

## Especificidad parasitaria de aislados de *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg sobre especies del género *Allium*

M. GARCÍA, M. DE CARA, L. GÁLVEZ, C. IGLESIAS, L. VARES, D. PALMERO

*Fusarium proliferatum* se ha citado como patógeno del ajo en el noreste de los Estados Unidos y Serbia, causando podredumbres húmedas de color pardo en los dientes de ajo afectados. Recientemente el patógeno se ha descrito en España. Bulbos de las variedades de ajo blanco “Garcua” y “Blancomor de Valledado” cultivados en la provincia de Segovia y posteriormente bulbos sintomáticos de la variedad de ajo “Morado de Pedroñeras” procedentes de Albacete fueron analizados, detectándose en ellos la presencia de *F. proliferatum*. Hay muy pocas referencias que sugieran que este patógeno pudiera afectar al ajo durante el cultivo, o enfermar a otras especies del género. En este estudio, se presentan ensayos para conocer la patogenicidad específica de seis aislados de *F. proliferatum* sobre cinco especies del género *Allium*. Se inocularon variedades de cebolla (*Allium cepa*), puerro (*A. porrum*) cebolleta (*A. fistulosum*) cebollino (*A. schoenoprasum*) y ajo (*A. sativum*) mediante inmersión de plántulas de tres semanas de desarrollo en suspensiones conídicas de los aislados evaluados durante 24 horas. Posteriormente las plántulas fueron sembradas en macetas y mantenidas en cámaras de ambiente controlado (12 h/12 h día/noche; 25/21 °C).

Los síntomas de podredumbre radicular fueron observados a las tres semanas de la inoculación y evaluados mediante escala. Se calcularon los Índices de Gravedad de la Enfermedad (IGE) como la media de tres plantas y cuatro repeticiones para cada especie vegetal.

El trabajo presenta también los ensayos de evaluación de la patogenicidad sobre la germinación y nascencia de semillas. Los resultados experimentales permiten asegurar que al menos 5 especies diferentes del género *Allium* son susceptibles de ser enfermadas por *F. proliferatum*. Cabría especular con cierta especificidad parasitaria del patógeno.

M. GARCÍA, L. GÁLVEZ, C. IGLESIAS, L. VARES, D. PALMERO. Plant production systems and sustainable plant protection research group. Technical University of Madrid. Ciudad Universitaria s/n. 28040. Madrid. Spain. [daniel.palmero@upm.es](mailto:daniel.palmero@upm.es)

M. DE CARA. Departamento de Producción Vegetal. Universidad de Almería. Cañada de San Urbano s/n. 04120 Almería. Spain.

**Palabras clave:** fusariosis, Aliaceae, parasitismo, podredumbre del bulbo.

## INTRODUCCIÓN

La producción mundial anual de ajo (*Allium sativum* L.), es de alrededor de 22.282.061 t. La producción en España es de alrededor de 154.000 t, donde el ajo es un cultivo extensivo que ocupa 16.100 ha. La producción española es una de las mayores de Europa y la tercera en el orden mundial de exportaciones, con 52.455 t al año.

El sector del ajo está viviendo momentos complicados, debido principalmente a las masivas importaciones de ajo desde China. Una de las principales dificultades que presenta su cultivo son las plagas y enfermedades que provocan importantes pérdidas de rendimiento en campo y almacén, según las informaciones proporcionadas por el sector.

En la comarca de Valledado (Segovia), y su entorno, el ajo es una especie hortícola de

cierta importancia, con una superficie media de cultivo de 200 ha. En octubre de 2008 agricultores de la Asociación para la Promoción del Ajo de Valledado detectaron bulbos de ajo (*Allium sativum* L. cv “Blancomor de Valledado”) procedentes de agricultores de la

Comarca de Valledado con síntomas de podredumbres húmedas en el almacenamiento (Fig. 1). Posteriormente, los mismos síntomas se detectaron en varios municipios, donde se cultivaba el mismo cultivar, ubicadas en las provincias de Segovia y Valladolid.



Figura 1. Sintomatología de la podredumbre del ajo causada por *Fusarium proliferatum*

Los aislamientos responsables de la podredumbre observada fueron identificados como *Fusarium proliferatum* (T. Matsushima) Nirenberg (PALMERO *et al.*, 2010). Corroborando de esta manera la presencia del hongo en el campo ajero español, que parece estar ya bien establecido en nuestro territorio tan sólo unos años después de haberse detectado por primera vez en EE.UU. (DUGAN, 2003; 2007). Este fue, a nuestro entender, el primer informe de una patología causada en ajo por una especie de *Fusarium* de la sección *Liseola* en España. Abundando en el problema, varios científicos han informado sobre la presencia de fumonisinas (toxinas producidas por el hongo) en bulbos de ajo en Alemania (SEEFELDER, 2002).

En Castilla La-Mancha, el ajo también es una especie hortícola de gran importancia para la Comunidad Autónoma, especialmente en las provincias de Albacete (4.900 hectáreas dedicadas al cultivo) y Cuenca (2.632 hectáreas). Con una producción media superior a los 8.000 kg/ha. En

este entorno se localizan ajos de los tipos morados y blancos (PALMERO *et al.*, 2004). Algunos de sus ecotipos son conocidos vulgarmente como el “Ajo Morado de las Pedroñeras”. El cultivo del ajo es para la comarca no sólo una sustancial fuente de ingresos sino también parte de su patrimonio cultural y natural.

