton, 1980).

3.2. Morfología del patógeno

Pyrenochaeta terrestris se caracteriza por formar picnidios globosos a subglobosos marrón oscuro a negros, inmersos y posteriormente irrumpentes, ostiolados, papilados a ligeramente rostrados, de 120 a 450 μm de diámetro ligeramente a marcadamente setosos en su madurez que se desarrollan aislados o agregados. Las setas son de coloración marrón claro a oscuro, con 1 a 5 septas, de 8 a 120 μm de largo, formadas en número variable y dispuestas generalmente alrededor del ostiolo, aunque pueden formarse sobre todo el picnidio. La pared de los picnidios está formada por varias capas de células, una capa externa de células de pared gruesa y pigmentada, y una capa interna de células pseudoparenquimáticas que revisten toda la cavidad interna del picnidio. Las células conidiógenas son enteroblásticas, filídicas, hialinas, simples, obpiriformes, y emergen de la capa mas interna de células pseudoparenquimáticas que recubren la cavidad del picnidio. Las conidias son unicelulares, hialinas, ovoides a alantoides, bigutuladas en cada uno de sus extremos redondeados, y de 3,7 – 5,8 x 1,8 – 2,4 μm (Figura 1). El micelio es septado, hialino, gutulado y de 1,0 a 4,5 μm (Gorenz *et al.*, 1948; Hansen, 1929; Punithalingam y Holliday, 1973). Los picnidios pueden formarse en raíces de plantas severamente afectadas al final del ciclo vegetativo del cultivo, así como en una gran variedad de medios de cultivo artificiales (Sumner, 1995).

4. AISLAMIENTO DE PYRENOCHAETA TERRESTRIS DE PLANTAS INFECTADAS

La controversia antes descrita acerca de la etiología de la Raíz Rosada de la cebolla ha estado en gran parte motivada por las dificultades que presenta el aislamiento selectivo de *P. terrestris* de raíces infectadas. Los métodos normalmente utilizados para el aislamiento de hongos fitopatógenos de material vegetal (Dhingra y Sinclair, 1995; Tuite, 1969) han sido infructuosos, debido fundamentalmente a la contaminación por microorganismos que cohabitan el suelo o el tejido vegetal junto

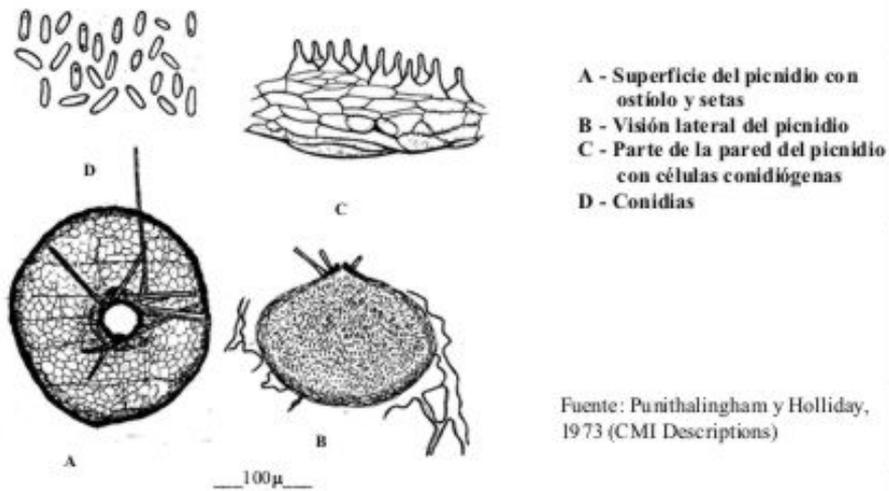


Figura 1. — Caracteres morfológicos de *Pyrenochaeta terrestris*.

al patógeno y que en general poseen mayor capacidad saprofítica y crecimiento más rápido que éste, en particular diversas especies de *Fusarium* lo cual a dado lugar a que en algunas investigaciones éstas hayan sido referidas como agente causal de la Raíz Rosada. Esto ha hecho que diversos investigadores hayan tratado de diseñar procedimientos para el aislamiento semiselectivo de *P. terrestris*.

Watson (1961) desarrolló un método para la identificación de *P. terrestris* basado en la capacidad única de este organismo para producir un pigmento rosado. Este método consistió en la siembra de la parte interna de la raíz sintomática en un medio mínimo al que se añaden algunos trozos de paja de trigo estéril (Agar Watson, AW) incubado a temperatura ambiente. El contacto de las hifas del patógeno con los fragmentos de paja de trigo induce la formación de un pigmento característico de diversa intensidad que varía desde rosado a violeta intenso dependiendo del aislado y la edad del cultivo. Este procedimiento no impide el crecimiento de otros organismos que pueden crecer sobre el tejido vegetal o la superficie del medio, aunque sí reduce la interferencia de éstos en la detección de *P. terrestris*, por lo que permite identificar el patógeno pero no su aislamiento selectivo.

González de Alvarado y Díaz Polanco (1984), utilizando el medio mínimo descrito por Watson (1961) pero sustituyendo la paja de trigo por trozos secos de *Echinochloa colonum*, describieron importantes inconvenientes en su utilización para el aislamiento del patógeno de raíces sintomáticas. Así, fueron necesarios más de 20 días de incubación para observar la típica coloración rojiza en el material vegetal y 30

días para la formación de picnidios; pero sobre todo, fue frecuente la contaminación por *Fusarium* spp. Sin embargo, este método fue el más efectivo para el aislamiento de *P. terrestris* utilizando el suelo procedente del lavado de raíces, ya que la presencia del hongo se detectó entre 7 y 15 días de incubación dependiendo del aislado, tanto por la formación de abundantes picnidios como por la aparición de coloración rojiza en el material vegetal.

Awuah y Lorbeer (1989) propusieron el aislamiento de *P. terrestris* utilizando la zona interna de la raíz tras retirar asépticamente el cortex. Una vez desinfectada, los tejidos de dicha zona se depositan sobre Agar Agua e incuban a 20° C. La utilización de la parte interna de la raíz ya propuesta por Watson (1961), redujo por una parte la frecuencia de aislamiento de *Fusarium* spp. hasta el 72% respecto al 90% obtenido cuando se utilizó la raíz intacta, y por otra incrementó la frecuencia de aislamiento de *P. terrestris* del 10 al 28%. Sin embargo, el aislamiento de *P. terrestris* también resultó interferido por el crecimiento extenso de *Fusarium* spp. e hizo necesaria la transferencia de extremos hifales de colonias en crecimiento activo libres de contaminación a placas de Agar Harina de Maíz (AHMz) con cloranfenicol para la identificación.

Ferreira (1990) comparó varias de las técnicas utilizadas para el aislamiento de *P. terrestris* a partir de raíces de cebolla, confirmando las dificultades descritas. Así, utilizando medios de cultivo ricos en nutrientes como Agar Patata Zanahoria (APZ), Agar Patata Dextrosa (APD) o APD acidificado, los hongos con la mayor frecuencia de aislamiento fueron *Aspergillus* spp. (2 a 61%), *Fusarium* spp. (37 a 60%), *Penicillium* spp. (18 a 28%) y en menor frecuencia *Rhizoctonia* spp., *Trichoderma* spp. y *Alternaria* spp. Por el contrario, *P. terrestris* fue aislado únicamente en APZ con una frecuencia del 28%. Por ello, este autor propone colocar el material vegetal en cámaras húmedas construidas con papel de filtro humedecido. La desecación de éstas, una vez iniciado el crecimiento del hongo, favorece el desarrollo de picnidios característicos del patógeno tanto sobre el tejido vegetal como el papel de filtro facilitando su identificación. Este medio, no obstante, permitió el aislamiento de *P. terrestris* con una frecuencia de tan sólo el 18% aunque fue efectivo en evitar el crecimiento de otros hongos contaminantes.

5. FACTORES QUE DETERMINAN EL DESARROLLO DE PYRENOCHAETA TERRESTRIS IN VITRO

Pyrenochaeta terrestris crece y esporula en varios medios de cultivo artificial, no

obstante su capacidad de crecimiento y esporulación es muy variable entre los diferentes aislados del patógeno y está determinada entre otros factores por el medio de cultivo, la temperatura de incubación, el pH del medio de cultivo y el fotoperíodo.

