UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

# COMPARACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE POBLACIONES LOCALES Y VARIEDADES DE CEBOLLA A PODREDUMBRES DE BULBOS EN POSCOSECHA.

por

Alvaro ALONSO LA CRUZ
Gustavo RIVA CAROZO

TESIS presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Ingeniero Agrónomo. (Orientación Producción Vegetal Intensiva).

MONTEVIDEO
URUGUAY
1999

Tesis aprobada por:

Director: Ing. Agr. Vivienne Gepp

Nombre completo y firma

Ing. Agr. Fernanda Zaccari

Nombre completo y firma

Ing. Agr. Cristina Paggani

Nombre completo y firma

Fecha: 19/7/99

Autor: Alvaro Alonso

Nombre completo y firma

Gustavo Riva

Nombre completo y firma

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a todas las personas que han colaborado en nuestros estudios, en particular a nuestra directora de tesis Ing. Agr. Vivienne Gepp. A la Cátedra de Horticultura, en especial a la Ing. Agr. Fernanda Zaccari y a la Ing. Agr. Serrana Sollier por su colaboración. Al Departamento de Documentación y Biblioteca por el aporte brindado.

# TABLA DE CONTENIDO


| | Página |
|---|---|
| PAGINA DE APROBACION | II |
| AGRADECIMIENTOS | III |
| LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES | IV |
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2. REVISION BIBLIOGRAFICA | 2 |
| 2.1. FISIOLOGIA DE POSCOSECHA | 3 |
| 2.1.1. Maduración del bulbo | 3 |
| 2.1.2. Dormición | 3 |
| 2.1.3. Brotación y enraizamiento | 4 |
| 2.1.4. Respiración y transpiración | 5 |
| 2.2. PATOLOGIA DE LA POSCOSECHA | 6 |
| 2.2.1. Pudriciones por hongos | 6 |
| 2.2.1.1. Podredumbre de cuello, *Botrytis* sp | 6 |
| 2.2.1.2. Capas de *Aspergillus* sp y *Penicillium* sp | 9 |
| 2.2.1.3. Pudrición basal, *Fusarium oxysporum* | 11 |
| 2.2.1.4. Pudrición blanca, *Sclerotium rolfsii* | 12 |
| 2.2.1.5. Pudrición blanca, *Sclerotium cepivorum* | 13 |
| 2.2.1.6. Raíz rosada, *Pyrenochaeta terrestris* | 13 |
| 2.2.1.7. Mancha, *Colletotrychum circinans* | 14 |
| 2.2.2. Pudriciones por bacterias | 14 |
| 2.2.2.1. *Erwinia* sp | 15 |
| 2.2.2.2. *Pseudomonas* sp | 15 |
| 2.3. IDENTIFICACION DE BACTERIAS | 17 |
| 2.4. INFLUENCIA DE LAS VARIACIONES GENETICAS | 20 |
| 3. MATERIALES Y METODOS | 22 |
| 3.1. MATERIALES | 22 |
| 3.2. METODOS | 22 |
| 3.2.1. Diagnóstico presuntivo de la enfermedad | 24 |
| 3.2.2. Aislamiento e identificación de hongos | 25 |
| 3.2.3. Aislamiento e identificación de bacterias | 25 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSION | 28 |
| 4.1. IDENTIFICACIÓN DE PATOGENOS | 29 |
| 4.1.1. Identificación de hongos | 29 |
| 4.1.2. Identificación de bacterias | 30 |
| 4.2. ANALISIS CUANTITATIVO | 32 |
| 4.2.1. Análisis global | 32 |

Tabla de contenido (continuación)

Página


4.2.1.1. Descarte total ..... 32
4.2.1.2. Descartes mensuales para cada material ..... 34
4.2.1.3. Descartes mensuales para los tres materiales ..... 37
4.2.1.4. Análisis de pérdida de peso ..... 39
4.2.2. Descarte por hongos ..... 40
4.2.3. Descarte por bacteria ..... 46
4.2.4. Descarte por causas fisiológicas ..... 51

5. CONCLUSIONES ..... 54

6. RESUMEN ..... 56

7. SUMMARY ..... 57

8. BIBLIOGRAFIA ..... 58

9. ANEXO ..... 60

# LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES


Cuadro N°
Página

1. Resultados de los análisis de las bacterias..... 31

2. Porcentaje de bulbos descartados para los tres materiales durante el período de almacenaje..... 33

3. Resultado del análisis estadístico del descarte total por mes para los tres materiales..... 38

4. Resultados del análisis estadístico de bulbos descartados por Aspergillus niger. (valores acumulados al mes de julio)..... 42

5. Resultados del análisis estadístico de bulbos descartados por hongos (valores acumulados al mes de julio)..... 45

6. Resultados del análisis estadístico de bulbos descartados por bacteria (valores acumulados al mes de julio)..... 50

7. Resultados del análisis estadístico de bulbos descartados mensualmente por brotado..... 51

Figura N°
Página

1. Incidencia relativa de las diferentes causas de descarte en Valcatorce para todo el periodo de almacenamiento. (porcentaje en número de bulbos descartados)..... 35

2. Incidencia relativa de las diferentes causas de descarte en 8818 para todo el período de almacenamiento. (porcentaje en número de bulbos descartados)..... 36

3. Incidencia relativa de las diferentes causas de descarte en Regeneración Exploratoria para todo el período de almacenamiento.(porcentaje en número de bulbos descartados).. 37

4. Número de bulbos totales descartados..... 37

Figura N° Página


5. Promedio de perdida de peso por descarte (grs/kg. Referido al peso inicial)..... 39
6. Promedio de perdida de peso acumulado (grs/kg. referido al peso inicial)..... 40
7. Bulbos descartados por *Aspergillus niger* durante 5 meses de almacenamiento..... 41
8. Bulbos descartados por *Aspergillus niger* durante 5 meses de almacenamiento. (Valores acumulados) ..... 41
9. Número de bulbos descartados mensualmente por Penicillium sp..... 43
10. Número de bulbos descartados por *Penicillium* sp. (valores acumulados)..... 44
11. Número de bulbos descartados por hongos durante el almacenamiento. (valores acumulados)..... 45
12. Número de bulbos descartados por *Erwinia* sp..... 46
13. Número de bulbos descartados por *Erwinia* sp. (Valores acumulados)..... 47
14. Número de bulbos descartados mensualmente por *Pseudomonas* sp..... 48
15. Número de bulbos descartados por *Pseudomonas* sp. (gráfico acumulado) ..... 49
16. Número de bulbos descartados por bacteria durante todo el período de almacenamiento (valores acumulados)..... 50
17. Número de bulbos descartados por brotado durante los 5 meses de almacenamiento..... 52
18. Número de bulbos descartados por brotado (valores acumulados)..... 53

# INTRODUCCION

En el Uruguay la cebolla es el cuarto cultivo más importante en la producción hortícola, siendo la superficie sembrada según el censo de 1990 de 2893 hectáreas, no existiendo grandes modificaciones en los últimos años. Los rendimientos promedio son del orden de los 7802 kg/há.

El abastecimiento al mercado interno de cebolla se realiza a partir de bulbos almacenados por los productores. El mayor inconveniente para dicha práctica es la perdida ocasionada por factores patogénicos y fisiológicos. La incidencia de estos factores depende principalmente de la variedad, condición de producción y almacenamiento.

Aproximadamente la mitad del área sembrada del cultivo de cebolla se realiza utilizando semilla producida en forma casera por el productor (Dogliotti y Tomassino, 1991). Este importante porcentaje se hace con poblaciones locales que tienen su origen en antiguas variedades comerciales. El resto de la producción se hace con variedades importadas, en especial el cultivar argentino Valcatorce INTA.

A partir del año 1987, la Facultad de Agronomía a través de la Cátedra de Horticultura, lleva a cabo un programa de evaluación, selección y mejoramiento genético de poblaciones locales de cebolla. Las conclusiones presentadas por Galván et al (1984), indican que los tipos locales de cebolla de Uruguay presentan adaptación al medio ambiente, expresada a través del rendimiento y su capacidad de conservación poscosecha, teniendo sentido su utilización en el mejoramiento genético.

Este trabajo integra una serie de estudios sobre poblaciones locales realizados por la Cátedra de Horticultura de la Facultad de Agronomía. Una de las principales características a evaluar, es su susceptibilidad a aquellas enfermedades que provocan pudriciones de bulbos en la etapa de almacenamiento.

Los objetivos del presente trabajo fueron: determinar mensualmente los patógenos y causas fisiológicas responsables de descarte en poscosecha de tres materiales genéticos (Sintética N°14; 8818 y Regeneración Exploratoria), y comparar las perdidas entre dichos materiales. Durante el ensayo los bulbos fueron almacenados en condiciones similares a las utilizadas por los productores.

# REVISION BIBLIOGRAFICA

El cultivo de cebolla tiene una amplia distribución, siendo una hortaliza importante consumida en la mayor parte del mundo.

La cebolla pertenece a la familia de las liliáceas, género *Allium,* especie *cepa*. Según Jones y Mann (1963), la cebolla común pertenece al grupo uno de su clasificación, var. Typicum.

Esta se caracteriza por producir bulbos grandes y generalmente únicos, inflorescencia sin bulbillo, y plantas producidas por semillas verdaderas.

La cebolla es una planta bienal, cultivada como anual. Con sistema radicular de tipo fascicular, posee un disco subcónico que presenta un tallo con entrenudos muy cortos que constituyen la base del bulbo. (De Sancho, 1993).

Según De Sancho, (1993), la cebolla es una especie invernal de día largo por ser la bulbificación inducida al alargarse la longitud del día. Garner y Allard, (1963), citados por el mismo autor, realizaron una experiencia en la que analizó la respuesta al fotoperíodo. En la misma se determinó el valor crítico del fotoperíodo para la variedad utilizada.

La influencia del fotoperíodo permite dividir las variedades de cebolla en dos grupos: "de día corto" y "de día largo" (Sobrino y Sobrino, 1992).

Las variedades de día corto requieren un fotoperíodo mínimo crítico que dependiendo del cultivar puede ser de 10 a 12 horas de luz, mientras que las variedades de día largo necesitan más de 13 horas de luz. Si bien el fotoperíodo es el principal factor desencadenante de la bulbificación, también actúan la temperatura, tamaño de la planta, densidad y nutrición nitrogenada (Curso de Horticcultura, Fac. Agronomía, 1995).

La floración es inducida por factores ambientales, cuando estos son favorables, el corto ápice deja de producir primordios foliares comenzando la formación de la inflorescencia. Hay un alargamiento del tallo llevando en su extremo la umbella. Los factores desencadenantes de la floración son la acumulación de frío y el tamaño de la planta (Jones y Mann, 1963).

En condiciones normales de cultivo la floración se produce durante el segundo año, siendo indeseable la floración prematura (en el primer año), por desmerecer la calidad comercial del bulbo (De Sancho, 1993).

La producción comercial de cebolla se restringe al primer año del ciclo, con el objetivo de obtener bulbos maduros ya sea para la venta inmediata o para la conservación y posterior comercialización.

## FISIOLOGIA DE POSCOSECHA

### Maduración del bulbo.

Al llegar la planta a la madurez ésta deja de producir hojas. La parte aérea aún verde comienza a doblarse e inclinarse a medida que los tejidos del cuello se debilitan (Jones y Mann, 1963).

La terminación de iniciación de hojas ocurre aproximadamente al tiempo que la parte alta de la planta se cae (Aoba, citado por Komochi, 1990).

Stow, citado por Komochi (1990), realizando estudios sobre el momento óptimo de cosecha detectó una sustancia inhibidora de la brotación en hojas verdes, planteando la hipótesis de que ésta es sintetizada y movilizada hacia los bulbos. Rickard y Wickens, citados por el mismo autor, trabajando con el cultivar Rinsjburjer determinaron que el tiempo de cosecha para la menor brotación se da cuando el cultivo alcanza el 80% de follaje caído.

Según Komochi (1990), el momento de cosecha es determinante del tiempo de almacenamiento, Siendo dicho momento el que determina la concentración de sustancias inhibidoras de la brotación que son translocadas a los bulbos, este momento se da cuando el cultivo llega del 50 al 100% de caída del follaje.

Paralelamente al aumento de los inhibidores de brotación, siendo identificado entre estos el ácido abcisico, se han determinado niveles muy bajos de auxinas, giberelinas y citoquininas. Esto concuerda con la opinión de que la inhibición de la brotación esta determinada por un balance hormonal (López, 1992).

### Dormición:

Con la maduración el bulbo entra en estado de dormición. Se distingue un estado de "dormición absoluta" o "período de reposo", en el que el bulbo no brota aunque las condiciones ambientales sean óptimas para ello, es decir que se debe a factores internos de la planta, y un estado de "dormición relativa" o "quiescencia", en que la dormición se prolonga como

consecuencia de condiciones ambientales no favorables para la brotación (De Sancho, 1993).

Abdalla y Mann, citados por Komochi, (1990), concluyeron que la finalización de la dormancia no es abrupta sino que disminuye gradualmente con el almacenamiento, siendo más rápida cuando este se da con temperaturas medias del orden de los 15 a 20°C.

**Brotación y enraizamiento:**

La brotación es el crecimiento y elongación de los primordios de hoja presentes en el bulbo al momento de la cosecha. Este proceso comienza varias semanas antes de hacerse visibles en el exterior del bulbo (Jones y Mann, 1963).

El factor desencadenante del proceso de brotación es la temperatura, mediante el manejo de este factor se logra prolongar la duración en el almacenamiento. La brotación más temprana ocurre después de almacenamientos a temperaturas de 15 a 20°C, y el más tardío cuando las temperaturas fueron de 0 o 30°C (Komochi, 1990).

Wright et al. citados por Komochi, (1990), demostró que la brotación era poco afectada por la humedad relativa.

Tanaka et al citados por Komochi, (1990), comparando brotaciones de tres cultivares bajo condiciones secas (65 a 75% de HR) y húmedas (95% de HR) determinaron que las humedades no tenían un efecto consistente sobre el brotado.

Sin embargo, Ogata, citado por Komochi (1990), reportó que cuando los bulbos eran almacenados bajo condiciones de humedad el proceso de brotación se veía acelerado.

Wright et al. citado por Komochi (1990), almacenó bulbos en humedades bajas, medias y altas, hallando tasas de enraizamiento más altas con las humedades más altas, pero no encontró una clara relación con temperaturas del rango de 0 a 10°C y enraizamiento.

Según Komochi, (1990), es generalmente recomendado que la humedad en almacenamiento sea mantenida entre 70 y 75% de HR, no solo por la supresión del enraizamiento, sino también por la protección contra pudriciones.

El efecto de la temperatura sobre el enraizamiento es bastante similar al efecto sobre la brotación, excepto que las temperaturas óptimas para

enraizar son algo más bajas que para brotar (Kamarkar y Joshi; y Abdalla y Mann, citados por Komochi, 1990).

**Respiración y transpiración.**

La respiración es un proceso oxidativo por el cual complejos substratos almacenados en las células son degradados a moléculas más simples ($CO_2$ y $H_2O$) con la liberación de energía, la que es utilizada en las reacciones metabólicas necesarias para mantener la organización celular, la permeabilidad de las membranas, así como el transporte de los metabolitos dentro de los tejidos.

La respiración implica una pérdida de reservas almacenadas con la consiguiente disminución del valor energético y alimenticio del producto. Aunque la tasa de respiración es mucho más lenta que en la mayoría de las hortalizas, el largo período de almacenaje al que ella se ve frecuentemente sujeta (6 a 8 meses), hace que las perdidas en materia seca lleguen a ser considerables (Jones y Mann, 1963).

Tuker y Drew (1982), reportaron que los cultivares de brotación tardía tenían una tasa más baja de respiración que los de brotación temprana durante el período de descanso. También encontraron una alta correlación entre la tasa de respiración en enero y la brotación en junio, señalando que la tasa de respiración es controlada por la profundidad de la dormancia.

La tasa respiratoria de un determinado lote de cebolla depende de la temperatura de almacenamiento. En cebolla "Southport white globe" mantenida a nueve temperaturas entre 0 y 40°C, la tasa respiratoria aumentaba a través de todo este rango (Jones y Mann, 1963).

El proceso de transpiración consiste en la perdida de agua del bulbo, este transpira principalmente en las superficies internas de las escamas y el vapor de agua fluye hacia fuera a través del cuello. Las mayores pérdidas de agua para todos los cultivares estudiados se dieron inmediatamente luego de la cosecha para posteriormente volverse constantes a niveles más bajos. La perdida de agua era mas baja en cultivares de largo almacenamiento que en otros cultivares durante todo el período de poscosecha (Woodman y Barnell citados por Komochi, 1990).

La transpiración es uno de los principales procesos que afecta el deterioro comercial y fisiológico de las frutas y hortalizas en poscosecha. La desecación influye en la apariencia, textura y peso fresco del producto, y en algunos casos, en el sabor. En el caso de la cebolla, ésta pierde su valor comercial cuando la pérdida de agua alcanza el 10% del peso fresco de la cosecha. A menos que el aire que rodea al producto almacenado esté con

iguales condiciones de humedad y temperatura, siempre va a existir transpiración (López, 1992).

## PATOLOGIAS DE LA POSCOSECHA

Si bien la cebolla es de regiones cálidas, ha sido distribuida a lo ancho del mundo por inmigrantes europeos. Debido a los cambios de clima y sistemas de cultivo, ha sufrido en las diferentes áreas un incremento de las pestes, lo que condujo a realizar mejoras en los cultivares, en la cosecha de granja y en los métodos de almacenamiento, desencadenando una expansión en la cosecha de los bulbos de cebolla. Esto viene acompañado por un aumento de las pestes de poscosecha, destacándose entre ellas enfermedades causadas por hongos y bacterias (Maude, 1990).

### Pudriciones por hongos.

Los hongos más frecuentes que afectan a la cebolla en poscosecha son: *Botrytis* sp. , *Aspergillus niger* y *Aspergillus alliaseus*, *Penicillium* sp. Dentro de los menos frecuentes se encuentran: *Sclerotium cepivorum, Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae, Pyrenochaeta terrestris* y *Colletotrichum circinans* (Maude, 1990)

Podredumbre de cuello, *Botrytis* sp.

El género *Botrytis* se caracteriza por presentar conidióforos largos, delgados, hyalinos o pigmentados, ramificados, a veces dicotómico cerca del vértice. Las células apicales se agrandan o redondean, soportando los racimos de conidios en esterigmas cortos. Los conidios son hyalinos o de color ceniza, gris en masa, unicelulares, ovoides. Frecuentemente produce esclerotos negros irregulares. *Botrytis* sp. puede tener actividad parasítica causando "moho gris" en muchas plantas o saprofítica, según la descripción de Barnett, (1960).

*Botrytis alli* fue el nombre dado en 1917 por Mann al hongo que causaba enfermedad en el cuello de la cebolla en Michigan y New York. Basados en observaciones de detalle, tamaño y forma de los conidios concluyó que este hongo era diferente de las otras especies de *Botrytis.*

Walker, citado por Maude (1990), confirmó la descripción de Mann sobre *B. alli* y describió a *B. bysoidea*, siendo este último el patógeno más

importante en ciertas regiones de EE.UU en el pasado. No obstante *B. alli* parece ser la mayor causa de pudrición de cuello a nivel mundial. Las características del crecimiento de *B. alli* descriptas por Presly, citado por Maude (1990), son: conidióforos compactos, densos y de tallo simple y usualmente terminados como una cabeza de fialides enramada con conidios unicelulares elipsoidales. No existe estado sexual, los esclerotos son producidos en los tejidos del cuello de la cebolla, aunque no son usualmente producidos en cultivo. Estos esclerotos tienen la posibilidad de germinar para producir el estado de conidioforo.

A las características de *B. bysoidea* descriptas por Walker, se le debe adicionar que las esporas son un poco más largas y elipsoidales que los conidios de *B. alli*. Este hongo también produce esclerotos los que son de dimensiones y funciones similares a *B. alli* (Maude, 1990).

*B. squamosa*, según Maude (1990), es fundamentalmente un patógeno foliar, aunque puede producir pequeñas pudriciones escleróticas en el cuello de cebollas de pieles blancas. Este hongo produce grandes conidios y pequeños esclerotos.

Aunque generalmente los bulbos son infectados con el hongo en el campo, rara vez se manifiesta hasta que se quitan las hojas de la cebolla, se embolsa y se cura por unos días en el campo. Cultivos que aparecen sanos al momento de la cosecha pueden ser infectados casi totalmente mientras se están curando en el mismo. Generalmente, la enfermedad no se hace evidente hasta algún tiempo después que los bulbos han sido almacenados (Jones y Mann, 1963).

Después de ocho a diez semanas de comenzado el almacenamiento, los cuellos de los bulbos afectados se ablandan y debajo de la piel de la cebolla una masa de esclerotos negros de uno a cinco milímetros de diámetro se desarrollan. Los conidióforos del hongo producen una capa gris en los costados del bulbo. Cuando éstos son cortados los tejidos infectados aparecen marrones. En algunos casos los costados de los bulbos e incluso las raíces pueden ser afectadas independientemente de los cuellos. Los dos patógenos, *B.alli* y *B. bysoidea*, pueden atacar todo tipo de cebolla, incluyendo la de piel marrón, blanca y roja (Maude, 1990).