En junio de 2009, bulbos afectados por la podredumbre mencionada se observaron en ajo almacenado de cultivar “Morado de Cuenca” en la provincia de Albacete. Aún con porcentajes de enfermedad mucho menores que en el caso del ajo blanco, también fue observada ésta durante el ciclo de producción (desde el cultivo de embriones hasta la F5 en el campo) en una cooperativa donde la producción fue exhaustivamente analizada a lo largo de 2010.

En anteriores trabajos sobre la etiología de las podredumbres radiculares del puerro del campo de Villena, MARTÍNEZ-RESTOY *et al.* (2006) aislaron dieciséis especies o géneros de hongos diferentes, entre los que destacaron, por su frecuencia, varias espe-

cies del género *Fusarium*: *Fusarium moniliforme* (*F. verticillioides* según los autores), *F. oxysporum*, *F. roseum* y *F. solani*. Aunque las posteriores inoculaciones no permitieron relacionarlos con las podredumbres observadas en campo.

El presente trabajo aborda la especificidad parasitaria que los aislados de *Fusarium proliferatum*, causantes de la podredumbre del ajo en almacén, pudieran tener sobre distintas especies del género *Allium*, tanto en los primeros estadios del ciclo vegetativo como sobre plántulas ya desarrolladas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material vegetal utilizado en los ensayos de patogenicidad

Las plántulas sanas de cebolla, puerro, cebolleta y cebollino utilizadas en las pruebas

de patogenicidad se obtuvieron después de tres semanas de crecimiento en semilleros realizados con sustrato mezcla de sustrato vegetal [Rizhum Universal. PELEMIX España.S.L.] y vermiculita [Agroalse S.L. Polígono Virgen de los Dolores, 220, N° 15, 46113-Moncada (Valencia)] al 50% y autoclavado dos veces durante dos días consecutivos (30 min y 120° C, cada vez) en condiciones de asepsia con diferentes variedades comerciales (Tabla 1), las plantas no fueron abonadas durante el tiempo que duraron los ensayos. Las semillas y los dientes de ajo fueron previamente desinfectadas en superficie con una solución en agua de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 10% durante 10 minutos y posteriormente se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril.

Las plantas se sembraron en alvéolos de plástico con sustrato vegetal y vermiculita (50-50 v/v) previamente esterilizado en autoclave durante dos días consecutivos.

Tabla 1. Cultivares de diferentes especies de aliáceas utilizadas en los ensayos de patogenicidad y estado fenológico en el cual fueron inoculadas

Estado	Especie	Cultivar	Fuente	N° de referencia
Plántulas	Ajo ( <i>Allium sativum</i> L.).	Garcua	INIA	Ref: 12.500.003
Plántulas	Ajo ( <i>Allium sativum</i> L.).	Plamegar	INIA	Ref: 20.030.193
Germinación-nascencia y plántulas	Cebolla ( <i>Allium cepa</i> L.)	Albarracín	INIA	Ref: 20352
Germinación-nascencia y plántulas	Cebolla ( <i>Allium cepa</i> L.)	Panter	INIA	Ref: 20.279
Plántulas	Puerro ( <i>Allium ampeloprasum</i> var. <i>Porrum</i> )	Carental 3	BATLLE S.A. (mercado)	Lot 002-2131
Plántulas	Puerro ( <i>Allium ampeloprasum</i> var. <i>Porrum</i> )	Genita	Carrefour S.A. (mercado)	Lot 9B-254549
Germinación-nascencia	Puerro ( <i>Allium ampeloprasum</i> var. <i>Porrum</i> )	Gennevillier	INIA	Ref: 6864
Germinación-nascencia	Puerro ( <i>Allium ampeloprasum</i> var. <i>Porrum</i> )	Royal	INIA	Ref: 7054
Plántulas	Cebollino ( <i>Allium schoenaprasum</i> )	–	BATLLE S.A. (mercado)	Lot 0010-4455/07
Plántulas	Cebolleta ( <i>Allium fistulosum</i> )	–	Carrefour S.A. (mercado)	Lot 9B/255383

Una vez sembradas, las plántulas se mantuvieron en una cámara climatizada con humedad, temperatura y luz controlada (80% HR, 12 horas de luz, 25/20°C, oscilación térmica en función del período de luz/oscuridad), hasta el momento de la inoculación y posteriormente hasta el final del ensayo (30 días).

### Material fúngico inoculado

Seis aislados de *Fusarium proliferatum* elegidos al azar de entre los conservados en la micoteca de la Unidad Docente de Protección Vegetal (Dep. de Producción Vegetal: Botánica y Protección Vegetal de la Universidad Politécnica de Madrid, UPM) fueron utilizados en las pruebas de patogenicidad, tanto sobre la germinación y nascencia de las semillas como sobre las plántulas.

