

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

ESCUELA DE POSTGRADO

ESPECIALIDAD DE FITOPATOLOGIA



**“ETIOLOGIA DE LA PUDRICION BASAL DE BULBOS DE
CEBOLLA EN AREQUIPA, CONTROL
Y REACCION VARIETAL”**

Tesis para optar el Grado de

MAGISTER SCIENTIAE

Walter Eduardo Apaza Tapia

Lima – Perú

2000

INDICE GENERAL

	Pag.
Lista de Cuadros.....	iii
Lista de Figuras	iv
Lista de Anexos	v
I. INTRODUCCION	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
III. MATERIALES Y MÉTODOS	14
1. Muestreo	14
2. Aislamiento e identificación del patógeno	14
3. Pruebas de patogenicidad	16
4. Métodos de inoculación	17
5. Pruebas de fungicidas	19
6. Evaluación de cultivares de cebolla	20
7. Enmiendas orgánicas	22
8. Diseños estadísticos	24
IV. RESULTADOS	26
1. Aislamiento e identificación del patógeno	26
2. Pruebas de patogenicidad	29
3. Métodos de inoculación	31
4. Pruebas de fungicidas	32
5. Evaluación de cultivares de cebolla	40
6. Enmiendas orgánicas	43
V. DISCUSION	52
VI. CONCLUSIONES	60

VII.	RECOMENDACIONES.....	61
VIII.	RESUMEN	62
IX.	ABSTRACT	64
X.	LITERATURA CITADA	66
XI.	ANEXOS.....	72

Lista de Cuadros

Cuadro	Título	Pag.
1	Fungicidas sistémicos utilizados en la prueba de alimento envenenado	21
2	Escala de severidad de ataque de <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> propuesta por Rengwalska (35).	21
3	Características de 22 cultivares de cebolla inoculadas con <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> .	23
4	Tratamientos usando cuatro enmiendas orgánicas y <i>Trichoderma viride</i> en dos métodos de inoculación de <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> en cebolla.	25
5	Aislamientos obtenidos en medios PDAO, PAR y Cámara húmeda a partir de bulbos con pudrición basal de tallo procedentes de tres localidades en Arequipa.	27
6	Características morfológicas para la identificación de especies de <i>Fusarium</i> aislados de bulbos de cebolla con pudrición basal.	30
7	Comportamiento de diferentes especies vegetales a la inoculación de <i>Fusarium oxysporum</i> aislados de cebolla.	30
8	Pruebas de patogenicidad de <i>Fusarium oxysporum</i> en plántulas y bulbos de cebolla, usando diferentes métodos de inoculación	33
9	Crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> en medio Papa Dextrosa Agar utilizando la prueba de alimento envenenado con 17 fungicidas sistémicos.	33
10	Pruebas comparativa del efecto de seis fungicidas sistémicos en el control de <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> en plántulas de cebolla.	36
11	Comportamiento de 22 cultivares de cebolla al ataque por <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> bajo condiciones de invernadero.	41
12	El efecto de cuatro enmiendas orgánicas con <i>Trichoderma viride</i> y dos métodos de inoculación de <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> en la severidad de ataque y algunas características morfológicas de plantas de cebolla.	47

Lista de Figuras

Figura	Titulo	Pag.
1	Efecto de la densidad de inoculo de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> en la mortandad de plantas de cebolla a los 45 días de inoculación.	37
2	Crecimiento longitudinal de micelio de <i>Fusarium oxysporum</i> en la prueba in-vitro de alimento envenenado utilizando fungicidas sistémicos a la dosis de 0.1%.	37
3	Severidad de la pudrición por <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> en plántulas de cebolla tratadas con seis fungicidas sistémicos en condiciones de invernadero.	38
4	Crecimiento longitudinal de raíces de plántulas de cebolla inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> tratadas con seis fungicidas sistémicos, en condiciones de invernadero.	38
5	Porcentaje de muerte de plántulas de cebolla causada por <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> tratadas con seis fungicidas sistémicos en condiciones de invernadero.	39
6	Efecto del tratamiento con seis fungicidas sistémicos en la mortalidad de plántulas de cebolla infectadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> en condiciones de invernadero.	39
7	Porcentaje de plantas muertas de 22 cultivares de cebolla inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> en condiciones de invernadero	42
8	Efecto de cuatro enmiendas orgánicas con <i>Trichoderma viride</i> y dos métodos de inoculación de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> en la mortandad de plantas de cebolla.	48
9	Efecto de cuatro enmiendas orgánicas con <i>Trichoderma viride</i> y dos métodos de inoculación de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> en el crecimiento de plantas de cebolla.	49
10	Efecto de cuatro enmiendas orgánicas con <i>Trichoderma viride</i> y dos métodos de inoculación de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> en el desarrollo radicular de cebolla.	50
11	Efecto de cuatro enmiendas orgánicas con <i>Trichoderma viride</i> y dos métodos de inoculación de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> en la severidad de la pudrición basal de la cebolla.	51

Lista de Anexos

Anexo	Titulo	Pag.
1	Análisis de variancia para Grados de severidad, longitud de raíces y plantas muertas de 6 fungicidas sistémicos en el control de <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> en plántulas de cebolla.	73
2	Análisis de variancia para porcentaje de plantas muertas por <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> de 22 cultivares de cebolla bajo condiciones de invernadero.	74
3	Análisis de variancia para plantas muertas, altura de plantas, longitud de raíces y peso de plantas de dos métodos de inoculación de <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> con la enmienda de estiércol de vaca en cebolla.	75
4	Análisis de variancia para plantas muertas, altura de plantas, longitud de raíces y peso de plantas de dos métodos de inoculación de <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> con la enmienda de compost en cebolla.	76
5	Análisis de variancia para plantas muertas, altura de plantas, longitud de raíces y peso de plantas de dos métodos de inoculación de <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> con la enmienda de Paja seca de cereales en cebolla.	77
6	Análisis de variancia para plantas muertas, altura de plantas, longitud de raíces y peso de plantas de dos métodos de inoculación de <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> con humus de lombriz en cebolla.	78
7	Análisis de variancia combinado para plantas muertas de dos métodos de inoculación de <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> con cuatro enmiendas orgánicas en cebolla.	79
8	Análisis de variancia combinado para Altura de planta de dos métodos de inoculación de <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> con cuatro enmiendas orgánicas en cebolla.	79
9	Análisis de variancia combinado para Longitud de raíces de dos métodos de inoculación de <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> con cuatro enmiendas orgánicas en cebolla.	79
10	Análisis de variancia combinado para Peso de planta de dos métodos de inoculación de <i>Fusarium oxysporum f.sp. cepae</i> con cuatro enmiendas orgánicas en cebolla.	80

- 11 Análisis de variancia combinado para Grados de severidad de ataque de dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum f.sp. cepae* con cuatro enmiendas orgánicas en cebolla. 81
- 12 Número de plantas muertas por *Fusarium oxysporum f.sp. cepae* de 22 cultivares de cebolla bajo condiciones de invernadero 81
- 13 Grados de severidad de la pudrición de *Fusarium oxysporum f.sp. cepae* en 22 cultivares de cebolla bajo condiciones de invernadero. 82

I. INTRODUCCION

La cebolla es una de las hortalizas más importantes en el Perú, se calcula unas 10000 Has dedicadas a este cultivo, siendo el departamento de Arequipa la principal zona productora de nuestro país con aproximadamente 6000 Has. de variedades rojas para el mercado nacional. Recientemente se han incorporado nuevas zonas productoras como Nepeña, Barranca y Supe en el departamento de Lima, donde se han sembrado variedades amarillas dulces para exportación al mercado norteamericano.

La cebolla es un cultivo afectado por numerosos patógenos, de los cuales los más limitantes son los hongos habitantes del suelo como Sclerotium cepivorum causante de la pudrición blanca, Phoma terrestris de la pudrición rosada y otros.

Recientemente en todas las zonas productoras de cebolla se ha detectado una enfermedad de etiología desconocida que causa la pudrición basal de los bulbos de cebolla; el problema es considerado muy importante debido a las pérdidas cuantiosas que ocasiona a los agricultores.

En el Perú no se han realizado trabajos de investigación sobre dicha enfermedad por lo que es necesario obtener información sobre el agente causal, comportamiento de los

cultivares y alternativas de control. El presente trabajo de investigación tuvo por objetivos:

1. Determinar la etiología de la pudrición basal de bulbos de cebolla en el Departamento de Arequipa.
2. Evaluar el comportamiento de diferentes cultivares de cebolla roja y amarilla, al agente causal de la pudrición basal de bulbos.
3. Evaluar distintos métodos de control contra el agente causal de la pudrición basal.

II. REVISION DE LITERATURA:

La cebolla es un cultivo que tiene varios patógenos que afectan a nivel radicular, alguno de estos algunos afectan la base de los bulbos. Entre los patógenos fungosos se reportan a: Sclerotium cepivorum causante de la pudrición blanca, Phoma terrestris (Syn. Pyrenochaeta terrestris) ocasionando la “raíz rosada”, Fusarium oxysporum f.sp. cepae. causante de la pudrición basal de la cebolla y Sclerotium rolfsii que ocasiona pudrición de bulbos (37).

En la literatura nacional no hay reportes sobre alguna enfermedad que cause la pudrición de raíces, disco basal y bulbos en cebollas rojas y amarillas (8).

Agentes causales y síntomas de las principales enfermedades de bulbos de cebolla:

Phoma terrestris E.M. Hans. Este patógeno infecta a nivel de raíces, causando una pudrición de color rosado claro. El tamaño y número de hojas en las plantas afectadas es menor y en infecciones severas se observan síntomas de deficiencias nutricionales pudiendo llegar a causar la muerte de plántulas(37). El período crítico se da al inicio del cultivo y después del transplante. En nuestro país se le ha detectado en Arequipa, afectando cebolla y ajo (8).

Sclerotium cepivorum Berk. Ocasiona la pudrición de bulbos. Puede afectar a todos los estados fenológicos del cultivo causando la muerte de plántulas en almácigo y pudrición de bulbos desarrollados. Las zonas afectadas muestran micelio blanquecino y masas de esclerotes redondos pequeños de color negro. En el follaje se observan síntomas de amarillamiento prematuro y muerte de hojas viejas, seguidos de una muerte rápida de la planta. Este patógeno se desarrolla en forma óptima entre los 15 a 18 °C. Sclerotium cepivorum presenta abundante micelio y esclerotes redondos con un diámetro entre 0.35 a 0.50 mm. El patógeno utiliza los esclerotes como estructura de conservación y diseminación. Se ha reportado que estos esclerotes tienen un período de latencia que les permite sobrevivir en ausencia de hospedantes. El rango de hospedantes de S. cepivorum es estrecho, estando restringido a especie del género *Allium* (37). Este patógeno ha sido reportado en el Perú, señalando a Arequipa como la zona más afectada (8).

Fusarium oxysporum f.sp. cepae. inicia su infección en cualquier estado de desarrollo de las plantas. Los primeros síntomas se manifiestan en las hojas con un encurvamiento, amarillamiento y finalmente necrosis de las hojas (1,16). Las hojas más viejas comienzan a mostrar necrosis de las puntas que posteriormente se extiende al resto de la hoja. Las plantas afectadas muestran marchitez de la parte aérea y decoloración de los bulbos a nivel de los haces vasculares. La pudrición puede progresar a las hojas reservantes (bulbo) a partir del disco basal (tallo). Las raíces eventualmente pueden presentar pudrición. Los discos basales afectados presentan color marrón. Bulbos de apariencia sana pueden manifestar pudrición en almacén.

A nivel de almácigo puede producirse muerte de plántulas (2,3,36). La especie Fusarium oxysporum f.sp. cepae(30) afecta a la familia Alliaceae como el ajo (Allium sativum) y la cebolla (Allium cepa)(30). F. oxysporum Schlechtend.:Fr. f.sp. cepae (H. N. Hans.) W. C. Snyder & H. N. Hans. produce clamidosporas, macroconidias y con mayor frecuencia microconidias. Las macroconidias son uniformemente curvadas y tienen de tres a cuatro septas. Existen aislamientos de F. oxysporum f.sp. cepae. que difieren en virulencia. Con respecto a la caracterización de razas, esta aún no ha sido realizada (23, 26, 30, 37).