El medio de cultivo determina no sólo la tasa de crecimiento de *P. terrestris* sino fundamentalmente su capacidad para producir picnidios viables. En este sentido, Hansen (1929) observó una escasa producción de picnidios en aislados del patógeno que crecieron en varios medios de cultivo de diversa naturaleza. Posteriormente, Kulik y Tims (1960a), en un amplio estudio utilizando 91 aislados de *P. terrestris* obtenidos de plantas afectadas en único campo en el Estado de Louisiana, EE.UU., observaron que ninguno de ellos produjo picnidios en AHMz o APD. En cambio, cuando los aislados crecieron en Agar vaina de judía, o en judías frescas en tubos de ensayo, únicamente ocho de ellos produjeron picnidios con conidias viables y 10 formaron cuerpos similares a picnidios, pero de menor tamaño que éstos y carentes de conidias. Más recientemente, investigaciones realizadas en Brasil utilizando una serie de aislados de *P. terrestris* obtenidos de diversas localidades del Estado de São Paulo, Región Sudeste, indicaron que la mayor tasa crecimiento y esporulación se produce en Agar Harina de Avena (AHA_v) (Camargo y Kimati, 1991) o en un medio mínimo con extracto de levadura suplementado con almidón y triptona como fuente de Carbono y Nitrógeno, respectivamente (Camargo y Kimati, 1992). La composición nutritiva del medio de cultivo influyó asimismo en la producción de microesclerocios en raíces de cebolla estériles dispuestas en cultivos de aislados de *P. terrestris* de Texas y Nuevo México, EE.UU. Para estos aislados, la producción de microesclerocios fue superior en Agar Raíz de Cebolla comparada a la producción en Agar Agua, atribuyéndose un efecto estimulador para la formación de microesclerocios de los nutrientes adicionales aportados al medio por la raíz de cebolla (Biles *et al.*, 1992).

La temperatura es uno de los principales factores que determinan el crecimiento y desarrollo de los hongos. La mayoría de ellos son capaces de crecer en el intervalo de temperatura que varía entre 5 y 35° C, con un intervalo óptimo entre 20 y 25° C (Dix y Webster, 1995). El crecimiento óptimo de *P. terrestris* se obtuvo a 26°C en AHMz (Hansen, 1929) y a 28° C en APD (Davis y Henserson, 1937). Además, en este último caso se observa un incremento gradual en la tasa de crecimiento entre 15 y 28° C, disminuyendo marcadamente por encima de 30° C. En estudios similares utilizando APD como medio de cultivo y un conjunto de 11 aislados de diversas áreas de EE.UU. Gorenz *et al.* (1949) determinaron que *P. terrestris* puede

crecer entre 10 y 32° C, con un óptimo de crecimiento entre 24 y 28° C, aunque existieron marcadas diferencias de crecimiento entre dichos aislados especialmente cuando estos crecieron a 28° C. La temperatura de incubación fue determinante para el crecimiento miceliar, producción de microesclerocios y pigmentación en raíces de cebolla dispuestas en cultivos de *P. terrestris* en Agar Agua. La máxima tasa de crecimiento y producción de picnidios se obtuvo a 25 y 27° C, ambas tasas se redujeron a 20 y 32° C, y el crecimiento fue reducido o sin formación de microesclerocios a 15 ó 35° C. La pigmentación fue muy similar entre 15 y 27° C, decreciendo o anulándose dependiendo del aislado a 32° C (Biles *et al.*, 1992).

El pH del medio de cultivo es menos determinante para el crecimiento de *P. terrestris*, pudiendo crecer apropiadamente en APD con pH entre 4 y 8, aunque el crecimiento se ralentiza marcadamente a pH 3 y es nulo a pH 2 (Davis y Henserson, 1937; Gorenz *et al.*, 1949).

La luz ejerce un profundo efecto en la esporulación de la mayoría de las especies de hongos, siendo en general su acción más determinante en el proceso de reproducción que en la de desarrollo vegetativo. En *P. terrestris* son varios los trabajos que han evaluado la influencia del fotoperíodo y tipo de luz en su capacidad de fructificación. La incubación de aislados del patógeno en AW (Watson, 1961) bajo luz próxima a la ultravioleta resultó efectiva para inducir la formación abundante de picnidios tras 3 a 12 días de incubación a temperatura ambiente (Hess *et al.*, 1964). Por el contrario, González de Alvarado y Díaz Polanco (1984) no obtuvieron formación de picnidios en aislados procedentes de Venezuela cultivados durante 22 días en AW modificado y bajo luz ultravioleta. Similarmente, la producción de microesclerocios en raíces estériles de cebolla dispuestas en cultivos de aislados de *P. terrestris* de Texas y Nuevo México, fue significativamente reducida cuando éstos se incubaron bajo luz fluorescente continua a temperatura ambiente (Biles *et al.*, 1992). Sin embargo, la esporulación de aislados del patógeno obtenidos en el Estado de São Paulo fue estimulada marcadamente por la incubación bajo luz continua comparada a la obtenida bajo luz alternante u oscuridad (Camargo y Kimati, 1991).

6. PRODUCCIÓN DE INÓCULO DE PYRENOCHAETA TERRESTRIS

Una gran cantidad de hongos esporulan escasamente o pierden totalmente esta capacidad cuando son cultivados repetidamente en medios de cultivo artificial. En el caso de *P. terrestris*, es bastante conocida la dificultad para obtener conidias en cantidad suficiente para su utilización como inóculo en ensayos de patogenicidad o

de carácter epidemiológico, ya que este hongo puede perder o alterar la capacidad de producirlas (Camargo y Kimati, 1991). Todo ello, unido a la necesidad de diseñar métodos estandarizados de trabajo en este patosistema, ha motivado la búsqueda de métodos alternativos a la utilización de conidias como único tipo de inóculo.

Muchos de los trabajos llevados a cabo para determinar la patogenicidad de aislados de *P. terrestris* se han realizado siguiendo la metodología desarrollada por Gorenz *et al.* (1949), en la que el inóculo es incrementado en cultivo líquido Czapek incubado en agitación a 28° C durante 10 días. Tras la incubación el medio de cultivo y el micelio del hongo macerado son incorporados a una mezcla de suelo o arena en proporción 1:100 P/P. Este procedimiento ha sido utilizado con ligeras modificaciones en estudios de diversidad patogénica (Koguishii *et al.*, 1971; Kulik y Tims, 1960a), histología de la infección (Struckmeier *et al.*, 1962), herencia de la resistencia (Nichols *et al.*, 1965), evaluación de la resistencia (Noda, 1981; Rengwalska y Simon, 1986) o evaluación de métodos de control químico (Kulik y Tims, 1960b).

Otro método de producción de inóculo de *P. terrestris* para la evaluación de la resistencia a Raíz Rosada fue propuesto por Netzer *et al.* (1985). Este método consistió en el cultivo del hongo en semillas de trigo que tras ser colonizadas por el patógeno son trituradas, diluidas en agua e incorporadas a vermiculita como sustrato de siembra en proporción 1:6 (V/V).

7. VARIACIÓN PATOGENICA DE PYRENOCHAETA TERRESTRIS

La variación descrita en los aislados de *P. terrestris* queda asimismo reflejada en la existencia de importantes diferencias en virulencia entre los aislados del patógeno. Estas diferencias, unidas a la existencia de algunas correlaciones entre las características morfológicas de los aislados o su capacidad para formar picnidios y sus características de patogenicidad o virulencia, han hecho a algunos autores establecer grupos de patogenicidad semejantes a razas patogénicas (Kreutzer, 1941) que no han sido validados de forma generalizada por otros investigadores. Este hecho, unido a la falta de huéspedes diferenciadores de razas o grupos de patogenicidad, hace que la opinión más aceptada sea la existencia de amplias diferencias en virulencia sin que puedan definirse aún razas patogénicas (Gorenz *et al.*, 1949; Kulik y Tims, 1960a).

Gorenz *et al.*, (1948) fueron los primeros en demostrar la existencia de diferencias de virulencia entre aislados de *P. terrestris*. Utilizando una colección de 11 aislados procedentes de diversos Estados de EE.UU., estos autores distinguieron tres grupos de virulencia que definieron como altamente virulentos, moderadamente virulentos

y de virulencia media, y en los que se incluyeron cuatro, tres y cuatro aislados, respectivamente. Aunque en dicho estudio no existió una clara correlación entre la capacidad de los aislados para producir picnidios y su grado de virulencia, los cuatro aislados caracterizados como altamente virulentos mostraron capacidad de esporular tanto en medio de cultivo como en raíces de cebolla infectadas. Posteriores investigaciones de estos mismos autores (Gorenz *et al.*, 1949), incluyendo la inoculación de dos cultivares de cebolla con ocho aislados del patógeno, confirmaron la existencia de amplias diferencias de virulencia entre los aislados y diferencias de susceptibilidad en los dos cultivares. No obstante, aunque el orden de aislados no fue idéntico para los dos cultivares, los extremos de virulencia fueron los mismos para ambas, indicando la ausencia de interacción diferencial.

Las investigaciones descritas indican que existen importantes diferencias de virulencia entre aislados de un amplio origen geográfico. Similarmente, Kulik y Tims (1960a) encontraron asimismo importantes diferencias de virulencia en una colección de 91 aislados de *P. terrestris* obtenidos de un único campo de cebolla naturalmente infestado en Louisiana, EE.UU. Además, los resultados de dichos autores demuestran una alta correlación entre la capacidad de estos aislados para producir picnidios o cuerpos similares a picnidios *in vitro* y su mayor nivel de virulencia. Así, el índice medio de enfermedad para 18 aislados que produjeron cuerpos fructíferos fue del 73,5% comparados con el al 48,1% estimado para los 73 aislados restantes carentes de esta capacidad. De los 91 aislados sólo uno de ellos fue no patogénico.