La producción de las masas miceliales y conidios necesarios para inocular las semillas y plántulas se realizó sobre medio PDA, incubándolos en estufa microbiológica a 25° C en oscuridad, durante 2 semanas. Un disco (3cm de diámetro) de micelio crecido, tomado del borde de la colonia se transfirió a 250 ml de medio líquido PD (patata-dextrosa) esterilizado en autoclave (30 min, 120° C) y se incubó a 26° C en un agitador orbital a 160 rpm en oscuridad, durante 7 días. Pasados los 7 días la mezcla se filtró a través de varias capas de muselina para eliminar el micelio. La concentración de esporas se midió con un hematocitómetro, obteniéndose una media en lecturas de  $10^7$  conidios/ml. Cada planta se replicó a una maceta y a cada maceta se le añadió 50 ml de la suspensión conídica.

### Ensayos de patogenicidad sobre la germinación y nascencia de las semillas

Variedades inoculadas: las pruebas de germinación y nascencia se realizaron sobre semillas de dos variedades cultivadas de puerro (Royal y Gennevillier) y otras dos de

cebolla (Albarracín y Panter). Para la evaluación de la germinación, las semillas se desinfectaron previamente con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 10% durante 10 minutos y luego se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril. El efecto sobre la nascencia se evaluó sobre semillas previamente pregerminadas en toalla durante 4 días, hasta que asomó la raíz.

Cepas inoculadas y técnica de inoculación: Se inocularon 6 cepas de *F. proliferatum*, codificadas como: A (A3a1), B(A6m1), C (A4a1H), D (A10a1), E (A7a2) y F (A10a3). Cada variedad se separó en 7 lotes, (6 aislados y el Testigo) y cada lote (dividido en dos sublotes de semillas pregerminadas y sin pregerminar) se sumergió en su suspensión de conidias correspondiente durante 24 horas. A las 24 horas se sembró cada lote por separado y se regó con 50ml de la suspensión de conidias utilizada para la inmersión. El testigo se regó con PD líquido estéril.

En ambos experimentos se evaluó el porcentaje de plántulas germinadas a lo largo de las tres semanas de crecimiento tras la inoculación, que se realizó el mismo día de la siembra.

### Ensayos de patogenicidad sobre plántulas

Las inoculaciones se realizaron sobre dos cultivares de puerro (Carental y Génita), dos de cebolla (Albarracín y Panter), dos de ajo (Garcua y Plamegar), y sobre una variedad cultivada de cebolleta y otra de cebollino (Tabla 1).

Cepas inoculadas y técnica de inoculación: Se inocularon 6 cepas de *F. proliferatum*, codificadas como: A (A3a1), B(A6m1), C (A4a1H), D (A10a1), E (A7a2) y F (A10a3). Los testigos fueron regados con el mismo caldo de cultivo estéril usados para multiplicar el inóculo.

Las plántulas con tres semanas de edad se sumergieron en la suspensión conídica de cada aislado de *F. proliferatum* durante 24 horas y pasado este tiempo se sembraron en alvéolos de plástico y se regaron con el caldo de cultivo sobrante de la inmersión.

Cada variedad se separó en 7 lotes de seis plantas y a cada lote se les añadió 50 ml de la suspensión conídica, según el aislado, y de cada lote se hicieron 3 repeticiones. Cada una de las plantas se trasplantaron en macetas separadas. Los testigos de cada variedad se regaron con PD estéril y se mantuvieron en cámara bajo las mismas condiciones de temperatura, luz y humedad controlada durante tres semanas más.

Los síntomas se observaron tres semanas después de la inoculación. Los síntomas de pudrición en la raíz se clasificaron en cinco categorías: 1= sin síntomas, 2= <10% raíces podridas, 3=10-50% raíces podridas, 4= >50% raíces podridas, y 5= completamente podridas las raíces.

Además de observar el índice de la enfermedad, también se tomó el peso seco de las plantas. En cebolla, cebollino y puerro se pesó el total de la planta, y en ajo se pesó por separado el sistema radicular de la parte aérea. Para ello se lavaron las raíces con agua, hasta eliminar los restos visibles del sustrato, y se secaron en estufa a 100° C hasta peso constante.

El índice de gravedad de la enfermedad (IGE) se calculó como la media de doce plantas de cada especie en las tres repeticiones.

### **Análisis estadísticos**

El análisis de varianza (ANOVA) se realizó sobre los datos del IGE para determinar los efectos del aislado y de la variedad. Para las comparaciones de los aislados para cada hospedante, se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan ( $P < 0.05$ ) mediante el programa STATGRAPHICS Plus 5.1 statistical package software (StatPoint, Inc. 2325 Dulles Corner Boulevard, Suite 500 Herndon, Virginia 20171).

## **RESULTADOS**

Para conocer la especificidad parasitaria que presentaba el patógeno del ajo se inocu-

laron, además de dos variedades comerciales de ajo, variedades comerciales de otros cultivos de la misma zona pertenecientes todos ellos al género *Allium* (cebollas, cebolletas, cebollinos y puerros). Hasta donde se ha podido consultar los aislados de *F. proliferatum*, procedentes de ajos almacenados no han sido evaluados en pruebas de patogenicidad sobre plantas, pero la presencia del hongo en los dientes dedicados a la siembra en la siguiente campaña, unido a la escasa información sobre la patogenicidad de este hongo permitieron plantear dudas sobre el efecto pernicioso que dicho hongo pudiera tener durante las primeras fases del cultivo en campo en diversas especies de *Allium*. De entre la bibliografía especializada, solamente STANKOVIC (2007) realizó inoculaciones sobre ajo y cebolla, utilizando para tal fin aislados obtenidos de plantas enfermas en campo (no de bulbos con sintomatología de podredumbre de dientes), e inoculando solamente una variedad vegetal en cada caso.