Las principales fuentes de inóculo que se detectaron son: la semilla infectada, los campos con restos de cultivos infectados, cebolla almacenada y pilas de descarte. En los primeros años de la década del 70 fue demostrado en el Reino Unido que muchos ejemplares de semilla comercializadas portaban *B. alli*, y que estas semillas transmitían la enfermedad en la emergencia a los plantines. Existen evidencias de que el hongo podría crecer en los tejidos vivientes de la hoja o que podría

permanecer en un estado quiescente transformándose en tejido activo en la senescencia del follaje, y así infectar el cuello del bulbo. Por otro lado, los restos esparcidos de cebolla en el suelo, con o sin restos de esclerotos, fueron identificados como una potencial fuente de inóculo siendo estos medios muy importantes cuando no existe una adecuada rotación de cultivos (Maude, 1990).

Contrario a la creencia general, la enfermedad no se extiende a los bulbos adyacentes. La cubierta externa es una barrera a la expansión por contacto porque las láminas externas secas de los bulbos no soportan el crecimiento de *B. alli*. Sí existe aumento de la enfermedad en los tejidos ya afectados (Snowdon, 1991).

Los machucamientos durante la cosecha o daños mecánicos, podrían aumentar la pudrición de cuello en bulbos almacenados, posiblemente por infección de los bulbos dañados en el campo o por contacto de los tejidos expuestos en almacenamiento (Maude, 1990).

Las medidas de control recomendadas para *B. alli* son fundamentalmente el tratamiento a la semilla con fungicidas sistémicos. En Checoslovaquia en 1979 los tratamientos de semilla con fungicidas sistémicos redujeron la pudrición de cuello en bulbos almacenados desde 57,5 a 3,5 % aumentando la cosecha en 114%. Otro de los métodos de control hace énfasis en el secado o curado de las cebollas luego de la cosecha. El tratamiento con temperaturas del orden de lo 30 a 36° C durante 7 días inmediatos a la cosecha es usado en Nueva Zelandia para curar cebolla, estas temperaturas previenen el crecimiento miceliar de *B alli*. Esas temperaturas no deben ser superadas porque pueden provocar daño a los bulbos. Como *Botrytis* spp. puede permanecer en el suelo de un año al otro en restos de cultivo, es conveniente realizar rotación de cultivos eliminando además toda fuente de inóculo. Se ha observado que *B. alli* ocurre menos frecuentemente en cultivares pungentes y coloridos que en aquellos blancos y de baja pungencia (Maude, 1990).

Observaciones parecen indicar que cultivares de cuello delgado son menos propensos a sufrir esta podredumbre que aquellos de cuello amplio, pues curan mejor. Por otro lado los cultivares que maduran con temperaturas altas tienen menor probabilidad de ser afectadas ( Jones y Mann, 1963).

En estudios realizados por la Cátedra de Horticultura de la Facultad de Agronomía donde se evaluaron diferentes poblaciones locales colectadas por dicha cátedra, no se detectó la presencia de *Botrytis* sp. causando pudriciones de cuello (Sollier y Aldabe, 1995).

Capas de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp.

*Aspergillus* sp. es un hongo ampliamente distribuido que prospera a altas temperaturas ( 30 a 45° C ). Existen tres especies de importancia que afectan a la cebolla: *Aspergillus niger, Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus aliaceus* (Maude, 1990).

Según la descripción de Barnett, (1960) *Aspergillus* sp. presenta conidióforos erectos, simples, terminando en una hinchazón globosa o clavada, llevando fiálides en el vértice o radiando desde la superficie entera conidios unicelulares, globosos, frecuentemente de colores variados, en masa, dispuestos en cadenas basípetas secas.

Capa negra o carbonilla. *Aspergillus niger*: Este hongo está ampliamente distribuido prosperando sólo a altas temperaturas (mayores a 30°C) y humedad relativa alta ( mayor a 80 %). Es por tanto, de importancia en regiones tropicales y en países con una estación de crecimiento calurosa como en Australia, Japón, España, Chile y los Estados sureños de U.S.A (Snowdon, 1991).

*Aspergillus niger* infecta los cuellos de cebolla y ocasionalmente penetra los lados y la base del bulbo donde el daño a las pieles secas expone las catáfilas de almacenamiento. La infección de las catáfilas de cebolla resulta en la producción de un micelio blanco en el cual se producen las cabezas conidiales de color marrón o negro que le dan el nombre a la enfermedad. El hongo ocurre como un patógeno primario aunque la pudrición podría incrementarse por la presencia de otros organismos (Maude, 1990).

En un trabajo realizado por la Cátedra de Horticultura se describió a *Aspergillus niger* provocando manchas de color negro, parecidas a un tiznado en las catáfilas externas o entre dos catáfilas, siendo sus esporas facilmente observables al microscopio.

Según Bonner, citado por Maude (1990), las temperaturas óptimas y humedades para la germinación y el crecimiento de *Aspergillus niger* son de 30°C a 100% de HR y 40° C a 93% de HR.

*Aspergilus niger* es un patógeno débil en las catáfilas de los bulbos de cebolla. Sustancias fenólicas en cebollas de piel marrón aumentan su susceptibilidad al patógeno. En el Reino Unido el hongo falló en infectar catáfilas de bulbos almacenados que estaban intactas, pero al final invadieron las catáfilas lastimadas mantenidas a humedad relativa por encima de 80% y temperatura de 30°C (Maude, 1990).

Las principales fuentes de inóculo de esta enfermedad son las semillas y el suelo. El hongo presente en le suelo es considerado como el mayor medio de infección para *Aspergillus niger* en el sur de Texas, con el subsecuente progreso de la infección relacionada a la caída de lluvia antes de la cosecha y a la alta humedad relativa en almacenamiento (Snowdon, 1991).

Para el control de esta enfermedad, se recomienda hacer un tratamiento con fungicida en preplantación a la semilla, y como medida de manejo en poscosecha es conveniente un rápido secado tratando de combinar temperturas por debajo de 30°C y humedades relativas menores del 80%. La temperatura debe ser reducida por debajo de los 25°C dentro de dos o tres días posteriores (Snowdon, 1991).

Capa azul verdosa, *Aspergillus fumigatus:* Según Maude (1990), este hongo se encuentra presente en la microflora de las hojas de cebolla, pero en poscosecha (en el secado) usualmente no se produce la temperatura y humedad requerida por el patógeno para ocasionar la pudrición. Sin embargo ha sido observado en el Reino Unido en bulbos almacenados, particularmente en aquellos expuestos a altas temperaturas de secado. Esta respuesta se correlaciona bien con su crecimiento in vitro.

Capa amarilla, *Aspergillus aliaceus: Aspergillus aliaceus* ocurre sobre cebolla importada de países de clima muy calurosos. En el presente, el progreso de la infección es similar al de *A. niger* excepto que el hongo produce conidios amarillos y esclerotos negros sobre el tejido afectado. Temperaturas de 28° a 32°C resultan en el progreso más rápido de la infección (Walker et al, citado por Maude, 1990).

*Penicillium* spp. , moho azul: La pudrición de moho azul es causada por varias especies de *Penicillium*. Ha sido reportada en almacenamiento en Nueva Zelandia, Inglaterra, Finlandia y Alemania, generalmente como una causa menor de pérdidas. Los mohos de *Penicillium* generalmente causan una pudrición húmeda y blanda en la superficie. Atacan el cuello de cebollas y tejido de bulbos dañados (Maude 1990 ; Snowdon 1991 ).

Según lo describió Barnett, (1960), *Penicillium* spp presenta conidióforos creciendo de manera solitaria desde el micelio, enramados, penicilados, terminados en fiálides, conidios hialinos o coloreados, brillantes

en masa, unicelulares, mayormente globosos u ovoides en cadenas secas basípetas.

*Penicillium* spp. son frecuentemente encontrados contaminando semillas de cebolla, pero la importancia de esto en la pudrición de bulbo en almacenamiento no es conocida (Kudrina, citado por Maude 1990).

Las medidas de control incluyen tratamientos con fungicidas a las semillas, tratamientos químicos al suelo antes de la plantación y un pronto secado de los bulbos cosechados (Snowdon, 1991).

La reducción de las lesiones mecánicas disminuye la importancia de *Penicíllium* spp (Cebras, 1991).

*Fusarium oxysporum*, pudrición basal.

Las pudriciones basales de bulbos ocurren en muchos países, pero tienden a estar asociadas con condiciones cálidas de crecimiento. Han sido reportadas sobre cebolla en Sud Africa, Italia, Japón y U.S.A. (Snowdon, 1991).

La pudrición basal ha sido relacionada a varias especies de *Fusarium* en el pasado, actualmente se ha demostrado que el patógeno causante es *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. Es una enfermedad de climas cálidos con temperaturas óptimas para su desarrollo de 28° a 32°C. Este hongo presenta la capacidad de permanecer en el suelo en donde el cultivo de cebolla ha crecido por muchos años con poca o nula rotación de cultivos (Anon, citado por Maude 1990).

Los signos en bulbos almacenados incluyen una masa de moho blanco, algunas veces acompañada por un tinte rosado en la base del bulbo; las raíces pueden tener pudriciones más adelante. Un decaimiento semiacuoso progresa en el interior del bulbo; durante el almacenamiento prolongado, éste se marchita y se momifica (Shalaby et al, citado por Snowdon 1991).

Este hongo no produce esclerotos distinguiéndolo ésto de la pudrición blanca (Maude, 1990).

Según lo describió Barnett (1960), *Fusarium* spp presenta un micelio extenso y algodonoso en cultivo, frecuentemente con algún tinte rosado, violeta o amarillo en el micelio o medio. Los conidióforos son variables, delgados y simples, o gruesos, cortos y ramificados irregularmente o portando fiálides en espiral, solos o agrupados en esporodoquios. Los

conidios son hialinos, variables, principalmente de dos tipos, frecuentemente sostenidos en pequeñas cabezas húmedas; macroconidios pluricelulares curvados, o doblados en los extremos en punta, típicamente con forma de canoa; microconidios unicelulares ovoides u oblongos, formados solos o en cadena; algunos conidios intermediarios de dos o tres células oblongas o poco curvadas. Presenta hábito parasítico y saprofítico.

Esta enfermedad ataca el cultivo en crecimiento resultando en una reducción de la producción. La infección ocurre a través de las raíces y la base del tallo, y la penetración puede ser directa o no. La severidad de la enfermedad ha sido relacionada con altas temperaturas ( mayores a 30° C ) seguidas por fuertes lluvias, riego por inundación, o a la inversa suelo con baja humedad. Infecciones recientes pueden no ser detectadas en la cosecha, e infectar los bulbos causándoles pudrición en almacenamiento. No se encontraron evidencias de infección de un bulbo a otro. Los hongos pueden ser transmitidos en semillas o bulbillos lo que determina la necesidad de tratamientos con fungicidas antes de la plantación (Snowdon, 1991).

Sólo los bulbos que quedan infectados en el campo continúan su decadencia en el almacenamiento. Temperaturas desde 30° a 35° C con alta humedad incrementan el desarrollo de la enfermedad en el almacenamiento. Por lo tanto, los sistemas de secado de poscosecha recomendados para la reducción de la pudrición de cuello, podrían también reducir la pudrición basal. También es de destacar como un método muy importante la rotación de cultivos (Maude, 1990).

En relevamientos exploratorios realizados por la Cátedra de Fitopatología se determinó la presencia de hongos del género *Fusarium* sp. provocando pudriciones basales (Comunicación personal con Gepp v. 1996). Del mismo modo en la evaluación de una población local de cebolla realizada por la Cátedra de Horticultura se observó una podredumbre basal que progresa hacia el resto del bulbo diagnosticándose por la observación de síntomas y signos que dicha afección fue causada por *Fusarium* sp (Sollier y Aldabe, 1995)

*Sclerotium rolfsii*, pudrición blanca.

Esta enfermedad está distribuida en regiones tropicales húmedas y en clima templado (Snowdon, 1991).

Inicialmente pueden ser vistas manchas blancas y sucias sobre las catáfilas externas; eventualmente el bulbo entero se vuelve blando y podrido. Un moho sedoso, blanco brillante, con forma de abanico característica, se extiende sobre la superficie y también tiende a crecer sobre mallas en las

cuales el producto puede ser empacado. Pequeños esclerotos esféricos se desarrollan sobre el humus, de uno a dos milímetros de diámetro, al principio frescos y pálidos, que después se vuelven duros, amarronados y secos. Carece de esporas (Snowdon, 1991).

En el campo bajo condiciones cálidas y húmedas cordones del hongo brotan desde el escleroto y son capaces de penetrar directamente a las plantas desarrolladas. Crecen rápidamente a temperaturas entre 25° y 35° C, y proliferan en climas húmedos o suelos irrigados. El cultivo afectado por esta enfermedad puede pudrirse en el campo. Infecciones recientes pueden escapar a la detección en la cosecha, pero causar pérdidas en almacenamiento. Bajo refrigeración, el crecimiento del hongo es completamente detenido. En contraste con las variedades blancas, los cultivares coloreados usualmente están libres de esta enfermedad aún creciendo en suelos contaminados (Snowdon, 1991).

Se requiere un control integrado, el cual puede incluir control biológico, rotación de cultivos, aradas profundas, fumigaciones del suelo, solarización, control de malezas (Snowdon, 1991); (Sobrino y Sobrino, 1992).

*Sclerotium cepivorum*, pudrición blanca.

Este hongo afecta la base de los bulbos de cebolla, donde produce un micelio blanco que contiene muchos esclerotos negros y pequeños de 0,3 a 0,5 mm de diámetro. La enfermedad se desarrolla en un rango de 10° a 20°C (Maude, 1990).

*Sclerotium cepivorum* ha sido encontrado producciendo pudriciones basales en muestras de cebolla analizadas por la Cátedra de Fitopatología (Comunicación personal con Gepp V. 1996)

*Pyrenochaeta terrestris*, raíz rosada.

Ésta, es una enfermedad de suelo ampliamente distribuida afectando muchas monocotiledoneas y dicotiledoneas. Temperaturas óptimas para el desarrollo de la enfermedad son desde 24° a 28°C. Invade los extremos débiles de las raíces las que posteriormente se tornan rosadas, se arrugan y mueren causando pérdidas de rendimiento. La enfermedad no es común en bulbos de cebolla almacenados, sin embargo es común encontrar raíces rosadas en asociación con *Fusarium* en cebollas con las bases de las láminas afectadas. En esta relación se incrementaría los daños en poscosecha de las cebollas. Alguna resistencia en cebolla a ambos patógenos ha sido reportada, pero resistencia completa a raíz rosada es encontrada en *Allium fistolosum* (Maude, 1990).

*Colletotrichum circinans*, mancha.

La enfermedad denominada mancha de la cebolla fue descubierta en el Reino Unido en 1852 y en el presente ocurre ampliamente en Europa y Norteamérica. La infección ocurre a través de la cutícula de la catáfila externa del bulbo y del cuello de la cebolla. Pequeños estromas negros se desarrollan y producen acérvulos arreglados en forma concéntrica. El patógeno causa mancha en los bulbos de cebolla almacenados devaluando el producto. Los cultivares de piel marrón, del tipo de cebolla Rinsjburger producidas en el Reino Unido rara vez son afectadas, siendo vulnerables los cultivares de piel blanca. Los sistemas de secado de poscosecha usados en el Reino Unido y U.S.A deberían reducir efectivamente la incidencia de las manchas (Maude, 1990).

**Pudriciones por bacterias.**

La mayoría de las bacterias que producen pudriciones de poscosecha en cebolla son organismos oportunistas; algunos son patógenos primarios y otros secundarios, siguiendo al ataque de hongos, insectos o nemátodos. En el último caso las bacterias son enmascaradas por otros organismos. De este modo, cuando la pudrición de cuello causada por *Botrytis alli* fue controlada en los bulbos almacenados en el Reino Unido, la importancia del daño causado por las pudriciones bacterianas fue revelado. Cuando las bacterias son los agentes primarios de la enfermedad también pueden causar considerable daño en almacenamiento (Maude, 1990).

Los bulbos sanos pueden contener bajos niveles de bacterias, lo cual normalmente no causa daño, pero pueden atacar tejido debilitado por un estrés ambiental, el cual puede ser causado por un calor excesivo (temperaturas mayores a 25° C). Las bacterias son transmitidas por el agua, y la incidencia de la alta humedad relativa (mayor a 80%) aumenta los ataques de estas enfermedades. Las heridas son un factor común de predisposición, y la infección puede ocurrir antes o después de la cosecha. Las pudriciones por bacterias a menudo tienden a progresar bastante entre las catáfilas carnosas atacadas moviéndose directamente dentro de las catáfilas carnosas adyacentes. El decaimiento puede ser causado por el complejo de varias especies, en el cual se hace dificultoso identificar los organismos primarios (Snowdon, 1991).

*Erwinia* sp.

Aunque la *Erwinia* típica de pudrición blanda (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) podría ocasionalmente causar pudrición de cebolla, muchas otras bacterias pudren cebollas y otros bulbos (Lelliot, (1987)

Lelliot, (1987), afirma que *Erwinia herbicola* se encuentra asociada a pudriciones de cebolla en almacenamiento, especialmente cuando las temperaturas en el curado han sido altas.

*Erwinia, (Erwinia carotovora* ssp. *carotovora)*. Ocurre generalmente en tránsito o almacenamiento, aunque puede ocurrir en el campo cuando se dan fuertes lluvias momentos antes de la cosecha. Penetra al bulbo a través del cuello al marchitarse las hojas, por heridas mecánicas, de insectos u otras enfermedades (García, 1995).

Snowdon (1991) afirma que los bulbos afectados aparecen sanos externamente, el único signo de la enfermedad es el olor desagradable; presionando sobre el bulbo puede causar una exudación desde el cuello de un jugo con olor fétido. Los tejidos enfermos aparecen blandos y viscosos.

En la evaluación de una población local de cebolla realizada por la Cátedra de Horticultura (Sollier y Aldabe, 1995), una de las principales causas de descarte fue *Erwinia* sp. donde se describió la afección como una podredumbre blanda y húmeda. La bacteria produce ablandamiento de las catáfilas, una posterior pudrición del bulbo y un característico olor fétido.

La podredumbre generalmente comienza en el cuello del bulbo y afecta una o más de las hojas engrosadas pero no se disemina rápidamente de una escama a otra (Jones y Mann, 1963).

Esta bacteria permanece en el suelo y es diseminada por la lluvia. La infección continua con temperaturas por encima de 3°C durante el almacenamiento. Se recomienda como control promover un buen cerrado de cuello, evitar heridas en el cultivo y durante la cosecha, y almacenar los bulbos totalmente secos (García, 1995).

*Pseudomonas* sp.

En un trabajo de mejoramiento genético realizado por Sollier, (1995), se hallaron dos sintomatologías diferentes: el primer tipo de síntoma corresponde a ablandamiento del bulbo desde el cuello, afectando toda la parte central y aspecto como si estuviese cocido. El otro tipo de síntoma encontrado fue ablandamiento de las catáfilas externas sin ser afectada la

parte central, los tejidos se vuelven amarillentos, viscosos y con un olor agrio. De acuerdo a la bibliografía consultada por los autores, estos síntomas corresponden a *Pseudomonas gladioli* y *Pseudomonas cepacia* respectivamente.

Palleroni (1984) y Schaad (1988), en la descripción que realizan de la respuesta a diferentes fuentes de carbono por *Pseudomonas* sp., diferencian a *P. gladioli* de *P. cepacia* porque la primera tiene la capacidad de utilizar a D-Tartrate como fuente de carbono mientras que *P. cepacia* no. Por el contrario *P. cepacia* utiliza a Levulinate como fuente de carbono y *P. gladioli* no.

Lelliot, (1987), incluye en las bacterias que afectan cebolla a dos especies de *Pseudomonas* no fluorescentes, *Pseudomonas cepacia y Pseudomonas gladioli. Pseudomonas gladioli* está subdividida en dos patovar: pv. *gladioli* y pv. *allicola*.

*Pseudomonas gladioli*, piel resbaladiza: Los bulbos afectados pueden aparecer sanos pero cuando se realiza el corte algunas de las principales catáfilas de almacenamiento se encuentran marrones y empapadas en agua teniendo una apariencia de cocidas. Cuando se aplica presión a la base del bulbo, el centro o corazón podría salir disparado, de ahí el nombre. El progreso de la infección hacia abajo en las catáfilas de almacenamiento vuelve los bulbos blandos y podridos. Los bulbos maduros pueden pudrirse completamente dentro de diez días a temperaturas de 15° a 20°C (García, 1995); (Maude, 1990).

Lelliot, (1987), menciona a *Pseudomonas gladioli* pv. *allicola* causando ablandamiento de las catáfilas externas frecuentemente con una coloración oscura.

*Pseudomonas gladioli* es una bacteria Gram-negativa, móvil, teniendo de uno a muchos flagelos polares (Maude, 1990).

*Pseudomonas cepacia*, piel agria: Ataca solamente las catáfilas de almacenamiento externas de la cebolla. Las catáfilas afectadas son amarillas y delgadas y los bulbos tienen un olor suave a vinagre, por lo que recibe el nombre de piel agria. Es una bacteria Gram-negativa, no esporula, de forma alargada con extremos redondeados. La bacteria es móvil teniendo de uno a tres flagelos polares (Maude, 1990).

*Pseudomonas cepacia* causa empapamiento de la piel de cebolla, siendo caracterizada por una pudrición fina y amarilla de las catáfilas externas y blandas (Lelliot, 1987).

El control de *Pseudomonas* spp. en general es similar a las medidas que se realizan para *Erwinia* (García, 1995).

Una importante estrategia de control de las enfermedades bacterianas es evitar el corte de las hojas demasiado cerca de los bulbos; es preferible hacer el corte tres a cuatro centímetros por encima del cuello. El secado debería obtenerse rápido a temperaturas que no excedan los 30°C, y la temperatura de almacenamiento debería ser disminuida a 0°- 5°C, tan pronto como el curado es completado (Maude, 1990).

## IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS

La identificación es el proceso de determinar que una bacteria aislada pertenece a un grupo taxonómico establecido, para el cual existe una nomenclatura (French, 1989).

Lelliot (1987), describe una serie de pasos para la identificación de bacterias. La metodología planteada se basa en la utilización de diferentes pruebas bioquímicas que permiten diferenciar los géneros que producen pudriciones bacterianas en cebolla. Realiza una descripción de las características de las colonias incubadas luego de tres dias en diferentes medios como por ejemplo 5% de sucrose nutriente agar, B de King y agar nutriente dextrosa (NAD). En función de los resultados de estas pruebas y otras como el test de óxido fermentación (OF), degradación de pectato gel, se determina el género de la bacteria aislada.

Según French (1989), se utiliza para la identificación el número mínimo de pruebas y las más simples disponibles que cumplan con el propósito de definir su nomenclatura

French (1989), define como observaciones prioritarias para la identificación a:

1. Examen detallado de la morfología de las células bacterianas.
2. Tinción de Gram.
3. Tinción de flagelos cuando lo prescriban las circunstancias o de fijadez ácida.
4. Microscopía electrónica para observar la estructura de la pared celular, lugar y forma de inserción de los flagelos.

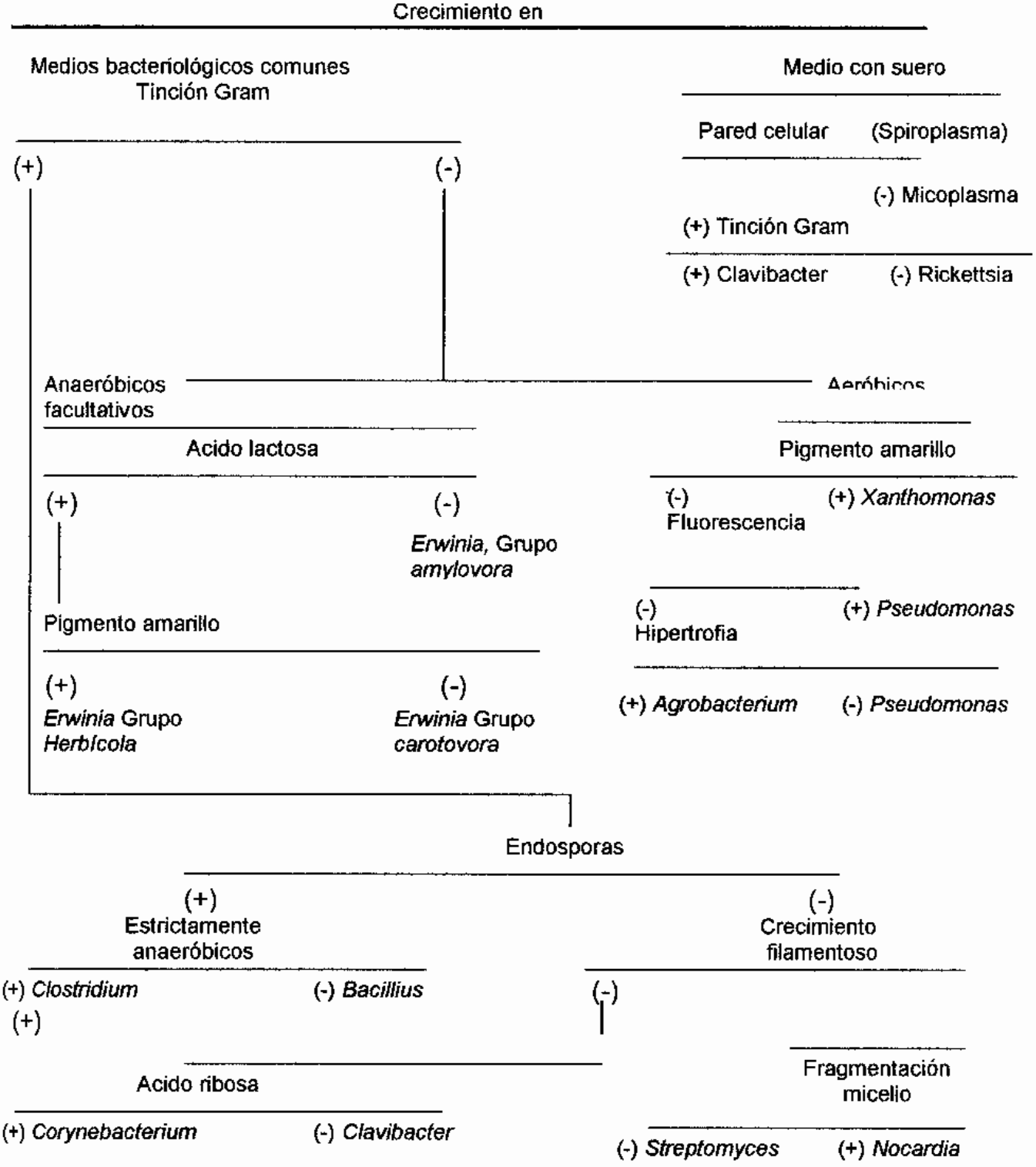
5. Pruebas fisiológicas y bioquímicas necesarias. ( según el manual de Bergey). Se debe comenzar por las categorías amplias y pasar sucesivamente a las pequeñas y específicas.
6. Comparación de los aislamientos con una cepa tipo o de referencia y/u otras taxonómicamente cercanas.
7. Utilización de toda la información disponible.
8. Si después de todo lo realizado persiste la duda consultar a un colega con experiencia en ese grupo taxonómico.

Otras pruebas útiles son:

A. Las serológicas.
B. Las de aerobiosis o anaerobiosis, o demostración de anaerobiosis facultativa.
C. Requisitos de temperatura óptima, máxima y mínima para crecimiento.
D. Tolerancia al cloruro de sodio.
E. Sensibilidad antibiótica.
F. Especialización por bacteriófagos.
G. Análisis genético.

En la figura siguiente se presenta una guía de laboratorio muy útil para la identificación de bacterias fitopatógenas extraída de French, (1989). Esta clave está basada en un esquema realizado por Schaad en 1980.

Determinación de los géneros de bacterias fitopatógenas. (Esquema general, pueden presentarse excepciones). Modificación de figura 1 de Schaad (1980) por Jorge I. Victoria.



## INFLUENCIA DE VARIACIONES GENETICAS EN LA POSCOSECHA

El mejoramiento genético y la multiplicación de semillas realizados localmente, originan cultivares y poblaciones superiores a los provenientes de otras regiones (Pike, 1986). Por la interacción con el clima, características edáficas, los métodos de cultivo y los criterios de selección del agricultor, se originan poblaciones adaptadas a ese complejo de factores que constituyen el ambiente. Este proceso está influenciado en cada cultivo por el material original, por el grado de heterogeneidad y por la heterocigosis de la especie.

A partir de 1987, la Facultad de Agronomía realizó la colecta y conservación de muestras de semillas, calificadas mediante su evaluación agronómica (a campo y en conservación poscosecha). Esto posibilitó el mantenimiento a largo plazo de las poblaciones locales, y contribuyó al conocimiento del material actualmente utilizado en la producción; en particular, su potencialidad para el mejoramiento genético (Galván, 1992).

Los principales resultados obtenidos por Aldabe y Galván (1991), muestran la existencia de variabilidad para el momento de bulbificación y maduración, para el rendimiento, las características del bulbo y el período útil de conservación poscosecha. La capacidad para conservación en poscosecha se manifestó como un carácter específico de cada población, y no asociado a algún tipo en general de cebolla casera. Esta especificidad, y la alta correlación observada entre el porcentaje de bulbos conservados y la fecha de siembra habitual del cultivo semillero, muestran que en este carácter existe respuesta al manejo y a la selección realizada por el productor. Poblaciones semiprecoces y tardías colectadas en el sur de Uruguay (34°-35° latitud sur) presentan buen potencial de conservación poscosecha (más del 50% de los bulbos son comercializables en agosto).

En un programa de mejoramiento genético de cebolla a partir de poblaciones locales, realizado por la Cátedra de Horticultura de la Facultad de Agronomía (Sollier, 1995), se desarrollaron líneas endocriadas mediante dos autofecundaciones sucesivas, y selección de líneas e individuos dentro de las líneas en cada paso de selección por caracteres cualitativos. Para analizar el avance de la selección respecto a la población original, se creó una población regenerada en forma exploratoria observándose una respuesta significativa en el color y forma de bulbo. En tanto, se redujo la suceptibilidad a la floración prematura, y no hubo diferencias en el rendimiento y la conservación poscosecha.

Vilaró (1997), en un programa de evaluación de variedades de cebolla para la zona sur, encontró que los cultivares de origen local o regional se

destacaron notoriamente por su comportamiento frente a enfermedades foliares (botritis y peronóspora) esto puede explicar parcialmente su relativamente buen comportamiento productivo y capacidad de conservación prolongada. Debido a estas características se cree conveniente priorizar esfuerzos en evaluación y desarrollo de germoplasma local, teniendo en cuenta además los inconvenientes que trae aparejado la utilización de híbridos extranjeros de día corto y medio para el tipo de productor predominante en la zona sur.

En el estudio de variedades de cebolla tipo valencianas para conservación realizado por Aldabe y Galván (1989), se compara la conservación de diferentes poblaciones locales bajo iguales condiciones de almacenamiento para los meses de junio, julio y agosto de 1989, concluyendo que existen diferencias en el porcentaje en peso de bulbos conservados. A modo de ejemplo, al 26 de agosto tanto la población local Gandini como la población local Trujillo presentaban un 17% del peso inicial de la parcela conservado, no obstante la población Gandini tuvo un 7% de peso descartado por pudrición y un 64% descartado por brotado a diferencia de la población Trujillo que tuvo un 44% del peso inicial de la parcela descartado por pudrición y un 28% descartado por brotado. También se evidencia que existen diferencias entre poblaciones en el momento en que se alcanza un 50% de bulbos brotados. Esto demuestra que existen diferencias genéticas en poscosecha entre los materiales.

En la evaluación de la respuesta alcanzada en el mejoramiento genético de una población local de cebolla realizada por la Cátedra de Horticultura de la Facultad de Agronomía (Sollier y Aldabe, 1995), se comparó la conservación poscosecha de la población local UR9101 con Regeneración Exploratoria (material producido para evaluar el grado de avance en un programa de mejoramiento genético de un material muy emparentado con UR9101). En dicho ensayo se concluyó que ambos materiales genéticos presentaron similar comportamiento en poscosecha, no lográndose mejoras a nivel genético hasta ese momento.

# MATERIALES Y MÉTODOS

## MATERIALES:

Los materiales evaluados provenían del ensayo de mejoramiento genético de una población local de cebolla. Como material testigo se utilizó la variedad Sintética N°14.

8818: Población local de día intermedio originaria de la región Pantanoso del Sauce, departamento de Canelones.

Regeneración Exploratoria: Material hasta el momento logrado en el proceso de mejoramiento genético de la población 8818.

Sintética N°14: Variedad de día largo originada en la estación experimental INTA Argentina.

La descripción de estos materiales se encuentra en el anexo N°1.

Los bulbos considerados en la evaluación se encontraban entre 40 y 90 milímetros de diámetro ecuatorial.

## METODOS:

Con el fin de homogeneizar la variable tamaño de bulbo se realizó la elección de 200 bulbos de cada material con igual proporción de cada calibre. Los calibres usados fueron 4 a 5cm, 5 a 7cm y 7 a 9 cm. No se incluyeron bulbos dobles, podridos, manchados o brotados.

Para la división de los 200 bulbos de cada material en cuatro repeticiones se mantuvo el criterio de conservar similar proporción de cada calibre. Para el seguimiento individual de cada bulbo se numeraron con marcador indeleble. Los datos de peso y diámetro de cada bulbo fueron tomados con una balanza electrónica y un calibre digital. Ver registros en el anexo N°2.

El almacenamiento se realizó en el campo experimental del Centro Regional Sur de la Facultad de Agronomía, ubicado en Joanicó, departamento de Canelones. El galpón utilizado era de material con techo de chapa galvanizada y piso de hormigón. Cada repetición fue ubicada en bolsas caladas, las que se colocaron de a dos en cajones plásticos (Nibo) de 47cm. de largo, 32cm. de ancho y 27cm. de alto, ventilados en todas las caras.

Las condiciones ambientales dentro del galpón durante el ensayo se registraron por un funcionario del Centro Regional Sur, debido a la escasez de datos registrados estos no fueron tenidos en cuenta.

El diseño experimental consistió en tres variedades en parcelas al azar con cuatro repeticiones de 50 bulbos cada una.

Por tratarse de variables discretas se utilizó para el análisis estadístico el procedimiento Categorical Mode (CATMOD) del programa SAS. El análisis estadístico fue realizado para las variables:

- Bulbos totales descartados mensualmente para cada variedad
- Bulbos descartados por *Aspergillus* sp acumulados al mes de julio para cada variedad
- Bulbos descartados por hongos acumulados al mes de julio para cada variedad
- Bulbos descartados por bacterias acumulados al mes de julio para cada variedad
- Bulbos descartados por brotado mensualmente para cada variedad

El resultado de dichos análisis se encuentran en el anexo N°3.

El período de almacenamiento considerado fue del 16 de febrero al 26 de julio de 1996. En dicho período se realizaron 5 revisiones del material distanciadas aproximadamente un mes: 13 de marzo, 11 de abril, 16 de mayo, 26 de junio y 26 de julio. Cada revisión consistió en una observación individual de los bulbos con el fin de detectar cualquier causa de descarte. Los criterios tenidos en cuenta para considerar la afección un motivo de descarte fueron:

Brotado- presencia de brote verde en el cuello (sin importar el largo)

Podrido- presencia de zona blanda y/o húmeda sobre la superficie del bulbo, exudado acuoso en la zona del cuello, o ablandamiento interno del bulbo.

Manchado- presencia de una zona manchada superficialmente en más de un 25% de la superficie (aproximadamente).

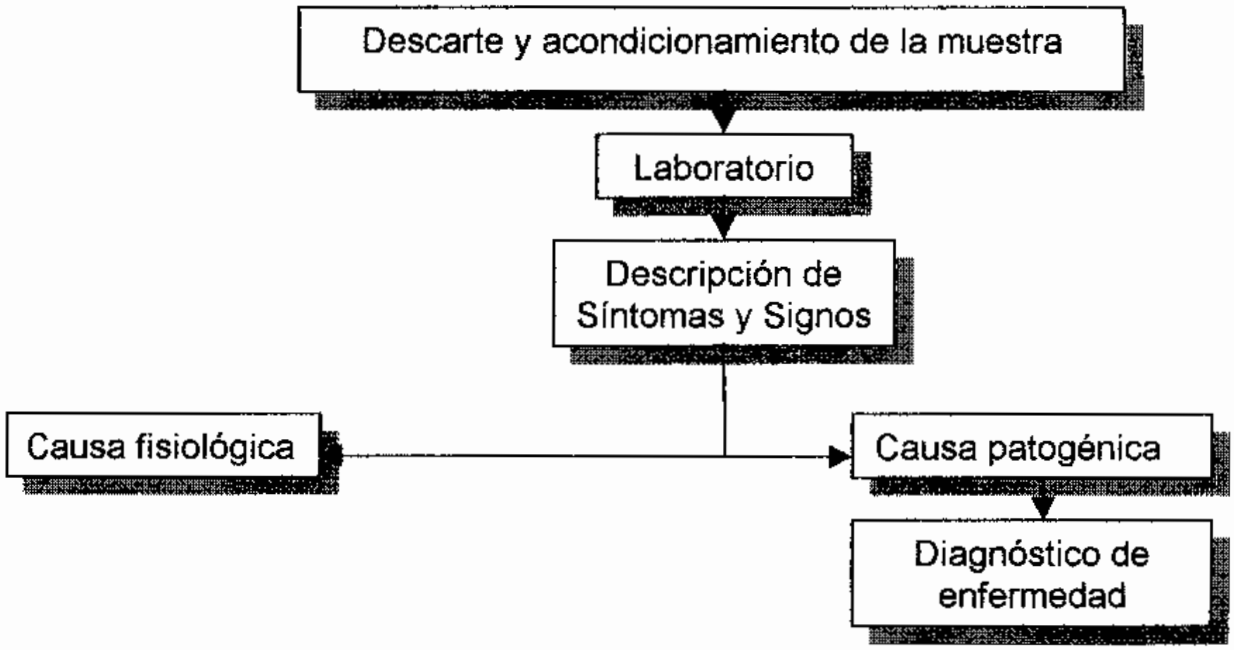
Los bulbos deteriorados fueron extraídos del lote y aislados en bolsas de polietileno cerradas y debidamente identificadas para su posterior análisis en el laboratorio.

La ubicación de cada cajón en la estiba fue rotada luego de cada evaluación con el fin de evitar el efecto de este factor en la conservación.

Paralelamente se llevaron registros de peso total y descarte de cada repetición. Ver anexo N°4.

Para la determinación del factor que determinó cada descarte se llevaron los bulbos al laboratorio de fitopatología de la Facultad de

Agronomía donde se puso en curso la metodología de observación de síntomas y signos, aislamiento, prueba de patogenicidad y determinación del agente causal. En primera instancia se elaboró una ficha para cada bulbo donde se detallaron variedad, repetición, número de bulbo, fecha de retiro y la descripción de los procedimientos llevados a cabo en la determinación de la causa. Ver anexo N°5. Estos procedimientos son esquematizados a continuación:




**Diagnóstico presuntivo de la enfermedad:**

*Observación y descripción de los síntomas. En esta etapa se recabaron datos de la zona afectada del bulbo, importancia de la misma, tipo de afección, característica de la afección (color, olor, consistencia). Esta descripción fue apoyada con ilustraciones y fotografías en algunos casos.

*Búsqueda de signo. Consistió en la observación del área afectada para la determinación de presencia de estructuras o exudados que evidencien la existencia de un agente biótico. En el caso en que las estructuras no fueron claras se procedió a la realización de cámara húmeda. Se debió considerar como caso especial los bulbos brotados ya que dicha brotación pudo deberse a razones fisiológicas o como respuesta a la presencia de patógenos.

*Búsqueda bibliográfica. En esta fase se correlacionaron los síntomas y signos observados con la bibliografía pertinente. En esta etapa se obtuvo una aproximación a la posible causa.

A partir de este paso se diferenció la metodología usada para bacterias y para hongos que se detalla a continuación:

**Aislamiento e identificación de hongos.**

*Identificación de hongos. Para la identificación taxonómica fueron considerados el desarrollo vegetativo, las estructuras fructíferas así como las características de las esporas. En este proceso los pasos seguidos fueron:
1) observación de características como forma, color y aspecto de las estructuras en crecimiento. Dicha observación fue realizada sobre el bulbo infectado con lupa binocular de 100 aumentos. 2) mediante diferentes técnicas se extrajeron estructuras del hongo para verlas con mayor aumento en el microscopio. 3) Identificación del hongo mediante la comparación de la descripción y las figuras de Barnett, (1960).

La técnica utilizada en la extracción de estructuras del hongo fueron: Fijación de estructuras a cinta adhesiva y luego a un portaobjeto y posterior tinción con lactofenol.

**Pasos de aislamiento de hongos. Este paso se realizó solo con el fin de obtener estructuras del hongo mas claras para la observación en microscopio. 1) extracción de estructura del hongo para sembrarla en caja de Petri con medio Agar Papa Dextrosa (APD), para lo cual se realizó una mezcla de agua y tween 80 (detergente) para diluir las esporas y luego sembrarlas mediante un estriado con anza. 2) incubación en estufa a 24°C.

**Aislamiento e identificación de bacterias.**

*Pasos para el aislamiento de bacterias. 1) lavado bajo agua corriente para eliminar suciedad de la superficie del bulbo. 2) desinfección superficial con alcohol 70° en condiciones ascépticas en cámara de flujo laminar marca Nuaire Modelo N° NU-201-430E o cámara común. 3) corte del bulbo buscando coincidir con el área afectada. 4) extracción del patógeno. Para cada caso se aisló de la zona de avance de la afección mediante dos técnicas: corte de trozos de tejido de medio centímetro de lado; y extracción de jugo con anza. Siembra en Nutriente Agar Dextrosa (NAD). 5) incubación en estufa a 21°C. 6) selección de las colonias blancuscas, crema o amarillas que correspondieron con los géneros fitopatógenos. Estas colonias seleccionadas fueron repicadas en NAD.