González de Alvarado y Díaz Polanco (1984) evaluaron la patogenicidad de cinco aislados de *P. terrestris* obtenidos en la zona semiárida del Estado de Lara de Venezuela en dos cultivares de cebolla, Texas Grano 502 y Eclipse. En ambos, los aislados estudiados se comportaron como altamente virulentos (un aislado), moderadamente virulentos (dos aislados) o escasamente virulento (un aislado) en ambas variedades. Sin embargo, el aislado restante, presentó un comportamiento distinto en el cv Texas Grano 502 en el que fue altamente virulento frente al cv Eclipse en el que fue moderadamente virulento.

En estudios similares Ferreira *et al.* (1991) evaluaron la patogenicidad de 30 aislados de *P. terrestris* procedentes de la República de Sudáfrica y EE.UU. sobre cuatro líneas mejoradas de cebolla con diferente nivel de susceptibilidad a la Raíz Rosada. Aunque todos los aislados fueron patogénicos, el 57% de ellos fueron mas virulentos sobre la línea considerada moderadamente resistente que sobre la línea susceptible, y solo en el 27% de los aislados la severidad de enfermedad estimada

en la línea resistente fue más baja que en la línea moderadamente resistente. Esto llevó a estos autores a enfatizar la importancia del nivel de virulencia del aislado del patógeno utilizado a la hora de definir el nivel de susceptibilidad o resistencia de un genotipo del huésped.

En Brasil, Noda (1981) demostró la ausencia de interacción diferencial cultivar de cebolla x aislado de *P. terrestris* en una colección de aislados del patógeno obtenidos en São Paulo inoculados en cultivares comerciales y líneas de mejora de cebolla.

La amplia variación en virulencia de los aislados de *P. terrestris* es atribuida por algunos investigadores a la aparición de mutantes que dan lugar a variantes de virulencia distinta al original. Gasiorkiewics *et al.* (1952) trataron aislados de *P. terrestris* con gas mostaza [metil-bis (beta-cloroetil) amina] obteniendo una serie de mutantes con importantes diferencias en características culturales, producción de picnidios y virulencia. *P. terrestris* carece de estado sexual conocido y tanto las células de hifas vegetativas en el micelio joven como las conidias son uninucleadas. Puesto que en esta investigación la heterocariosis como factor de variación puede ser descartada por proceder los aislados parentales de aislados monoconídicos. Los investigadores indicaron que los mecanismos de variación entre aislados naturales del hongo no son los que comúnmente se atribuyen a otros muchos miembros de Hongos Imperfectos, i.e., transformaciones resultantes del efecto de núcleos genéticamente diferentes. Por ello, concluyeron que la variabilidad inducida es el resultado de cambios genéticos en los aislados tratados. Además, los mutantes inducidos están dentro del intervalo natural de variabilidad de *P. terrestris*, por lo que sugieren que las variantes encontradas en condiciones naturales pueden ser producto de mutaciones espontáneas de variantes existentes ocasionadas por factores desconocidos.

8. ECOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA

Pyrenochaeta terrestris es un hongo de suelo que infecta la raíz de la planta de cebolla. Por el momento, no existe evidencias de que el hongo infecte y se transmita por la semilla. *P. terrestris* puede sobrevivir en el suelo en ausencia de huéspedes mediante clamidosporas, microesclerocios, picnidios o conidias, así como en raíces de cebolla colonizadas, asociado con restos de materia orgánica o con partículas de suelo (Siemer y Vaughan, 1971; Sneh *et al.*, 1974; Shishkoff, 1993).

Investigaciones realizadas por Siemer y Vaughan (1971) indican que *P. terrestris* puede estar distribuido en un amplio intervalo de perfil del suelo que puede llegar hasta 45 cm de profundidad, aunque es más abundante entre 0 y 15 cm, donde

suele encontrarse asociado con partículas de suelo grandes, entre 0,6 y 1,2 mm, así como con partículas de materia orgánica no descompuesta que suele encontrarse en condiciones naturales en estas partículas de mayor tamaño, decreciendo su frecuencia drásticamente en partículas de suelo pequeñas, inferiores a 0,15 mm. Todo ello sugiere que las conidias o pequeños fragmentos de micelio rara vez causaran infección, siendo los picnidios, microesclerocios o agregados de micelio y/o conidias las unidades infectivas de *P. terrestris*. Estos resultados fueron respaldados más tarde por Sneh *et al.* (1974), quienes determinaron la presencia del patógeno en restos orgánicos, fundamentalmente raíces, con una frecuencia del 88,1 y 53,9% en partículas mayores o menores a 8 mm, respectivamente.

8.1. Gama de huéspedes

P. terrestris es un habitante de suelo que ataca las raíces de 86 especies pertenecientes a 45 géneros de mono o dicotiledóneas, cultivadas, silvestres o malas hierbas. No obstante, cebolla es la única especie en que la Raíz Rosada es considerada una enfermedad de importancia económica a nivel mundial. Además de cebolla, *P. terrestris* puede infectar y causar la síntomas típicos de la Raíz Rosada en la mayoría de la especies cultivadas del género *Allium*, incluyendo además de la cebolla, ajo (*A. sativum* L.), puerro (*A. porrum*), chalote (*A. ascalonicum*), chives (*A. schoenoprasum*) y cebolla Nebuka (*A. fistulosum*). Entre estas especies existen no obstante importantes diferencias en susceptibilidad; así, ajo y chalote son los huéspedes más susceptibles, mientras que puerro, chives y el tipo Nebuka de *A. fistulosum*, así como algunos genotipos de ajo, exhiben un buen nivel de tolerancia a la infección (Porter y Jones, 1933; Rengwalska y Simon, 1986; Tims, 1953). Además de especies del género *Allium*, *P. terrestris* se ha descrito causando síntomas típicos de Raíz Rosada en caupí [*Vigna sinensis* (Stickm.) Savi, judía lima (*Phaseolus lunatus* L.), patata (Hansen, 1929), avena (*Avena sativa* L.), berenjena (*Solanum melongena* L.), calabaza (*Cucurbita maxima* Duch.) cebada (*Hordeum vulgare* L.), coliflor (*Brassica oleracea* L.), espinaca (*Spinacia oleracea* L.), guisante (*Pisum sativum* L.), mijo (*Panicum milliaceum* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), pimiento (*Capsicum annuum* L.), soja [*Glycine max* (L.) Merr.], trigo (*Triticum aestivum* L.), zanahoria (*Daucus carota* L.) (Kreutzer, 1941), maíz (*Zea mays* L.) (Craig y Koehler, 1958; Kreutzer, 1941), césped rastrero (*Agrostis palustris*) (Meyer y Sinclair, 1970), melón (*Cucumis melo* L.), sandía (*Citrullus lanatus*) (Bruton *et al.*, 1997; Kreutzer, 1941), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Thornberry y Anderson, 1940), algodón (*Gossypium hirsutum* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.)

y sorgo (*Sorghum vulgares* L.) (Carvajal, 1945). Es de destacar el caso de las gramíneas, para la que se han descrito más de 50 especies huésped, por lo que puede ser considerado un patógeno menor del sistema radical de los cereales (Sprague, 1943). Por el contrario, *P. terrestris* no infecta especies como alfalfa (*Medicago sativa* L.), apio (*Apium graveolens* L.), judía (*Phaseolus vulgaris* L.), chirivía (*Pastinaca sativa* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.), remolacha (*Beta vulgaris* L.), trébol blanco (*Melilotus alba* Desv.), trébol rojo (*Trifolium pratense* L.) (Kreutzer, 1941), *Freesia* sp., *Funkia* sp., iris (*Iris* sp.), *Lillium* sp., narciso (*Narcissus* sp.) y tulipán (*Tulipa* sp.) (Taubenhaus y Mally, 1921).

8.2. Patogénesis

El ciclo de patogénesis se inicia cuando se produce el contacto entre el sistema radicular de la planta de cebolla y estructuras del patógeno existentes en el suelo. Kreutzer (1941) estudió el proceso de infección de plantas de cebolla por *P. terrestris* en inoculaciones artificiales. De acuerdo con este autor, el hongo aparece sobre la superficie de raíces jóvenes del huésped como colonias pequeñas e irregulares. La infección comienza por la invasión de las células próximas a la región promeristemática de la raíz, en las que es característica la ocurrencia de plasmolisis y distorsión de los núcleos. Tras la penetración, las hifas del hongo se ramifican en el cortex, intra- e inter- celularmente. En algunos casos se puede observar una constricción de las hifas del hongo durante la invasión de las células del cortex. Posteriormente, el hongo crece a través del cortex formando masas de hifas que colapsan la raíz. La pigmentación típica de *P. terrestris* está restringida a las hifas del hongo, aunque es frecuente observar cierta difusión de aquélla a las células adyacentes del huésped. No obstante, no se ha observado coloración en células no infectadas, ni la difusión extensa del pigmento descrita por Hansen (1929). En raíces infectadas por *P. terrestris* se pueden observar en la epidermis y el cortex cuerpos que corresponden a estadios iniciales en el desarrollo de picnidios del hongo (Hansen, 1929; Kreutzer, 1939).

