

Evaluación de la asociación ácaros-hongos causantes del amarillamiento de la cebolla junca *Allium fistulosum*

Evaluation of the mite-fungus association responsible for the yellowing in the Welsh onion *Allium fistulosum*

LUIS ALFONSO MUÑOZ B.¹ y ANY MERCEDES LUCERO M.²

Resumen: Bajo condiciones de campo, invernadero y laboratorio, el estudio evaluó la asociación ácaros-hongos-amarillamiento de la cebolla junca *Allium fistulosum* en cultivos recién establecidos y en cultivos de edad avanzada, en las localidades de San Francisco y Alianza (Pasto, Colombia), ubicadas a 2.650 msnm, con una temperatura de 12°C y precipitación media de 1.100 mm anuales. En los cultivos recién establecidos se encontraron una incidencia de amarillamiento del 11,0% y 14,2% respectivamente, sin presentar diferencias significativas para las dos localidades. De igual manera no hubo diferencias significativas entre localidades para los cultivos de edad avanzada, con una incidencia de 38,4% y 43,4%, respectivamente. En las muestras de cada localidad se encontraron dos tipos de ácaros como causantes de amarillamiento de la cebolla, *Rhizoglyphus echinophus* y *Rhizoglyphus vincatus* (Acari: Acaridae), siendo *R. echinopus* el que presentó el mayor porcentaje de plantas afectadas (56,7%). Los hongos causantes del daño al cultivo de cebolla fueron: *Phoma* sp., *Botrytis* sp., *Gliocladium* sp. y *Fusarium oxysporum*. En invernadero el mayor porcentaje de plantas afectadas se presentó con *F. oxysporum* (43,3%) y con el complejo *F. oxysporum* y *Phoma* sp. (40,0%). La asociación del ácaro *R. echinopus* y el hongo *F. oxysporum*, produjo el mayor porcentaje de plantas afectadas (80,0%). Además, se encontró que *R. echinopus* presentó mayor descendencia en presencia de *F. oxysporum* (78 individuos a las 72 horas).

Palabras clave: *Rhizoglyphus*. *Phoma*. *Botrytis*. *Gliocladium*. *Fusarium oxysporum*. Plagas. Horticultura.

Abstract: Under field, greenhouse and laboratory conditions, the study evaluated the mite-fungus-yellowing association in the Welsh onion *Allium fistulosum*, in recently established and mature crops, in the localities of San Francisco and Alianza (Pasto, Colombia), located at 2650 m elevation, with a temperature of 12°C and an average annual rainfall of 1100 mm annual. In recently established crops, the incidence of yellowing was 11.0% and 14.2%, respectively, with no difference between localities. Similarly, there were no significant difference between localities for the mature crop, with an incidence of 38.4% and 43.40%, respectively. In the sampling at each locality two kinds of mites were found which are responsible for the yellowing of onion, *Rhizoglyphus echinophus* and *Rhizoglyphus vincatus* (Acari: Acaridae), being *R. echinopus* with the greatest percentage of affected plants (56.7%). The fungi responsible for the damage to the onion crops were: *Phoma* sp., *Botrytis* sp., *Gliocladium* and *Fusarium oxysporum*. In the greenhouse the greatest percentage of affected plants had *F. oxysporum* (43.3%) and the complex *F. oxysporum* and *Phoma* sp. (40.0%). The association of the mite *R. echinopus* and the fungus *F. oxysporum*, produced the greatest percentage of affected plants (80.0%). Moreover, *R. echinopus* was found to present the most descendents when in the presence of *F. oxysporum* (78 individuals in 72 hours).

Key words: *Rhizoglyphus*. *Phoma*. *Botrytis*. *Gliocladium*. *Fusarium oxysporum*. Pests. Horticulture.