Sclerotium rolfsii, produce a nivel del cuello lesiones blandas y de apariencia acuosa. Sobre la lesión se desarrolla un micelio blanquecino con esclerotes esféricos, con un tamaño de 0.5 a 1.5 mm de diámetro. Si los bulbos infectados no son secados y refrigerados, pueden desintegrarse completamente formando masas acuosas (37).

Factores que afectan el desarrollo de patógenos en el suelo:

Fungistasis:

La fungistasis es la propiedad natural de los suelos de inhibir la germinación de propágulos fúngicos. La falta de germinación de propágulos en el suelo se produce por ausencia de azúcares, aminoácidos u otros estimulantes provenientes de semillas, raíces, etc. Esta característica es un atributo esencial de muchos hongos del suelo (10). Los hongos son heterótrofos, por lo tanto dependen de nutrientes producidos por otros

organismos. La germinación en ausencia de este potencial alimenticio podría llevar a la muerte del patógeno, por lo que los hongos generan un mecanismo de defensa frente a condiciones adversas en disponibilidad de alimento, venciendo así la fungistasis. Los exudados radiculares permiten vencer la fungistasis: el tubo germinativo responde a estímulos quimiotróficos dirigiendo su crecimiento hacia su potencial fuente de alimento (10,15).

Watson y Ford (1972) citado por Bruehl (10) mencionan tres estadios en el proceso de fungistasis: La inducción, el mantenimiento y el escape o fin de la fungistasis. Los dos últimos están gobernados por un balance entre los inhibidores (factores fungistáticos) y los estimuladores de la germinación. En general la presencia de los inhibidores y estimuladores en el suelo son efímeros y se descomponen en forma natural, pero el incremento resulta de una actividad biológica activa en el suelo (10).

Suelos supresivos:

Se define como suelos supresivos aquellos donde los patógenos no pueden establecerse ni persistir o establecerse no llegando a ocasionar grados severos de la enfermedad. El suelo puede ser supresivo directamente al patógeno, por ejemplo en estos suelos los propágulos mueren o reducen su germinación, o bien reducen su capacidad saprofítica en la rizosfera. El resultado de un suelo supresivo se manifiesta en un corto periodo de vida del patógeno, la reducción de la población o disminución en la severidad de la enfermedad (4,15,24).

Se conocen muchos ejemplos de patógenos de plantas afectados por suelos supresivos como: *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* en trigo, *Fusarium oxysporum* causante de marchiteces, *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*, *Phytophthora cinnamomi*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium cepivorum* y otros (15,20,21,32).

Los suelos supresivos pueden ser generales y específicos. En el primer caso, se evita el desarrollo de distintos patógenos del suelo y está relacionado al total de la actividad microbiológica del suelo en periodos críticos de desarrollo del patógeno como es la germinación de propágulos y el crecimiento en la rizósfera. El tipo de microorganismos activos es probablemente menos importante que la actividad total de la masa microbiana activa durante este periodo crítico, la cual actúa como competidor de carbono y energía y en algunos casos de nitrógeno. Posiblemente cause la inhibición a través de formas directas de antagonismo. La supresión general de patógenos en el suelo esta ligada al alto grado de fungistasis, no existiendo un microorganismo específico responsable de la supresión. En los suelos supresivos específicos, la supresión es ocasionada por un individuo o un grupo de antagonistas del suelo durante un estado o todo el ciclo de vida de un patógeno, por ejemplo se menciona que *Trichoderma hamatum* tiene un efecto supresivo sobre *Rhizoctonia solani*.(4,15,21,35).

La existencia de suelos supresivos para *Fusarium oxysporum*, se deben al alto nivel de la actividad microbiana, la cual aumenta la dificultad para conseguir nitrógeno y/o

carbono; elementos energéticos necesarios durante el crecimiento del hongo fitopatógeno (4,15).

Control Biológico:

Los microorganismos compiten entre ellos por alimento y nicho ecológico, por lo que el desarrollo de un individuo afecta al crecimiento de otro organismo. El control biológico se basa en tres mecanismos: antibiosis, competencia, explotación (15,27,36).

Diferentes especies de *Trichoderma* han sido reportadas como microorganismos que intervienen en el control biológico de diferentes patógenos habitantes del suelo. Existen varias especies de *Trichoderma*, siendo *Trichoderma viride* una de las más comunes. Este hongo, que se caracteriza porque su fase teleomórfica, se encuentra en el género *Hypocrea* y la fase anamórfica es la predominante en los suelos y se caracteriza por presentar conidióforos erectos, solitarios o en grupos, hialinos o septados, ramificados o verticilados con fialosporas unicelulares hialinas o verdes.

En el suelo, *Trichoderma viride* se caracteriza por sintetizar metabolitos tóxicos a otros organismos. Hasta la fecha han sido reconocidos principalmente dos metabolitos: viridina y la gliotoxina, existiendo una tercera toxina reportada no confirmada que es la trichodermina. Esta última también es sintetizada por *Trichoderma polysorum*. (32,33);

El hábitat ecológico de *Trichoderma* es el suelo, siendo especialmente frecuente en suelos con materia orgánica. *Trichoderma* parece ser un organismo colonizador secundario de materia orgánica, prefiriendo materia orgánica bien descompuesta. Eventualmente se le suele encontrar en restos de madera primariamente afectada por un patógeno y también tiene la capacidad de encontrarse en la superficie de raíces de diferentes plantas (32,33).

Las poblaciones de *Trichoderma* son muy sensibles al nivel de humedad en el suelo, decreciendo significativamente en condiciones de sequedad. La abundancia de *Trichoderma* en varios suelos depende de la habilidad para degradar distintos sustratos y de la versatilidad de sus metabolitos para inhibir otros organismos que le permiten colonizar distintos nichos ecológicos en la rizosfera. (14,32,33)

Otro factor al cual *Trichoderma* es muy sensible es a la fungistasis, especialmente en suelos alcalinos. Este mecanismo normalmente le permite sobrevivir al hongo en ausencia de alimento y para romper esta fungistasis es necesaria la adición de materia orgánica que le permita germinar y desarrollarse. Se ha demostrado que tanto *T. viride* como *T. harzianum* aplicados junto con enmienda orgánicas puede desarrollar un efecto supresivo sobre patógenos del suelo. El posterior desarrollo de *Trichoderma* en el suelo depende mucho de varios factores dentro de los cuales esta el tipo y estado de las enmiendas orgánicas. En enmiendas sin estabilizar, el desarrollo es diferente comparado con enmiendas maduras o estabilizadas. (29,33).

Locke et al (1982) citado por Cook (15) utilizó *Trichoderma viride* para controlar *Fusarium oxysporum* f.sp. *chrysanthemi*. Se ha encontrado que este biocontrolador actúa sobre varios patógenos que producen chupaderas como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium spp.*, *Pythium spp.*

Enmiendas orgánicas:

Las enmiendas orgánicas promueven la destrucción del inóculo a través del mecanismo de lisis en la germinación de propágulos debido a una mayor actividad microbiológica. Las enmiendas orgánicas también favorecen la protección biológica de la planta. El control biológico con enmiendas orgánicas, en parte es resultado de la competencia entre organismos del suelo por nitrógeno, carbón, o por ambos y se expresa por una menor germinación de propágulos (15).

Existen numerosos trabajos donde se ha demostrado el efecto supresivo de las diferentes enmiendas orgánicas sobre patógenos del suelo. Enfermedades ocasionadas por *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora* sp., *Pythium* sp., *Sclerotium rolfsii* y otras, han sido reducidas usando enmiendas como compost de diferente naturaleza. (20,28)

Toda enmienda orgánica tiene un efecto positivo sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos. En la mayoría de los casos el efecto combinado de estas propiedades tienen un efecto supresivo sobre patógenos habitantes del suelo (13,20,21).

El mecanismo involucrado en el efecto supresivo es muy variado. En la mayoría de experimentos el efecto biológico ha sido el más importante, en estos casos la aplicación de enmiendas orgánicas ha estimulado a la flora microbiana antagonica a los patógenos del suelo en la rizosfera. Chef et al (13), evaluó el efecto de control de diferentes tipos de compost sobre *Fusarium oxysporum* f.sp. *chrysantemi* en crisantemo y *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* en lino, encontrando que el efecto supresivo esta en función a la naturaleza de la enmienda orgánica, donde la madurez del compost influye en un efecto de mayor o menor control. Nelson et al (29) , observó que enmiendas no muy descompuestas con alto contenido de celulosa eran inductivas para chupaderas ocasionadas por *Rhizoctonia solani* pese a que en muchos casos dicha enmienda era colonizada por una alta densidad de *Trichoderma harzianum*. En otros casos la misma enmienda orgánica, pero mas madura o estabilizada (baja contenido de celulosa), tenia un efecto supresivo pese a que inducía una menor población de *T. harzianum*. Aparentemente no existe relación entre el nivel poblacional del antagonista con el efecto supresivo, pero sí una relación entre la función de las enzimas involucradas en el parasitismo y degradación de la celulosa, como por ejemplo las celulolíticas, glucanasas, y quitinasas. En algunos casos la adición de residuos con relación C/N alta fueron no supresivas o menos supresivas para determinada enfermedad. Esta información se contradice con lo encontrado para el caso de enmiendas como la turba en donde la naturaleza de supresión esta directamente relacionada con la capacidad de proveer alimento a los antagonistas. Otro factor que influye en el resultado final de supresión es el tratamiento con vapor de agua , siendo el compost maduro el más

afectado con el tratamiento de vapor, lo cual indicaría que el componente biológico es el más importante en el efecto supresivo (21,29, 29).

Lewis y Papavizas (24) probaron distintas enmiendas contra *Fusarium solani* f.sp. *lisi* en frejol, encontrando que todos los residuos de plantas, excepto maíz, redujeron la pudrición radicular. Una explicación es la destrucción de propágulos por la descomposición de un residuo, así como los efectos de fungistasis, antibiosis, lisis y antagonismo de los microorganismos del suelo que son activados con la aplicación de la enmienda orgánica. Se ha determinado que diferentes especies del género *Trichoderma* spp. y *Gliocladium virens* son organismos que se encuentran asociadas con el efecto supresivo contra hongos como *Rhizoctonia solani* del desecho municipal compostado.

El éxito o falla del control de patógenos depende de la naturaleza de la enmienda, de la madurez y de los procesos de compostaje. Algunas enmiendas, especialmente las provienen de cortezas de árboles liberan sustancias inhibitoras de patógenos, por ejemplo, algunas de estas sustancias pueden afectar nemátodos o a *Phytophthora* spp, pero no afectan a *R. solani*. En otros casos el efecto de estas enmiendas es sobre la flora microbiana, al favorecer a los hongos *Trichoderma* spp y *Gliocladium virens* que controlan a *R. solani*. (13,21).

Control Químico:

El control químico de patógenos del suelo es muy limitado por la localización de los patógenos y por la complejidad del suelo. Uno de los tratamientos que comúnmente se emplea es la desinfección de plántulas, que tienen como propósito proteger a la plántula en sus primeros estadios de desarrollo. El empleo de fungicidas sistémicos permite que una vez absorbidos por las raíces protejan órganos aéreos del ataque de hongos (27).

III. MATERIALES Y METODOS

1. MUESTREO

El muestreo fue realizado en las zonas de Tiabaya, Sachaca y El Cural de la campiña de Arequipa.

Se hizo un muestreo dirigido a plantas que tuvieran los siguientes síntomas:

Pudrición a nivel de tallo (disco basal) o del bulbo. Plantas con poco desarrollo radicular o sin la presencia de raíces y con la parte aérea mostrando amarillamientos y muerte de las hojas.

2. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DEL PATÓGENO

Las muestras recolectadas fueron colocadas en bolsas de papel en una caja de teknopor y transportadas al Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

a. Aislamiento en Cámara Húmeda.