**Prueba de patogenicidad: La metodología empleada fue la siguiente: 1) desinfección externa y pelado de bulbos sanos de Sintética N°14 en condiciones asépticas. 2) corte de rodajas de aproximadamente un

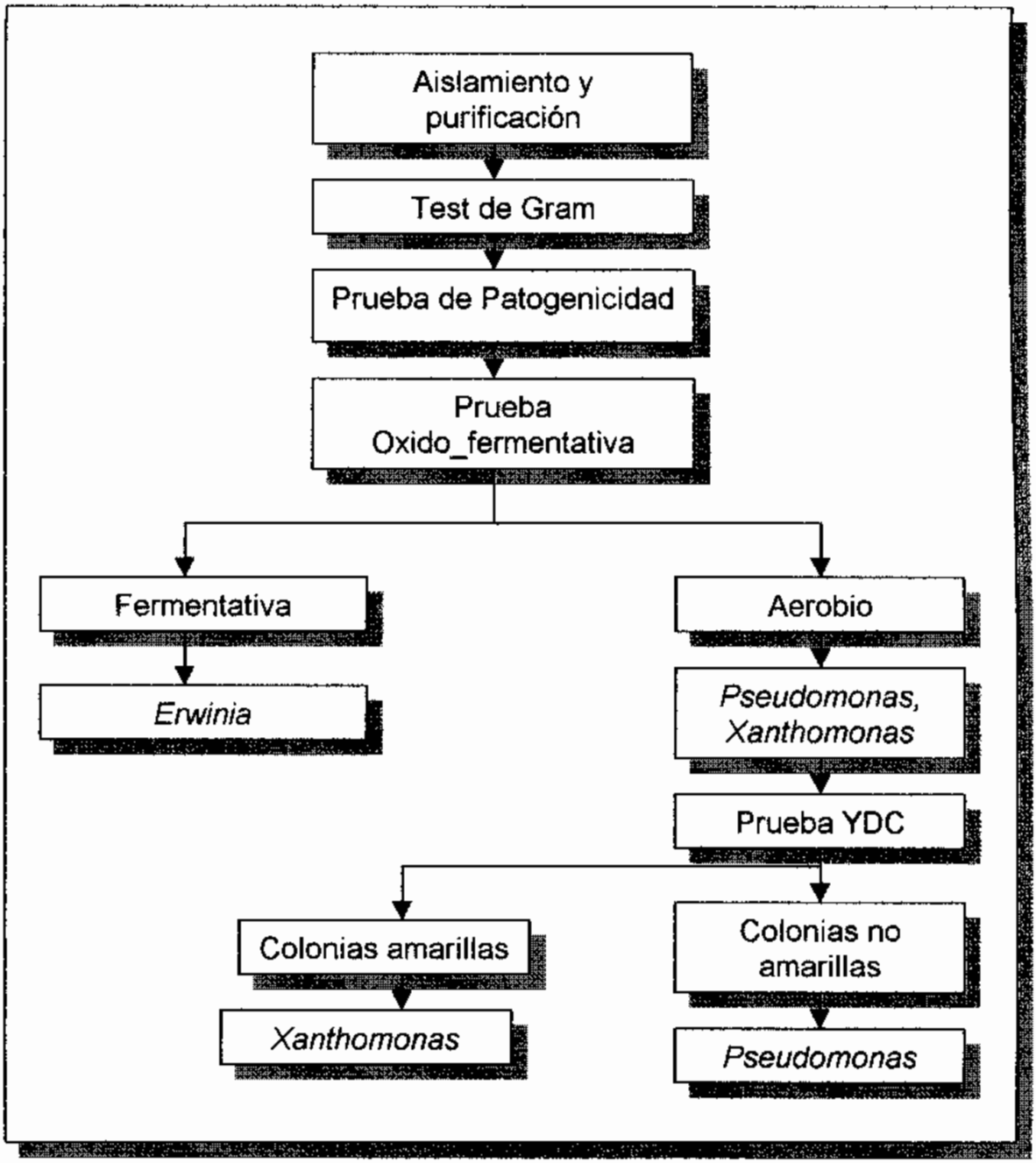
centímetro de espesor que se colocaron en cajas de petri estériles. 3) inoculación de las rodajas en dos puntos opuestos mediante anzada de las bacterias aisladas en el punto anterior. 4) incubación en estufa a 24°C.

Para aquellas colonias que en la prueba de patogenicidad afectaron los tejidos de cebolla reproduciendo los síntomas, se procedió a identificar el patógeno.

***Identificación de bacterias. En la identificación taxonómica se realizaron tinciones y pruebas bioquímicas. Partiendo de colonias puras jóvenes se aplicó una metodología constituída por una serie de pasos que permitieron comenzando por las categorías mas amplias llegar a la determinación de los géneros de las bacterias. Pasos de la metodología aplicada: 1) Prueba de KOH. Consiste en colocar una anzada de la colonia de bacterias sobre una gota de KOH al 3% en un portaobjeto, mezclar hasta lograr una unión de ambos componentes para posteriormente comprobar o no la formación de un filamento mucoso. Cuando se trata de bacterias Gram positivas el filamento no se forma, sucediendo lo contrario en bacterias Gram negativas. 2) Posterior a la prueba de KOH se prosiguió con pruebas bioquímicas en aquellos casos en que la bacteria dio negativa, descartándose las Gram positivas por no encontrarse dentro de estos géneros fitopatógenos que afecten cebolla. La primer prueba bioquímica realizada fue óxido- fermentación (OF) que permite determinar la capacidad del microorganismo de crecer en presencia y/o ausencia de oxígeno, es decir si es aerobio, anaerobio o anaerobio facultativo. Un resultado anaerobio (fermentativo) ya permite identificar la bacteria dentro del género *Erwinia*. Por otra parte un resultado aerobio exige realizar una segunda prueba Yeast Dextrose Chalk (YDC) la cual permite diferenciar los géneros *Xanthomonas* de *Pseudomonas*. Cuando la colonia presenta un color amarillo estamos en presencia del género *Xanthomonas*, de lo contrario se trata de *Pseudomonas* .

La composición de los diferentes medios de cultivo utilizados se presentan en el anexo N°6.

Pasos seguidos en la determinación de los géneros de las bacterias fitopatógenas:



# RESULTADOS Y DISCUSION

De los 600 bulbos utilizados en el ensayo 196 presentaron síntomas de enfermedad o brotado que determinó su descarte. Dichos bulbos se agruparon según su sintomatología. Se encontraron 5 tipos diferentes de síntomas:

Descarte tipo 1: brotado. (94 bulbos)

Descarte tipo 2: esporulación negra distribuída en círculos de hasta 3 mm. de diámetro ubicadas debajo de la catáfila exterior de protección. (29 bulbos)

Descarte tipo 3: pudrición de cuello húmeda. (32 bulbos)

Descarte tipo 4: ablandamiento de la catafila carnosa externa, presentando un color rojizo amarronado. (26 bulbos)

Descarte tipo 5: eflorescencia verdosa sobre catáfilas de recubrimiento. (15 bulbos)

En el anexo N°7 se presentan fotografías ilustrativas.

Para los descartes tipo 1, 2 y 5 se realizó una identificación en laboratorio para la totalidad de los bulbos. En el caso de las pudriciones, cuyo análisis implicaba medios bioquímicos para la determinación del agente causal, se optó por realizar dichas pruebas a un porcentaje de los bulbos (60%).

Las causas de descarte analizadas fueron agrupadas en: afecciones ocasionadas por hongos, (correspondiendo a los descartes tipo 2 y 5); afecciones ocasionadas por bacterias, (correspondiendo a los descartes tipo 3 y 4) y causas fisiológicas de descarte, (correspondiendo al descarte tipo 1). Mediante los análisis de laboratorio se identificaron en el primer grupo a *Penicillium* sp. y *Aspergillus niger*, en el grupo de las bacterias a *Erwinia* sp y *Pseudomonas* sp, y como causa fisiológica el brotado. Los bulbos considerados como brotados fueron aquellos que no presentaron internamente ninguna afección patogénica, en cambio algunos bulbos descartados por esta causa presentaron pudriciones internas causadas por *Erwinia* sp o *Pseudomonas* sp, los cuales se incluyeron en las correspondientes causas.

Cabe señalar que no se observaron síntomas de *Botrytis alli* afectando bulbos almacenados de cebolla a pesar de ser una de las enfermedades citadas como de mayor importancia en el resto del mundo. Dicha enfermedad presenta como síntomas, una pudrición de cuello blanda con una masa de esclerotos negros de 1 a 5 mm. de diámetro debajo de la piel, presentando además una capa gris a los costados del bulbo. Estos síntomas son perfectamente distinguibles de las pudriciones encontradas en el ensayo, por lo cual se pudo afirmar la ausencia de dicha patología. De todas maneras el medio utilizado en el aislamiento de los patógenos causantes de las pudriciones encontradas (NAD), permite el crecimiento de *Botrytis* sp. Existen similares resultados en ensayos realizados por la Cátedra de Horticultura en donde tampoco se halló *Botrytis* sp. afectando bulbos almacenados.

# IDENTIFICACION DE PATÓGENOS

## IDENTIFICACION DE HONGOS:

*Penicillium* sp. Esta patología se encontró afectando las catáfilas externas del bulbo. Se observaron esporulaciones verdosas en las catáfilas de recubrimiento de aspecto húmedo.

Mediante la observación microscópica se vieron los conidióforos del hongo enramados cerca del vértice, presentando conidios globosos en cadena. Esto concuerda con lo descripto por Barnett (1960).

Las características observadas confirmaron la hipótesis de que el hongo aislado pertenece al género *Penicillium* sp.

*Aspergillus niger*. El signo de este hongo se observó en la superficie del bulbo, encontrándose esporulaciones negras, pulverulentas y agrupadas en puntos.

A través de la observación microscópica se observaron conidióforos erectos, simples, terminados en una hinchazón globosa que llevaba una masa de conidios de color negro dispuestos en cadena. Esta descripción es similar a la encontrada en Barnett (1960). Por esta razón se concluyó que el hongo aislado pertenece al género *Aspergillus* sp.

Maude (1990), describe a *Aspergillus niger* produciendo sobre las catáfilas de cebolla un micelio blanco, en el cual se producen las cabezas

conidiales de color marrón o negro, dichas características lo diferencian de *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus aliaceus*. Esto permitió concluir que el hongo aislado era *Aspergillus niger.*

## IDENTIFICACION DE BACTERIAS:

*Erwinia* sp. Los bulbos descartados por esta patología presentaban síntomas de pudrición en la zona del cuello, siendo ésta húmeda, blanda y con emisión de un líquido de olor desagradable al presionar el bulbo. Estas características son descriptas como típicas de *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* por Snowdon (1991).

Similar a lo descripto por Jones y Mann en 1963, al realizar el corte se observó que el avance se dio fundamentalmente por una de las catáfilas de almacenamiento y no se diseminó rápidamente de una escama a otra.

Se realizó el aislamiento en NAD, a los 5 días se observó el desarrollo de colonias puras blanco lechosas a amarillentas, de hasta tres milímetros de diámetro y con superficie convexa. Seguidamente se realizó la prueba de KOH verificándose que la bacteria era Gram negativa.

Realizada la prueba de patogenicidad se confirmó que el patógeno aislado provocaba una pudrición del tipo acuosa con olor fétido en los puntos de inoculación, expandiéndose primero por la catáfila inoculada para luego pudrir a todo el tejido de cebolla.

Para confirmar los postulados de Koch, se procedió al reaislamiento de la bacteria en cultivo puro obteniendo colonias con iguales características a las primariamente aisladas.

El paso siguiente fue realizar el test óxido-fermentativo (OF), resultando fermentativa y oxidativa. Ver fotografía en el anexo N°8.

Las pruebas bioquímicas determinaron que la bacteria aislada era Gram negativa y anaerobia facultativa por lo que se confirmó que la bacteria en estudio era *Erwinia* sp.

*Pseudomonas* sp. Este género ocasionó dos tipos de afecciones descriptas a continuación:

En el primer caso los bulbos presentaban síntomas de pudrición húmeda, blanda, superficial, con color violáceo. Las catáfilas externas con colores más amarillentos con pudrición avanzada. Maude (1990), describe

similares características para la enfermedad piel agria causada por *Pseudomonas cepacia.*

El segundo caso se caracterizaba por afección en catáfilas medias con aspecto vidrioso como cocidas, amarronadas, con pudrición acuosa de apariencia resbaladiza. Lo cual concuerda con la descripción que hace Maude (1990), de piel resbaladiza ocasionada por *Pseudomonas allicola.*

En ambos casos crecieron en NAD colonias amarillentas, convexas y de dos milímetros de diámetro. Las bacterias eran Gram negativas. La prueba de patogenicidad resultó positiva, confirmándose luego los postulados de Koch mediante la reaislación de la bacteria. El test de óxido-fermentación determinó la capacidad oxidativa del patógeno (ver anexo N°7),por lo cual la bacteria pertenece al género *Pseudomonas* o *Xanthomonas.* Posteriormente se realizó el cultivo en YDC, donde las colonias crecieron de color blanco en el medio YDC.

La bacteria aislada era Gram negativa, aerobia y desarrollaba colonias blancas en YDC, por lo que se concluye que ésta pertenece al género *Pseudomonas..*

Solo fue posible determinar el género de la bacteria, no pudiendo hacer una diferenciación a nivel de especie por no contar con los medios necesarios para realizar las pruebas bioquímicas correspondientes. Basándose en la sintomatología encontrada y las descripciones de Maude (1990), se puede inferir que en el trabajo fueron aislados *Pseudomonas cepacia* y *Pseudomonas gladioli.*

A continuación se presenta el cuadro de resultados de las diferentes pruebas bioquímicas realizadas en la identificación de bacterias.

| BACTERIA | Test Gram | Prueba de Patogenicidad | Prueba OF | Color de colonia en NAD | Color de colonia en YDC |
|---|---|---|---|---|---|
| *Erwinia* sp. | Negativo | Positiva | Ferm.-Oxid. | Amarillenta | --------- |
| *Pseudomonas* sp. | Negativo | Positiva | Oxidativa | Amarillenta | No amarilla |

Cuadro N° 1: Resultados de los análisis de las bacterias.

# ANALISIS CUANTITATIVO

El orden seguido para el presente análisis de los resultados es:

- Análisis global
- Descartes por hongos
- Descartes por bacterias
- Descartes por causas fisiológicas

Es importante destacar que se hizo énfasis no solo en el volumen de descarte sino también en el momento en que se realizó. La fecha de descarte es de vital importancia ya que determina la aptitud para el almacenaje.

El resto de las variables presentadas no fueron analizadas estadisticamente debido a que el número de datos obtenidos eran insuficientes para la utilización del programa estadístico. Por esta razón se realizó un análisis descriptivo de los datos.

Por último, se analizan las perdidas de peso (debidas a transpiración, respiración, catáfilas caídas, tierra desprendida, etc.) a lo largo del período de almacenaje.

## ANALISIS GLOBAL

A continuación se analiza el comportamiento frente a las diferentes afecciones para los tres materiales al final del período de almacenamiento, así como también el comportamiento de cada material durante todo el período de almacenamiento. Como tema general se analizaron las perdidas de peso, a lo que se concluyó que si bien no consisten en un descarte, provocan pérdidas económicas considerables.

### Descarte total:

Los descartes totales fueron 196 bulbos sobre un total de 600 almacenados. Estos 196 bulbos descartados están distribuídos entre los tres materiales, perteneciendo 104 a la variedad Valcatorce, 61 a la población local 8818 y 31 bulbo a Regeneración Exploratoria.

En el siguiente cuadro puede observarse que la incidencia de las diferentes causas de descarte en el total descartado varía para los tres

materiales evaluados. Del mismo modo se destacan las diferencias entre los tres materiales en el porcentaje de bulbos totales descartados.

| | Valcatorce | 8818 | Reg Exploratoria |
|---|---|---|---|
| Brotado | 29 | 11.5 | 6.5 |
| *Aspergillus* | 1.5 | 9 | 4 |
| *Penicillium* | 1 | 5 | 1.5 |
| *Erwinia* | 9.5 | 3.5 | 3 |
| *Pseudomonas* | 11 | 1.5 | 0.5 |
| TOTAL | 52 | 30.5 | 15.5 |

Cuadro N° 2: Porcentaje de bulbos descartados para los tres materiales durante el período de almacenaje.

Los descartes acumulados para el mes de julio expresan el total de descarte para cada uno de los materiales durante el período de almacenaje. Se aprecian diferencias importantes entre los materiales, siendo los descartes de 52% para Valcatorce; 30,5% para 8818; y 15,5% para Regeneración Exploratoria. Estos resultados confirman lo expuesto por Pike (1986), quien afirmó que el mejoramiento genético y la multiplicación de semillas realizados localmente, originan cultivares y poblaciones superiores a los provenientes de otras regiones.

Teniendo en cuenta que las condiciones ambientales y de manejo en el almacenaje fueron las mismas para los tres materiales, se puede decir que las diferencias en el comportamiento son consecuencia de las diferencias genéticas entre los materiales evaluados. Cabe señalar que existen diferencias en el comportamiento poscosecha relacionadas a momento de siembra, condiciones de cultivo, cosecha y curado que podrían encontrar su óptimo en momentos diferentes para cada genotipo. Sobre este punto sería necesario realizar posteriores ensayos con el fin de óptimizar las condiciones al momento de evaluar la conservación poscosecha. Aldabe y Galván (1991), encontraron la existencia de variabilidad para el período útil de conservación poscosecha y que la capacidad para conservación en poscosecha se manifestó como un carácter específico de cada población.

El mejor comportamiento de la población local 8818 y Regeneración Exploratoria con respecto a Valcatorce, se debe a la adaptación al ambiente de los materiales locales lograda como consecuencia de las sucesivas selecciones realizadas por los productores.

Analizando lo aportado por cada una de las causas de descarte al total descartado, encontramos que: para Valcatorce, el 39,4% se debió a bacterias, el 4,8% a hongos y el 55,8% a brotado; para 8818, el 16,4% se debió a bacterias, el 45,9% a hongos y el 37,7% a brotado; para Regeneración Exploratoria el 22,6% se debió a bacterias, el 35,5% a hongos y el 41,9% a brotado. Estos valores confirmaron la similitud en comportamiento entre 8818 y Regeneración Exploratoria ya que la influencia de cada una de las causas de descarte fueron similares, por otro lado Valcatorce, con un genotipo diferente fue afectado de manera distinta.

**Descartes mensuales para cada material:**

Seguidamente se analiza la evolución mensual de cada material por separado agrupando las causas de descarte en tres tipos: Brotado, Bacterias y Hongos.

Del análisis de los descartes por mes se desprende que Valcatorce tuvo descartes todos los meses. (figura N° 1). Estos descartes fueron cuantitativamente muy importantes y consecuencia fundamentalmente de bacteriosis y brotado. Por otro lado se destaca la baja incidencia de descartes por hongos. Desde los primeros meses los valores de descarte fueron muy importantes, llegando al 14% del total de bulbos almacenados en el mes de abril. Las causas fundamentales fueron *Pseudomonas* sp y *Erwinia* sp. De la misma manera si se consideran solo los meses de junio y julio existió un descarte de 29% del total de bulbos almacenados de los cuales el 26% correspondió a brotado. Las pérdidas ocasionadas por hongos para todo el período de almacenaje fue del 2,5% de los bulbos almacenados. Estas conclusiones permiten visualizar dos períodos claramente definidos: un primer período que abarcó el mes de abril en donde las afecciones bacterianas fueron las más importantes; y un segundo período que abarcó de junio a julio en el cual la principal causa de descarte fue el brotado.

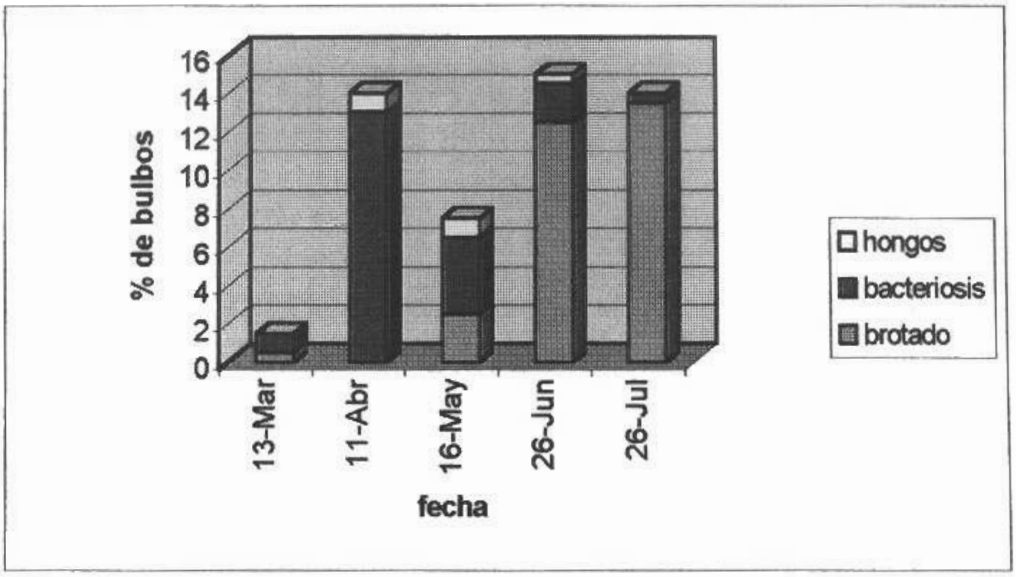



Figura N° 1: Incidencia relativa de las diferentes causas de descarte en Valcatorce para todo el período de almacenamiento. (porcentaje en número de bulbos descartados)

Del mismo modo si se analiza el comportamiento de 8818, se puede observar que los descartes más importantes se dieron en los tres últimos meses del ensayo. A diferencia de Valcatorce no existió un pico de descarte en abril por bacterias, siendo el descarte por esta causa de 5% del total almacenado y distribuido en los últimos tres meses de almacenamiento. Por otro lado el componente hongos durante el mismo período de almacenamiento originó un 12,5% de descarte del total almacenado mientras que un 11,5% fue descartado por brotado.