P. terrestris no invade tejidos vivos de los bulbos de cebolla (Davis y Henderson, 1937; Hansen, 1929). No obstante, cuando bulbos maduros crecen en suelo infestado por *P. terrestris* se observan manchas rosadas a rojo-púrpura en las escamas más externas de éstos. En estas manchas se produce un crecimiento miceliar profuso y la formación ocasional de primordios picnidiales de *P. terrestris*, pero que en ningún caso llegan a formar picnidios maduros. La presencia de bulbos con esta sintomatología es además fácilmente observable en lotes de bulbos comerciales (Kreutzer, 1941).

Struckmeyer *et al.* (1962) estudiaron el desarrollo de *P. terrestris* en tejidos de raíz de cultivares de cebolla susceptibles y resistentes. En el cultivar susceptible Texas Grano 502, las raíces de la planta estaban degeneradas tras la penetración de las hifas del hongo en todos los tejidos de la raíz 25 días después de la inoculación. Sin embargo, en este mismo período, la invasión por el hongo quedó restringida a la epidermis en los cultivares resistentes Hybrid 28 y Excel. Posteriormente, las hifas de *P. terrestris* progresaron a través de las paredes de las células externas de la raíz y finalmente invadieron las células del cortex. En cultivares resistentes la restricción de las hifas en la epidermis de la raíz estuvo asociada con la formación de un engrosamiento del ápice hifal rodeado por una extensión de la pared de la célula del huésped adyacente a ella, no e invadida, que aparentemente impidió el progreso de la infección. Por lo tanto, parece que la pared celular de los tejidos del huésped es un factor fundamental en la restricción de la penetración y posterior infección por *P. terrestris*.

8.3. Factores que influyen sobre el desarrollo de la raíz rosada

La severidad de las enfermedades causadas por patógenos de suelo que afecta al sistema radical está directamente relacionada con la densidad de inóculo y el estrés ambiental. En particular, el desarrollo de la Raíz Rosada de la cebolla es influido por diversos factores ambientales en el suelo, que incluyen la temperatura, nivel de humedad, nutrientes y grado de compactación. Sin embargo la información disponible sobre los efectos de diversos factores bióticos y abióticos, así como de sus interacciones, sobre la enfermedad es escasa y fragmentaria.

8.3.1. Temperatura

La temperatura es un factor limitante para el desarrollo de la Raíz Rosada. Hansen (1929) describió que la infección no tuvo lugar en plantas incubadas a 4 y 10° C y fue reducida a 13° C. Estas temperaturas, no obstante, están muy alejadas de la óptima para el normal desarrollo de huésped. Los niveles mas elevados de infección coincidieron con el mayor crecimiento de las plantas y se produjeron a 25° C, decreciendo a 20 y 30° C. Por ello, Hansen (1929) concluyó que la temperatura óptima para el desarrollo de la enfermedad debe estar próxima a 26° C.

Posteriormente, Gorenz *et al.* (1949) estudiaron el efecto de la temperatura de incubación sobre el desarrollo de la Raíz Rosada en plantas inoculadas artificialmente con cuatro aislados de *P. terrestris* que diferían en virulencia. Estos autores observaron

un incremento en la severidad de enfermedad con el incremento de temperatura entre 16 y 28° C en las plantas inoculadas con cualquiera de los aislados. No obstante, las diferencias de virulencia entre los aislados evaluados fueron más pronunciadas a 16° C, menos favorable para el desarrollo de la enfermedad, siendo menores a medida que la temperatura de incubación se acerca a la temperatura óptima de 28° C.

Kehr *et al.* (1962) evaluaron el efecto de la temperatura de incubación en la reacción de líneas de cebolla a la Raíz Rosada, estableciendo en 26–28° C la temperatura óptima para el desarrollo de la enfermedad. No obstante los elevados niveles de enfermedad que se alcanzan a estas temperaturas llevaron a estos autores a recomendar la incubación a temperatura menos favorable (i.e., 20° C) para estudios en las que se pretenda evaluar diferencias de virulencia entre aislados del patógeno o diferencias en el nivel de resistencia de cultivares de cebolla.

Jones y Mann (1966), en experimentos realizados en condiciones de cultivo de cebolla de invierno, observaron que *P. terrestris* permanece activo e infecta la plántula durante las primeras fases de su desarrollo en siembras realizadas en suelos con temperatura moderada. Por el contrario, si cuando la temperatura de suelo es muy baja durante el invierno, el hongo permanece inactivo y la infección no ocurre hasta estadios más avanzados de desarrollo del cultivo, bajo condiciones apropiadas de temperatura.

En investigaciones realizadas en la región cuyana, principal área cultivadora de cebolla de Argentina, Piccolo y Galamrini (1994) establecieron en 22° C la temperatura media del suelo, umbral para el inicio de epidemias severas de Raíz Rosada.

8.3.2. Densidad de inóculo

Aunque la importancia de la densidad de inóculo en el desarrollo de la Raíz Rosada ha sido enfatizada por diversos investigadores, la información existente acerca del efecto de la densidad de inóculo *P. terrestris* en el desarrollo de la enfermedad es muy limitada.

Gorenz *et al.* (1949) determinaron el efecto de la densidad de inóculo de *P. terrestris* cuatro cultivares con diferente nivel de susceptibilidad a la enfermedad incubados a diferentes temperaturas. Estos autores observaron un incremento progresivo de la severidad de enfermedad con el incremento de la densidad de inóculo del patógeno en el cultivar moderadamente resistente 'Excel'; sin embargo, en los cultivares susceptibles, los niveles de severidad fueron muy similares en plantas que crecieron en suelo infestado con al menos 50 cm³ . de suelo infestado por 10 kg de sustrato.

A temperatura óptima, 24 a 28° C, el efecto de la densidad de inóculo fue mínimo alcanzándose valores de severidad de enfermedad muy elevados a cualquier densidad de inóculo del patógeno.

El efecto de la densidad de inóculo de *P. terrestris* en la incidencia de Raíz Rosada ha sido demostrado en varias investigaciones cuyo objetivo era desarrollar métodos de detección del patógeno en suelos infestados. Siemer y Vaughan (1971) estimaron valores de incidencia decrecientes con el incremento de la dilución del suelo naturalmente infestado con suelo estéril, oscilando entre 84,3 y 36,3% en la dilución 1:1 y 1:100 v/v, respectivamente. Además, dichos autores establecieron la importancia del nivel de susceptibilidad del cultivar de cebolla utilizado en este tipo de ensayos, ya que la incidencia de enfermedad con diluciones 1:1 a 1:10.000 v/v varió entre 54,3 y 3,6% para el cv. Southport White Globe, y entre 30,7 y 1,3% para el cv. Yellow Sweet Spanish. En investigaciones similares, Pflieger y Vaughan (1971) observaron un incremento en la incidencia de la Raíz Rosada en suelos naturalmente infestados mezclados en cantidades crecientes con suelo estéril entre 1:10 a 1:1000 v/v. La incidencia de enfermedad varió entre 84,0 y 24,0% en la dilución 1:10 y 1:500, respectivamente, y fue nula en la dilución 1:1000. Sneh *et al.* (1974) estimaron valores de infección en plántulas del cv. Egyptian, que variaron entre el 53 y 99% para suelos infestados con 30 y 500 unidades formadoras de colonias (ufc)/ g suelo, respectivamente. Para este mismo cultivar de cebolla, Netzer *et al.* (1985) demostraron una correlación positiva entre el incremento de la densidad de inóculo en el sustrato de siembra y la incidencia de la Raíz Rosada, que varió entre 17,4 y 51,2% para densidades de inóculo de 12,8 y 70,8 ufc/g sustrato, respectivamente.

9. MEDIDAS DE LUCHA

Como norma general, las estrategias de lucha contra la Raíz Rosada de la cebolla deben dirigirse a evitar el contacto entre el inóculo y la planta, así como a reducir la eficiencia del primero, disminuyendo el número de sus propágulos en el suelo y/o modificando las condiciones que son favorables para su actividad. No hay una medida única de control de la Raíz Rosada que sea efectiva y económicamente rentable en cultivos comerciales, pero si un conjunto de medidas que pueden ser aplicadas dependiendo de los recursos económicos, genéticos y legales.

9.1. Métodos culturales

La capacidad de *P. terrestris* de sobrevivir prolongadamente en el suelo, así como de infectar otros cultivos y malas hierbas, dificulta en gran medida el control efectivo de la Raíz Rosada mediante rotaciones con cultivos no huésped del patógeno. No obstante, no debe desestimarse la importancia en la elección de la parcela de siembra en términos del control de la enfermedad, evitando en lo posible aquellas en las que se haya cultivado cebolla recientemente, aunque no se haya detectado la enfermedad en el último cultivo.