Las muestras fueron tomadas independientemente a partir de cinco bulbos por cada zona. Luego de ser desinfectadas con hipoclorito de sodio al 10%, se colocaron porciones de tallos en cámaras húmedas. Para esto se utilizaron cajas de polietileno

conteniendo en su interior porta-objetos estériles sobre papel filtro estéril humedecido. Porciones enteras de tallos fueron colocadas sobre los porta-objetos, luego las cajas de polietileno previamente cerradas se incubaron a 28°C, por 7 días.

b. Aislamiento en Medio de Cultivo

Se procedió a lavar los bulbos con agua corriente y jabón y luego se enjuagó con agua estéril. En una cámara de flujo laminar se cortaron porciones de tallos que se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 10% por 5 minutos y se enjuagaron en agua estéril. Con ayuda de una pinza se colocaron sobre papel toalla estéril y, una vez que estas secaron, se cortaron en trozos pequeños y se sembraron en placas petri conteniendo medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar-Oxitetraciclina (PDAO) y en medio selectivo como el Pimaricina - Ampicilina – Rifampicina (PAR). Las placas sembradas fueron incubadas a 28°C por 7 días.

A partir de ambos métodos de aislamiento se obtuvieron colonias fungosas las cuales fueron purificadas y multiplicadas para proceder a la identificación. También hubo que repicar los aislamientos en tubos conteniendo PDA para su mantenimiento en refrigeración a 5°C.

La identificación de los hongos a nivel de género se realizó mediante las claves de Barnett y Barron (6,7) y para la identificación a nivel de especie se utilizó la clave de Booth (9) y Snyder y Hansen citato por Nelson (30).

Para identificar la forma especial se hizo la inoculación en diferentes especies vegetales, para lo cual se utilizaron plántulas de 45 días de edad de los siguientes especies: ajo (*Alliaceae*), tomate (*Solanaceae*), melón (*Cucurbitaceae*), coliflor (*Brassicaceae*) y algodón (*Malvaceae*) (9,30,37). Para la inoculación se utilizó el método de punción en la base de la planta y la inoculación de una suspensión de conidias a una concentración de 10^5 conidias por ml. de suspensión. Se tuvo cinco repeticiones por especie vegetal. La evaluación se hizo a los 60 días después de la inoculación.

3. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

Con los aislamientos obtenidos se realizaron las pruebas de patogenicidad tanto en semillas, plántulas y bulbos. Las semillas se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 5% por 5 minutos, se enjuagaron en agua estéril y luego se sembraron 5 semillas por placa petrí conteniendo el aislamiento en desarrollo del patógeno. En el caso de plántulas, se hizo un almácigo en suelo estéril. A los 45 días de crecimiento se extrajeron las plántulas y mediante una aguja estéril se realizaron punciones en el disco basal, luego la porción basal de las plántulas fue remojada durante 45 minutos en una suspensión de conidias del aislamiento. Para el caso de bulbos, se seleccionaron bulbos pequeños de la variedad Roja Arequipeña, los cuales se desinfectaron con hipoclorito de sodio a 10 %

por 10 minutos y se procedió a inocular mediante dos métodos: Inmersión de bulbos (previa punción en el disco basal) en una suspensión de conidias y por inoculación de micelio en el disco basal. En el segundo caso se utilizó un bisturí con el cual se levantó una porción del tallo y se introdujo una porción de micelio en activo crecimiento que previamente había sido desarrollado en medio de cultivo.

A fin de cumplir los postulados de Koch se efectuó el reislamiento correspondiente.

4. MÉTODOS DE INOCULACIÓN

Se probaron dos métodos de inoculación:

a) Inmersión en una suspensión de conidias:

Se procedió a multiplicar el hongo en medio PDAO. Para favorecer la esporulación, el cultivo desarrollado fue colocado 12 horas a la luz durante 8 días. Una vez observada la esporulación del patógeno, se adicionó a cada placa 20 ml de agua estéril y se procedió a recolectar las conidias. Se probaron 10 concentraciones de conidias por mililitro (10 , 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 y 10^{10} conidias/ml.). Todas las concentraciones fueron estandarizadas mediante la cámara de Neubauer.

Se extrajeron plántulas de cebolla de 45 días de edad de un almácigo hecho en macetas conteniendo suelo estéril. Luego de lavarlas con agua estéril y haciendo uso de un estilete se efectuó cinco punciones en el disco basal o tallo e inmediatamente se sumergieron en la suspensión de conidias durante 10 minutos y se transplantaron a macetas conteniendo 1 kg de suelo estéril. En cada maceta se colocaron tres plántulas y en total se hicieron cuatro repeticiones.

b) Inoculación de micelio en el suelo:

El aislamiento puro del patógeno fue colocado en bolsas conteniendo trigo estéril, luego las bolsas fueron incubadas por 10 días a 28°C. En cada maceta de 1 kg. conteniendo suelo estéril se adicionó 25 gr. de micelio desarrollado en trigo, y posteriormente se transplantó una plántula de cebolla, procedente del almácigo en suelo estéril.

En ambos métodos de inoculación se evaluó el número de plántulas muertas a los 60 días de transplantadas. El mejor método de inoculación fue seleccionado para la prueba de cultivares y para la mejor concentración de conidias.

5. PRUEBA DE FUNGICIDAS

La prueba de fungicidas constó de dos partes:

- a) Prueba de fungicidas in-vitro
- b) Prueba de fungicidas en invernadero

a) Prueba de fungicidas in-vitro:

Con el aislamiento fungoso purificado, se procedió a realizar la prueba de alimento envenenado. Para ello se preparó 100 ml medio Papa – Dextrosa – Agar estéril (PDA). En el momento del plaqueo se incorporó 0.1 % de fungicidas sistémicos, se mezcló bien y se procedió al plaqueo en placas petri estériles.. Se consideró un testigo sin fungicida. Cada día se evaluó el diámetro de crecimiento de la colonia. El experimento finalizó cuando el testigo completó el crecimiento en toda la superficie del medio contenido en la placa. Los fungicidas utilizados se muestran en el cuadro 1. De esta prueba se seleccionaron aquellos fungicidas que en condiciones in-vitro inhibieron en un 100% el desarrollo del micelio.

b) Prueba de fungicidas en invernadero:

Se inocularon plántulas de 45 días de sembradas mediante la técnica de punción e inmersión en una suspensión de conidias (concentración 10^5 conidias/ml) durante 5 minutos. Inmediatamente después se realizó la inmersión en una solución de fungicida a la concentración de 0.1% por 15 minutos. Luego se transplantaron en macetas

conteniendo 1 kg. de suelo estéril. Se utilizaron 3 plántulas por maceta y un total de 5 repeticiones. Se consideró un tratamiento testigo donde se inoculó el patógeno y otro tratamiento sin inoculación. Los parámetros para la evaluación fueron los siguientes: Número de plántulas muertas, longitud de raíces, grado de ataque (cuadro 2) y el porcentaje de control en base a número de plantas muertas en relación al testigo inoculado.

6. EVALUACION DE CULTIVARES DE CEBOLLA

Se evaluaron 22 cultivares de cebolla, las cuales se muestran en el cuadro 3. Para cada cultivar se hizo un almácigo en suelo estéril y se transplantó a los 45 días de sembradas. La inoculación del patógeno se hizo mediante la técnica de punción en el disco basal y posterior inmersión de la plántula por 5 minutos en una suspensión de 10^5 conidias/ml del patógeno. La planta inoculada se transplantó a una maceta conteniendo 1 kg de suelo estéril. Cada cultivar tuvo un testigo sin inocular. Se hicieron 5 repeticiones con tres plántulas por maceta. La evaluación se realizó hasta los 60 días después del transplante y los parámetros evaluados fueron: Número de plantas muertas y grados de severidad de ataque (cuadro2).

Cuadro 1. Fungicidas sistémicos utilizados en la prueba de alimento envenenado.

Nombre comercial	Ingrediente activo	Concentración %
Aliette	Fosetil Aluminio	0.1
Benlate	Benomil	0.1
Blas	Blasticidina	0.1
Cercobim	Metil tiofanato	0.1
Fitoraz	Cimoxanil	0.1
Folicur	Tebunconazol	0.1
Fordazim	Carbendazim	0.1
Fuji-one	Isoprothiolane	0.1
Fusan	Imazalil	0.1
Kasumin	Kasugamicina	0.1
Moncut	Flutolanil	0.1
Previcur N	Propamocarb	0.1
Ridomil	Metalaxil	0.1
Rubigan	Fenarimol	0.1
Systane	Miclobutanil	0.1
Tecto	Tiabendazol	0.1
Tilt	Propiconazol	0.1
Testigo inoculado	-	0.0
Testigo sin inoculo	-	0.0

Cuadro 2. Escala de severidad de ataque de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* . propuesta por Rengwalska (35).

Grado	Descripción
1	Planta sana
2	1 a 10 %de pudrición de raíces
3	De 11 a 30 % de pudrición de raíces y hasta 10% disco basal con pudrición.
4	Raíces completamente podridas y con 11 a 30 % de pudrición del disco basal.
5	Raíces completamente podridas y mas del 30% de pudrición del disco basal

Los cultivares fueron clasificados en susceptibles, moderadamente susceptibles y ligeramente susceptible en función a la clasificación realizada por Abawi et al (2), en la cual se considera como variedad susceptible aquella que tiene un porcentaje de mortandad de 100 al 60 %, moderadamente susceptible del 61 al 20% y ligeramente susceptible del 19 al 0%.

7. ENMIENDAS ORGANICAS E INOCULACION CON *Trichoderma viride*

Se utilizaron 4 enmiendas orgánicas de distinta relación C/N, las cuales fueron: Paja seca de cereales (70 C/N), Estiércol de vaca seco y lavado (30 C/N), Compost de maíz (20 C/N) y Humus de Lombriz (10 C/N). Cada enmienda se incorporó a razón de 100 gr por maceta conteniendo 1 kg de suelo estéril. Adicionalmente en cada enmienda se realizó la incorporación del hongo controlador *Trichoderma viride*, el cual previamente había desarrollado en bolsas de polietileno con trigo estéril incubado durante 14 días. La inoculación del suelo se hizo, mezclando el controlador con el suelo estéril. Se utilizó 20 gr de trigo conteniendo el controlador por maceta de 1 kg. Todos los tratamientos de enmiendas tuvieron un testigo sin *T. viride* y otro con el controlador. Se utilizaron dos métodos de inoculación: Por punción al disco basal e inmersión en una suspensión de 10^5 conidias por ml del fitopatógeno y por inoculación directa al suelo mediante el uso del trigo con el crecimiento del patógeno a razón de 20 gr. de trigo con

Cuadro 3. Características de 22 cultivares de cebolla inoculadas con *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*.

Nro	Cultivar	Color	Polinización	Empresa
1	XPH6700	Amarilla dulce	Hibrido	Asgrow
2	Columbia 15179	Amarilla dulce	Hibrido	
3	Atena	Amarilla dulce	Hibrido	Ferry Morse
4	AG 33	Amarilla dulce	Hibrido	Asgrow
5	Granex 33	Amarilla dulce	Hibrido	Asgrow
6	Granex 429	Amarilla dulce	Hibrido	Asgrow
7	RG-ER 074	Amarilla dulce	Hibrido	Rio Colorado
8	Mercedes	Amarilla dulce	Hibrido	Peto Seed
9	RCR 1919	Amarilla dulce	Hibrido	Rio Colorado
10	TG438	Amarilla dulce	Poli. Abierta	Asgrow
11	Mr. Max	Amarilla dulce	Hibrido	Peto Seed
12	PSR 1190	Amarilla dulce	Hibrido	Peto Seed
13	Sweet Dixie	Amarilla dulce	Hibrido	Sun Seed
14	Rio Enrique	Amarilla dulce	Hibrido	Rio Colorado
15	Linda Vista	Amarilla dulce	Hibrido	Peto Seed
16	Lara	Amarilla dulce	Hibrido	Peto Seed
17	Sweet Sunrise	Amarilla dulce	Hibrido	Sun Seed
18	Hybrid Onion Rojo	Roja	Hibrido	Asgrow
19	Hibrid xph 6712	Roja	Hibrido	Asgrow
20	Roja Arequipaña	Roja	Poli. Abierta	Local
21	Red Bone	Roja	Hibrido	Asgrow
22	Red Fano	Rosada	Hibrido	Asgrow

el fitopatógeno por maceta de 1 kg.. Los dos métodos probados simularon dos situaciones que se presentan en campo: la primera cuando el inóculo esta en la plántula y la segunda cuando el inóculo está en el suelo. Se tuvo cinco repeticiones para cada tratamiento. Todos los tratamientos se muestran en el cuadro 4.