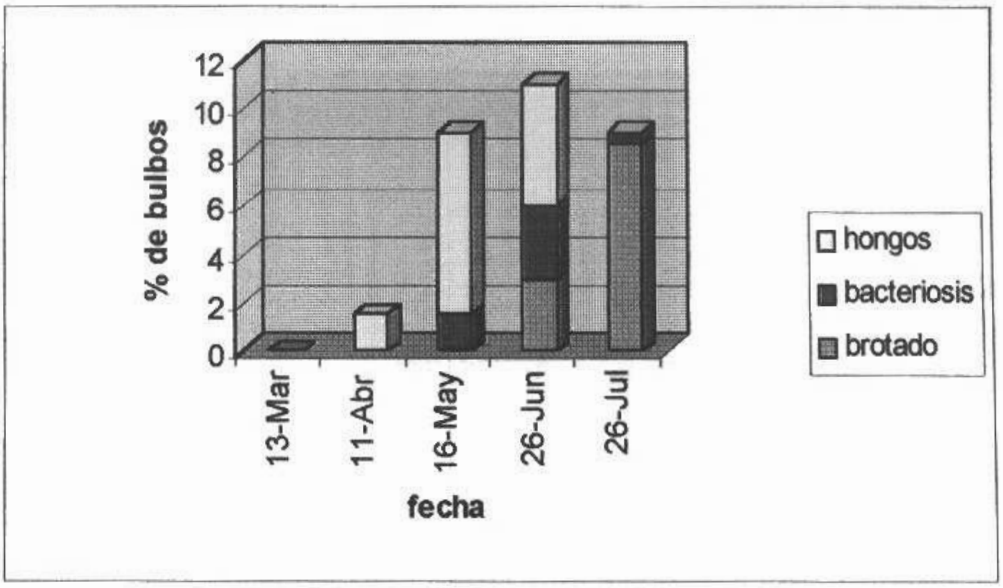



Figura N° 2: Incidencia relativa de las diferentes causas de descarte en 8818 para todo el período de almacenamiento. (porcentaje en número de bulbos descartados)

El material Regeneración Exploratoria también presentó las perdidas en los últimos tres meses del ensayo, siendo para los meses de mayo y junio las principales causas de descarte las afecciones por hongos y bacterias en un total de 9% sobre el total de cebollas almacenadas. Del mismo modo el brotado se dio fundamentalmente en el mes de julio totalizando 6,5% del total almacenado. Ver figura siguiente.

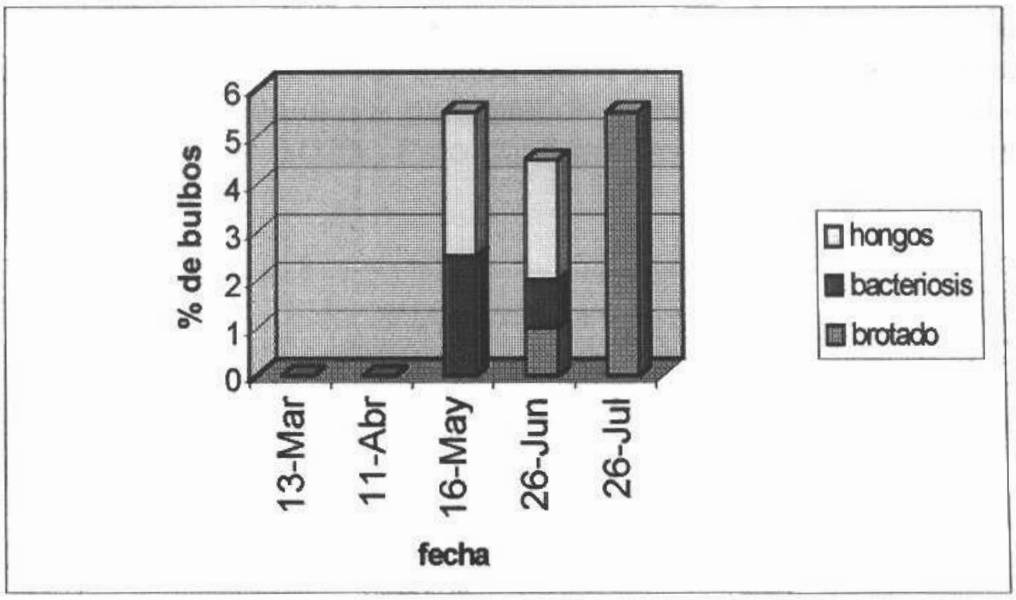



Figura N° 3: Incidencia relativa de las diferentes causas de descarte en Regeneración Exploratoria para todo el período de almacenamiento. (porcentaje en número de bulbos descartados)

**Descartes mensuales para los tres materiales:**

Seguidamente se pueden observar los descartes mensuales (sin distinguir la causa) para los tres materiales.

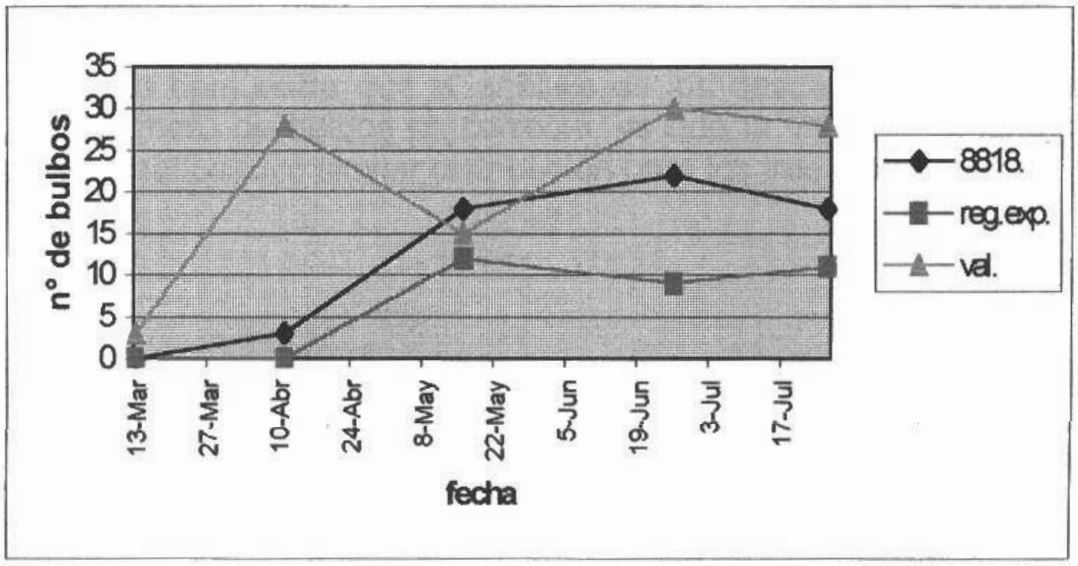



Figura N°4: Número de bulbos totales descartados.

Del análisis de varianza de los valores de descarte total para cada mes (ver cuadro siguiente), se concluyó que existían diferencias significativas entre los materiales, siendo 8818 diferente de Regeneración Exploratoria y de Valcatorce al 5% para ambas, y Regeneración Exploratoria diferente de Valcatorce al 0,02%. Esto confirma las diferencias que existen entre los materiales.

Tabla del análisis de varianza.

| Source | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| INTERCEPT | 1 | 70.70 | 0.0000 |
| CULT | 2 | 15.17 | 0.0005 |
| RESIDUAL | 0 | . | . |

Análisis de contrastes

| Contrast | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| 8818 vs reg.exp. | 1 | 3.73 | 0.0536 |
| 8818 vs val. | 1 | 3.76 | 0.0526 |
| reg. exp. vs val. | 1 | 13.64 | 0.0002 |

Cuadro N°3: Resultados del análisis estadístico del descarte total por mes para los tres materiales.

Analizando las pérdidas de peso por patologías y brotado se observó que la tendencia es similar al análisis por porcentaje de número de bulbos descartados. Esto demuestra que el análisis de los descartes a través del porcentaje de número de bulbos es correcto, ya que la variable tamaño en los bulbos descartados tuvo similar distribución para los tres materiales.

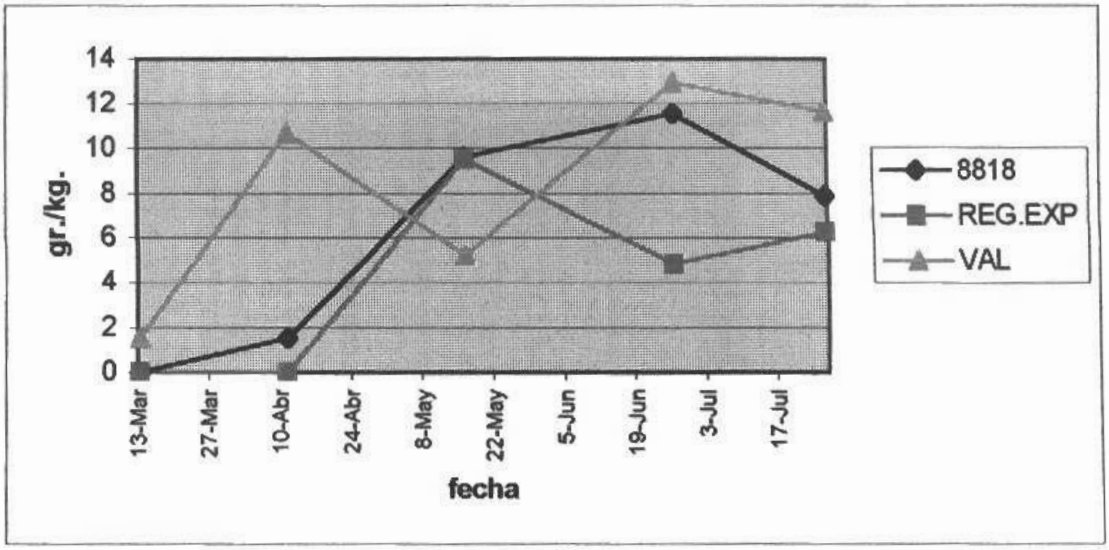



Figura N° 5: Promedio de perdida de peso por descarte (grs/kg. Referido al peso inicial)

**Análisis de pérdidas de peso:**

Las perdidas de peso no pudieron ser evaluadas en el primer mes luego de la cosecha. La cosecha se realizó el 19 de diciembre para los materiales locales y el 10 de enero para valcatorce y la primer evaluación del material se realizó el 13 de marzo. Por esta razón no se puede confirmar lo expuesto por Woodman y Barnell citado por Maude (1990), que las mayores perdidas de agua para todos los cultivares estudiados se daban inmediatamente luego de la cosecha.

Los meses evaluados fueron de febrero a julio. El porcentaje de perdida de peso para todo el período fue: para Valcatorce 11,37%, para 8818 9,57% y para Regeneración Exploratoria 7,99%.

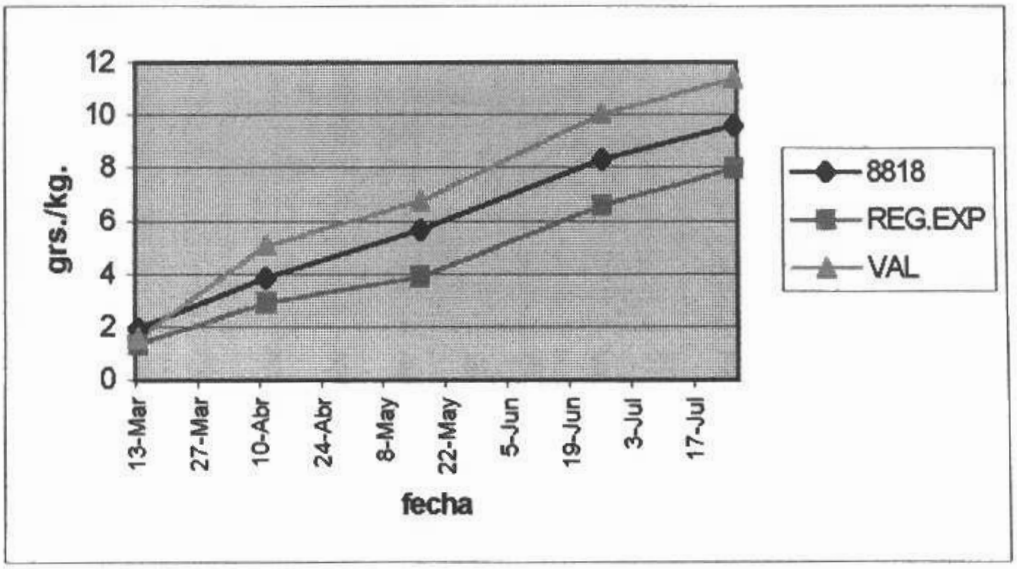



Figura N° 6: Promedio de perdida de peso acumulado (grs/kg. referido al peso inicial)

## DESCARTE POR HONGOS

Dentro de este grupo se encontraron dos géneros de hongos, *Aspergillus* y *Penicillium*. Los mismos presentaron un comportamiento diferente frente a los materiales evaluados así como en el momento de aparición. A continuación se analizan dichas patologías individualmente y en conjunto.

*Aspergillus niger*. En la siguiente figura se presenta el número de bulbos descartados por *Aspergillus niger* durante los cinco meses de almacenamiento para los tres materiales evaluados.

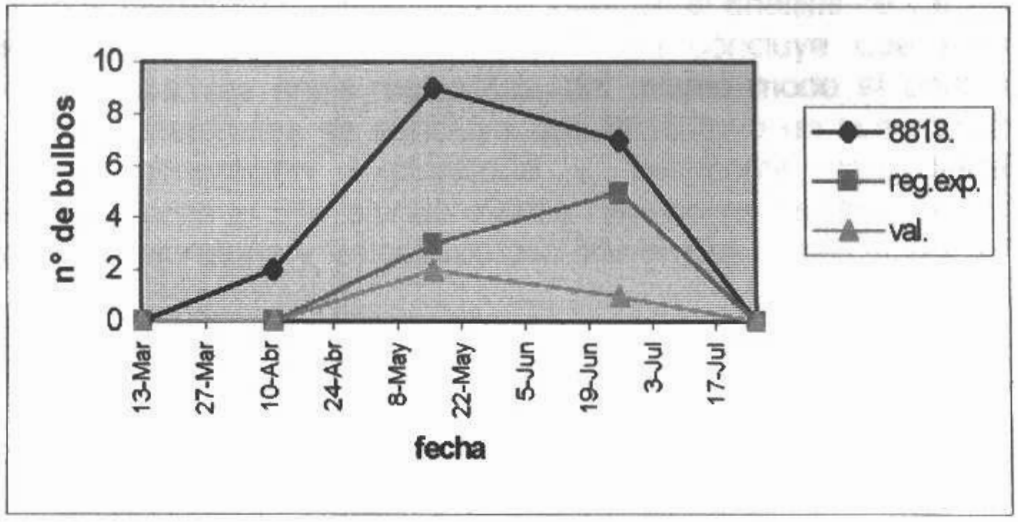



Figura N°7:Bulbos descartados por *Aspergillus niger* durante 5 meses de almacenamiento.

De la observación de este gráfico se desprende que el material 8818 comparado con Regeneración Exploratoria y Valcatorce, presentó perdidas a partir del mes de abril y se mantuvo con niveles mas altos durante los meses de mayo y junio. Estos dos últimos materiales presentaron descartes solamente en los meses de mayo y junio, siendo Valcatorce el de mejor comportamiento, mientras que Regeneración Exploratoria se comportó en forma intermedia.

En la siguiente figura se presentan los valores acumulados durante el período considerado:

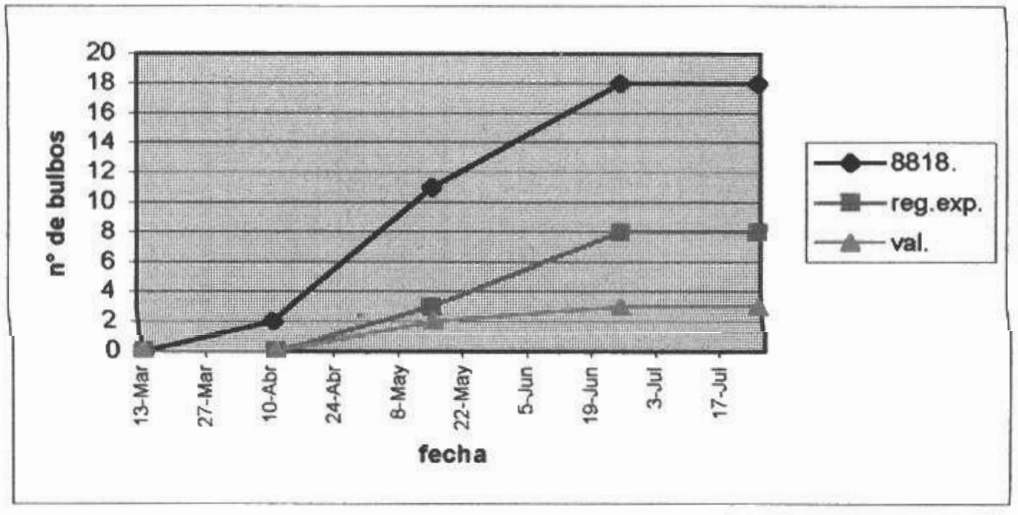



Figura N°8: Bulbos descartados por *Aspergillus niger* durante 5 meses de almacenamiento. (Valores acumulados)

Del análisis de la figura N°8 se concluye que el material 8818 fue el que presentó mayores perdidas al mes de julio. En el análisis de varianza de los valores acumulados, (ver cuadro N°4), se concluye que existieron diferencias significativas entre materiales, del mismo modo al analizar los contrastes entre materiales se concluye que 8818 tuvo un comportamiento diferente a Regeneración Exploratoria y Valcatorce con diferencias significativas mayores al 5%, siendo menos relevantes las diferencias entre Regeneración Exploratoria y Valcatorce con diferencias significativas al 12%.

Tabla del análisis de varianza.

| Source | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| INTERCEPT | 1 | 42.58 | 0.0000 |
| CULT | 2 | 24.46 | 0.0000 |
| RESIDUAL | 0 | . | . |

Análisis de contrastes

| Contrast | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| 8818 vs reg.exp. | 1 | 5.26 | 0.0218 |
| 8818 vs val. | 1 | 23.08 | 0.0000 |
| reg. exp. vs val. | 1 | 2.33 | 0.1273 |

Cuadro N°4: Resultados del análisis estadístico de bulbos descartados por *Aspergillus niger.* (valores acumulados al mes de julio)

*Penicillium* sp. En la siguiente figura se presenta el número de bulbos descartados por *Penicillium* sp. durante los cinco meses de almacenamiento para los tres materiales evaluados.

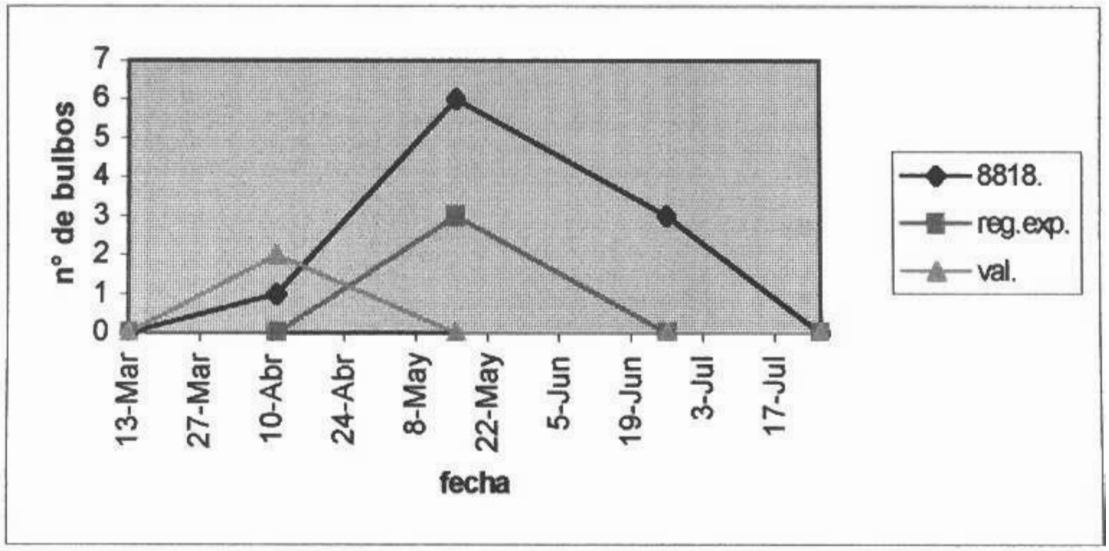



Figura N° 9: Número de bulbos descarteados mensualmente por *Penicillium* sp.

En el comportamiento de 8818 se destacaron valores durante los meses de abril, mayo y junio, resaltando el pico de descarte en el mes de mayo. Por otro lado Regeneración Exploratoria tuvo únicamente descartes en el mes de mayo y de menor magnitud que el material anterior. Por último, solo se descartaron dos bulbos en Valcatorce durante todo el almacenamiento, pero destacándose que el mismo se dio en abril.

En la próxima figura se presentan los valores acumulados de los descartes por *Penicillium* sp:

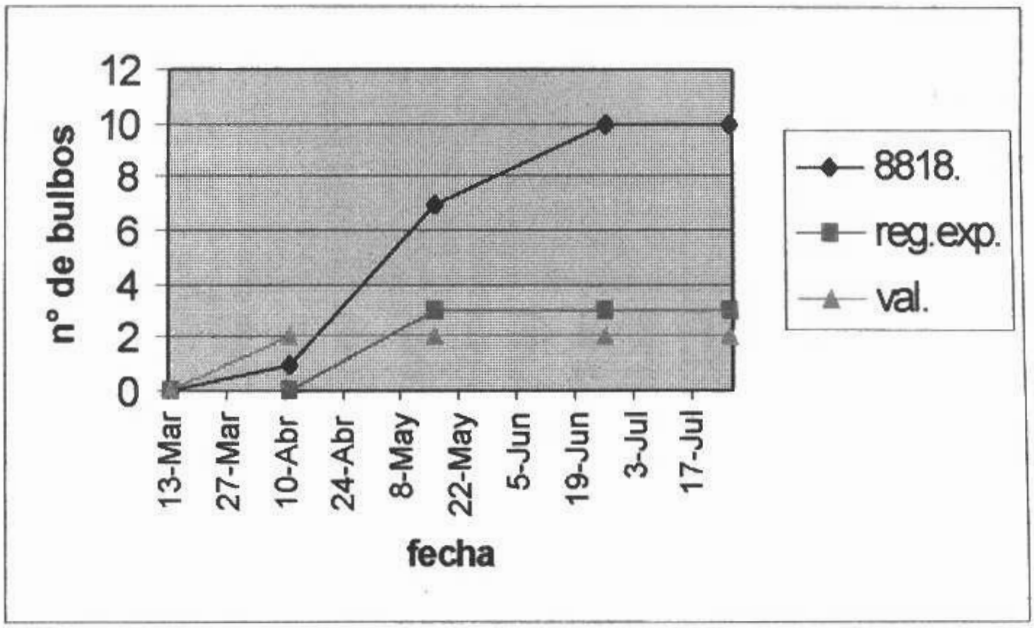



Figura N° 10: Número de bulbos descartados por *Penicillium* sp. (valores acumulados)

Mediante la observación de la figura se puede concluir que 8818 presentó el peor comportamiento con el mayor número de bulbos descartados, no siendo importantes las diferencias observadas entre Regeneración Exploratoria y Valcatorce. Hay que considerar que los descartes por esta patología fueron de escasa magnitud.