Introducción

La cebolla *Allium fistulosum* (L., 1753), es un cultivo hortícola importante en la economía del municipio de Pasto, donde por las condiciones de clima y suelo la planta se desarrolla adecuadamente, con rendimientos de 6 ton/ha por cosecha, las cuales alcanzan un precio en el mercado local de 12 millones de pesos (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural 2002).

La cebolla junca (también llamada cebolla larga o de rama) alcanza una vida productiva de 10 años y puede ser cosechada tres a cuatro veces por año Jaramillo y Hernández (1983), los productores de esta hortaliza, en su mayoría son minifundistas y realizan un manejo empírico del cultivo en las diferentes etapas de crecimiento y producción, también carecen de conocimientos técnicos en las labores de selección de semilla, fertilización, deshierba, manejo de plagas y enfermedades, muchas de las cuales son limitantes (Pumalpa 1983).

El problema fitosanitario más grave de la cebolla, principalmente en el sur del departamento de Nariño, es el

secamiento de las plantas, debido a pudriciones en la base del tallo y el sistema radical; sin embargo, hasta el momento no se conocen las bases para el manejo de la enfermedad, por no tener un conocimiento exacto de las causas que la ocasionan a pesar de existir evidencias de que se trata de un complejo de hongos y ácaros.

Se caracterizó el complejo hongos-ácaros causante del amarillamiento de la cebolla en las veredas San Francisco y Alianza (Pasto, Nariño) a lo largo de un año. También se determinó el porcentaje de incidencia del amarillamiento en las dos localidades, se identificaron y aislaron diversos hongos y ácaros asociados con dicho amarillamiento, se evaluó el efecto de la interacción entre ellos y se logró establecer la etiología de la enfermedad mediante pruebas de patogenicidad.

Materiales y Métodos

En las localidades San Francisco y Alianza (Pasto, Nariño, Colombia), ubicadas a 2.650 msnm, con temperatura y

¹ Ingeniero Agrónomo. Docente Institución Educativa Técnico San Juan Bautista (Los Andes, Nariño). sinagro@latinmail.com

² Bacterióloga. M. Sc. Microbiología. Docente Universitaria. Universidad Mariana. Pasto. Colombia. Diagonal 16D #2E37 Barrio Miraflores. Teléfono: (092)7325288. Celular: 3007791444. alu2403@gmail.com

precipitación promedio anual de 12°C y 1.100 mm. Se recolectaron muestras de cebolla *A. fistulosum* que presentaron síntomas de pudrición de raíz y pseudotallo, amarillamiento y secamiento de hojas. Para determinar el porcentaje de incidencia se evaluaron cinco fincas por localidad, realizando un recorrido en forma de X en cada una, se contabilizó el número de plantas sanas, plantas enfermas y el número total de plantas. Los porcentajes obtenidos para las dos localidades fueron comparados con la prueba "t" (Montgomery 2002).

Colección e identificación de los ácaros y los hongos. De las plantas de cebolla recolectadas en el campo con síntomas de secamiento se tomaron trozos de tallo con pudriciones suaves y ácaros, se separaron ninfas y adultos y se establecieron las primeras colonias que fueron criadas en cajas petri, en el fondo de cada caja se colocó un papel filtro impregnado con 1 ml de agua destilada y sobre éste se depositaron trozos sanos de pseudotallo, para favorecer la multiplicación de los ácaros. Los ácaros y el pseudotallo fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 3% durante dos minutos.

Para la clasificación de los ácaros se tomaron especímenes presentes en las pudriciones de la cebolla y se colocaron en un recipiente que contenía una solución de alcohol y agua, posteriormente se rotularon y fueron enviados a la Facultad de Agronomía, Universidad Nacional, Palmira, donde se realizó la identificación taxonómica. Para la identificación de los hongos se tomaron raíces, discos basales y pseudotallos que presentaron necrosis, de los cuales se cortaron pequeños trozos, dejando parte de tejido sano y porción muerta, luego fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 3% durante dos minutos y se los depositó en cajas de petri con agar-peptona-glucosa acidificado. Una vez hubo formación de las colonias, con la ayuda de una espátula se tomó parte de la colonia, la cual fue transferida a tubos de ensayo inclinados que contenían agar-peptona-glucosa, las muestras fueron identificadas en el laboratorio de Microbiología de la Universidad de Nariño, teniendo en cuenta los criterios de Booth (1971).