Los parámetros evaluados fueron: Número de plantas muertas, longitud de raíces, altura de planta, peso de planta. La evaluación se realizó cada 7 días para el parámetro de número de plantas muertas y a los 60 días para todos los parámetros antes mencionados.

8. DISEÑOS ESTADISTICOS

Para todas las fases del experimento se utilizó un diseño completo al azar, se hicieron los análisis de variancia para cada uno de los parámetros y en el caso del ensayo de enmiendas orgánicas, se utilizó el diseño completo al azar con un análisis factorial a para evaluar la interacción enmienda controlador. Una vez realizado el análisis de variancia se procedió a realizar la prueba de comparaciones de Duncan para cada parámetro evaluado (11).

Cuadro 4. Tratamientos usando cuatro enmiendas orgánicas y *Trichoderma viride* en dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en cebolla.

Trat.	Met. Inoculación	Enmienda (100 gr/maceta de 1kg)	Controlador (20 gr/maceta de 1kg.)
1	Plántula	Estiércol	<i>T. viride</i>
2	Plántula	Estiércol	-
3	Suelo	Estiércol	<i>T. viride</i>
4	Suelo	Estiércol	-
5	Testigo	Estiércol	-
6	Testigo	Sin enmienda	-
7	Plántula	Compost	<i>T. viride</i>
8	Plántula	Compost	-
9	Suelo	Compost	<i>T. viride</i>
10	Suelo	Compost	-
11	Testigo	Compost	-
12	Testigo	Sin enmienda	-
13	Plántula	Paja seca	<i>T. viride</i>
14	Plántula	Paja seca	-
15	Suelo	Paja seca	<i>T. viride</i>
16	Suelo	Paja seca	-
17	Testigo	Paja seca	-
18	Testigo	Sin enmienda	-
19	Plántula	Humus de Lombriz	<i>T. viride</i>
20	Plántula	Humus de Lombriz	-
21	Suelo	Humus de Lombriz	<i>T. viride</i>
22	Suelo	Humus de Lombriz	-
23	Testigo	Humus de Lombriz	-
24	Testigo	Sin enmienda	-

- Sin el controlador *T. viride*

IV. RESULTADOS

1. AISLAMIENTO E IDENTIFICACION:

a) Aislamientos en Cámara Húmeda:

En cámara húmeda a los siete días de colocadas en incubación se observó el desarrollo de un micelio blanquecino. Acorde con las claves de Barnett y Barron (6,7) el género del hongo encontrado corresponde a *Fusarium* y según Snyder y Hansen (30) la especie determinada corresponde a *Fusarium oxysporum*. Los resultados se presentan en el cuadro 5, en donde se observa que de las tres zonas el hongo identificado fue *Fusarium oxysporum*.

b) Aislamientos en medios de cultivo

A los ocho días de realizadas las siembras se obtuvo la presencia de hongos caracterizados por presentar un micelio blanquecino algodonoso. La colonia presentó una coloración violácea en medio PDAO. En el cuadro 5 se puede observar que de todas las zonas muestreadas se aisló el hongo *Fusarium oxysporum* en medio PDAO. La identificación a nivel de género de los aislamientos se hizo mediante la clave propuesta por Barnett y Barron (6,7) y la clave de Booth (9), Snyder y Hansen (30) para la especie. En medio PAR no desarrolló ningún patógeno.

Cuadro 5. Aislamientos obtenidos en medios PDAO, PAR y cámara húmeda a partir de bulbos con pudrición basal de procedentes de tres localidades en Arequipa.

Zona	Variedad	Método	Resultado	# bulb.
Tiabaya	Roja arequipeña	PDAO	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>Penicillium sp</i>	5/5 1/5
		PAR	Negativo	
		Cámara Húmeda	<i>Fusarium oxysporum</i>	
El Cural	Roja arequipeña	PDAO	<i>Fusarium oxysporum</i>	5/5
		PAR	Negativo	
		Cámara Húmeda	<i>Fusarium oxysporum</i>	
Sachaca	Roja arequipeña	PDAO	<i>Fusarium oxysporum</i>	5/5
		PAR	Negativo	
		Cámara Húmeda	<i>Fusarium oxysporum</i>	

Los resultados de la identificación de los aislamientos fueron los siguientes:

Características morfológicas:

Para identificación a nivel de género:

A través del microscopio compuesto se observó micelio hialino y septado. De las hifas se producían conidióforos cortos y de cuya porción apical salían conidias. Los conidióforos se caracterizaron por ser solitarios, simples, no ramificados. Las células conidiogénicas eran fialides. Se observó la producción de dos tipos de conidias hialinas:

- Conidias unicelulares de forma ovalada elípticas (microconidias)
- Conidias alargadas con varias septas, de forma fusiforme. (macroconidias)

Por las características antes descritas y mediante las llaves de Barnett (6) y Barrón (7) el hongo fue ubicado en el género *Fusarium*.

Características para la identificación de la especie:

Se hicieron varios montajes de los aislamientos obtenidos y en 50 de ellos se efectuaron medidas de conidióforos, microconidias y macroconidias. Adicionalmente, en un tubo conteniendo agua estéril se puso una porción de micelio para inducir la formación de clamidosporas. Los resultados se observan en el Cuadro 6.

Todas las características se ajustan a las descritas por Snyder y Hansen, citado por Nelson et al (30) y Booth (9), por lo tanto, el hongo aislado corresponde a la especie *Fusarium oxysporum*.

Para la identificación a nivel de Forma Especial :

Los resultados de las inoculaciones en las diferentes especies vegetales de distintas familias se observan en el cuadro 7, en donde se puede ver que sólo se desarrollaron síntomas en ajo y cebolla, ambas especies pertenecen a la familia Alliaceae, característica que corresponde a la forma especial cepae (9,30,37).

2. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD:

Los resultados de las diferentes pruebas de patogenicidad se presentan en el cuadro 8. La inoculación a nivel de germinación de semilla, plántulas al trasplante y bulbos dieron resultados positivos para la inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp.cepae. A nivel de semillas se observó la pudrición de la radícula a los 7 días de inoculado. En el caso de las plántulas transplantadas, se observó la pudrición del tallo (disco basal) a los 45 días de transplantado, y en el caso de los bulbos se desarrolló una pudrición a partir de la zona inoculada hacia el disco basal. En todos los casos se reaisló el mismo patógeno.

Cuadro 6. Características morfológicas para la identificación de especies de *Fusarium* aisladas de bulbos de cebolla con pudrición basal.

Tipo de Estructura	Características	Desviación Estandar
Macroconidias	x septas: 4.4 Tamaño: <ul style="list-style-type: none"> • Largo : 3.8 micras • Diámetro : 0.5 micras Forma: Puntas ligeramente agudas	0.2253 0.024 0.018
Microconidias	Forma: Elípticas, Producidas en racimos	
Clamidosporas	Presentes. Solitarias	
Conidioforos	3.2 micras largo	0.125
Coloración medio	Violáceo	
Organo afectado	Tallos- haces vasculares de cebolla	

Cuadro 7. Comportamiento de diferentes especies vegetales a la inoculación de *Fusarium oxysporum* aislado de cebolla.

HOSPEDANTE	Familia	Síntomas
Cebolla	Alliaceae	Positivo
Ajo	Alliaceae	Positivo
Tomate	Solanaceae	Negativo
Melón	Cucurbitacea	Negativo
Coliflor	Brassicaceae	Negativo
Algodón	Malvaceae	Negativo

Positivo: Plantas que desarrollaron síntomas

Negativo: Plantas sin síntomas

Con esta prueba se cumplen los postulados de Koch (18) que nos permiten identificar a este hongo como el agente causal de la pudrición basal de los bulbos de cebolla en Arequipa. Para las tres localidades muestreadas en el valle de Arequipa (Tiabaya, El Cural, Sachaca) se obtuvo los mismos resultados.

3. METODOS DE INOCULACION

a) Inmersión en una suspensión de conidias:

A los 45 días de instalado el experimento, en la concentración de 10^5 conidias/ml se observó muerte de las doce plantas, a densidades menores no se obtuvo un 100% de plantas muertas, y a las mayores concentraciones se obtuvo los mismos resultados que para la concentración de 10^5 conidias/ml. La figura 1 muestra las distintas concentraciones de conidias por mililitro versus la muerte de plántulas. Se observa claramente que la curva llega al 100% de plantas muertas (12 plantas) con la concentración de 10^5 conidias/ml., por lo que a esta concentración de propágulos se obtiene una mortandad total de plantas de cebolla.

b) Inoculación de micelio en el suelo:

No se observaron plantas muertas a los 45 días de evaluación, ni se encontraron diferencias marcadas con respecto al testigo sin inocular.

De ambos métodos, el de punción al disco basal de plántulas y posterior inmersión en la suspensión de conidias fue el método que dio síntomas visibles y diferenciables a los 45 días de evaluado, por lo tanto se eligió como método para realizar la prueba de cultivares. La concentración de mejor resultados fue la de 10^5 conidias por mililitro de solución debido a que se obtuvo un 100% de mortandad de plantas de cebolla.

4. PRUEBA DE FUNGICIDAS:

a) Prueba de fungicidas in-vitro:

Los resultados de la prueba de fungicidas in vitro se muestran en el cuadro 9. La evaluación se hizo cada día durante 18 días hasta que el hongo en el tratamiento testigo desarrolló en toda la placa.

En la figura 2 se observa el crecimiento de micelio de cada uno de los fungicidas probados. Se puede notar que los fungicidas del grupo de los benzimidazoles fueron los que mejor controlaron como es el caso Benomil, Metil tiofanato, Tiabendazol y la Carbendazima; mientras que, entre los fungicidas inhibidores de síntesis de ergosterol que tuvieron mejor control fueron el Imazalil y Tebuconazol.

Cuadro 8. Pruebas de patogenicidad de *Fusarium oxysporum* en plántulas y bulbos de cebolla, usando diferentes métodos de inoculación.

ORGANO INOCULADO	METODO	SINTOMAS	HONGO AISLADO
Semillas (germinación)	Placa con hongo	Muerte de plántula a la germinación	<i>Fusarium oxysporum</i>
Plántulas	Inmersión en propágulos	Necrosis del follaje Pudrición tallo	<i>Fusarium oxysporum</i>
Bulbos	• Inmersión en propágulos	• Pudrición del disco basal	<i>Fusarium oxysporum</i>
	• Micelio en disco basal	• Pudrición del disco basal	<i>Fusarium oxysporum</i>

Cuadro 9. Crecimiento de *Fusarium oxysporum* en medio Papa Dextrosa Agar utilizando la prueba de alimento envenenado con 17 fungicidas sistémicos.

Nombre comercial	Ingrediente activo	Crecimiento (cm.) en 18 días	% control
Aliette	Fosetil aluminio	4,85	50,375
Benlate	Benomil	0,00	100
Blas	Blasticidina	6,81	25,875
Cercobim	Metil tiofanato	0,00	100
Fitoraz	Cimoxanil	5,29	44,875
Folicur	Tebuconazol	0,00	100
Fordazim	Carbendazim	0,00	100
Fuji-one	Isoprotiolane	6,90	24,75
Fusan	Imazalil	0,00	100
Kasumin	Kasugamicina	7,39	18,625
Moncut	Flutolanil	7,41	18,375
Previcur N	Propamocarb	7,08	22,5
Ridomil	Metalaxil	7,98	11,25
Rubigan	Fenarimol	3,49	67,375
Systane	Miclobutanil	2,08	85
Tecto	Tiabendazol	0,00	100
Tilt	Propiconazol	1,80	88,5
Testigo		8,00	0

El resto de fungicidas sistémicos no ejercieron un control de cien por ciento sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum*.