Delgado *et al.* (1989) evaluaron la eficiencia de la rotación de cultivos en el control de la Raíz Rosada en el valle de Quibor, Venezuela, incluyendo, algodón, cebolla, maíz, pimentón, sorgo y tomate, determinando la incidencia de enfermedad en el cultivo subsiguiente utilizando el cv. de cebolla “Texas Grano 502”, altamente susceptible. El cultivo previo de cebolla, maíz, pimentón, o tomate dio lugar a un elevado incremento de la incidencia de enfermedad en la posterior siembra de este suelo con el cv. Texas Grano 502, mientras que algodón y sorgo, ocasionaron una incidencia sólo ligeramente superior a la del cultivo de cebolla precedente.

9.2. Resistencia genética

El empleo de la resistencia genética en el control de las enfermedades de las plantas cultivadas representa uno de los avances tecnológicos más significativos de la agricultura. Por ser de fácil utilización y económico, el uso de cultivares resistentes es el método de control mas efectivo de la Raíz Rosada. Sin embargo, la efectividad de esta medida se ve dificultada por la amplia variabilidad en virulencia de las poblaciones del patógeno.

La necesidad de desarrollar cultivares de cebolla resistentes a la Raíz Rosada para áreas donde la enfermedad es un factor limitante de la producción fue ya reconocida en 1933 por Porter y Jones (1933). Con objeto de evitar en lo posible los perjuicios que la Raíz Rosada estaba ocasionando en el cultivo de cebolla en las principales áreas de producción en EE.UU., en 1939 se inició en la Estación Experimental de Agricultura de Texas, un Programa de Mejora para el desarrollo de genotipos resistentes a la enfermedad (Perry y Jones, 1955). En la Región Nordeste de Brasil, la obtención de genotipos resistentes a la Raíz Rosada es actualmente una de las prioridades del Programa de Mejora Genética de Cebolla del IPA (Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária –IPA).

9.2.1. Métodos de evaluación de genotipos de cebolla

La selección de genotipos resistentes a la Raíz Rosada en condiciones de campo se ve dificultada por la elevada variación entre los diferentes experimentos, motivada en gran medida por la distribución heterogénea del inóculo del patógeno en el suelo. Además, las variaciones en la reacción a la enfermedad está influida marcadamente por las condiciones ambientales, en particular el fotoperíodo y la temperatura (Netzer *et al.*, 1985). Para resolver estas dificultades se han propuesto métodos de evaluación de germoplasma en condiciones controladas. Entre ellos, destaca por la rigurosidad de su desarrollo y su simplicidad el propuesto por Gorenz *et al.* (1949). Estos autores propusieron la siembra de semillas en sustrato infestado por el patógeno en cantidad estandarizada y su posterior incubación a 26–28° C, temperatura favorable para el desarrollo de la Raíz Rosada. Las investigaciones de Gorenz *et al.* (1949) mostraron además la supresión de la resistencia a la enfermedad cuando los bioensayos se llevaron a cabo a temperaturas altamente favorable para el desarrollo de la enfermedad, con un aislado altamente virulento o en suelo infestado con una elevada densidad de inóculo. Nichols *et al.* (1965) adoptaron este método y observaron que la segregación genética tras los cruzamientos era reproducible sólo si la variación en la respuesta huésped–parásito era minimizada. Una de las variables más importantes en este aspecto es la calidad de la semilla, la cual está altamente correlacionada con el vigor de la planta (Jouberet *et al.*, 1970). En este sentido, plántulas obtenidas de semillas de mala calidad de material calificado como resistente fue catalogado como susceptible (Nichols *et al.*, 1965). Iglesias *et al.* (1980) compararon las reacciones a la enfermedad de cultivares en plántulas con los que los mismos genotipos mostraron en la fase de madurez en campos con historia de la enfermedad, y encontraron que el valor predictivo de las reacciones en plántulas era de sólo del 35%.

En Brasil, Noda (1981) propuso la evaluación de genotipos de cebolla por su reacción a *P. terrestris* mediante la utilización de plántulas inoculadas por inmersión de su sistema radical en una suspensión de 10^6 conidias ml^{-1} incubadas en invernadero. La reacción de las líneas inoculadas por este método se evaluó por el índice de infección de raíz, determinado en base al porcentaje de raíces con síntomas de Raíz Rosada. No obstante este método presenta un importante inconveniente, ya que está restringido a aislados del patógeno con los que se pueda preparar dicho inóculo por su capacidad de esporular en medio de cultivo artificial.

Netzer *et al.* (1985) propusieron un método basado en la utilización plántulas de 6 a 8 semanas de edad. Estas plántulas se siembran en vermiculita infestada por el patógeno y se incuban durante dos períodos sucesivos de 2 semanas con diferente régimen de fotoperíodo y temperatura. Durante la primera fase, las plantas inoculadas se incuban a 17° C y 10 h de luz, condiciones que facilitan la obtención de un sistema radical vigoroso. Posteriormente, dichas plantas se incuban durante otras 2 semanas a 26° C y 12 h de luz, en las que el sistema radical desarrollado es expuesto a temperatura favorable para el desarrollo de la enfermedad.

La identificación de fuentes de resistencia a *P. terrestris* cultivando el material vegetal de estudio en suelos infestados en campo o en condiciones controladas en invernadero o cámara de crecimiento es costosa en tiempo y recursos. La utilización de métodos de selección rápidos podría acelerar los programas de mejora reduciendo el tiempo necesario para la obtención de cultivares resistentes. Para ello, diversos autores han investigado métodos alternativos para determinar la reacción de genotipos de cebolla a *P. terrestris*. En este sentido Hess y Weber (1988) propusieron bioensayos biológicos utilizando exudados crudos del patógeno o preparaciones parcialmente purificadas de los mismos para evaluar la reacción de plántulas de cebolla. La exposición de plántulas de cebolla en placas petri a exudados crudos proporcionó información indicativa de los niveles de resistencia en un período de 7 días, aunque es frecuente la interferencia por microorganismos contaminantes. Por el contrario la utilización de exudados parcialmente purificados de las toxinas del hongo presenta información fiable en un período de 5 a 7 días y no fue interferida por contaminaciones externas. Otro método alternativo para la evaluación rápida de genotipos de *Allium* spp. a filtrados de *P. terrestris* ha sido propuesto por Gourd *et al.* (1988) y confirmado en gran medida por Ludwig *et al.* (1992). Este método consiste en el cultivo *in vitro* del material vegetal y la incorporación al mismo de filtrados de cultivos de *P. terrestris*. La presencia de daños visibles en los tejidos radicales en crecimiento de los genotipos a evaluar son indicativos de la reacción al patógeno de las plantas obtenidas a partir de dichos tejidos.

9.2.2. Reacción de genotipos de cebolla

Las investigaciones respecto al uso de la resistencia para el control de la Raíz Rosada son en algunos casos difíciles de interpretar debido a que a lo largo de la historia han sido diversos los organismos que han sido descritos como agentes causales de la enfermedad. No obstante, diversas investigaciones realizadas por

diferentes grupos han dado lugar a la identificación de germoplasma y desarrollo de cultivares de cebolla con resistencia a la Raíz Rosada en diferentes países.

Taubenhaus y Mally (1921) describieron en Texas los cultivares tipo 'Bermuda' como moderadamente resistentes a la Raíz Rosada, mientras que otros cultivares evaluados, que incluyeron 'Sweet Spanish', fueron altamente susceptibles. Sin embargo, Porter y Jones (1933) el cv. Sweet Spanish fue el único que presentó una reacción moderadamente susceptible en experimentos realizados en suelo altamente infestado por *P. terrestris* en California, mientras que los restantes 16 cultivares evaluados mostraron una reacción altamente susceptible.

Gorenz *et al.* (1949) evaluaron la reacción de 23 cultivares comerciales de cebolla a aislados de *P. terrestris* de diverso origen geográfico en. En la mayoría de los ensayos realizados, 'Yellow Bermuda' y 'Beltsville Bunching' presentaron los mayores niveles de resistencia, con reacciones a la infección menos severas que la del cultivar Excel, una selección de 'Yellow Bermuda'. Esta información está de acuerdo con el comportamiento de los cultivares Bermuda en el Valle de Río Grande y otros lugares.

Utilizando métodos de selección en campo Porter y Jones (1933), Perry y Jones (1955) han desarrollado varios cultivares de cebolla de ciclo corto, resistentes a *P. terrestris* y adaptadas a las condiciones de cultivo en el sur de Texas.

Marlatt y McKittrick (1958) evaluaron líneas de cebolla de ciclo corto durante un período de 4 años en condiciones de campo, en un suelo naturalmente infestado por *P. terrestris* en Arizona, EE.UU. Los cvs. Crystal Wax, L690 y Texas Hybrid 23 fueron altamente susceptibles a la Raíz Rosada, mientras que 'Texas Hybrid 28', 'Excel', 'L365' y 'Eclipse' fueron las más resistentes. El cv. 'Granex' presentó una reacción a la enfermedad intermedia entre los dos grupos anteriores, aunque no obstante alcanzó mayores rendimientos que los cultivares menos afectadas por la enfermedad.