Siembra del material vegetal empleado en los ensayos. En los ensayos se utilizaron plantas de cebolla de 65 días de edad, sembradas en bolsas de polietileno con capacidad de un kilogramo; el sustrato estuvo compuesto por tres partes de tierra y una de arena; este fue esterilizado con formol al 3%.

Prueba de patogenicidad de los ácaros. En este ensayo se utilizaron 90 plantas de cebolla, las cuales se agruparon en un diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento, para cada tratamiento se emplearon diez plantas, en cada una de ellas se descubrió el área radical y se colocaron en la base 20 ácaros (ninfas). Los tratamientos correspondieron a los dos tipos de ácaros identificados en el laboratorio de la Universidad Nacional y un testigo, así: T1 = *Rhizoglyphus echinopus* (Fumouze y Robin, 1868), T2 = *Rhizoglyphus vincatus* Claparède, 1869 y T3 = Testigo (Plantas libres de ácaros). Las evaluaciones se hicieron hasta que las plantas manifestaron síntomas de marchitamiento; la variable evaluada fue porcentaje de plantas afectadas.

Prueba de patogenicidad de los hongos. Para este ensayo se emplearon 240 plantas de cebolla las cuales se agruparon en un diseño de bloques completamente al azar, con ocho tratamientos; Cuatro tratamientos consistieron en la inoculación de los tipos de hongos aislados de las fincas afectadas, tres,

para determinar la acción conjunta de *Fusarium oxysporum* Schlechtendal, 1824 con *Phoma* sp., *Botrytis* sp., y *Gliocladium* sp., y hubo un testigo absoluto así: T1 = *F. oxysporum*, T2 = *Phoma* sp., T3 = *Botrytis* sp., T4 = *Gliocladium* sp., T5 = *F. oxysporum* + *Phoma* sp., T6 = *F. oxysporum* + *Botrytis* sp., T7 = *F. oxysporum* + *Gliocladium* sp. y T8 = Testigo (Plantas sin inoculación de hongos). En cada tratamiento se hicieron tres repeticiones y cada repetición estuvo constituida por diez plantas, los síntomas observados en el campo se compararon con los producidos en las inoculaciones en condiciones de invernadero, la variable analizada fue porcentaje de plantas afectadas. Para las observaciones de los síntomas y reaislamiento de patógenos se aplicaron los postulados de Koch descritos por Agrios (1988).

Prueba de patogenicidad de la interacción ácaros-hongos. Para probar la interacción del daño causado por ácaros y hongos, se realizó un ensayo con cuatro tratamientos donde se inocularon en forma individual ácaros, hongos y conjuntamente ácaros y hongos en plantas de cebolla; se hicieron tres repeticiones por tratamiento y cada repetición estuvo conformada por diez plantas, las cuales se agruparon en un diseño de bloques completamente al azar. La variable evaluada fue porcentaje de plantas afectadas, los tratamientos fueron: T1 = *R. echinopus*, T2 = *F. oxysporum*, T3 = *R. echinopus* + *F. oxysporum* y T4 = Testigo (Plantas sin inoculación).

Reproducción de *Rhizoglyphus echinopus*. Para determinar cual era el medio en el que prosperaban los ácaros *R. echinopus*, se realizó un ensayo conformado por seis tratamientos cada uno con cinco repeticiones. En cajas de petri se colocaron partes de raíz de cebolla, pseudotallo y cuatro colonias de hongos y en cada una se depositaron 20 ácaros adultos.