De esta prueba los fungicidas seleccionados fueron: Benomil, Tiabendazol, Metil Tiofanato, Carbendazima, Imazalil y Tebuconazol para realizar todos los ensayos de invernadero debido al 100% de control in-vitro.

b) Prueba de Fungicidas en invernadero:

Se hizo el análisis de variancia con los resultados de grados de severidad, longitud de raíces y plantas muertas (anexo 1), encontrándose diferencias altamente significativas para las medias de las tres variables de cada uno de los tratamientos. Los resultados de las pruebas de comparación de Duncan se pueden observar en el cuadro 10.

Grados de severidad: En la figura 3 se observan las diferencias altamente significativas entre todos los tratamientos con los testigos inoculados y sin inocular, lo que quiere decir que ninguno de los fungicidas pudo evitar totalmente el desarrollo de la enfermedad; pero todos disminuyeron en diferente grado la severidad de infección. En los grupos de fungicidas se encuentran diferencias entre los Benzimidazoles y Tiofanatos (BT) y los inhibidores de biosíntesis del ergosterol (IBE), siendo los BT los que desarrollaron menor grado de severidad. Al analizar dentro del grupo de BT se observa que el Metil Tiofanato y el Benomil presentan valores de grados de severidad mas bajos que el Tiabendazol y la Carbendazima. Dentro del grupo de los IBE, el

mejor fungicida fue el Imazalil seguido del Tebuconazol, encontrándose diferencias altamente significativas entre ambos.

Longitud de Raíces: Al igual que el parámetro anterior, todos los fungicidas mostraron diferencias significativas con respecto al testigo inoculado. Los tratamientos con los fungicidas del grupo de los BT tuvieron mayor desarrollo de raíces que los IBE. El tratamiento que mostró mayor crecimiento de raíces fue el Metil tiofanato, el cual no tuvo diferencia estadísticamente significativa con el testigo sin inoculación. El Benomil y el Tiabendazol fue el segundo grupo que tuvo plantas con mayor longitud de raíces, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Un tercer grupo lo constituye la Carbendazima y finalmente se encuentran los IBE como es el Tebuconazol e Imazalil (cuadro 10, figura 4).

Plantas Muertas: A excepción del Tiabendazol y el testigo sin inocular, todos los tratamientos presentaron plantas muertas, pero en menor porcentaje comparándolos con el testigo inoculado (cuadro 10, figura 5). El comportamiento de los diferentes grupos de fungicidas fueron similares a los otros parámetros anteriormente señalados, en donde los fungicidas BT ejercieron mejor control que los IBE. El Tiabendazol no produjo mortandad de plantas (0%) y fue seguido del Benomil y Metil tiofanato, ambos con un 20% de mortandad. Estos fungicidas tuvieron diferencias estadísticas con la Carbendazima (30%), seguida del Imazalil (40%) y del Tebuconazol (60%). En la figura 6 se muestran las curvas de desarrollo de la enfermedad para cada fungicida a lo largo del experimento.

Cuadro 10. Prueba comparativa del efecto de seis fungicidas sistémicos en el control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en plántulas de cebolla.

Trat	Fungicida	Grados Severidad	Plantas Muertas (%)	Longitud Raiz (cm.)
1	Metil Tiofanato	1,7 E	20.0 E	392,700 A
2	Tiabendazol	2,0 D	0.0 F	324,400 B
3	Benomil	1,6 E	20.0 E	313,600 B
4	Carbendazima	2,2 D	30.0 D	249,000 C
5	Tebuconazol	3,9 B	60.0 B	139,000 D
6	Imazalil	3,4 C	40,0 C	99,100 E
7	Testigo inoculado	5,0 A	85.0 A	2,400 F
8	Testigo sin inocular	1,0 F	0,0 F	372,400 A
Alfa		0,01**	0,05*	0,05*

* Diferencias significativas

** Diferencias altamente significativas

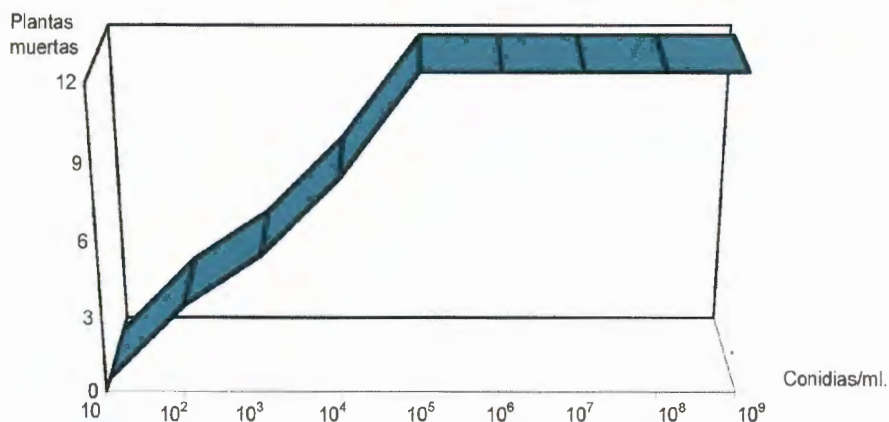
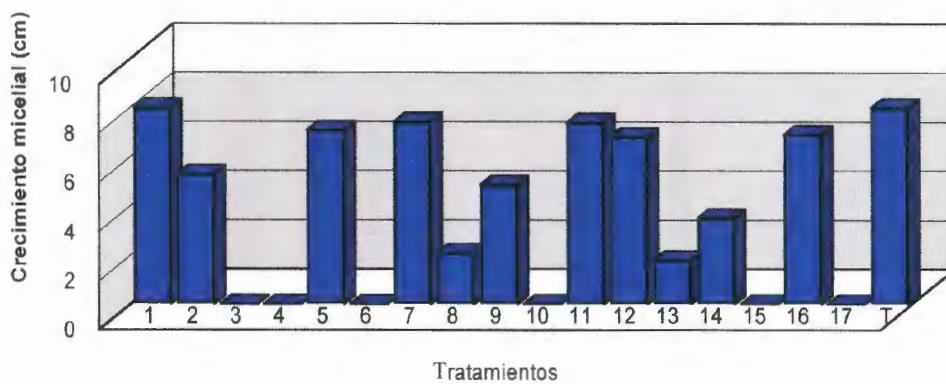


Figura 1. Efecto de la densidad de inóculo de *Fusarium oxysporum* f.sp.*cepae* en la mortandad de plantas de cebolla a los 45 días de la inoculación.



1	Ridomil	6	Tecto	11	Kasumin	16	Fuji-one
2	Fitoraz	7	Moncut	12	Blas	17	Folicur
3	Cercobim	8	Systane	13	Tilt	T	Testigo
4	Fordazim	9	Aliette	14	Rubigan		
5	Previcur	10	Benlate	15	Fusan		

Figura 2. Crecimiento longitudinal de micelio de *Fusarium oxysporum* en la prueba in-vitro de alimento envenenado utilizando fungicidas sistémicos a la dosis de 0.1%.

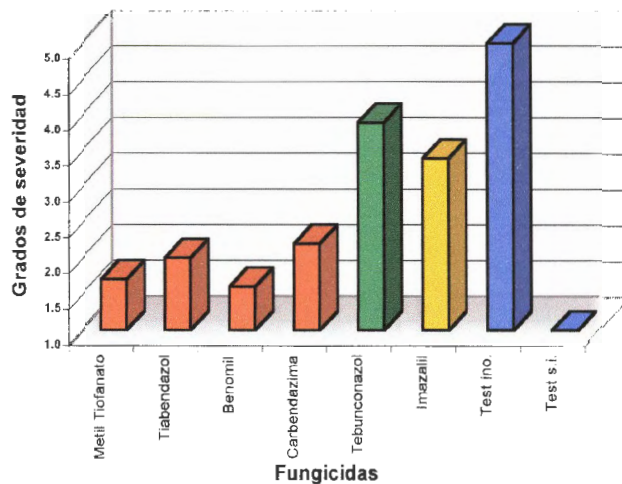


Figura 3. Severidad de la pudrición por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en plántulas de cebolla tratadas con seis fungicidas sistémicos en condiciones de invernadero.

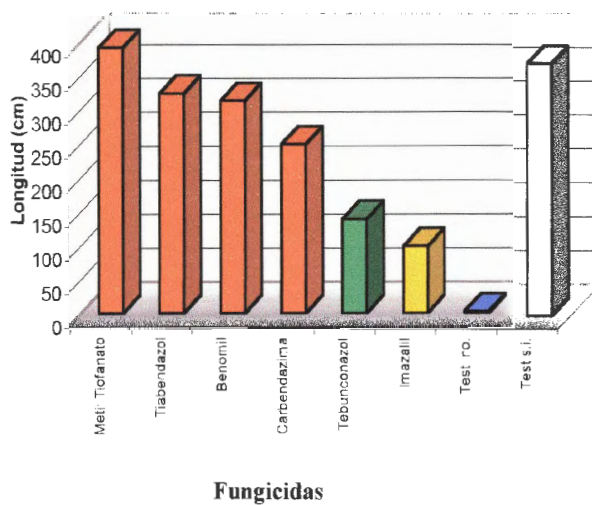


Figura 4. Crecimiento longitudinal de raíces de plántulas de cebolla inoculadas con *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* tratadas con seis fungicidas sistémicos, en condiciones de invernadero.

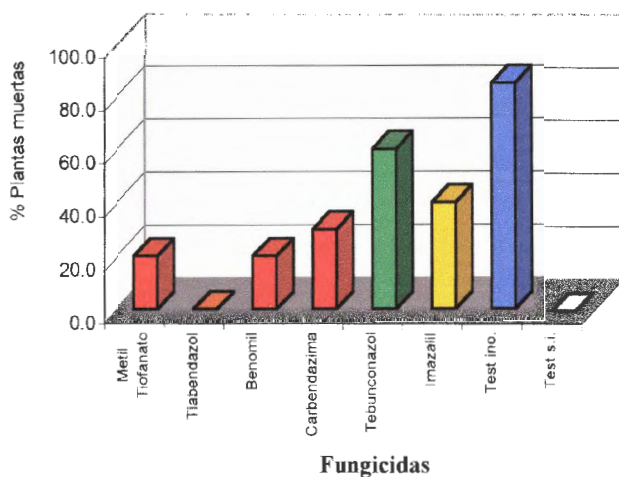


Figura 5. Mortalidad de plántulas de cebolla causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* tratadas con seis fungicidas sistémicos en condiciones de invernadero.

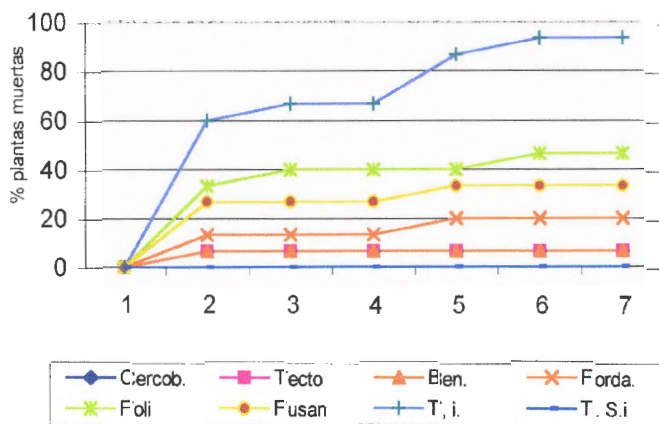


Figura 6. Efecto del tratamiento con seis fungicidas sistémicos en la mortalidad de plántulas de cebolla infectadas con *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en condiciones de invernadero.