Los resultados que se muestran a continuación aportan información novedosa al respecto. Primero el uso de aislados procedentes de ajos almacenados en las pruebas de patogenicidad, lo que aporta conocimiento sobre ciertos aspectos epidemiológicos de la enfermedad en campo, que hasta hoy no son conocidos. Por otro lado, el uso de al menos dos variedades diferentes de ajo y cebolla, podría permitir detectar una posible respuesta varietal diferenciadora frente a la enfermedad, abriendo una vía para futuros ensayos. Y por último, la utilización en los ensayos de inoculaciones de tres especies de género *Allium* no evaluadas en los trabajos consultados (puerro, cebollino y cebolleta), podría aportar información de interés sobre la patogenicidad de la especie fúngica y su rango de hospedadores, pudiendo existir una especificidad parasitaria.

### **Ensayo de patogenicidad sobre plántulas**

Las inoculaciones se realizaron sobre dos variedades cultivadas de puerro (Carental y

Génita), dos de cebolla (Albararcín y Panter), dos de ajo (Garcua y Plamegar) y una

variedad de cebolleta y cebollino. Los resultados se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Índice de Gravedad de la Enfermedad (IGE) sobre plántulas en diferentes especies del género *Allium* inoculadas con aislados de *F. proliferatum* procedentes de ajos sintomáticos. Se expresan los datos como la media seguida de su desviación típica (valores con la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas  $p < 0.05$ )

Código del aislado	Cebolla		Ajo	
	cv. Albararcín	cv. Panter	cv. Garcua	cv. Plamegar
Testigo	1,9 ± 0,2 a	1,7 ± 0,2 a	1,2 ± 0,1 a	1,5 ± 0,2 a
A (A3a1)	3,8 ± 0,4 bcd	4,0 ± 0,5 bc	3,6 ± 0,5 bc	3,7 ± 0,5 c
B (A6m1)	4,2 ± 0,3 c	4,1 ± 0,7 bc	3,9 ± 0,3 c	4,1 ± 0,1 d
C (A4a1H)	4,3 ± 0,2 d	4,8 ± 0,2 c	2,7 ± 0,1 b	3,6 ± 0,1 bcd
D (A10a1)	3,9 ± 0,3 bcd	3,8 ± 0,3 b	2,7 ± 0,6 b	3,1 ± 0,3 bc
E (A7a2)	3,6 ± 0,4 bc	3,7 ± 0,3 b	2,8 ± 0,3 b	2,9 ± 0,4 b
F (A10a3)	3,4 ± 0,2 b	3,7 ± 0,7 b	3,2 ± 0,7 bc	3,1 ± 0,3 bc

Código del aislado	Puerro		Cebolleta	Cebollino
	cv. Carental	cv. Génita		
Testigo	1,4 ± 0,0 a	1,5 ± 0,1 b	1,0 ± 0,0 a	1,3 ± 0,1 a
A (A3a1)	2,9 ± 0,2 b	2,4 ± 0,2 c	3,0 ± 0,4 b	2,6 ± 0,3 bc
B (A6m1)	3,0 ± 0,1 bc	3,1 ± 0,1 c	3,2 ± 0,2 b	3,1 ± 0,1 cd
C (A4a1H)	3,5 ± 0,2 cd	3,1 ± 0,3 d	2,7 ± 0,6 b	3,4 ± 0,3 d
D (A10a1)	4,3 ± 0,2 f	3,9 ± 0,2 cd	3,2 ± 0,2 b	3,0 ± 0,2 bcd
E (A7a2)	4,1 ± 0,2 ef	3,4 ± 0,2 bc	3,7 ± 0,5 bc	2,6 ± 0,3 b
F (A10a3)	3,6 ± 0,4 de	2,9 ± 0,5 c	4,5 ± 0,4 c	3,0 ± 0,2 bcd

El ensayo de patogenicidad sobre las dos variedades cultivadas de ajo muestra índices de gravedad de la enfermedad relativamente altos frente al testigo, la presencia de ligeras podredumbres en el testigo podrían deberse al manejo de plantas. Todos los aislados inoculados en ambas variedades produjeron síntomas, destacando por su patogenicidad los aislados A y B, con IGE casi tres puntos superiores al testigo sin inocular.

La sintomatología observada a las tres semanas de la inoculación consistió en raíces podridas con un aspecto acuoso, que finalmente se descomponían y desaparecían. Dicha sintomatología no quedaba localizada

en el sistema radicular, proliferando hasta el diente de ajo, que finalmente aparecía podrido con una consistencia acaramelada similar a la observada durante la podredumbre de dientes en el almacenamiento pero de consistencia más blanda. En la parte aérea no se observó síntoma alguno. La sintomatología observada en las dos variedades de ajo inoculadas coincide con lo observado por STANKOVIC (2007).