Nichols *et al.* (1960) evaluaron 33 híbridos experimentales y cultivares comerciales de cebolla a un aislado altamente virulento de *P. terrestris* obtenido de plantas infectadas en Oregón, EE.UU. Siguiendo la metodología propuesta por Gorenz *et al.* (1949), estos autores identificaron ocho genotipos que mostraron una reacción resistente: 'L-36', 'Excel', 'Texas Hybrid 28', 'L-281 White prr', 'L-303 Eclipse', 'Brilliance', 'Granex 33', y 'Granex 32'. De los restantes genotipos, 10 mostraron una reacción susceptible y 15 fueron altamente susceptibles.

González de Alvarado *et al.* (1985) evaluaron híbridos y cultivares de cebolla en

campos naturalmente infestados por *P. terrestris* en la región semiárida del Estado de Lara, Venezuela. En este trabajo, los híbridos presentaron en general un mejor comportamiento que los cultivares, siendo ‘Granex 429’ el que mostró mejores rendimientos y una baja infección de raíces. Los híbridos ‘Hybrid Yellow Granex PRR’ y ‘Yellow Granex F₁’ mostraron una alta resistencia a *P. terrestris* con una baja infección de raíces. Entre los cultivares tipo ‘Grano’, ‘Texas Early Grano 502 PRR’ presentó una resistencia moderada, mientras que ‘Texas Grano 502’ estuvo entre los más afectados por la enfermedad y mostró una alta infección de raíces. Posteriores investigaciones (González de Alvarado *et al.*, 1994) confirmaron los niveles de resistencia mostrados por los híbridos “Yellow Granex” y “Granex 429”, y el cv. Texas Early Grano 502 PRR.

Thornton y Mohan (1996) evaluaron siete cultivares de cebolla tipo ‘Sweet Spanish’ y 17 híbridos de cebolla en suelo infestado por *P. terrestris* en Oregón, considerando los niveles de incidencia de Raíz Rosada, producción y tamaño del bulbo. En general, los híbridos mostraron la menor incidencia de Raíz Rosada, siendo una característica de estos genotipos la sustitución de las raíces infectadas y destruidas por el patógeno por nuevas raíces sanas libres de infección. En general, estos genotipos tienen buenas características agronómicas con elevadas producciones y una alta proporción de bulbos de gran calibre. Ninguna de los híbridos evaluados fueron altamente susceptibles o inmunes a la infección por *P. terrestris*.

Coleman *et al.* (1997) determinaron los niveles de Raíz Rosada en cultivares comerciales de cebolla e híbridos obtenidos en el Programa de Mejora del USDA (United States Department of Agriculture) en suelos naturalmente infestados en Nueva York, durante 1987 a 1990. La infección ocurrió en los primeros estadios de desarrollo del cultivo entre 6 y 8 semanas después del trasplante. En el momento de maduración, parte del sistema radical de todos los genotipos evaluados presentaban síntomas de la enfermedad. Entre los híbridos, aquellas que presentaron menor severidad de enfermedad fueron ‘Sweet Sandwich’, ‘Keepsweet II’, ‘Spartan Banner 80’ y ‘MSU5785B’.

En Brasil, Koguishi *et al.* (1971) concluyeron que los cvs. Baía Periforme y Excel son susceptibles a la Raíz Rosada. Puesto que el cv. Excel ha sido descrito como resistente en investigaciones anteriores en EE.UU., estos autores atribuyen estos resultados a diferencias en la virulencia del aislado de *P. terrestris* utilizado, interferencia de las condiciones ambientales, o utilización de una concentración de inóculo excesivamente elevada. Similarmente, Luz (1967) describió un alto nivel de

susceptibilidad en el cv. Excel cuando evaluó la severidad de la reacción en base al porcentaje de plantas infectadas.

Noda (1981) en experimentos llevados a cabo en suelos naturalmente infestados en São Paulo, determinó el estado fenológico de inicio de formación del bulbo como el más idóneo para la evaluación de la reacción de genotipos a *P. terrestris*, estando además la producción de bulbos altamente correlacionada con la reacción al patógeno. En estas condiciones experimentales, este autor evaluó una colección de cultivares comerciales de cebolla de utilidad para la zona de estudio, así como cultivares originarios de otras áreas cultivadoras, y líneas del Programa 'Setor de Melhoramento de Hortalizas, Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz' da Universidade de São Paulo'. Entre el material evaluado, los cultivares del grupo Barreiro y Cojumatlan fueron seleccionados como las fuentes de resistencia a *P. terrestris* más apropiadas.

9.2.3. Herencia de la resistencia

En todos los estudios realizados en el patosistema *Allium cepa* x *P. terrestris*, se ha observado existencia de resistencia parcial al patógeno. Jones y Perry (1956) indican que la resistencia a Raíz Rosada esta regulada por un sólo alelo recesivo, en base a los datos obtenidos al final de la estación de cultivo en experimentos realizados en condiciones de campo en Texas. Posteriormente, Nichols *et al.* (1965), en experimentos realizados con plántulas incubadas en ambiente parcialmente controlado en invernadero y cultivadas en suelo artificialmente infestado por *P. terrestris*, indicaron asimismo la regulación monogénica y recesiva de la resistencia en varias líneas mejoradas del tipo día largo. No obstante, dichos autores presentaron evidencias de la posible existencia de más de un gen en el control de la resistencia.

9.3. Aplicación de fumigantes químicos al suelo y solarización

La aplicación de solarización o de fumigantes químicos son efectivos en la reducción del inóculo inicial y el control de diversas enfermedades causadas por hongos de suelo (Katan *et al.*, 1980).

La aplicación de productos químicos fumigantes en suelo infestado ha sido efectiva para el control de la Raíz Rosada de la cebolla. Así, la aplicación al suelo de fumigantes como Cloropicrina, Vapam o Bromuro de Metilo redujeron la población de *P. terrestris* en el suelo y la severidad de Raíz Rosada (Ahmed y Harrington, 1974; Vaughan y Siemer, 1971). Sin embargo, el alto coste que conlleva su aplicación

dificulta su utilización práctica.

Sumner *et al.* (1997) evaluaron la eficacia de diversos productos químicos para el control de diversos hongos de suelo patógenos de cebolla. Los productos evaluados incluyeron: Bromuro de Metilo (BRM), Cloropicrina (CP), BRM+CP (67% + 33%), Metam-Sodio, 1-3-Dicloropropano (1,3-D) y 1,3-D+17% CP. Los tratamientos más eficaces para reducir las poblaciones de *P. terrestris* fueron BRM+CP y CP. Resultaron poco efectivos Metam-Sodio y 1,3-D+17% CP, e ineficaces los tratamientos con BRM y 1,3-D. El incremento en el porcentaje de bulbos de calidad comercial observado en estos trabajos fue atribuido al control ejercido por estos productos de los patógenos presentes en el suelo, siendo de particular importancia la incidencia de *P. terrestris*, que fue identificado en el 74% de los campos estudiados.

Los problemas asociados con la utilización de fumigantes químicos, principalmente su alto coste de su aplicación, toxicidad y contaminación ambiental han llevado a la búsqueda de métodos alternativos de menor coste y ambientalmente respetuosos. Entre ellos destaca la solarización del suelo. El proceso de solarización, consistente en elevar la temperatura del suelo humectada mediante la captura de energía solar y conservación de la misma utilizando coberturas plásticas transparentes, ha sido presentado como una alternativa para el control de patógenos de suelo. Esta técnica fue recomendada por Grinstein *et al.* (1979) como especialmente indicada para países en desarrollo y para áreas donde prevalezcan condiciones climáticas apropiada, es decir, irradiación solar y temperatura elevadas durante uno o más meses antes de la siembra.

La eficiencia de la solarización del suelo contra patógenos de suelo en cebolla ha sido evaluada en Israel en dos campos experimentales situados en Yotvata (región cálida, altamente infestado por *P. terrestris*) y Gafen (región fría, bajo nivel de infestación por *P. terrestris*). En ambos casos, la solarización redujo significativamente la incidencia y severidad de la Raíz Rosada entre el 73 y 100% durante los 6 a 7 primeros meses de desarrollo del cultivo. Además, el tratamiento de solarización mejoró el vigor del cultivo y el crecimiento de las plantas e incrementó el rendimiento entre el 109 y 125% en Yotvata y entre el 59 y 62% en Gafen. Por el contrario, la aplicación de Pentacloronitrobenzeno (PCNB) no fue efectiva para el control de la enfermedad (Katan *et al.*, 1980). Similarmente, experimentos de solarización realizados en la región de Yotvata y aplicados bajo diferentes prácticas de cultivo, confirmaron su efectividad. La solarización proporcionó un buen control de la enfermedad, mejorando la supervivencia de las plántulas, lo cual permitió la elección

de la fecha de siembra más apropiada y una extensión del ciclo del cultivo. Todo ello se tradujo en el incremento de la producción y la calidad del producto cosechado (Rabinowitch *et al.*, 1981).