5. EVALUACION DE CULTIVARES DE CEBOLLA

El análisis de variancia para los promedios de porcentaje de plantas muertas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* de los 22 cultivares de cebolla determinó diferencias altamente significativas entre los diferentes tratamientos (anexo 2). El coeficiente de variabilidad fue de 12.61 %, el cual es aceptable para las pruebas de invernadero. El resultado de la evaluación de los parámetros de porcentaje de plantas muertas y grados de severidad de ataque de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* se muestran en el cuadro 11. Todos los cultivares presentaron muerte de plantas y un grado de severidad de ataque de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*, pero se encontraron diferencias estadísticamente significativa entre los distintos cultivares. Con respecto al porcentaje de plantas muertas (figura 7), el cultivar Atena fue el que mostró menor % de mortandad (16.67%) y tuvo diferencias significativas con el resto de cultivares. El segundo grupo estuvo integrado por los cultivares XPH6700, TG438, AG33, seguidos de Roja Arequipeña, Granex 33, Red Fano, XPH6712, Columbia 15179 y Onion Rojo. El resto mostró un 100% de plantas muertas. Con respecto al grado de severidad se observa un comportamiento similar: Atena en promedio desarrolló un menor grado (2.25) seguida de TG438.

Según el comportamiento de resistencia propuesto por Abawi y Lorber (2), se observan tres grupos en donde el primero correspondió al cultivar Atena clasificada como ligeramente susceptible, seguida del grupo XPH6700, TG438, AG33, Roja Arequipeña y Granex 33 clasificados como moderadamente susceptibles. El tercer grupo, que incluye al resto de cultivares se comportaron como susceptibles (cuadro 11 y figura 7).

Cuadro 11. Comportamiento de 22 cultivares de cebolla al ataque por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*, bajo condiciones de invernadero.

Cultivar	% plantas muertas.	Prom grados de severidad	comportamiento *
Granex 435	100,00 A	5,00	Susceptible
Red Bone	100,00 A	5,00	Susceptible
RG-ER 074	100,00 A	5,00	Susceptible
Mercedes	100,00 A	5,00	Susceptible
RCR 1919	100,00 A	5,00	Susceptible
Mr. Max	100,00 A	5,00	Susceptible
PSR 1190	100,00 A	5,00	Susceptible
Sweet Dixie	100,00 A	5,00	Susceptible
Rio Enrique	100,00 A	5,00	Susceptible
Linda Vista	100,00 A	5,00	Susceptible
Lara	100,00 A	5,00	Susceptible
Sweet Sunrise	100,00 A	5,00	Susceptible
Hybrid Onion Rojo	83,33 ABC	4,58	Susceptible
Columbia 15179	83,33 ABC	4,75	Susceptible
XPH 6712	75,00 ABC	4,42	Susceptible
Red Fano	66,67 ABC	4,33	Susceptible
Granex 33	58,33 BC	3,92	Moderadamente Susceptible
Roja Arequipaña	58,33 BC	4,08	Moderadamente Susceptible
AG 33	50,00 CD	4,25	Moderadamente Susceptible
TG438	50,00 D	2,83	Moderadamente Susceptible
XPH6700	33,33 D	3,58	Moderadamente Susceptible
Atena	16,67 E	2,25	Ligeramente Susceptible

* Clasificación propuesta por Abawi S. y Lorber J (2).

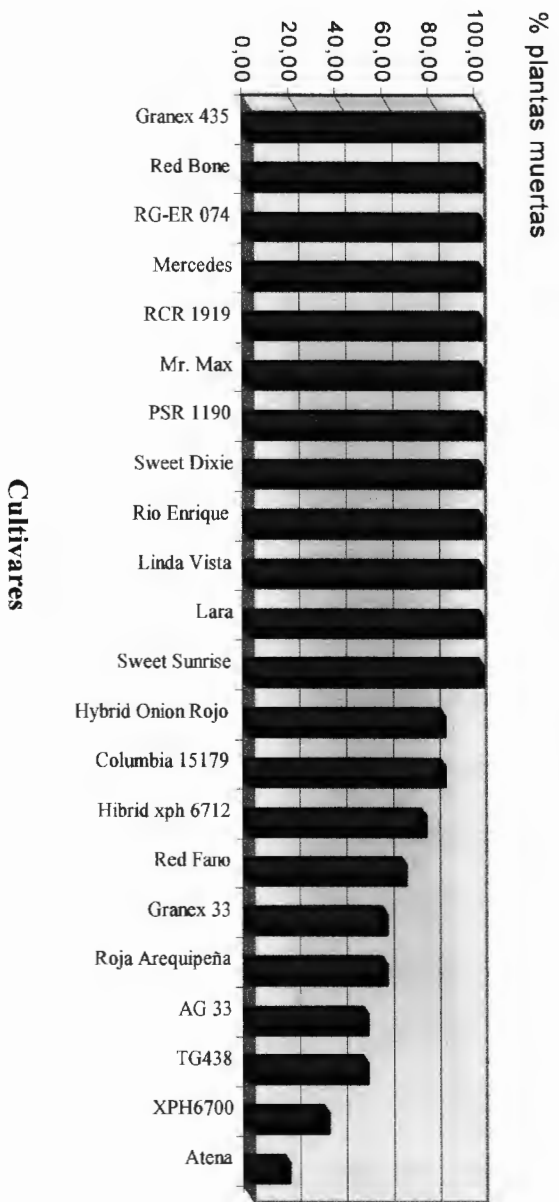


Figura 7. Porcentaje de plantas muertas de 22 cultivares de cebolla inoculadas con *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* bajo condiciones de invernadero.

5. ENMIENDAS ORGANICAS E INOCULACION CON *Trichoderma viride*

Todos los resultados se muestran en el cuadro 12 y en las figuras 8 , 9 , 10 y 11.

Porcentaje de plantas muertas:

Se obtuvo diferencias altamente significativas entre cada uno de los tratamientos y para cada una de las enmiendas utilizadas (cuadro 13, anexos 3, 4,5,6). El efecto del tipo de inoculación y la clase de enmienda afectó el comportamiento de *Trichoderma viride*.

En el estiércol, el testigo sin el fitopatógeno tuvo 10% de plantas muertas, lo que indica que esta enmienda afectó el prendimiento de las plántulas de cebolla después del transplante. Al inocular *Fusarium oxysporum* con el método de inoculación a las plántulas, el porcentaje de mortandad fue del 100%, no mostrando diferencias estadísticamente significativas con el estigo inoculado sin la enmienda (93%). En los tratamientos donde la inoculación se hizo al suelo se tuvo menor mortandad de plantas comparados con la inoculación a plántula. El efecto de *Trichoderma viride* sobre la mortandad de plantas fue errático pues en el caso de la inoculación directa a plántula sí ejerció una disminución en el porcentaje de muerte de plántulas, más no así en el caso de la inoculación al suelo donde no se observó el mismo efecto (cuadro 12 y figura 8a).

En el caso del compost, todos los tratamientos mostraron diferencias significativas con respecto al testigo inoculado. Al igual que en la enmienda de estiércol, se notó una mayor mortandad de plantas en la inoculación directa a la plántula comparado con la inoculación al suelo. Al evaluar el efecto de *T. viride* en los dos métodos de inoculación, sólo en la

inoculación a la plántula se observó un efecto de reducción de mortandad de plantas. En el caso de la inoculación al suelo no hubo efecto significativo entre el tratamiento con y sin *T. viride*. En términos generales la mortandad de plantas fue menor que en la enmienda con estiércol (cuadro 12, figura 8B).

La paja seca de cereales redujo la mortandad de plantas con respecto al testigo inoculado. No se observaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos por lo que la muerte de plantas fue igual en el método de inoculación a la plántula y al suelo. No se encontraron diferencias entre los tratamientos con y sin *T. viride*. En todos los tratamientos se tuvo un porcentaje de mortandad igual al 40% , salvo para el caso de la inoculación al suelo con *T. viride* donde el porcentaje llegó al 50% (cuadro 12, Figura 8C).

En humus de lombriz, se encontraron diferencias significativas con respecto al testigo inoculado. En ambos métodos de inoculación se observó un efecto significativo entre los tratamientos con *T. viride* y los que no tuvieron el biocontrolador. En general no se observaron diferencias significativas para la mortandad de plantas entre el método de inoculación de *Fusarium* al suelo versus la inoculación a la planta (cuadro 12, figura 8D).

En el análisis combinado total, se observa que los mejores tratamientos de mayor a menor fueron con el compost, el cual redujo en mayor grado la mortandad de plantas, seguido del humus de lombriz, el estiércol y la paja seca de cereales.

Altura de plantas:

En el cuadro 12 y la figura 9 se observa que la enmienda que tuvo mayor efecto sobre la altura de planta fue el humus de lombriz, seguida del compost, la paja seca de cereales y finalmente el estiércol. Todos los tratamientos bajo el método de inoculación a la planta tuvieron una menor altura de planta en comparación con los tratamientos bajo la inoculación al suelo.

El empleo de *T. viride* tuvo un efecto significativo en la altura de planta en el compost y el humus de lombriz. Este efecto incluso fue superior al testigo no inoculado (cuadro 12, figura 9B y 9D). En el resto de enmiendas no se observaron diferencias significativas de la altura de plantas con los tratamientos inoculados con *T. viride*.

Longitud de raíces:

El comportamiento de este parámetro es muy similar al anterior. En la figura 10 y el cuadro 12 se observa el mayor desarrollo de longitud de raíces tanto en el humus de lombriz como en el compost. Las plantas que tuvieron la menor longitud de raíces fueron con estiércol. En el caso del compost y del humus de lombriz, el mayor crecimiento de raíces se produjo cuando se tuvo la inoculación de *F. oxysporum* al suelo junto con la adición de *T. viride*. Para todas las enmiendas orgánicas se encontró que el crecimiento de raíces fue menor cuando se hizo la inoculación en forma directa a la planta con respecto a la inoculación al suelo.

Grados de severidad

Los menores grados de severidad se han observado para la enmienda humus de lombriz seguida del compost, paja seca de cereales y finalmente el estiércol de vaca. Sólo para el caso del compost se han encontrado diferencias significativas entre los tratamientos con y sin *T. viride* en los dos métodos de inoculación (figura 12B). En el resto de enmiendas no hay diferencias significativas para el efecto del controlador sobre el grado de severidad (cuadro 12 y figura 11). Todos los tratamientos bajo el método de inoculación a la planta tuvieron mayores grados de severidad que los tratamientos con inoculación de *Fusarium oxysporum* al suelo.

En general las enmiendas que mejor inhibieron a *Fusarium oxysporum* en todos los parámetros evaluados fueron el humus de lombriz seguido del compost, luego la paja seca de cereales y finalmente del estiércol. El efecto de reducción de la enfermedad por *T. viride*, sólo fue claro y con diferencias estadísticamente significativas para las enmiendas humus de lombriz y compost. En el estiércol y en la paja seca de cereales los resultados fueron erráticos.