Todos los aislados inoculados sobre las variedades de puerro produjeron síntomas. En los ensayos sobre las variedades de puerro Carental y Génita, destacando por su patogenicidad los aislados D y E, con IGE de



Figura 2. Comparación del sistema radicular de una planta sana de ajo (T) y otra inoculada (S) con *Fusarium proliferatum*

entre 3 y 4 (un mínimo del 50% de las raíces podridas) (Figura 2). La sintomatología observada a las tres semanas de la inoculación fue: raíces de aspecto acuoso, que en un alto porcentaje llegaban aparecer descompuestas y finalmente desaparecían. La podredumbre quedaba localizada en el sistema radicular sin extenderse hasta el cuello de la planta, ni a la parte aérea, donde no se observó síntoma alguno.

Los resultados obtenidos tras la inoculación a la variedad de cebolla Albarracín, muestran una clara sintomatología del cultivo. Todos los aislados produjeron altos IGE, destacando los aislados B y C, con índices superiores a 4 (más del 50% de las raíces podridas). Al igual que los aislados serbios, los aislados procedentes del campo español provocan mayores podredumbres en las cebollas que en las variedades de ajo inoculadas. Los resultados obtenidos al inocular la variedad de cebolla Panter, muestran una afectación del cultivo menor que la de la variedad Albarracín. Aunque todos los aislados produjeron IGE superiores al testigo. El aislado C destaca sobre los demás, con un índice superior en 2 puntos al testigo.

Tras la inoculación sobre cebollino y cebolleta, las plántulas expresaron síntomas nítidos. Todos los aislados fueron patógenos, destacando el aislado F, con un IGE de 4,5 (casi el 100% de las raíces podridas) en cebolleta. De nuevo, al igual que en el caso de cebollino y puerro, la revisión bibliográfica permite decir que es la primera ocasión en la que se cita patogenicidad de la especie *F. proliferatum* sobre cebolleta. Al igual que en los casos anteriores la sintomatología observada consistió en una podredumbre radicular, con consistencia acuosa, que llegaba a hacer desaparecer, una vez podridas, gran parte del sistema radicular.

Los resultados sobre el peso seco de las plántulas inoculadas muestran como en ajo, la disminución del sistema radicular es menos notoria que en el resto de las especies del género *Allium* inoculados. Es conveniente especificar que en este caso la medida del peso seco se realizó exclusivamente sobre el sistema radicular de las plántulas y no sobre la plántula entera como en el resto de especies inoculadas. La diferencia observada puede deberse, en parte, a que los dientes del ajo no tienen la misma uniformi-

dad que las semillas: a mayor tamaño del diente, mayores sustancias de reserva, con el consiguiente mayor vigor.

Los resultados muestran una disminución del peso seco de los puerros inoculados respecto al testigo sin inocular.

Tabla 3. **Peso seco (g) de plántulas (raíces solamente en el caso del ajo) de diferentes especies del género *Allium* inoculadas con aislados de *F. proliferatum* procedentes de ajos sintomáticos. Se expresan los resultados como la media, seguida de su desviación típica. (Valores con la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas)**

Código del aislado	Cebolla		Ajo	
	cv. Albararcín	cv. Panter	cv. Garcua	cv. Plamegar
Testigo	31,7±3,0 c	30,5±3,1 c	753,3±12,5 d	480,6±38,2 c
A (A3a1)	17,3±6,7 ab	8,8±2,0 ab	300,7±37,7 a	431,1±167,9 bc
B (A6m1)	15,7±3,3 ab	9,1±1,8 ab	381,9±20,6 b	149,4±18,1 a
C (A4a1H)	12,6±0,3 a	8,2±1,8 a	427,3±6,9 c	253,9±14,4 ab
D (A10a1)	14,3±3,9 a	11,6±2,3 ab	313,7±4,5 a	371,8±18,1 bc
E (A7a2)	13,8±0,9 a	11,6±1,8 ab	364,1±3,6 b	301,5±14,3 b
F (A10a3)	22,5±0,7 b	14,6±3,4 b	379,2±16,4 b	345,5±18,8 bc

Código del aislado	Puerro		Cebolleta	Cebollino
	cv. Carental	cv. Genita		
Testigo	64,9±18,1 c	46,3±5,5 d	35,4±3,5 b	60,7±7,4 b
A (A3a1)	38,2±8,5 ab	41,2±6,4 cd	17,0±11,6 ab	50,2±5,0 ab
B (A6m1)	42,2±15,7 bc	30,5±22,9 bcd	16,5±10,6 ab	57,3±11,6 b
C (A4a1H)	36,3±11,8 ab	21,3±5,4 abcd	12,8±5,5 a	40,2±5,5 a
D (A10a1)	13,7±12,2 a	8,3±5,0 a	16,5±5,1 ab	55,7±7,8 ab
E (A7a2)	15,0±5,3 a	16,5±7,2 ab	13,7±5,0 a	94,9±9,7 c
F (A10a3)	28,7±6,0 ab	19,6±5,3 abc	17,3±18,1 ab	45,0±2,7 ab

En cuanto al peso seco de las plantas de cebolla inoculadas, todos los aislados produjeron drásticas disminuciones del peso seco, con una media de 16,03 gramos, frente a los 31 gramos de peso seco del testigo.