Hartz *et al.* (1989) compararon la eficiencia de tratamientos de solarización del suelo y aplicación de fumigantes en microparcels establecidas con suelo naturalmente infestado por *P. terrestris* en Texas. El tratamiento de solarización incrementó el vigor y la producción del cultivar susceptible Granex 429, y redujo la incidencia de la Raíz Rosada. La aplicación de Metam-Sodio proporcionó resultados similares a los descritos, salvo por un incremento aún más acusado en el crecimiento del cultivo. Además, la aplicación de estos tratamientos a los semilleros eliminó prácticamente la infección por *P. terrestris* en los trasplantes. Sin embargo, esto no se tradujo en un beneficio en producción, aunque sí en un incremento en el tamaño del bulbo y una reducción de los niveles de expresión de la enfermedad cuando los trasplantes crecieron en suelo infestado.

Porter *et al.* (1989) propusieron la utilización conjunta de la solarización y fumigantes de suelo para un mejor control de la Raíz Rosada. Estos autores evaluaron la aplicación de solarización y tratamientos del suelo en suelos naturalmente infestados por *P. terrestris* en Victoria, Australia. La aplicación de Dazomet sólo, o en combinación con tratamientos de solarización del suelo redujo la incidencia y severidad de enfermedad, incrementó la producción de cebolla en al menos el 100% y mejoró la calidad del producto.

Por otra parte, la solarización durante un período de 6 semanas retrasó el desarrollo de Raíz Rosada e incrementó la producción en el 23%, pero sin embargo no redujo la incidencia o la severidad de la enfermedad. La aplicación conjunta de los tratamientos de fumigación y solarización tiene el beneficio adicional de reducir en gran medida la re-infestación de los suelos fumigados. Además, la combinación de solarización y fumigación permitiría complementar la eficacia de la solarización cuando esta se aplica en áreas con temperatura subóptima o reducir las dosis de aplicación de los fumigantes.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AHMED, A. A. E. G. y J. F. HARRINGTON. Onion seed yield as affected by pink rot disease, soil fumigation, mother bulb fertilization and bulb size. *HortScience* 4: 394-396. 1974.

- APONTE, O. B. y SALAZAR, D. Prueba de variedades resistentes a raíz roja. 1972. 6p. (Mimeografado).
- AWUAH, R.T., y LORBEER, J. W. A procedure for isolating *Pyrenochaeta terrestris* from onion roots. *Annals of Applied Biology* 114:205–208. 1989.
- BILES, C.L., HOLLAND, M., ULLOA–GODINEZ, M., CLASON, D., y CORGAN, J. *Pyrenochaeta terrestris* Microsclerotia production and pigmentation on onion roots. *HortScience* 27 (11):1213–1216. 1992.
- BRUTON, B. D., BILES, C. L., y DUTHIE, J. A. Pink root of Muskmelon and Watermelon caused by *Phoma terrestris*. *Subtropical Plant Science* 49:34–41. 1997.
- CAMARGO, M. Esporulação de *Pyrenochaeta terrestris* (Hansen) Gorenz, Walker e Larson, sua patogenicidade à cebolla (*Allium cepa* L.) associada à de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* (Hanazawa) Snyder e Hansen e efeito da solarização do solo aos dois patógenos. Piracicaba, Tese de Doutorado– Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiros” – USP. 1988. 128 pp.
- CAMARGO, M., y KIMATI, H. Influence of media, light and filter paper placement on the sporulation of *Pyrenochaeta terrestris*. *Summa Phytopathologica* 17 (3): 201–206. 1991.
- CARVAJAL, F. *Phoma terrestris* on sugar cane roots in Louisiana. *Phytopathology* 35: 744. 1945.
- CHAVES, G. M. y H. T. ERICKSON. *Pyrenochaeta terrestris* (Hansen) Gorenz, J. C. Walker y Larson, um novo fungo da cebola (*Allium cepa* L.) em Minas Gerais. *Revista Ceres*, Viçosa. XI (63): 112–114. 1960.
- COLEMA, P. M. y ELLERBROCK, L. A. Interaction of *Phoma terrestris* and soil moisture level on yield of two onion cultivars differentially susceptible to pink root. *Plant Disease* 76: 1213–1216. 1992.
- COUTO, F. A. A. Importancia econômica e social das hortaliças. In: *Congresso Brasileiro de Olericultura*, 31; Belo Horizonte. Palestras. EMATER–MG, 1991. 184 pp.
- CRAIG, J., y KOEHLER, B. *Pyrenochaeta terrestris* and *Phaeocytospora zaeae* on corn roots. *Plant Disease Reporter* 42: 622–624. 1958.
- DAVIS, G. N., y HENDERSON, W. J. The interrelation of the pathogenicity of a *Phoma* and *Fusarium* on onions. *Phytopathology* 27: 763–772. 1937.
- DELGADO, A. Efecto de diferentes cultivos en la proliferacion de *Pyrenochaeta terrestris* (Hansen) Gorenz, Walker y Larson. *Revista de Agronomia* 7: 163–172. 1989.
- DHINGRA, O.D., y SINCLAIR, J.B. *Basic Plant Pathology Methods*. Second Edition. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, USA, 1995. 434 pp.

- DIX, N. J. y WEBSTER, J. *Fungal Ecology*. Chapman & Hall, Londres, 1995. 549 pp.
- FAO. FAOSTAT – Agricultural statistics database. Rome: World Agricultural Information Centre, 2002. (<http://www.fao.org/waicent/agricult.htm>)
- FERREIRA, J. F. A new procedure for isolating *Pyrenochaeta terrestris* from onion roots. *Phytophylactica* 22: 359–360. 1990.
- FERREIRA, J. F., BOSLAND, P. W., y WILLIAMS, P. H. The variability of *Pyrenochaeta terrestris* isolates based on isozyme polymorphism, cultural characteristics and virulence on differential onion breeding lines. *Journal of Phytopathology* 133:289–296. 1991.
- FILGUEIRA, F. A. R. Cebola, cebolinha e alho porró. In: Manual de Olericultura – Cultura e Comercialização de Hortaliças. Ed. São Paulo, Ceres, 1992. p. 143–167.
- GASIORKIEWICZ, E. C., LARSON, R. H., WALKER, J. C., y STAHMANN, M. A. Induced variability in *Pyrenochaeta terrestris* by nitrogen mustard. *Phytopathology* 42: 183–192. 1952.
- GONZÁLEZ DE ALVARADO, H., DÍAZ POLANCO, C. Aislamiento, caracterización y variabilidad de *Pyrenochaeta terrestris* (Hansen) causante de la Raíz Roja de la cebolla en Venezuela. *Agronomía Tropical* 34: 169–180. 1984.
- GORENZ, A. M., WALKER, J. C., y LARSON, R. H. Morphology and taxonomy of the onion pink–root fungus. *Phytopathology* 38: 831–840. 1948.
- GORENZ, A. M. ; LARSON, R. H. y WALKER, J. C. Factors affecting pathogenicity of pink root fungus of onions. *Journal of Agricultural Research* 78: 1–18. 1949.
- GRINSTEIN, A., ORION, D., GREENBERGER, A., y KATAN, J. Solar heating of the soil for *Verticillium dahliae* and *Pratylenchus thornei* in potatoes. In: Soilborne plant pathogens. New York, Academic Press. Cap. 38: 431–438. 1979.
- HANSEN, H. N. Etiology of the pink–root disease of onions. *Phytopathology* 19: 691–704. 1929.
- JACCOUD FILHO, D. S. , ZAMBOLIM, L. y CRUZ FILHO, J. da. Alho e cebola: Doenças causadas por fungos e bacterias. *Informe Agropecuario*, Belo Horizonte, 11(131): 3–14. 1985.
- JONES, H. A. y L. K. MANN. Onions and Theirs Allies. Botany, Cultivation, and Utilization. London, Leonard Hill – Limited, 1966. 286 p.
- JOUBERT, T. G. G. La y C. E. RAPPARD. Seed–size and vegetable crops. *Fmg S. Afr.* 46: 35–36. 1970.
- KATAN, J. ; ROTEM, I. ; FINKEL, Y. y DANIEL, J. Solar heating of the soil for the control of pink root and other soilborne diseases in onions. *Phytoparasitica* 8 (1): 39 –50. 1980.
- KEHR, A. E., O'BRIEN, M. J., y DAVIS, E. W. Pathogenicity of *Fusarium oxysporum* F. sp. *cepae* and its interaction with *Pyrenochaeta terrestris* on onion. *Euphytica* 11:197–208. 1962.