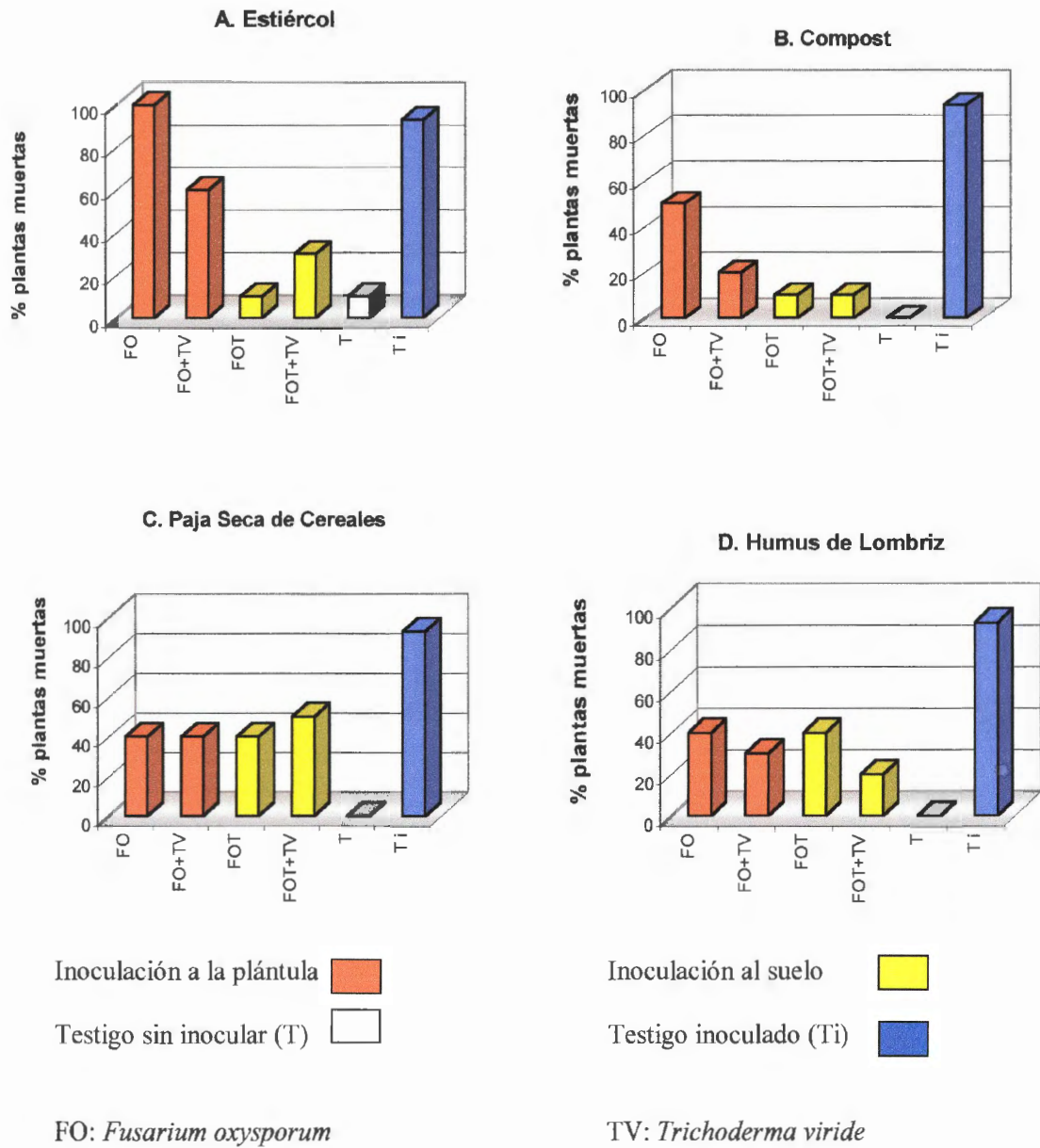


Figura 8. Efecto de cuatro enmiendas orgánicas con *Trichoderma viride* y dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en la mortandad de plantas de cebolla.

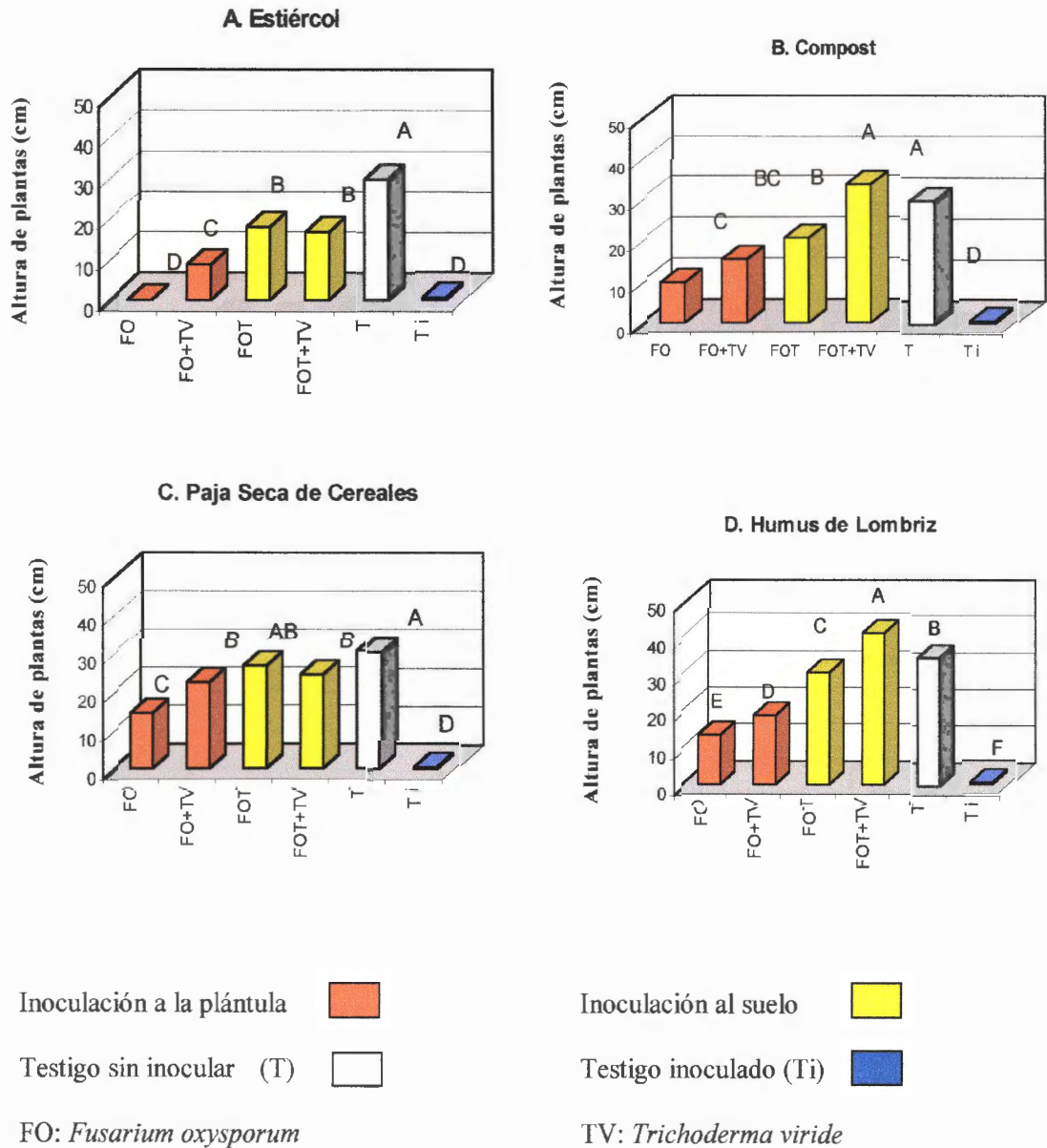
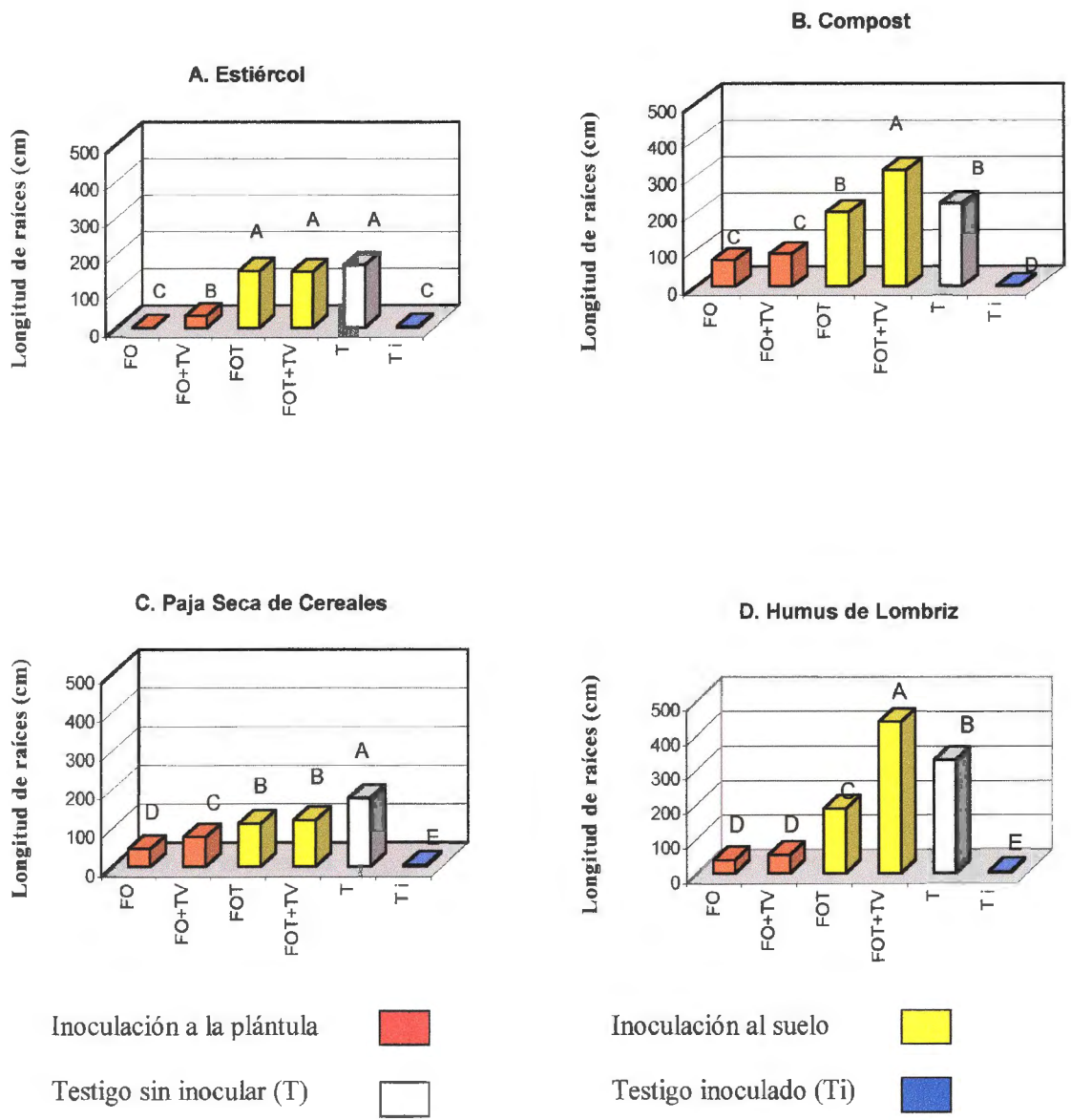


Figura 9. Efecto de cuatro enmiendas orgánicas con *Trichoderma viride* y dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en el crecimiento de plantas de cebolla.



FO: *Fusarium oxysporum*

TV: *Trichoderma viride*

Figura 10. Efecto de cuatro enmiendas orgánicas con *Trichoderma viride* y dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en el desarrollo radicular de cebolla.