En cebolleta, todos los aislados produjeron drásticas disminuciones del peso de las plántulas, con una media de 15,63 gramos de peso seco, frente a los 35,4 gramos de peso seco del testigo. Respecto a la cebolle-

ta, no hay mucha diferencia entre el peso seco obtenidos en plantas inoculadas y las testigo, con una media de 57,22 gramos de peso seco frente a los 60,7 gramos de peso seco del testigo, aunque los índices de Gravedad de la Enfermedad observados (Tabla 2) permiten sugerir que, aún sin diferencias en el peso seco de las plántulas, éstas podrían verse afectadas a lo largo del ciclo del cultivo con la consiguiente pérdida de peso en la cosecha.



**Efecto de la inoculación con *F. proliferatum* sobre la germinación y nascencia de semillas de especies del género *Allium***

Conocido el efecto patógeno sobre las plántulas de las diferentes especies ensayadas, y para tener más datos sobre la epide-

miología de la enfermedad, tales como posible efecto en campo sobre las germinación-nascencia de las plántulas, se realizó la inoculación directa de semillas de cebolla y puerro, con y sin germinación previa, utilizando para ello los 6 aislados utilizados en las anteriores pruebas de patogenicidad. Los resultados se presentan en las Figuras 3 y 4.

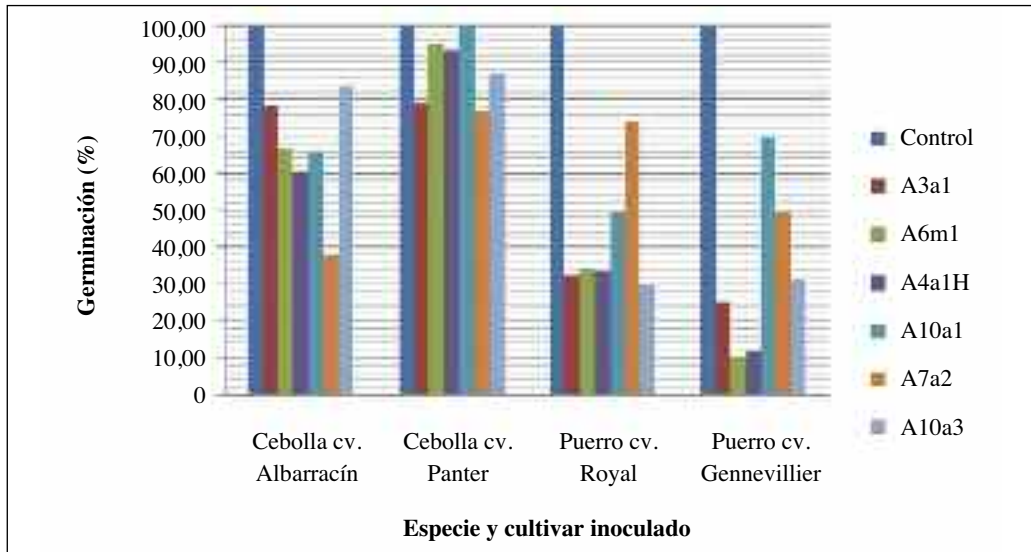


Figura 3. Efectos de los diferentes aislados de *Fusarium proliferatum* sobre la germinación de semillas de variedades de cebolla y puerro (se expresan los datos en % de semillas germinadas)

Tanto la germinación como la nascencia de los dos cultivares de cebolla estudiados, se ha visto mermada tras la inoculación. Obviamente la presión del inoculo que habrá en campo diferirá mucho de la utilizada en nuestros ensayos, pero una patogenicidad tan drástica como la observada en nuestros resultados, indica la grave problemática que este hongo puede suponer en campos de cultivo con altas densidades de inoculo y en los semilleros en alveolos con sustrato a base de turba el problema puede ser mayor, dada la capacidad multiplicadora de este sustrato (TELLO, com. pers., 2011). En las Figuras 3 y 4 se muestran los resultados finales tras tres semanas de ensayo, a lo largo de dichas

semanas, la proporción de plantas muertas fue aumentando, hasta las tasas finales que se presentan.

En la figura 4 se aprecia la alta patogenicidad de los aislados A(A3a1), B (A6m1) y C (A4a1H) que anulan, casi por completo, la emergencia de las plántulas procedentes de semilla pregerminada de ambas variedades de cebolla. Existe además diferente patogenicidad entre los aislados estudiados, pues mientras que los aislados D y E disminuyen el porcentaje de nascencia hasta el 18,75% en Albarracín y el 37,5% en Panter. Su efecto sobre la germinación (sin haber pregerminado las semillas con anterioridad a la inoculación), es mucho menor (Fig. 3),