*Aspergillus niger* y *Penicillium* sp.: Al analizar conjuntamente los descartes ocasionados por hongos, (ver figura N°11), se destaca el comportamiento de 8818 ya que tuvo los mayores descartes por *Aspergillus* y *Penicillium* durante todo el período de almacenamiento. El porcentaje de bulbos descartados al mes de junio fue de 14% para 8818, mientras que para Regeneración Exploratoria fue de 5,5% y para Valcatorce de 2,5% para el mismo mes.

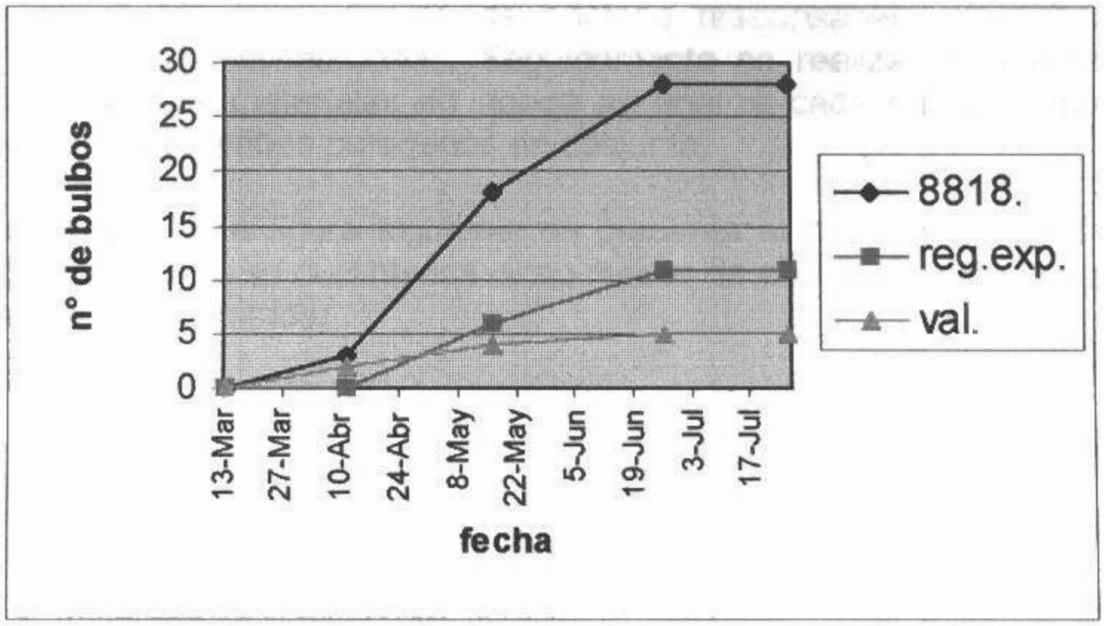



Figura N° 11: Número de bulbos descartados por hongos durante el almacenamiento. (valores acumulados)

En el siguiente cuadro se presenta el análisis estadístico de los valores acumulados al mes de julio, concluyéndose que 8818 es diferente de Regeneración Exploratoria y de Valcatorce con diferencias significativas al 2% y al 1% respectivamente. Por otra parte no se encontraron diferencias significativas al 10% entre Regeneración Exploratoria y Valcatorce.

Tabla del análisis de varianza.

| Source | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| INTERCEPT | 1 | 31.48 | 0.0000 |
| CULT | 2 | 11.68 | 0.0029 |
| RESIDUAL | 0 | . | . |

Análisis de contrastes

| Contrast | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| 8818 vs reg.exp. | 1 | 5.09 | 0.0240 |
| 8818 vs val. | 1 | 10.85 | 0.0010 |
| reg. exp. vs val. | 1 | 2.06 | 0.1515 |

Cuadro N°5: Resultados del análisis estadístico de bulbos descartados por hongos (valores acumulados al mes de julio)

## DESCARTE POR BACTERIAS

Se encontraron dos géneros de bacteria responsables de dichos descartes: *Erwinia* y *Pseudomonas*. Seguidamente se realiza un análisis mensual para los tres materiales en donde se analiza cada patógeno por separado y por último ambas patogenos en conjunto.

*Erwinia* sp.: En la figura siguiente se presenta el número de bulbos descartados por *Erwinia* sp durante los cinco meses de almacenamiento para los tres materiales evaluados.

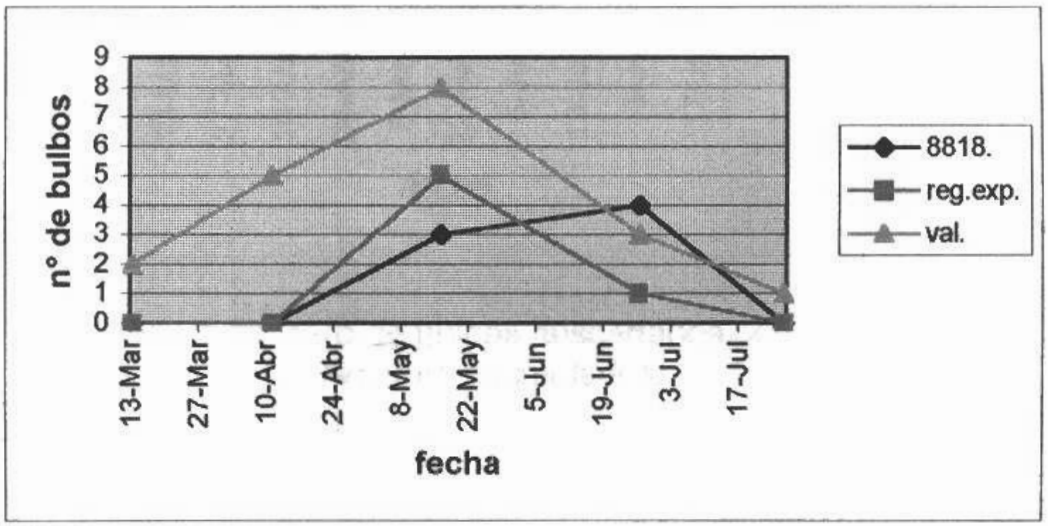



Figura N°12: Número de bulbos descartados por *Erwinia* sp.

Valcatorce presentó valores de descartes en todos los meses evaluados observándose el pico en el mes de mayo.

En 8818 y Regeneración Exploratoria recién comenzaron a observarse descartes a partir del mes de mayo y hasta el mes de junio, diferenciándose en que el pico para Regeneración Exploratoria se dio en forma aguda en el mes de mayo, mientras que para 8818 las perdidas se distribuyeron entre los meses de mayo y junio.

Al analizar los datos acumulados, (ver figura N°13), puede observarse que al mes de mayo Valcatorce presentó un 7,5% de bulbos descartados mientras que Regeneración Exploratoria, 2,5% y 8818, 1,5%. El comportamiento de estos dos últimos materiales fue similar tanto en magnitud como en el momento de descarte, mientras que Valcatorce no solo tuvo descartes desde el comienzo de almacenamiento sino que además los

valores fueron muy superiores durante todo el período, por lo que las pérdidas económicas con esta variedad serían mucho mayores.

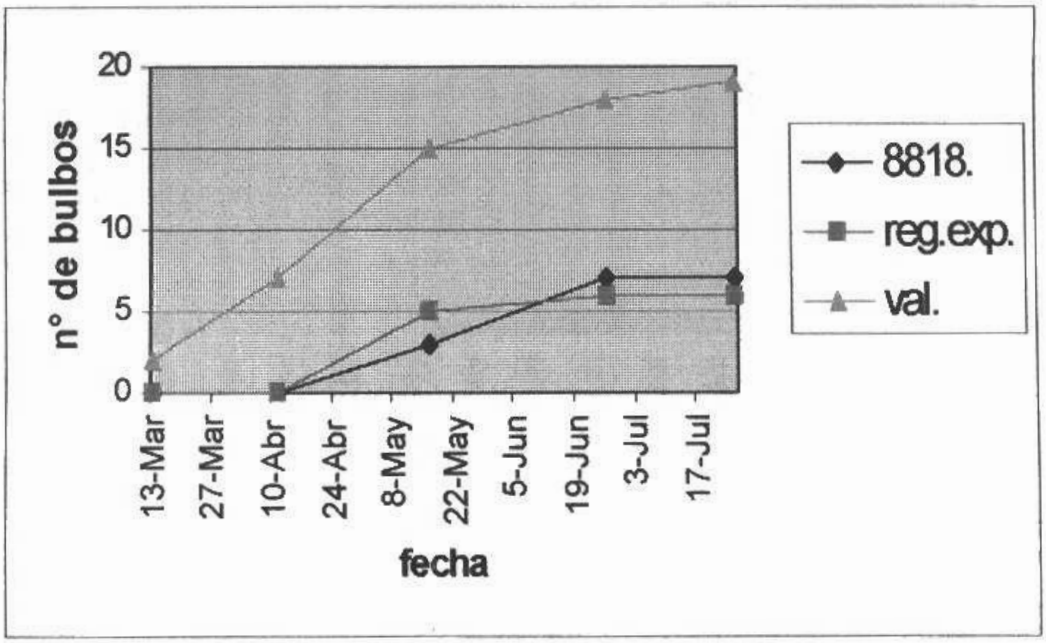



Figura N°13: Número de bulbos descartados por *Erwinia* sp.
(Valores acumulados)

*Pseudomonas* sp.: A continuación se presenta el gráfico de resultados de los tres materiales durante el período considerado.

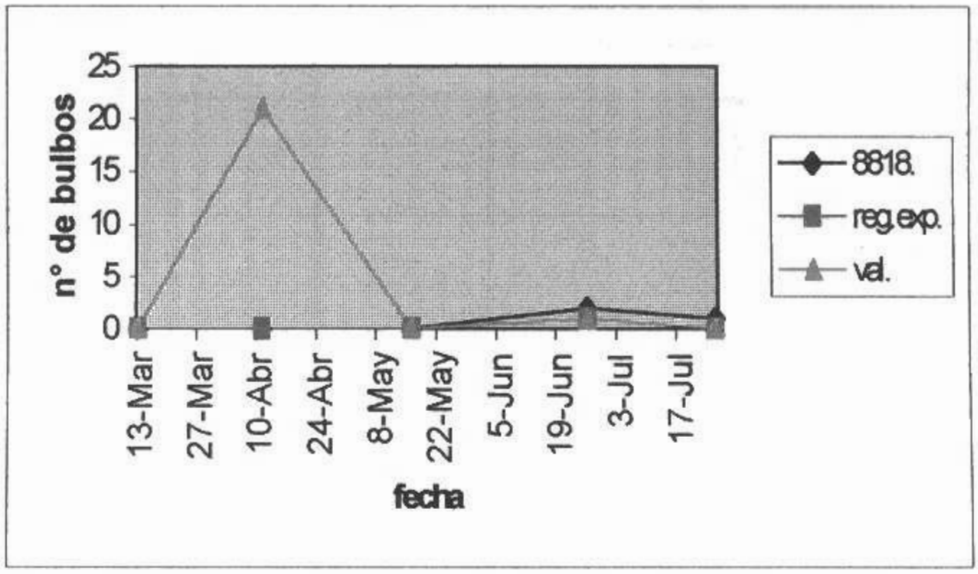



Figura N° 14: Número de bulbos descartados mensualmente por *Pseudomonas* sp.

Se destacó el comportamiento de la variedad Valcatorce que presentó un pico de gran magnitud en el mes de abril, siendo el único descarte para los tres materiales en los tres primeros meses del ensayo. Es de destacar que en las cuatro repeticiones se encontraron cebollas con síntomas de la enfermedad, siendo de 5 cebollas para la primer repetición, 5 para la segunda, 8 para la tercera y 3 para la cuarta, por lo tanto la distribución fue homogenea en todas las repeticiones. Esto pudo deberse a diferencias de resistensia entre materiales o a que los bulbos de Valcatorce vinieran infestados del campo, considerando que las diferentes fechas de cosecha pudieran exponer a Valcatorce a condiciones ambientales desfavorables en cosecha. Según García (1995), los bulbos maduros pueden podrirse completamente dentro de 10 días a temperaturas de 15 a 20°C.

Los tres materiales coincidieron en el mes de junio en un segundo pico de escasa magnitud.

Analizando los valores acumulados presentados en la siguiente figura, puede concluirse que el comportamiento de Valcatorce se debió al pico de descarte del mes de abril. Por otro lado el comportamiento de Regeneración Exploratoria y 8818 fue similar y de muy baja magnitud.

Al mes de julio los porcentajes de descarte fueron del 11% para Valcatorce, 1,5% para 8818 y 0,5% para Regeneración Exploratoria.

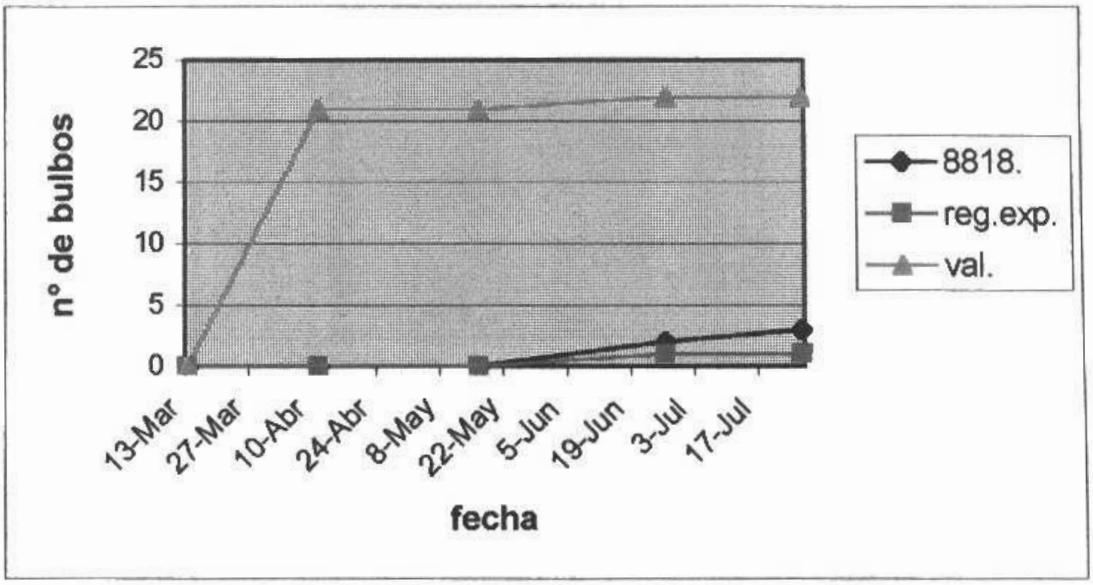



Figura N°15: Número de bulbos descartados por *Pseudomonas* sp. (gráfico acumulado)

*Pseudomonas* sp y *Erwinia* sp.: Si se analiza el efecto conjunto de *Pseudomonas* sp y *Erwinia* sp, (ver figura N°16), se puede apreciar una clara diferencia entre Valcatorce por un lado y Regeneración Exploratoria y 8818 por otro. En el análisis estadístico de los valores acumulados al mes de julio (cuadro N°6), se comprobó que efectivamente existieron diferencias significativas entre los materiales. Realizados los contrastes correspondientes se confirmó que 8818 fue diferente de Valcatorce así como Regeneración Exploratoria fue diferente de Valcatorce. Por otro lado no se encontraron diferencias significativas entre 8818 y Regeneración Exploratoria.

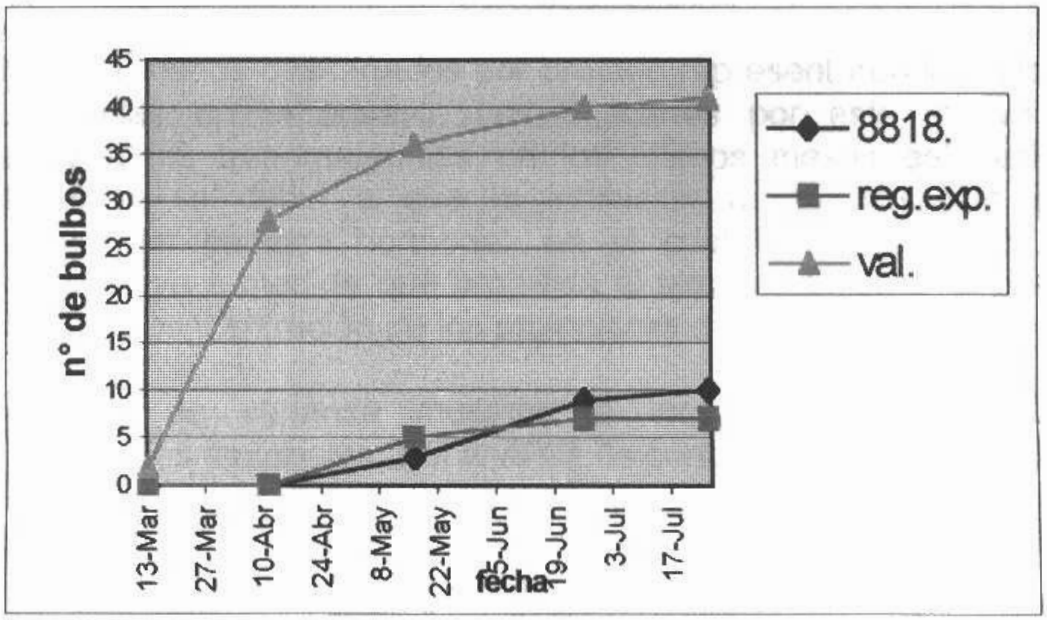



Figura N°16: Número de bulbos descartados por bacteria durante todo el período de almacenamiento (valores acumulados)

Tabla del análisis de varianza.

| Source | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| INTERCEPT | 1 | 269.12 | 0.0000 |
| CULT | 2 | 176.42 | 0.0000 |
| RESIDUAL | 0 | . | . |

Análisis de contrastes

| Contrast | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| 8818 vs reg.exp. | 1 | 1.16 | 0.2812 |
| 8818 vs val. | 1 | 167.13 | 0.0000 |
| reg. exp. vs val. | 1 | 100.52 | 0.0000 |

Cuadro N°6: Resultados del análisis estadístico de bulbos descartados por bacteria (valores acumulados al mes de julio)

## DESCARTE POR CAUSAS FISIOLOGICAS

**Brotado:** Los volúmenes descartados por brotado representaron la principal causa de perdidas en el ensayo. Los descartes por este motivo se encontraron para los tres materiales en los últimos meses del período considerado. Esto se debió a que la inhibición de la brotación está determinada por un balance hormonal, en el cual la concentración de inhibidores disminuye a medida que progresa el almacenamiento, al mismo tiempo aumenta la concentración de los promotores del crecimiento.

El análisis de varianza muestra la existencia de diferencias significativas entre los materiales. Del análisis de contrastes puede concluirse que Valcatorce fue el material con mayor descarte durante todo el periodo considerado, siendo diferente significativamente de 8818 y Regeneración Exploratoria con una probabilidad de 7,7% y 1,7% respectivamente.

Por otro lado no se encontraron diferencias significativas entre. Regeneración Exploratoria y 8818, mostrando esto que no existió un avance significativo en el mejoramiento por dicha característica.

Tabla del análisis de varianza.

| Source | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| INTERCEPT | 1 | 20.99 | 0.0000 |
| CULT | 2 | 6.17 | 0.0457 |
| RESIDUAL | 0 | . | . |

Análisis de contrastes

| Contrast | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| 8818 vs reg.exp. | 1 | 1.03 | 0.3102 |
| 8818 vs val. | 1 | 3.12 | 0.0772 |
| reg. exp. vs val. | 1 | 5.75 | 0.0165 |

Cuadro N°7: Resultados del análisis estadístico de bulbos descartados mensualmente por brotado.