Los tratamientos se agruparon en un diseño completamente al azar y después de 72 horas se contabilizó el número de descendientes independientemente del estado de desarrollo. Los tratamientos empleados fueron: T1 = *F. oxysporum*, T2 = *Phoma* sp., T3 = *Botrytis* sp., T4 = *Gliocladium* sp., T5 = Raíces de cebolla y T6 = Pseudotallo.

Análisis estadístico. Para todos los ensayos se realizó análisis de varianza y en el caso de encontrar diferencias entre los tratamientos se efectuó la prueba de comparación de medias de Tukey HSD al 95% (SAS Institute 2002). La homogeneidad de las varianzas fue verificada con la prueba de Levene (95%) y los datos fueron normalizados con la fórmula $Y = \text{Arcoseno } \sqrt{\%}$; los valores para el número de descendencias fueron normalizados con la fórmula $\sqrt{Y + 0,5}$ (Steell y Torrie 1989).

Resultados y Discusión

Síntomas y porcentaje de incidencia. En los lotes se encontraron parches de plantas cuyos síntomas fueron: amarillamiento, plantas de menor tamaño con hojas delgadas y de color verde pálido, secamiento progresivo a partir de los extremos apicales. Además la enfermedad progresa rápidamente a partir de pequeños focos de infección.

Las plantas con ataques avanzados presentan menor altura y pocas hojas, las cuales al inicio son flácidas y luego se secan; la parte subterránea manifiesta una deshidratación completa de los tejidos, con secamiento total de las membranas externas. También ocurre secamiento de raíces, necrosis de la corteza y pudrición húmeda de los tallos. Como signo característico se

percibe un olor a fermento, masas miceliales de diferentes tonalidades y abundantes poblaciones de ácaros en diferentes estados de desarrollo lo cual coincide con Cifuentes y Arcos (1987).

Como plantea Smith (1988), con frecuencia los síntomas aparecen solo en uno de los costados del tallo y avanzan hacia la parte superior de la planta, hasta que destruyen el follaje y por último causa la muerte de la planta. El porcentaje de plantas afectadas por el complejo ácaro-hongo en cultivos recién establecidos de cebolla no presentó diferencias estadísticas significativas para las dos localidades, con 11,0% en la vereda Alianza y 14,2% en San Francisco ($t = 0,37$; g. l. = 1; $P < 0,05$) lo mismo sucedió para el cultivo en estado maduro con porcentajes de 43,8% y de 38,4% para la vereda San Francisco y la vereda Alianza respectivamente ($t = 0,37$; g. l. = 1; $P < 0,05$). El porcentaje de incidencia aumentó en los cultivos maduros.

Estas similitudes son posiblemente resultado de prácticas de cultivo similares. Además, la mayor parte de los productores de cebolla en el departamento de Nariño son minifundistas y realizan un manejo empírico del cultivo en las diferentes etapas (Pumalpa 1983). La interacción en un ambiente adecuado, entre una planta y un agente patógeno agresivo determinan el desarrollo de una enfermedad. Esa interacción se conoce por el nombre de patosistema vegetal, cuyo estado depende de factores como la abundancia de unidades del agente infeccioso, la virulencia de las razas de éste, la naturaleza genética del hospedante, la edad de los tejidos de la planta al momento de producirse la infección y las condiciones del medio, que afectan tanto al hospedante como al organismo patógeno (Smith 1988).

Identificación de los ácaros y los hongos. Los ácaros que se encontraban en las plantas de cebolla con síntomas de amarillamiento fueron *R. echinopus* y *R. vincatus*. Los hongos aislados de las plantas afectadas fueron: *F. oxysporum*, *Phoma* sp., *Botrytis* sp. y *Gliocladium* sp.

Prueba de patogenicidad de los ácaros. Esta variable presentó diferencias para los tratamientos ($F = 21,53$; g. l. = 2,6; $P < 0,05$). El mayor porcentaje de plantas afectadas se dio al inocular el ácaro *R. echinopus* (56,7%). No hubo diferencias para el porcentaje de plantas afectadas por el ácaro *R. vincatus* (16,7%) y el testigo (0%).