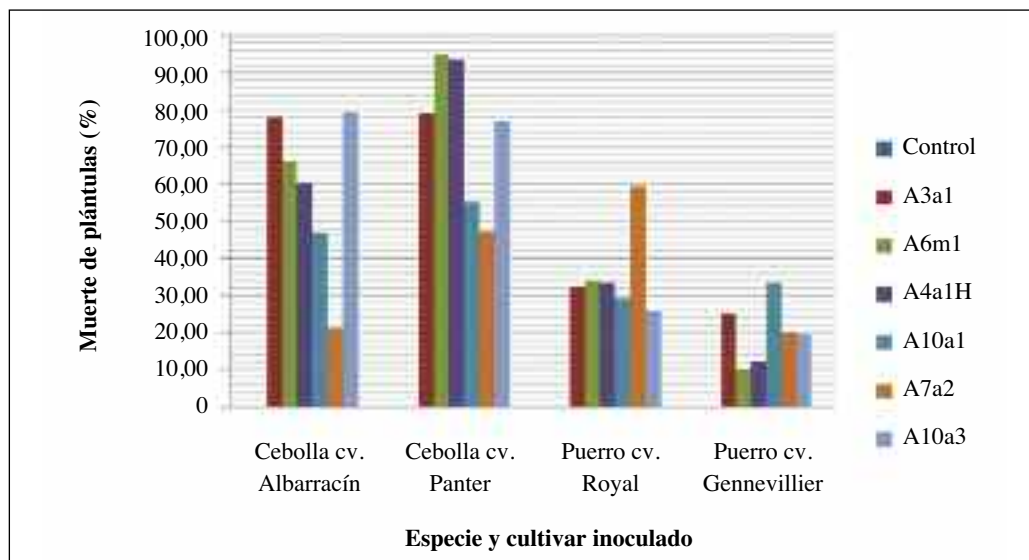


Figura 4. Efectos de los diferentes aislados de *Fusarium proliferatum* sobre la nascencia de variedades de cebolla y puerro (los datos en % de plántulas muertas)

al permitir una germinación de un 67,39% y 50% respectivamente. Es decir estos aislados disminuyen drásticamente la nascencia, pero influyen mucho menos en la germinación, aún siendo los 6 aislados contrastadamente patógenos sobre plántulas adultas.

El efecto observado sobre la germinación y nascencia de las semillas de puerro, aunque cierto, no fue tan drástico como en el caso de la cebolla. En la variedad Royal, los aislados A(A3a1) y C (A4a1H) son los que mayores efectos producen, tanto en la nascencia como en la germinación. En la variedad Gennevillier el aislado C (A4a1H) es el que mayor contundencia mostró, con una bajada del 88,89% en la nascencia. En cuanto a la germinación, no se observan grandes diferencias respecto al testigo.

## DISCUSIÓN

Los resultados experimentales sugieren que al menos 5 especies diferentes del género *Allium* son susceptibles de ser enfermas por *F. proliferatum* en las condiciones

de ensayo. Cabría también sugerir una cierta especificidad parasitaria de la especie fúngica, respecto al género vegetal.

Comparando los resultados obtenidos en las pruebas de patogenicidad realizadas sobre ajo con los resultados de STANKOVIC (2007), parece que la patogenicidad de los aislados españoles es mayor (habiendo usado el mismo método experimental en la inoculación). Esto puede deberse a la variabilidad patogénica de los aislados o a una diferente susceptibilidad varietal, como podría concluirse por los resultados experimentales, donde la variedad Garcua es menos susceptible a la enfermedad que la variedad Plamegar. Siendo ambas variedades del mismo tipo de ajo, un ajo blanco que no produce escapo floral y que, al menos morfológicamente, son muy cercanas. En el trabajo citado anteriormente los investigadores no detallan la variedad de ajo utilizada en los ensayos de patogenicidad.

Respecto al peso seco de las plántulas de puerro inoculadas, la disminución observada tras las inoculaciones fue drástica, con espe-

cial expresión en los dos aislados que producían los mayores índices de la enfermedad (D y E), con una bajada del rendimiento de hasta el 73%.

Los resultados obtenidos en las pruebas de patogenicidad realizadas sobre puerro, muestran la capacidad patógena de *F. proliferatum* sobre esta especie vegetal. Esta es la primera vez que se obtienen dichos resultados experimentales a partir de aislados procedentes de ajos enfermos. El hecho de que la enfermedad se localice en el sistema radicular tiene cierta importancia, por una parte en la epidemiología de la enfermedad del ajo estudiada originariamente, puesto que el puerro es una especie hortícola semi-extensiva, con cierta presencia en las comarcas ajenas. Este hecho unido a la confirmación de la patogenicidad del hongo sobre este cultivo, nos permite sugerir que los propágulos del patógeno podrían encontrar un huésped alternativo en los cultivos de puerro de la zona.

Por otro lado, la drástica disminución del peso seco de las plantas inoculadas, aún teniendo en cuenta que la presión de inoculación fue muy fuerte, permite conjeturar que el hongo puede estar causando ciertos descensos del rendimiento en el cultivo del puerro. Serían necesarios nuevos estudios que determinen la frecuencia de aparición del hongo y su importancia en la sanidad del cultivo del puerro.

Del mismo modo también serían necesarios estudios que determinen la diferente respuesta de las variedades de puerro frente a la enfermedad, ya que como se puede ver en este estudio, la variedad de puerro Carental tiene una mayor índice de patogenicidad que Genita, lo que parece indicar que hay cierto grado de susceptibilidad varietal. Información sobre la susceptibilidad que sería

necesario conocer para poder incorporarla a la lucha contra la enfermedad en campo.