Es importante destacar que los descartes mas tempranos fueron en la variedad Valcatorce, lo que evidencia que existieron diferencias genéticas y de adaptación al ambiente que favorecieron a las poblaciones locales y las hicieron mas aptas para una conservación prolongada. Estos resultados se expresan en la figura siguiente:

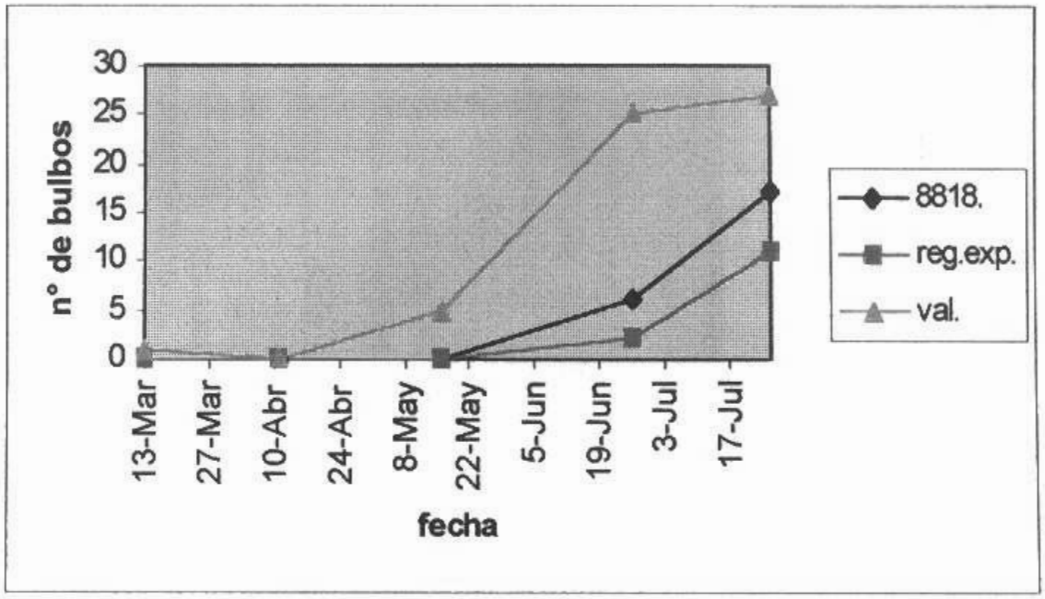



Figura N° 17: Número de bulbos descartados por brotado durante los 5 meses de almacenamiento

Las diferencias en el momento en que se dio el brotado entre Valcatorce y los dos materiales locales demostraron la mejor aptitud para el almacenamiento de estas últimas. No obstante, es de destacar que los materiales fueron cosechados cuando presentaron más de un 50% de follaje caído, asegurando esto la máxima acumulación de inhibidores de la brotación en el bulbo, ya que según Komochi (1990), el momento de cosecha es determinante del tiempo de almacenamiento. Según el mismo autor, el momento óptimo de cosecha se da cuando el cultivo llega del 50 al 100% de caída del follaje.

En el cuadro de valores acumulados puede observarse que al momento que se dio la aparición de los primeros descartes en los materiales 8818 y Regeneración Exploratoria, la variedad Valcatorce ya presentaba un 15,5% de bulbos descartados por esta causa. Al terminar el período, el descarte acumulado para la variedad Valcatorce fue de 29%, mientras que para 8818 fue de 11,5% y para Regeneración Exploratoria de 6,5 %. A continuación se presenta la figura con los datos analizados.

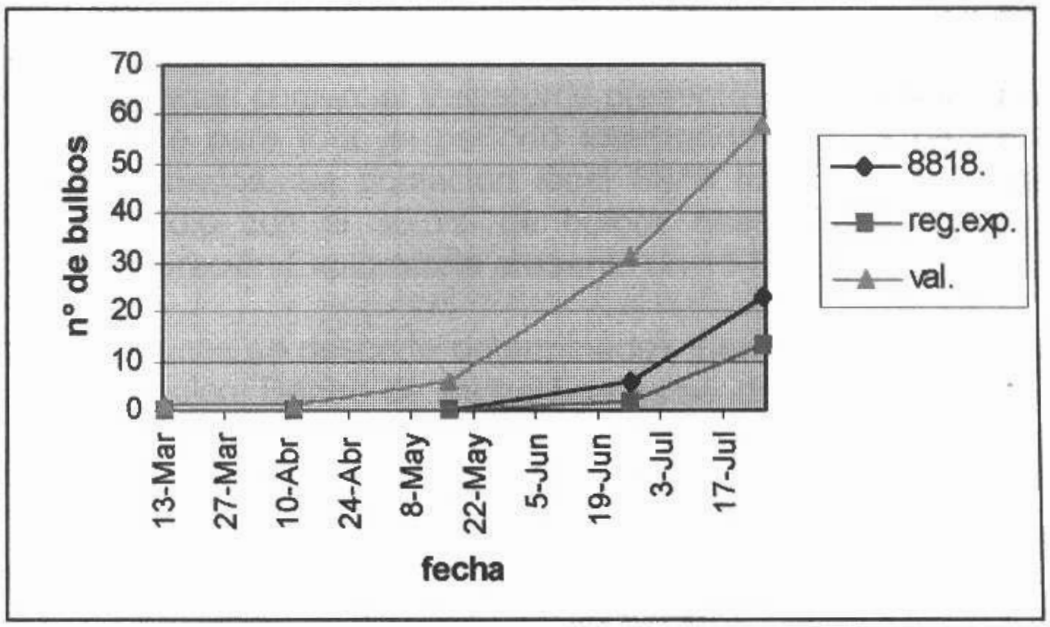



Figura N° 18: Número de bulbos descartados por brotado (valores acumulados)

# CONCLUSIONES

1. La variedad comercial Valcatorce presentó los mayores valores de descarte para todo el período totalizando el 52% de los bulbos almacenados. La población local 8818 tuvo un comportamiento intermedio con el 30,5% de bulbos descartados, mientras que Regeneración Exploratoria presentó un 15,5% de descarte.

2. Las causas de descarte determinadas fueron de origen patogénico y fisiológico. Dentro de los patógenos se identificaron: bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Erwinia*.y hongos de los géneros *Penicillium* . y *Aspergillus*.

3. La principal causa de descarte para los tres materiales fue el brotado. En la variedad Valcatorce el 55,8% de los bulbos descartados fue por esta causa, mientras que en la población local 8818 fue un 37,7% y en Regeneraciópn Exploratoria 41,9%.

4. La importancia de descarte por hongos y bacterias varió entre los tres materiales. No obstante es de destacar la similitud en el comportamiento de los dos materiales locales.

5. La población local 8818 y Regeneración Exploratoria presentaron un mejor comportamiento frente a las bacterias que la variedad importada Valcatorce. Sin embargo los descartes por hongos fueron mas importantes en los materiales locales que en la variedad importada.

6. Para Valcatorce el 39,4% del descarte se debió a bacterias y un 4,8% a hongos. Para 8818 el 16,4% se debió a bacterias y el 45,9% a hongos, mientras que para Regeneración Exploratoria el 22,6% se descartó por bacterias y el 35,5% por hongos.

7. Para las condiciones del ensayo Regeneración Exploratoria presentó mejor comportamiento seguida de 8818, por último Valcatorce.

8. Se recomienda realizar más evaluaciones ya que este fue el primer año, siendo insuficiente para concluir que las poblaciones locales presentaron mejor comportamiento.

9. En futuros ensayos se recomienda considerar los datos ambientales de temperatura y humedad relativa durante el almacenamiento.

10. Sería importante que en estudios posteriores se contara con los medios de cultivo necesarios para lograr una identificación a nivel de especie del género *Pseudomonas.*

# RESUMEN

En el Uruguay el abastecimiento al mercado interno de cebolla se realiza a partir de bulbos almacenados por los productores. El mayor inconveniente para dicha práctica es la perdida ocasionada por factores patogénicos y fisiológicos. La incidencia de estos factores depende principalmente de la variedad, condición de producción y almacenamiento.

En el presente trabajo se evaluó mensualmente la incidencia de enfermedades y problemas fisiológicos en tres materiales genéticos producidos y almacenados en condiciones similares a las utilizadas por los productores. Se identificaron los agentes causales de los descartes mediante técnicas estándar de laboratorio. Se utilizaron 4 parcelas de 50 bulbos cada una de: Sintética Nº14, variedad mas plantada; 8818, población local colectada por la Cátedra de Horticultura y Regeneración Exploratoria, que proviene del mejoramiento de 8818 realizado por dicha cátedra.

Los resultados obtenidos indican diferencias claras en el comportamiento. Los porcentajes de descarte fueron de : 52%, 30.5% y 15.5% para Sintética Nº14, 8818 y Regeneración Exploratoria respectivamente. Esta diferencia a favor de los materiales locales frente al importado posibilitan un mayor tiempo de almacenamiento con menores pérdidas.

Las causas de descarte determinadas fueron de origen patogénico y fisiológico. Los patógenos identificados fueron: bacterias de los generos *Pseudomonas* y *Erwinia* ; hongos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium.* Como causa fisiológica se determinó el brotado.

# SUMMARY

In Uruguay, the internal market is supplied by onions stored by farmers. The main problem with this practice is the loss due to pathogens and physiological factors.

In this thesis the incidence of disease and physiological problems was evaluated in three different genetic materials produced and stored in conditions like those used by farmers. Standard laboratory methods were used to identify the pathogens in the eliminated onions. Four replicates of 50 onions of: "Sintética N°14" , the most commonly used variety; "8818", a land race collected by the Horticulture unit and "Regeneración Exploratoria", obtained by breeding of 8818 carried out by the same unit.

The final results indicate clear differences in the behaviour of the evaluated materials. The percentajes eliminated were: 52%, 30,5% and 15,5% for Sintética N°14, 8818 and Regeneración Exploratoria respectively. This difference in favour of the local materials in comparissons with the imported ones, makes it possible to store them for longer with decreased losses.

The causes of elimination of bulbs were of pathogenic and physiologic origin. The pathogens identified were: bacteria of the genera *Pseudomonas* and *Erwinia*; fungi of *Aspergillus* and *Penicillium* genera. Sprouting was the phisiologic cause.

# BIBLIOGRAFIA


1. ALDABE, L.; GALVAN, G. 1989. Estudio de poblaciones locales de cebolla tipo valenciana para conservación. Montevideo, Facultad de Agronomía. 16 p.

2. BARNETT, H. L, 1960. Illustrated genera of imperfect fungi. Minnesota USA Burgess publishing company. 241 p.

3. CEBRAS, 1991. El cultivo de la cebolla en el valle bonaerense del Rio Colorado; Manejo poscosecha. INTA, Manual técnico. pp. 88-105.

4. DE SANCHO, H. 1993. Cebolla. In: Manual de horticultura. VIGLIOLA, M. Buenos Aires. Hemisferio Sur S.A. pp. 106-117.

5. FRENCH, E. R.; HEBERT, T. T. 1982. Métodos de investigación fitopatológica. 1ª reimp. Costa Rica, IICA. 289p.

6. FRENCH, E. R. 1989. Taxonomía de las bacterias fitopatógenas. Fitopatología. Vol. 24: 29-36

7. GARCIA, S. M. 1995. Enfermedades de cebolla. In: Producción de cebolla dulce para exportación. VILLAMIL, J. y VILARO, F. eds. Montevideo, INIA Las Brujas. Serie Actividades de difusión N°46. pp. 151-168.

8. JONES, H. A.; MANN, L. K. 1963. Onions and their allies. Great Britain, Butler & Tanner. 286 p.

9. KOMOCHI, S. 1990. Bulb dormancy and storage phisiology. In: Onions and allied crops. RABINOWITCH, H. D.; BREWSTER, J. L., United States, CRC. V1; pp 89-109.

10. LELLIOT, R. A. and STEAD, D. E. 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Boston. Blackwell Scientific publications, London. 216 p.

11. LOPEZ, A. 1992. Principios básicos de la poscosecha de frutas y hortalizas con especial énfasis en ajo, cebolla y tomate. In: Producción, poscosecha, procesamiento y comercialización de ajo, tomate y cebolla. IZQUIERDO, J. et. al. eds. Santiago, Chile. FAO. pp. 225-278.

12. MAUDE, R. B. 1990. Storage diseases of onions. In: Onions and allied crops. RABINOWITCH, A. D.; BREWSTER, J. L., United States. CRC. V2; pp 273-291.

13. PALLERONI, N. J. 1984. Gram-negative aerobics rods and cocci. In: Bergey´s manual of systematic bacteriology. BERGEY, ___. Baltimore, USA. Board. V1; pp 172-176.

14. SCHAAD, N. W. 1988. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. Minnesota, USA. APS. pp. 60-77.

15. SNOWDON, A. L. 1990. A colour atlas of post-harvest diseases & disorders of fruits & vegetables. Barcelona. Grafos. V2; pp 236-262.

16. SOBRINO, E.; SOBRINO, E. 1992. Tratado de horticultura herbácea. Hortalizas de legumbre - tallo - bulbo y tuberosas. Barcelona. Aedos. 333p.

17. SOLLIER, S.; ALDABE, L. 1995. Evaluación de la respuesta a la selección alcanzada en el mejoramiento genético de una población local de cebolla. Montevideo, Facultad de Agronomía. 20 p.

18. TUCKER, W. Y DREW, R. 1982. Post-harvest studies on autumn-drilled bulb onions. The effect of harvest date, conditioning treatments and field drying on skin quality and storage performance. Jouurnal of Horticulturall Science 57(3): 339-348.

19. VILARÓ, F. 1997. Evaluación de variedades de cebolla en la zona sur. In: Resultados experimentales en cebolla. Montevideo, INIA Las Brujas. Serie Actividades de difusión N°128. pp. 61-62.

# ANEXOS

**ANEXO N°1:** Características de la variedad Valcatorce.

Es un cultivar creado por los ingenieros agrónomos Crunko y Lona, en la estación experimental La Consulta, INTA, Argentina. El origen de este material fueron cultivares sintéticos de cebolla valenciana, a las que se les realizó cruzamientos y selecciones basadas en la conservación de los bulbos en almacenaje.

El ciclo es semitardío a tardío, de aproximadamente 270 días utilizando el sistema almácigo transplante. Es muy resistente a la floración prematura en el cultivo y al brotado en el almacenaje. Los bulbos se conservan excepcionalmente bien, permitiendo una prolongada comercialización.

Los bulbos del cultivar Valcatorce son de forma redonda y de tamaño mediano con varias capas protectoras de color bronceado. La pulpa es firme, blanca y de sabor suave. El peso promedio es de 150 gramos.

Características de la población local 8818.

Es una población local colectada por la Cátedra de Horticultura en la zona Pantanoso del Sauce, Canelones. Esta población junto a otras forma parte de un estudio iniciado en 1987 por la misma cátedra con los objetivos de: por un lado contar con una evaluación agronómica del material mantenido por los productores que permita posteriormente realizar una conservación genética calificada, o facilite su inclusión en programas de mejoramiento de ésta u otras instituciones.

Los bulbos de la población 8818 son de forma esférica-alargada y trompo, de color bronceado claro y de uniformidad media. El ciclo es intermedio, de 206 días en sistema de almácigo transplante.

Características de Regeneración Exploratoria.

Esta población proviene de un programa de mejoramiento llevado a cabo en la Facultad de Agronomía por la Cátedra de Horticultura a partir de la población local 8818.

El programa de mejoramiento se basa en la obtención de líneas endocriadas mediante dos autofecundaciones sucesivas. Se realiza selección entre y dentro de las líneas por calidad comercial y conservación poscosecha de los bulbos. Las líneas seleccionadas son recombinadas para recomponer la población. Para la obtención de Regeneración Exploratoria paralelamente a la segunda autofecundación, se realiza la fecundación libre de una o dos umbelas por planta que originan dicho material, teniendo éste como objetivo comprobar el grado de avance en la selección.

**ANEXO N°2:** Planilla de datos utilizada para el registro de pesos y diámetros de lo bulbos que ingresaron al ensayo.

**Fecha:** 16/2/96 **Lote N° 4** **Variedad:** Valcatorce

| N° | Diámetro (mm) | Peso (grs) | Observación |
|---|---|---|---|
| 1 | 80 | 222 | |
| 2 | 84 | 265 | |
| 3 | 57 | 96 | |
| 4 | 74 | 167 | |
| 5 | 64 | 153 | |
| 6 | 62 | 121 | |
| 7 | 57 | 94 | Peladura de un lado del cuello y linea oscura |
| 8 | 59 | 91 | |
| 9 | 52 | 79 | |
| 10 | 74 | 165 | |
| 11 | 76 | 215 | |
| 12 | 56 | 94 | |
| 13 | 54 | 76 | |
| 14 | 71 | 163 | |
| 15 | 72 | 191 | |
| 16 | 76 | 203 | |
| 17 | 56 | 92 | |
| 18 | 70 | 179 | |
| 19 | 71 | 153 | Mancha oscura en zona del cuello |
| 20 | 69 | 154 | |
| 21 | 57 | 84 | |
| 22 | 65 | 132 | |
| 23 | 58 | 108 | |
| 24 | 66 | 114 | |
| 25 | 62 | 118 | |
| 26 | 53 | 86 | |
| 27 | 58 | 97 | |
| 28 | 65 | 129 | |
| 29 | 71 | 161 | |
| 30 | 72 | 163 | |
| 31 | 54 | 78 | Depresión en cuello sin olor ni ablandamiento. |
| 32 | 72 | 152 | |
| 33 | 63 | 121 | |
| 34 | 60 | 107 | |
| 35 | 74 | 190 | |
| 36 | 74 | 183 | |
| 37 | 70 | 157 | |
| 38 | 59 | 97 | |
| 39 | 61 | 112 | |
| 40 | 66 | 135 | |
| 41 | 43 | 53 | |
| 42 | 53 | 79 | |
| 43 | 44 | 45 | |
| 44 | 57 | 81 | |
| 45 | 47 | 55 | |
| 46 | 52 | 70 | |
| 47 | 48 | 54 | |
| 48 | 43 | 40 | |
| 49 | 39 | 33 | |
| 50 | 62 | 108 | |
| | **TOTAL:** | 6.104 | |

## ANEXO N°3

N°1: Análisis estadístico de los descartes por bacteria (acumulados al mes de julio)

Response: ACUM
Weight Variable: None
Data set: B
Frequency Missing: 0

Response Levels (R) = 7
Populations (S) = 3
Total Frequenccy (N) = 12
Observatiions (Obs) = 12

POPULATION PROFILES

| Sample | CULT | Sample Size |
|---|---|---|
| 1 | 8818 | 4 |
| 2 | Reg. Exp. | 4 |
| 3 | Val. | 4 |

RESPONSE PROFILES

| Response | ACUM |
|---|---|
| 1 | 1 |
| 2 | 2 |
| 3 | 3 |
| 4 | 4 |
| 5 | 9 |
| 6 | 10 |
| 7 | 12 |

DESIGN MATRIX

| Sample | Response Function | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 2.50000 | 1 | 1 | 0 |
| 2 | 1.75000 | 1 | 0 | 1 |
| 3 | 10.25000 | 1 | -1 | -1 |

ANALYSIS-OF-VARIANCE TABLE

| Source | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| INTERCEPT | 1 | 269.12 | 0.0000 |
| CULT | 2 | 176.42 | 0.0000 |
| RESIDUAL | 0 | . | . |

ANALYSIS-OF-WEIGHTED-LEAST-SQUARES ESTIMATES

| Effect | Parameter | Estimate | Standard Error | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|---|---|
| INTERCEPT | 1 | 4.8333 | 0.2446 | 269.12 | 0.0000 |
| CULT | 2 | -2.3333 | 0.3281 | 50.58 | 0.0000 |
| | 3 | -3.0833 | 0.4769 | 41.80 | 0.0000 |

ANALISIS-OF-CONTRASTS

| Contrast | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| 8818 vs Reg. Exp. | 1 | 1.16 | 0.2812 |
| 8818 vs Val. | 1 | 167.13 | 0.0000 |
| Reg. Exp. vs Val. | 1 | 100.52 | 0.0000 |

N°2: Análisis estadístico de los descartes por hongos
(acumulados al mes de julio)

Response: ACUM
Weight Variable: None
Data set: B
Frequency Missing: 0

Response Levels (R) = 7
Populations (S) = 3
Total Frequenccy (N) = 12
Observatiions (Obs) = 12

POPULATION PROFILES

| Sample | CULT | Sample Size |
|---|---|---|
| 1 | 8818 | 4 |
| 2 | Reg. Exp. | 4 |
| 3 | Val. | 4 |

RESPONSE PROFILES

| Response | ACUM |
|---|---|
| 1 | 0 |
| 2 | 1 |
| 3 | 2 |
| 4 | 3 |
| 5 | 5 |
| 6 | 6 |
| 7 | 10 |

DESIGN MATRIX

| Sample | Response Function | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 7.00000 | 1 | 1 | 0 |
| 2 | 2.75000 | 1 | 0 | 1 |
| 3 | 1.25000 | 1 | -1 | -1 |

ANALYSIS-OF-VARIANCE TABLE

| Source | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| INTERCEPT | 1 | 31.48 | 0.0000 |
| CULT | 2 | 11.68 | 0.0029 |
| RESIDUAL | 0 | . | . |

ANALYSIS-OF-WEIGHTED-LEAST-SQUARES ESTIMATES

| Effect | Parameter | Estimate | Standard Error | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|---|---|
| INTERCEPT | 1 | 3.6667 | 0.6535 | 31.48 | 0.0000 |
| CULT | 2 | 3.3333 | 1.1592 | 8.27 | 0.0040 |
| | 3 | -0.9167 | 0.8323 | 1.21 | 0.2707 |

ANALISIS-OF-CONTRASTS

| Contrast | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| 8818 vs Reg. Exp. | 1 | 5.09 | 0.0240 |
| 8818 vs Val. | 1 | 10.85 | 0.0010 |
| Reg. Exp. vs Val. | 1 | 2.06 | 0.1515 |

N°3: Análisis estadístico de los descartes por *Aspergillus* sp (acumulados al mes de julio)

Response: TIP2
Weight Variable: None
Data set: B
Frequency Missing: 0

Response Levels (R) = 7
Populations (S) = 3
Total Frequenccy (N) = 12
Observatiions (Obs) = 12

POPULATION PROFILES

| Sample | CULT | Sample Size |
|---|---|---|
| 1 | 8818 | 4 |
| 2 | Reg. Exp. | 4 |
| 3 | Val. | 4 |