Estos resultados guardan algunas similitudes con el cultivo de cebolla en países tan diferentes como Israel, Japón y los Estados Unidos donde los principales problemas son *R. echinopus* y *R. robini*, que son especies cosmopolitas. Por otra parte, su amplia gama de hospederos incluye cebolla, ajo, lirios y cereales entre otros. También se alimentan de materia orgánica del suelo; la mayor parte del daño causado por estos ácaros ocurre en las raíces y la placa basal (Jepson 1985). El daño de los ácaros es más grave en las plántulas de cebolla (Booth 1971), las plantas severamente dañadas eventualmente pierden sus raíces y se vuelcan. El daño también se manifiesta con infecciones de patógenos fungos y bacteriales que pueden entrar por las heridas abiertas por los ácaros.

Prueba de patogenicidad de los hongos. Se encontraron diferencias entre estas variables ($F = 8,65$; g. l. = 6,6; $P < 0,05$) Al inocular las plantas con los hongos *F. oxysporum*, *F. oxysporum* más *Phoma* sp. y *F. oxysporum* más *Botrytis* sp. se obtuvo los mayores porcentajes de incidencia con 43,3%, 40,0% y 30,0% respectivamente, sin presentar diferencias entre

sí. Pero si hay diferencias con respecto a la inoculación de los hongos *Botrytis* sp., *F. oxysporum* más *Gliocladium* sp., *Phoma* sp. y *Gliocladium* sp., los cuales incluso presentaron porcentajes de mortalidad de 6,7%, 3,3%, 3,3% y 0% respectivamente. Los anteriores tratamientos no presentaron diferencias entre sí.

El mayor porcentaje de plantas afectadas se dio con la inoculación de *F. oxysporum*, posiblemente por la capacidad del hongo para desdoblar polímeros químicamente complejos como la lignina y la queratina. Garret (1982), describe a *Fusarium* sp. como parte de los hongos celulocíticos, los cuales realizan la mayor parte de la descomposición, utilizando la celulosa y la hemicelulosa, materiales que comprenden hasta el 70% de la pared celular de la planta. Las interacciones de *F. oxysporum* con *Phoma* sp. y *Botrytis* sp., también presentan mortalidades altas, debido posiblemente a que estos hongos no presentaron interferencia en su desarrollo. Toda especie de hongo difiere de otra al menos en algún aspecto de su comportamiento, de tal manera que ellas pueden coexistir (Hudson 1988).

Patogenicidad de la interacción ácaros-hongos. El ANAVA para esta variable presentó diferencias para los tratamientos ($F = 18,22$; g. l. = 3,8; $P < 0,05$). Las plantas inoculadas con el ácaro *R. echinopus* más *F. oxysporum* tuvieron el mayor porcentaje de plantas afectadas (80,0%), sin presentar diferencias con respecto a las inoculadas individualmente con *F. oxysporum* y *R. echinopus*, (60,0% y 53,3% respectivamente). Los tratamientos anteriores presentan diferencias con respecto al testigo en el cual no hubo plantas afectadas.

La interacción *R. echinopus* más *F. oxysporum* presenta el mayor porcentaje de plantas afectadas debido posiblemente a que el ácaro facilita la entrada del hongo, haciendo que los compuestos de lignina presentes en la planta sean más asimilables para el hongo. *F. oxysporum* es un saprofito del suelo que ataca los sistemas radicales, aprovechando daños mecánicos o heridas causadas por insectos, en muchos casos se presenta en la planta como síntomas externos del ataque de estos organismos (Callow 1992).

Las enzimas producidas por algunas especies de *Fusarium* sp. no llegan a afectar los compuestos de "protección" de la planta como la celulosa (Mace 1981), estos organismos se valen de animales que ingieren parte del material original con las hifas del hongo que luego los depositan en sus heces. Al hacerlo, los animales trituran el material, haciéndolo más accesible a los microorganismos. En alguna etapa de su vida todos los microorganismos resultan afectados por las actividades de otros organismos Park (1987), por esta razón es de esperarse encontrar una cantidad de interacciones muy variadas. Algunas son indirectas, como cuando un organismo hace que un sustrato quede fácilmente disponible para otro.