- KIMATI, H. Doenças do alho e da cebola. In: Galli, F.(Coorde.) Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas.2ª ed., São Paulo, Ed. Agronômica Ceres Ltda. v.2, cap. 5, 1980. p.49–64.
- KOGUISHI, C., K. NAGUNO, K. MATSUOKA y G. M. CHAVES, Patogenicidade de *Pyrenochaeta terrestris* em cebola (*Allium cepa* L.). Seiva, Viçosa, 31 (72): 58–73. 1971.
- KINGNER, A. y PONTIS VIDELA, R. Pink root disease of onions in Mendoza, Argentina. *Plant Disease Reporter* 45 (3): 235. 1961.
- KREUTZER, W.A. Host–parasite relationships in pink root of *Allium cepa* L. I. the pigment of *Phoma terrestris*. *Phytopathology* 29:629–632. 1939.
- KREUTZER, W.A.. Host–parasite relationships in pink root of *Allium cepa* II. the action of *Phoma terrestris* on *Allium cepa* and other hosts. *Phytopathology* 31:907–915. 1941.
- KULIK, M.M. AND TIMS, E.C. Differences in pathogenicity and pycnidial production among isolates of *Pyrenochaeta terrestris* from a single pink root infested field in Louisiana. *Plant Disease Reporter* 44 (1):54–58. 1960a.
- KULIK, M. M., y TIMS, E.C. Screening of fungicides and chemotherapeutants for control of pink root of onions and shallots. *Plant Disease Reporter* 44 (6):379–382. 1960b.
- LASCARIS, D. *Pyrenochaeta terrestris* on onion, first record in Greece. *Annl. Inst. Phytopath. Benaki* (N.S.) 15: 85–86. 1986.
- LEVY, D. y GORNIK, A. Tolerance of onions (*Allium cepa* L.) to the pink root disease caused by *Pyrenochaeta terrestris*. *Phytoparasitica* 9:51 – 57. 1981.
- LUZ, N. L. Raízes rosadas_ uma nova moléstia da cebola para o Rio Grande do Sul. Revista da Faculdade de Agronomia e Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 9: 159–165. 1967/68.
- MASCARENHAS, M. H. T. Origem e botânica da cebola. *Informe Agropecuário* Belo Horizonte, 6 (62):15–16. 1990.
- MELO, A. M. T. Reação de cebola e tomateiro à inoculação de fungos micorrizicos vesículo–arbusculares e de *Pyrenochaeta terrestris* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Piracicaba, Tese de Mestrado– Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiros” – USP. 1989. 124 pp.
- MERRIMAN, P. R. y SUTHERLAND, J. Studies on control of *Sclerotium cepivorum* Berk. in onions. *Australas. Plant Pathol.* 7: 29–30. 1978.
- MESSIAEN, C. M., BLANCARD, D., ROUXEL, F. y LAFON, R. *Enfermedades de las Hortalizas*. Ed. Mundi–Prensa, Madri, 1995. 576 pp.

MEYER, W. A., y SINCLAIR, J. B. *Pyrenochaeta terrestris*, a root pathogen on creeping bentgrass. *Plant Disease Reporter* 54: 506–507. 1970.

MOHAMED–ALI, G. H. ; FREGOON, S. O. y EL–HASSAN, H. S. Effect of frequency of irrigation and cultivar on the incidence of pink root disease of onions (*Pyrenochaeta terrestris*, Sudan) . *Acta. Hortic.* 143:427 – 432. 1984.

MOHAN, S. K. y SCHWARTZ, H. F. Diseases of Onion (*Allium cepa* L.). Common Plant Diseases. *The American Phytopathological Society*. St. Paul, Minnesota, 2000. 67 pp.

NETZER, D., RABINOWITZ, H. D. y WINTAL, C. H. Greenhouse technique to evaluate onion resistance to pink root. *Euphytica*. 34: 385–391. 1985.

NICHOLS, C. G., GABELMAN, W. H., LARSON, R. H., y WALKER, J. C. The expression and inheritance of resistance to pink root in onion seedlings. *Phytopathology* 55: 752–756. 1965.

NODA, H. Reação da cebola (*Allium cepa* L.) ao *Pyrenochaeta terrestris* (Hansen), Gorenz, Walker e Larson. Piracicaba. Tese Doutorado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – USP. 1981. 161 pp.

NODA, H.; COSTA, C. P. y KIMATI, H. Ocorrência da doença raiz rosada, causada por *Pyrenochaeta terrestris* (Hansen) Gorenz, Walker e Larson, na cultura da cebola (*Allium cepa* L.) e em alho (*Allium sativum* L.), na região de Piedade, Estado de São Paulo. In: *Congresso Paulista de Fitopatologia*, 4, Campinas. 1981. 9–10 p.

NUNES, M. E. T. y KIMATI, H. Doenças do Alho e da Cebola (*Allium sativum* L. e *Allium cepa* L.). In: Kimati, H. , Amorim, L. , Bergamin, Filho, A. , Camargo, L. E. A. , Rezende, J.A.M. (Eds.) *Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas*. 3 ed. Agronômica Ceres, 1997. 779 pp.

PERRY, B. A. y H. A. JONES. Performance of short–day pink root–resistant varieties of onions in Southern Texas. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 66: 350–353. 1955.

PERRY, B. A.; E. W. DAVIS y H. A. JONES. Establishment of a pink–root nursery. *Economic Botany* 18 (1): 77–79. 1964.

PFLEGER, F. L., y VAUGHAN, E. K. An improved bioassay for *Pyrenochaeta terrestris* in soil. *Phytopathology* 61:1299–1301. 1971.

PINTO, C. M. F., PAULA Jr. , T. J. , y ZAMBOLIM, L. Doenças causadas por fungos em cebola. *Informe Agropecuario*, Belo Horizonte, 17 (183): 28–46. 1995.

PORTER, D. R., y JONES, H. A. Resistance of some of the cultivated species of *Allium* to pink root (*Phoma terrestris*). *Phytopathology* 23: 290–298. 1933.

- POSTER, I. J., MERRIMAN, P. R., y KEANE, P. J. Integrated control of pink root (*Pyrenochaeta terrestris*) of onions by dazomet and soil solarization. *Australian Journal of Agricultural Research* 40:861 – 869. 1989.
- PUNITHALINGAM, E. y HOLLIDAY, P. *Pyrenochaeta terrestris*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. No. 397. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. 1973.
- RABINOWITZ, H. D., KATAN, J., y ROTEM, I. The response of onions to solar heating, agricultural practices and pink-root disease. *Scientia Horticulturae* 15:331 – 340. 1981.
- RENGWLASKA, M. M., y SIMON, P. W. Laboratory evaluation of pink root and *Fusarium* basal rot resistance in Garlic. *Plant Disease* 70: 670–672. 1986.
- SHISHKOFF, N. *Pyrenochaeta*. In: Singleton, L. L.; Mihail, J. d., y Rush, C. M. (ed) *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*. APS Press, Minnesota, 1993. 320 pp.
- SIDERIS, C. P. The effect of the H-ion concentration of the culture solution on the behavior of *Fusarium corymolphthorion* and *Allium cepa* and the development of pink root disease symptoms. *Phytopathology* 19: 233–268. 1929.
- SIEMER, S. R. y VAUGHAN, E. K. Bioassay of *Pyrenochaeta terrestris* inoculum in soil. *Phytopathology* 61: 146–148. 1971.
- SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FITOPATOLOGIA. Patógenos de Plantas Descritos en España. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 2000. 526 pp.
- SNEH, B., NETZER, D., y KRIKUN, J. Isolation and identification of *Pyrenochaeta terrestris* from soil on dilution plates. *Phytopathology* 64:275–276. 1974.
- SPRAGUE, R. *Phoma terrestris* on Graminaceae in the northern Great Plains. *Phytopathology* 34: 129–131. 1943.
- STEEL R. G. D. y TORRIE, J. H. Bioestadística: Principios y Procedimientos. McGraw-Hill Latinoamericana, Bogotá, Colombia, 1985. 622 pp.
- STRUCKMEYER, B. E., NICHOLS, C. G., LARSON, R. H., y GABELMAN, W. H. Histology of roots of susceptible and resistant varieties of onion in relation to the pink root fungus. *Phytopathology* 52:1163–1168. 1962.
- SUMNER, D.R. Pink root. In: *Compendium of onion and garlic diseases*. H.F. Schwartz and S.K. Mohan, eds. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA. 1995. pp 12–13.
- SUTTON, B. C. The Coelomycetes. C. M. I., Kew, Surrey, England. 1980. 626 pp.
- TAUBENHAUS, J. J. y F. W. MALLY. Pink root disease of onions and its control in Texas. *Texas Agr. Exp. Sta. Bul.* 273. 1921.

TAUBENHAUS, J. J. y A. D. JOHNSON. Pink root, a new root disease of onion in Texas. *Phytopathology* 7: 59. 1917.

THORNBERRY, H. H., y ANDERSON, H. W. Pink root disease of onions on tomatoes. *Plant Disease Reporter* 24: 383–384. 1940.

THORNTON, M. K., y MOHAN, S. K. Response of sweet Spanish onion cultivars and numbered hybrids to basal rot and pink root. *Plant Disease* 80 (6):660 – 663. 1996.

TIMS, E. C. Pink root of shallot, *Allium ascalonicum*. *Plant Disease Reporter* 37: 533–537. 1953.

TUITTE, J. *Plant Pathological methods, Fungi and Bacteria*. Minneapolis, Burgess Publishing Company. 1969. 239 p.

WATSON, R. D. Rapid identification of the onion pink root fungus. *Plant Disease Reporter* 45 (4):289. 1961.

YASSIN, A. M. , BABIKER, A. G. T. y AHMED, M. K. First report of pink root of onion in Sudan. *Plant Disease* 18: 741. 1982.