RESPONSE PROFILES

| Response | TIP2 |
|---|---|
| 1 | 0 |
| 2 | 1 |
| 3 | 2 |
| 4 | 3 |
| 5 | 4 |
| 6 | 5 |
| 7 | 6 |

DESIGN MATRIX

| Sample | Response Function | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 4.50000 | 1 | 1 | 0 |
| 2 | 2.00000 | 1 | 0 | 1 |
| 3 | 0.75000 | 1 | -1 | -1 |

ANALYSIS-OF-VARIANCE TABLE

| Source | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| INTERCEPT | 1 | 42.58 | 0.0000 |
| CULT | 2 | 24.46 | 0.0000 |
| RESIDUAL | 0 | . | . |

ANALYSIS-OF-WEIGHTED-LEAST-SQUARES ESTIMATES

| Effect | Parameter | Estimate | Standard Error | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|---|---|
| INTERCEPT | 1 | 2.4167 | 0.3703 | 42.58 | 0.0000 |
| CULT | 2 | 2.0833 | 0.5698 | 13.37 | 0.0003 |
| | 3 | -0.4167 | 0.5878 | 0.50 | 0.4784 |

ANALISIS-OF-CONTRASTS

| Contrast | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| 8818 vs Reg. Exp. | 1 | 5.26 | 0.0218 |
| 8818 vs Val. | 1 | 23.08 | 0.0000 |
| Reg. Exp. vs Val. | 1 | 2.33 | 0.1273 |

N°4: Análisis estadístico de los descartes totales para todo el período

Response: TOT
Weight Variable: None
Data set: A
Frequency Missing: 0

Response Levels (R) = 12
Populations (S) = 3
Total Frequenccy (N) = 60
Observatiions (Obs) = 60

POPULATION PROFILES

| Sample | CULT | Sample Size |
|---|---|---|
| 1 | 8818 | 20 |
| 2 | Reg. Exp. | 20 |
| 3 | Val. | 20 |

RESPONSE PROFILES

| Response | TIP2 |
|---|---|
| 1 | 0 |
| 2 | 1 |
| 3 | 2 |
| 4 | 3 |
| 5 | 4 |
| 6 | 5 |
| 7 | 6 |
| 8 | 7 |
| 9 | 9 |
| 10 | 10 |
| 11 | 11 |
| 12 | 15 |

DESIGN MATRIX

| Sample | Response Function | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3.05000 | 1 | 1 | 0 |
| 2 | 1.60000 | 1 | 0 | 1 |
| 3 | 5.20000 | 1 | -1 | -1 |

ANALYSIS-OF-VARIANCE TABLE

| Source | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| INTERCEPT | 1 | 70.70 | 0.0000 |
| CULT | 2 | 15.17 | 0.0005 |
| RESIDUAL | 0 | . | . |

ANALYSIS-OF-WEIGHTED-LEAST-SQUARES ESTIMATES

| Effect | Parameter | Estimate | Standard Error | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|---|---|
| INTERCEPT | 1 | 3.2833 | 0.3905 | 70.70 | 0.0000 |
| CULT | 2 | -0.2333 | 0.5416 | 0.19 | 0.6666 |
| | 3 | -1.6833 | 0.4470 | 14.18 | 0.0002 |

ANALISIS-OF-CONTRASTS

| Contrast | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| 8818 vs Reg. Exp. | 1 | 3.73 | 0.0536 |
| 8818 vs Val. | 1 | 3.76 | 0.0526 |
| Reg. Exp. vs Val. | 1 | 13.64 | 0.0002 |

N°5: Análisis estadístico de los descartes por brotado para todo el período

Response: TIP1
Weight Variable: None
Data set: A
Frequency Missing: 0

Response Levels (R) = 10
Populations (S) = 3
Total Frequenccy (N) = 60
Observatiions (Obs) = 60

POPULATION PROFILES

| Sample | CULT | Sample Size |
|---|---|---|
| 1 | 8818 | 20 |
| 2 | Reg. Exp. | 20 |
| 3 | Val. | 20 |

RESPONSE PROFILES

| Response | TIP2 |
|---|---|
| 1 | 0 |
| 2 | 1 |
| 3 | 2 |
| 4 | 3 |
| 5 | 4 |
| 6 | 5 |
| 7 | 7 |
| 8 | 9 |
| 9 | 11 |
| 10 | 14 |

DESIGN MATRIX

| Sample | Response Function | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 1.15000 | 1 | 1 | 0 |
| 2 | 0.65000 | 1 | 0 | 1 |
| 3 | 2..90000 | 1 | -1 | -1 |

ANALYSIS-OF-VARIANCE TABLE

| Source | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| INTERCEPT | 1 | 20.99 | 0.0000 |
| CULT | 2 | 6.17 | 0.0457 |
| RESIDUAL | 0 | . | . |

ANALYSIS-OF-WEIGHTED-LEAST-SQUARES ESTIMATES

| Effect | Parameter | Estimate | Standard Error | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|---|---|
| INTERCEPT | 1 | 1.5667 | 0.3419 | 20.99 | 0.0000 |
| CULT | 2 | -0.4167 | 0.4172 | 1.00 | 0.3179 |
| | 3 | -0.9167 | 0.3751 | 5.97 | 0.0145 |

ANALISIS-OF-CONTRASTS

| Contrast | DF | Chi-Square | Prob |
|---|---|---|---|
| 8818 vs Reg. Exp. | 1 | 1.03 | 0.3102 |
| 8818 vs Val. | 1 | 3.12 | 0.0772 |
| Reg. Exp. vs Val. | 1 | 5.75 | 0.0165 |

**ANEXO N°4:** Planilla utilizada en cada fecha de registro donde consta la causa y el peso de los bulbos retirados así como el peso total del lote sano.

Fecha: 16/5/96. Variedad: Valcatorce Lote N° 4

| N° | Estado | Tipo | Ret | Causa | N° | Estado | Tipo | Ret | Causa |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | | | | | 26 | | | | |
| 2 | | | | | 27 | | | | |
| 3 | | | | | 28 | | | | |
| 4 | | | | | 29 | | | | |
| 5 | P | 4 | Si | Pudrición | 30 | | | | |
| 6 | | | | | 31 | | | | |
| 7 | | | | | 32 | | | | |
| 8 | | | | | 33 | | | | |
| 9 | | | | | 34 | | | | |
| 10 | | | | | 35 | M | 2 | Si | *Aspergillus* |
| 11 | | | | | 36 | | | | |
| 12 | | | | | 37 | | | | |
| 13 | | | | | 38 | | | | |
| 14 | | | | | 39 | | | | |
| 15 | | | | | 40 | | | | |
| 16 | B | 0 | Si | Brotado | 41 | | | | |
| 17 | | | | | 42 | P | 4 | Si | Pudrición |
| 18 | | | | | 43 | | | | |
| 19 | | | | | 44 | | | | |
| 20 | | | | | 45 | | | | |
| 21 | B | 0 | Si | brotado | 46 | | | | |
| 22 | | | | | 47 | | | | |
| 23 | | | | | 48 | | | | |
| 24 | | | | | 49 | | | | |
| 25 | | | | | 50 | | | | |

**Referencias: S = sano; P = podrido; M = manchado; B = brotado**

| | S | P | M | B |
|---|---|---|---|---|
| **Peso (gr)** | 4.478 | 0..217 | 0.096 | 0.312 |

**ANEXO N°5:** Planilla en la que se detallan los procedimientos seguidos en la determinación de la causa de descarte para cada bulbo descartado.

16/5

**Ficha de retiro**

Variedad: Roy. Exp. Lote: 4 Bulbo: 48

Causa: ______ Tipo de Síntoma: 4 ?

Síntoma: Pudrición de catáfila de alrededor externa

Análisis:

5/6 * Aislamiento en NAD estriado

20/6 * Colonias Puras, Blanca lechosa y colonias de hasta 2 mm Ø convexas

* YDC

2/7 * YDC Blanco

* Gram (-) KOH 3%

* O/F test verde

fermentativo

25/7 → pruebas patog.

29/7 → pudrición [illegible] en catáfila

5/8 → putrefacción y p.p. (+)

Resumen: Gram (-)

O/F Fermentativo

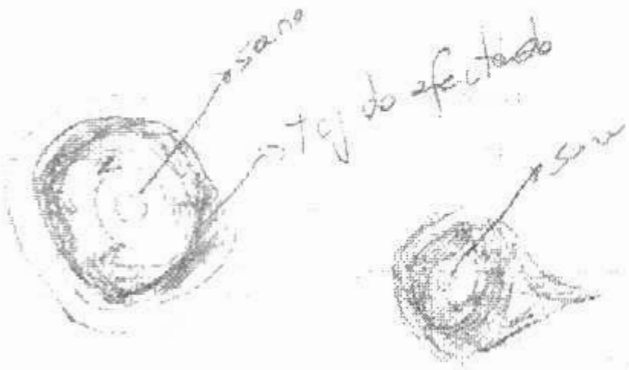
PP - (+)

YDC blanco

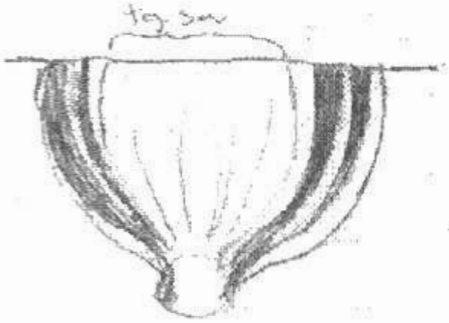
8/8 – Conservación

Agente Causal: Erwinia sp

Eliminación de la muestra: ______




color amarillento verdoso, olor muy fuerte



**ANEXO N°6:** Composición de los medios utilizados en el análisis de laboratorio.

1. Agar papa dextrosa, APD.

   - Extracto de papa 4,0 grs./lt.
   - Glucosa 20,0 grs./lt.
   - Agar 10,0 grs./lt.
   - PH 5,6 (+ -) 0,2

2. Yeast dextrose chalk, YDC.

   - Extracto de levadura 10 grs.
   - Dextrosa 20 grs.
   - Carbonato de calcio 20 grs.
   - Agar 12 grs.
   - Agua destilada 1 lt.

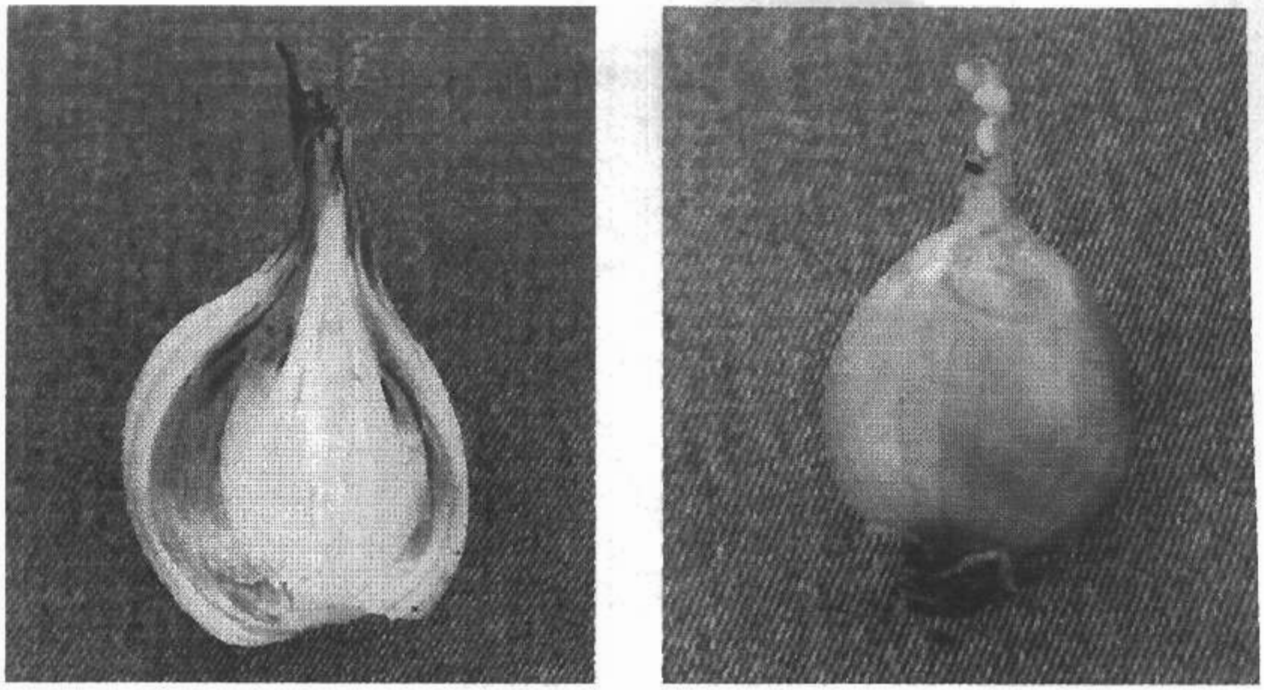
3. Nutriente agar dextrosa, NAD.

   - Nutriente agar 15 grs./lt.
   - Peptona 5 grs./lt.
   - Cloruro de sodio 5 grs./lt.
   - Extracto de levadura 2 grs./lt.
   - Polvo Lab-Lenco 1 gr./lt
   - PH 7,4 (+ -) 0,2

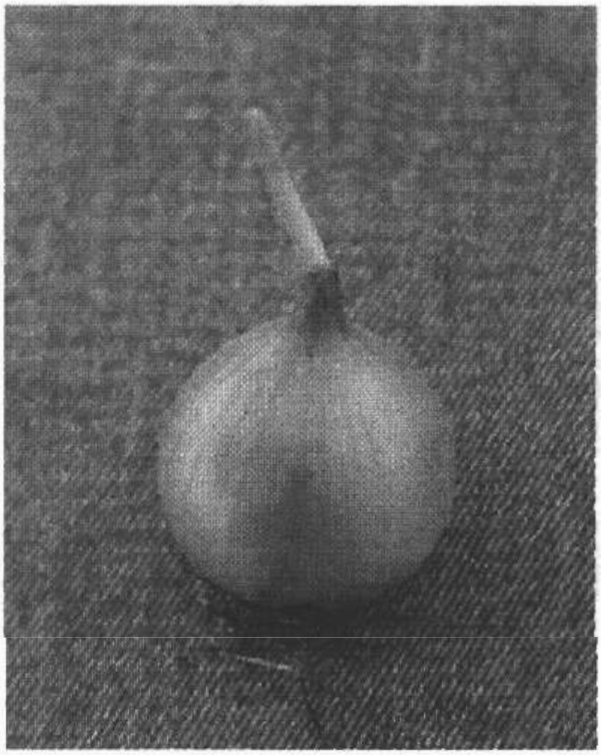
4. Test óxido-fermentación (OF)

   - Peptona 2 grs./lt.
   - Cloruro de sodio 5 grs./lt
   - Potasio fosfato dibásico 0,3 grs,/lt.
   - Agar 2 grs./lt.
   - Azul de bromotimol 0,08 grs./lt.
   - Dextrosa 1 gr./lt.

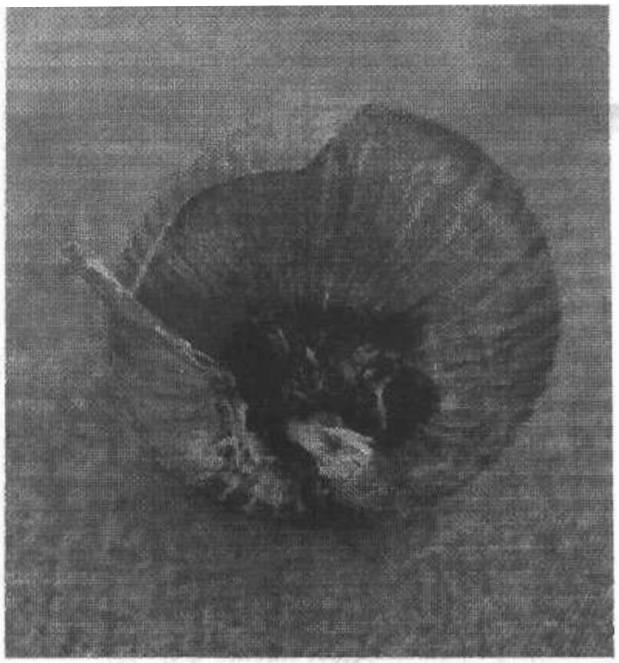
**ANEXO N°7:** Fotografías ilustrativas de las causas de descarte.



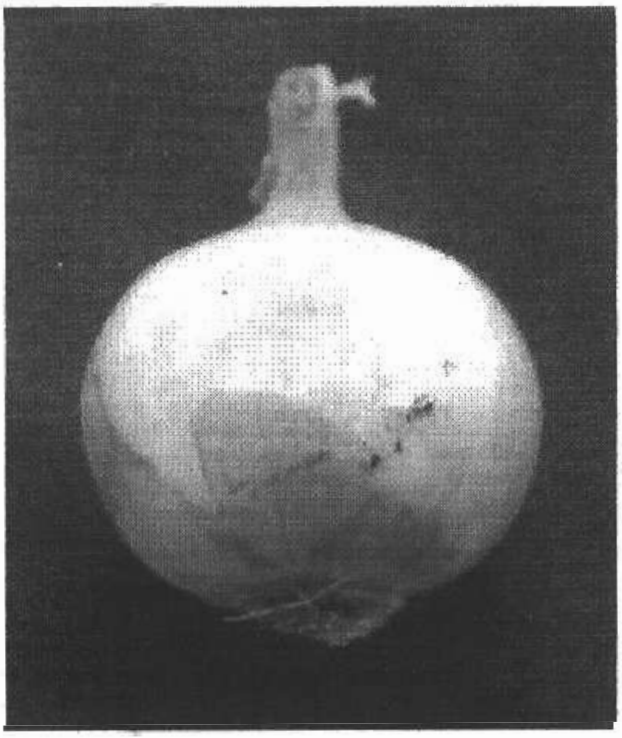
Descarte tipo 3 (Pudrición de cuello).

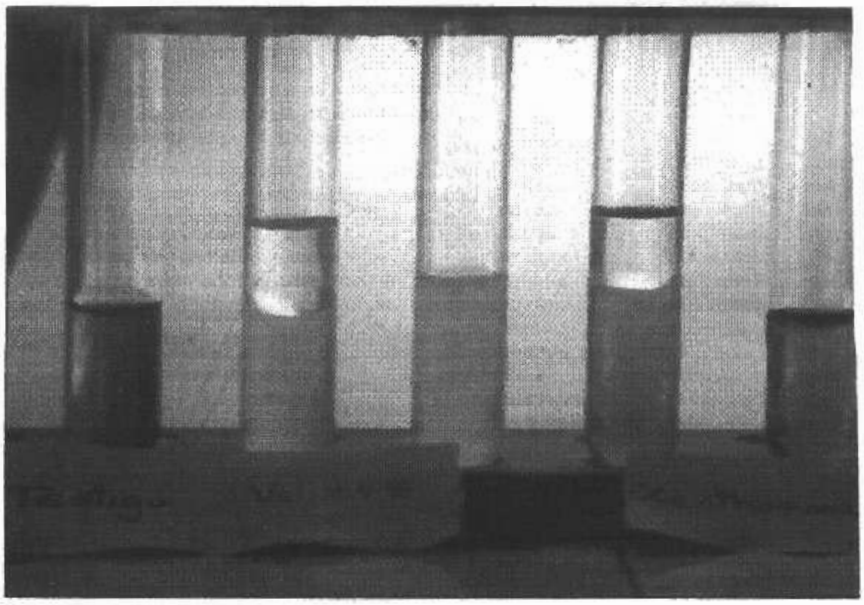
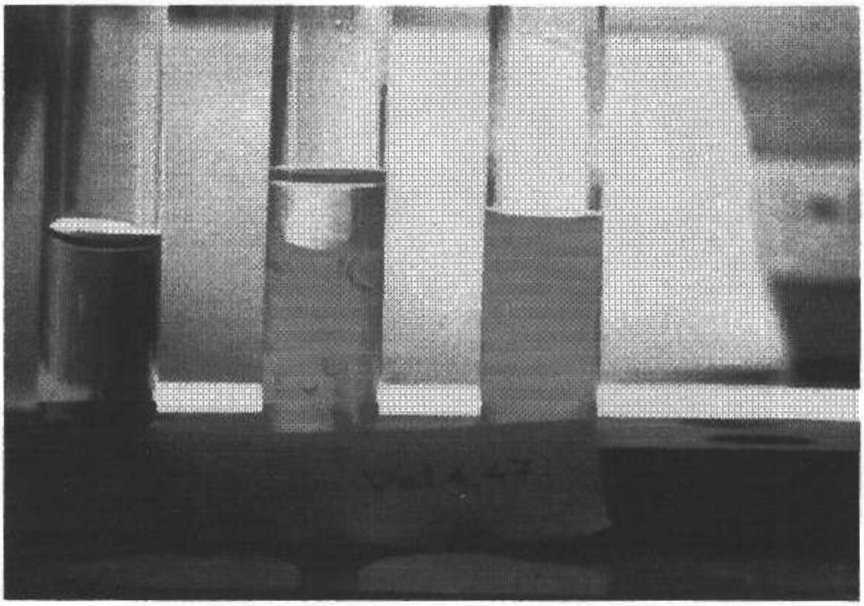


Descarte tipo 1 (Brotado).



Descarte tipo 4 (Piel agria)



Descarte tipo 2 (*Aspergillus niger*).

**ANEXO N°8:** Fotografías de los resultados obtenidos en la prueba de óxido- fermentación.