Reproducción de *Rhizoglyphus echinophus*. Para esta variable el ANAVA presentó diferencias entre los tratamientos ($F = 6,57$; g. l. = 5,12; $P < 0,05$). Se encontró que el mayor número de ácaros se dio en el medio que contenía el hongo *F. oxysporum* con 78 individuos, sin presentar diferencias estadísticas significativas con los tratamientos que contenían *Botrytis* sp., *Phoma* sp., pseudotallo y *Gliocladium* sp., los cuales tuvieron 52, 36,4, 26,7 y 19,7 individuos respectivamente; el tratamiento en el cual se usó como medio de cultivo raíz de cebolla, fue el que tuvo el menor promedio con 2,7 individuos, presentándose diferencias estadísticas

significativas con el medio de cultivo que contenía *F. oxysporum*.

Lo anterior hace suponer que *R. echinophus* se encuentra directamente relacionado con la presencia de hongos, preferentemente con *F. oxysporum* pudiéndose encontrar un efecto sinérgico entre ellos, de acuerdo con el número de descendientes obtenidos al someter *R. echinophus* al medio con *F. oxysporum* se puede afirmar que el ácaro se alimenta del hongo o parte de él ya que el número de ácaros está directamente relacionado con el tipo de alimento del que dispone un organismo.

Literatura Citada

- AGRIOS, G. 1988. Plant pathology. Academic press, Inc. New York: 3th. Ed. 803 p.
- BOOTH, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Surrey, England. 18 p.
- CALLOW, J. 1992. Advances in botanical research. Burgess Publishing Company, Minnesota. 99 p.
- CIFUENTES, H.; ARCOS, E. 1987. Reconocimiento de ácaros, hongos y nematodos en el secamiento de la cebolla de rama *Allium fistulosum* (L.) en el Departamento de Nariño. Pasto, Colombia. Trabajo de grado de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas. 62 p.
- GARRET, L. 1982. Microbiología. Mc Graw-Hill, México. Segunda edición. 826 p.
- HUDSON, H. 1988. New phytologist. Mc Graw-Hill, New York. 900 p.
- JARAMILLO, M.; HERNÁNDEZ, F. 1983. Raíz rosada de la cebolla de rama *Allium fistulosum* (L.) y su distribución en el departamento de Nariño. Pasto, Colombia. Trabajo de grado de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas. 42 p.
- JEPSON, L. 1985. Mite injuries to economic plants. University of California press, EUA. 614 p.
- MACE, M. 1981. Fungal wilt diseases of plants. Academic press, New York. 230 p.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. 2002. Consolidado Agropecuario, Acuícola y Pesquero. Secretaría de Agricultura y Medio Ambiente. Gobernación de Nariño. 76 p.
- MONTGOMERY, D. 2002. Diseño y análisis de experimentos. Limusa S.A. Segunda edición. Mexico, D.F. 686 p.
- PARK, D. 1987. Ecology of soil fungi. Liverpool: University press. 233 p.
- PUMALPA, J. 1983. Identificación de problemas fitopatológicos del cultivo del ajo (*Allium sativum* L.) su distribución e incidencia en el departamento de Nariño. Trabajo de grado de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas. 87 p.
- SAS INSTITUTE. 2002. SAS Procedures Guide, Version 9. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- SMITH, I. 1988. European handbook of plant diseases. Blackwell Scientific Publications. Oxford. 583 p.
- STEELL, R.; TORRIE, J. 1989. Bioestadística, principios y procedimientos. Mac Graw-Hill. México. Segunda edición. 642 p.

Recibido: 10-jul-2006 • Aceptado: 22-oct-2007