Al igual a lo observado tras la inoculación de las variedades de puerro, ambas variedades de cebolla resultaron susceptibles a la inoculación, si bien es cierto en este caso que la variedad Panter resultó menos afectada que Albarracín. Esto sugiere que hay cierto grado de susceptibilidad varietal que habrá que tener en cuenta a la hora de manejar tanto las rotaciones de cultivo de las explotaciones manchegas, como a la hora de elegir la variedad de cebolla a sembrar. En este sentido, al igual que en el caso del puerro, serán necesarios posteriores estudios que determinen la diferente respuesta de las variedades de cebolla frente a la enfermedad. Estudios no disponibles en la actualidad para los agricultores.

Los resultados obtenidos pueden tener un interés añadido en los semilleros de puerro y cebolla, tal y como sugirieron MARTÍNEZ-RESTOY *et al* (2006) para el puerro.

En la actualidad los semilleros en sustratos y bandejas alveoladas han cambiado la forma tradicional de hacer la producción de plantas y los problemas que se presentan en el Sureste de España no son despreciables y adolecen de una evaluación de las patologías y fisiopatías posibles (TELLO, com. pers., 2011).

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto 0100255-453 (Universidad Politécnica de Madrid- Coopaman SCL) y fue premiado con el premio a jóvenes investigadores del Centro de Estudios e Investigación para la Gestión de Riesgos Agrarios y Medioambientales (CEIGRAM).

## ABSTRACT

GARCÍA, M., M. DE CARA, L. GÁLVEZ, C. IGLESIAS, L. VARES, D. PALMERO. 2011. Host specificity of isolates of *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg on species within the *Allium* genus. *Bol. San. Veg. Plagas*, **37**: 195-206.

*Fusarium proliferatum* was reported as a pathogen on garlic in northeastern United States and Serbia, causing brown rot in affected garlic cloves. Recently, the pathogen has been reported in Spain from white garlic bulbs cvs. "Garcua" and "Blancomor de Vallelado" grown in the province of Segovia. Later, symptomatic bulbs from Albacete province (cv. Morado de Pedroñeras) were also analyzed and the presence of *F. proliferatum* was confirmed. There are very few references that suggest that this pathogen could affect garlic during cultivation cycle or disease other species within the genus. In this study, we determine the specific pathogenicity of six isolates of *F. proliferatum* on five species of the *Allium* genus.

Different varieties of onion (*Allium cepa*), leek (*A. porrum*), chives (*A. fistulosum*) chives (*A. schoenoprasum*) and garlic (*A. sativum*) were inoculated by three weeks seedlings immersion in a spore suspension of each evaluated isolate for 24 hours. After inoculation, seedlings were planted in pots and kept in controlled environment (12 h/12 h day / night 25/21 ° C).

Root rot were observed and scaled by symptoms after three weeks from inoculation. Disease Severity Index (DSI) was calculated as the mean of three plants and four replicates for each plant cultivar and specie.

This study also presents the evaluation of pathogenicity on seeds germination. Experimental results allow us to determine that at least 5 different species of the *Allium* genus are likely to be affected by *F. proliferatum*. Some specificity pathogenicity could be speculated.

**Key words:** *Fusarium* disease, *Aliaceae*, parasitism, bulb rot.

## REFERENCIAS

- DUGAN, F. M., HELLIER, B. C., LUPIEN, S. L. 2003. First report of *Fusarium proliferatum* causing rot of garlic bulbs in north America. *Plant Pathol.*, **52**: 426.
- DUGAN, F. M., HELLIER, B. C., LUPIEN, S. L. 2007. Pathogenic Fungi in Garlic Seed Cloves from the United States and China, and Efficacy of Fungicides Against Pathogens in Garlic Germplasm in Washington State. *J. Phytopathology*, **155**: 437-445.
- MARTINEZ-RESTOY R. E., DIANEZ, F., SANTOS, M., DE CARA, M., FERRÁNDIZ-HERNÁNDEZ, J., TELLO, J. C. 2006. Microbiota fúngica asociada a las podredumbres radiculares del puerro cultivado en Villena. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 673-683.
- PALMERO, D., VÁZQUEZ, J. F., CARRILLO, J. M. 2004. Caracterización de variedades cultivadas de ajo (*Allium sativum* L.) por medio de caracteres morfológicos y bioquímicos. *Actas de Horticultura*, **40**: 387-390.
- PALMERO, D., DE CARA, M., IGLESIAS, C., MORENO, M. M., GONZÁLEZ, N., TELLO, J. C. 2010. First Report of *Fusarium proliferatum* Causing Rot of Garlic Bulbs in Spain. *Plant Disease*, **94** (2): 277.
- SEEFELDER, A., GOSSMAN, M., HUMPF, H. U. 2002. Analysis of Fumonisin B1 in *Fusarium proliferatum*-infected asparagus spears and garlic bulbs from Germany by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem*, **50**: 2778-2781.
- STANKOVIC, S., LEVIC, J., PETROVIC, T., LOGRIECO, A., MORETTI, A. 2007. Pathogenicity and mycotoxin production by *Fusarium proliferatum* isolated from onion and garlic in Serbia. *Plant Pathol.*, **118**: 165-172.

Recepción: 5 abril 2011

Aceptación: 9 junio 2011