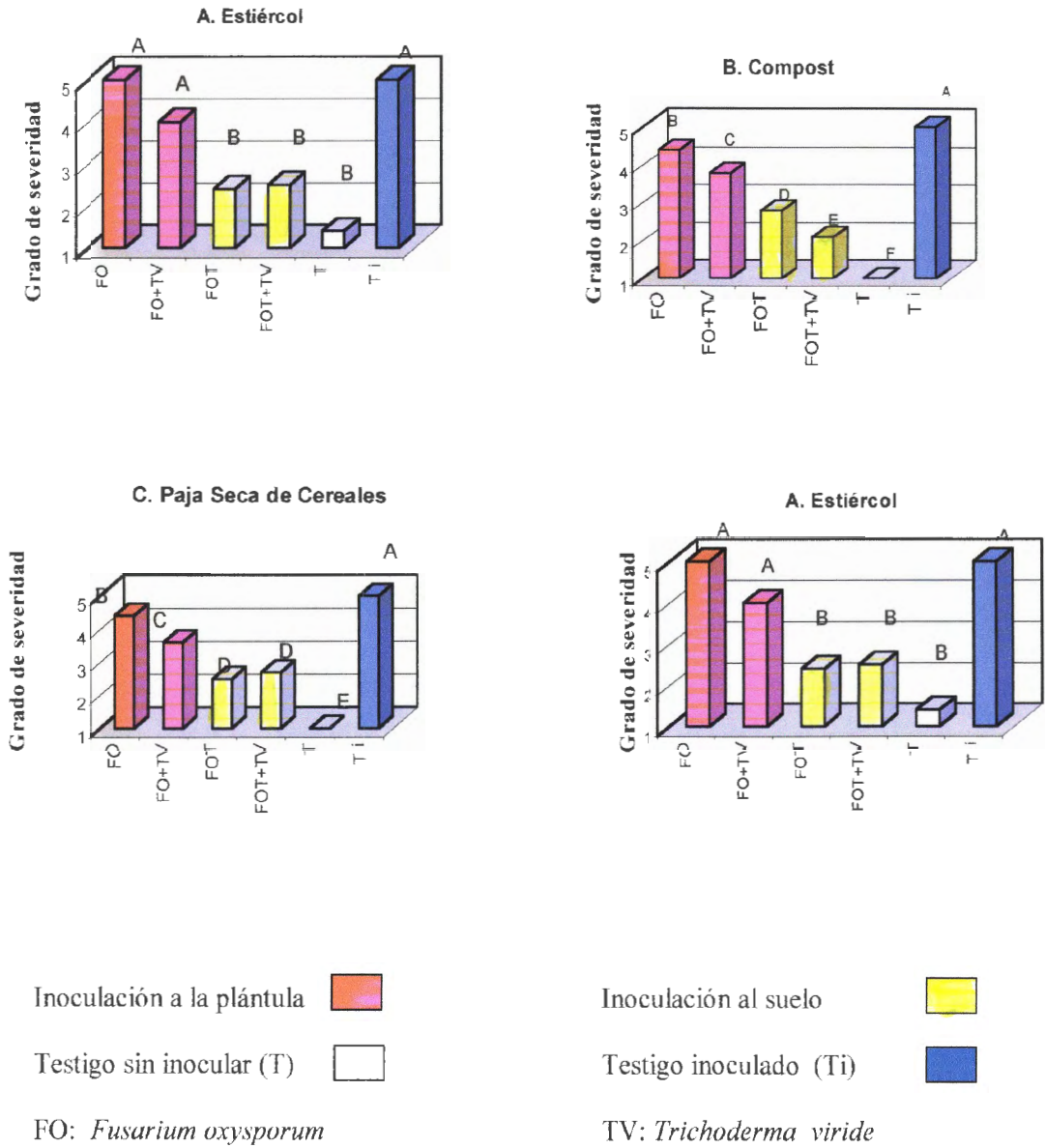


Figura 11. Efecto de cuatro enmiendas orgánicas con *Trichoderma viride* y dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en la severidad de la pudrición basa de cebolla.

Cuadro 12. Efecto de cuatro enmiendas orgánicas con *T. viride* y dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en la severidad de ataque y algunas características morfológicas de la plantas de cebolla.

Enmiendas	Tratamientos	% plantas Muertas		Altura de Plantas (cm)		Longitud de Raíces (cm)		Grados de Severidad		Peso de Plantas (gr)	
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Estiércol	FO	100	A A	0	D L	0	C J	5	B	5,08	C H
	FO+TV	60	B B	8,6	C K	32,2	B I	4	B	12,2	B G
	FOT	10	D F	17,7	B GHI	154,4	A F	2,4	A	27,6	A DE
	FOT+TV	30	C CD	16,4	B GHI	152,4	A F	2,5	A	25,76	A DE
	Testigo sin inocular	10	D F	29,5	A C	169,6	A EF	1,4	A	31,8	A E
	Testigo	93	A A	0,4	D L	2,4	C J	5	B	5,2	C H
Nivel significación ANVA		**		**		**		**		**	
Coefficiente de variabilidad		25,04%		21,27%		23,29%		23,34%		14,85%	
Compost	FO	50	B BC	9,76	C JK	72,88	C H	4,4	E	10,73	C G
	FO+TV	20	C DE	15,3	BC HI	88,9	C H	3,8	D	13	C G
	FOT	10	D F	20,4	B EFG	203,42	B D	2,8	C	26,94	B DE
	FOT+TV	10	D F	33,5	A BC	318,1	A B	2,1	B	36,04	A C
	Testigo sin inocular	0	E G	29,9	A C	226,98	B C	1	A	30,4	B D
	Testigo	93	A A	0,4	D L	2,35	D J	5	F	5,2	D H
Nivel significación ANVA		**		**		**		**		**	
Coefficiente de variabilidad		32,09%		26,78%		13,62%		11,55%		20,26%	
Paja seca	FO	40	C BC	14,4	C HI	44,92	D I	4,4	D	9,66	C G
	FO+TV	40	C BC	22,4	B DEF	75,39	C H	3,6	C	20,94	B F
	FOT	40	C BC	26,7	AB CD	110,58	B G	2,5	B	27,7	A E
	FOT+TV	50	B BC	24,3	B DEF	119	B G	2,7	B	24,4	A E
	Testigo sin inocular	0	A G	30,5	A BC	176,715	A EF	1	A	27,06	A DE
	Testigo	93	D A	0,4	D L	2,4	E J	5	E	5,2	D H
Nivel significación ANVA		**		**		**		**		**	
Coefficiente de variabilidad		11,96%		16,91%		14,03%		11,73%		11,89%	
Humus Lombriz	FO	40	B BC	13,5	D IJ	37,54	D I	3,8	C	19,14	C F
	FO+TV	30	C CD	18,6	D FGH	51,83	D I	3,5	C	20,62	C F
	FOT	40	B BC	30,3	C C	186,3	C DE	2,7	B	37,76	B B
	FOT+TV	20	D DE	41	A A	436,83	A A	2,1	B	49,1	A A
	Testigo sin inocular	0	E G	35	B BC	327,51	B B	1	A	40,7	B B
	Testigo	93	A A	0,4	E L	2,35	E J	5	D	5,2	D H
Nivel significación ANVA		**		**		**		**		**	
Coefficiente de variabilidad		18,09%		10,30%		7,59%		9,62%		4,90%	

Donde: FO: *Fusarium oxysporum* inoculado a la plántula
 FOT: *Fusarium oxysporum* inoculado al suelo.
 1: Duncan por enmienda (alfa=0.05)

FO+TV: *F. oxysporum* inocul. a la planta+*T. viride*
 FOT+TV *F. oxysporum* inoculado al suelo+*T. viride*
 2: Duncan total (alfa=0.05)

V. DISCUSION

El presente trabajo se constituye en el primer reporte de la presencia de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en el Perú. Todas las características morfológicas, las pruebas de patogenicidad, el rango de hospedantes y la sintomatología en ajo y cebolla concuerdan con lo descrito por Swartz (37), Booth (9) y Nelson (30), para *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*.

Nelson et al (30) indican que las distintas formas especiales de *Fusarium oxysporum* se encuentran distribuidas bajo diferentes condiciones de suelo y clima, siendo especial problema en zonas donde las temperaturas fluctúan entre los 18 a 25 °C, condiciones que concuerdan con las principales zonas productoras de Arequipa. Esto explicaría la presencia y amplia distribución de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en todas las zonas muestreadas.

Otro factor adicional que favorece una alta incidencia de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en los suelos de las tres zonas muestreadas, es el monocultivo de la cebolla o la rotación con ajo, también susceptible a la misma forma especial de *Fusarium oxysporum*. Esta mala práctica cultural incrementa constantemente las poblaciones de patógenos habitantes del suelo.

El método de inoculación por punción en el disco basal fue el que indujo síntomas más claros y un mayor desarrollo de la enfermedad. Por ello se eligió como método para todas las pruebas realizadas. Estos resultados concuerdan con los de Abawi (1), Rengwalska (35) y Gordon (19), quienes utilizaron esta metodología para los distintos trabajos realizados con *Fusarium oxysporum*. El nivel de inóculo de 10^5 conidias/ml de solución es el que

llegó a ocasionar un 100% de mortandad. Esta concentración coincide con la obtenida con otras formas especiales de *Fusarium oxysporum* como es el caso de la forma especial *melonis* en melón (19). El método de inoculación al suelo no indujo síntomas a los 45 días, probablemente debido a que el desarrollo del hongo en el suelo es lento y requiere penetrar por las heridas naturales en el sistema radicular y avanzar al disco basal (tallo) de la cebolla, donde degrada el sistema vascular como lo señala Abawi (1).

En la prueba de fungicidas in-vitro, prácticamente todos los fungicidas del grupo de los Benzimidazoles y Tiofanatos (BT) controlaron a *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*, y sólo algunos fungicidas del grupo de los inhibidores de síntesis de ergosterol (IBE) como son el Imazalil y Tebuconazol mostraron una eficacia del 100%. Estos resultados concuerdan con lo señalado por Latorre (22) y Mont (27) con respecto al espectro de acción de estos grupos. Los IBE son un grupo muy amplio que tiene numerosas familias de fungicidas. Los resultados muestran que entre cada fungicida de una misma familia existen diferencias con respecto a su eficacia para controlar *Fusarium*. Este es el caso de los Triazoles, donde sólo el Tebuconazol mostró un control in-vitro del 100%, a diferencia del Propiconazol y Miclobutanil que dejaron desarrollar micelio en el medio envenenado. El resto de fungicidas, tales como el Metalaxil (Phenilamidas), la Kasugamicina y Blastidina (Antibióticos), el Fosetil Aluminio (Fosfonatos), son recomendados principalmente para el control de otros patógenos.

El control químico como medida de control para *Fusarium oxysporum* en cebolla, se recomienda sólo para la desinfección de plántulas (34,37). Debido a esto, en la fase de invernadero, se hizo una inmersión de las plántulas en una suspensión de fungicidas para evaluar el efecto de control. Los resultados in-vivo muestran claramente que los fungicidas del grupo Benzimidazoles y Tiofanatos ejercieron un mejor control con respecto al Imazalil y al Tebuconazol. En todos los tratamientos hay desarrollo de la enfermedad a nivel del disco basal, por lo tanto los fungicidas detienen parcialmente el desarrollo de patógeno, pero no lo eliminan totalmente. El tratamiento con fungicidas para controlar patógenos del suelo es básicamente preventivo y no curativo (22,34,37).

Latorre (22) señala que el fungicida Imazalil es principalmente empleado para el control de enfermedades de postcosecha como *Penicillium sp.*, mientras que Mont (27) indica que los triazoles (tebuconazol) son básicamente utilizados para el control de patógenos foliares (oidiosis, royas y manchas foliares). En ningún caso se cita el uso de estos productos para tratamientos de patógenos habitantes del suelo como es el caso de *Fusarium oxysporum*. Los mismos autores mencionan que los Benzimidazoles y Tiofanatos (BT) son empleados para desinfección de plántulas y semillas contra hongos del suelo, lo que concuerda con lo encontrado en el presente trabajo.

Dentro del grupo de los BT, todos los parámetros (grados de severidad, porcentaje de plantas muertas y longitud de raíces) muestran un mejor efecto del Benomil, Tiabendazol, y Metil tiofanato, en comparación con la Carbendazima, hecho que podría estar ligado a características relacionadas con la estabilidad de los ingredientes activos en la raíz y el suelo, como lo indica Latorre(22).

En la evaluación de cultivares, los parámetros de porcentaje de plantas muertas y grados de severidad mostraron que todos los cultivares permiten un desarrollo de la enfermedad, pero existen diferencias en la reacción al comportamiento frente a *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*. No existen muchos trabajos de investigación publicados con respecto a la reacción de cultivares de cebolla a este patógeno. Abawi (2), ensayó diferentes cultivares, encontrando que en todos los cultivares se desarrollaba la enfermedad pero en diferente grado, observaciones que son similares al presente trabajo. Ninguno de los cultivares ensayados por este autor existen a la fecha, para poder compararlos con los actuales.

No se conoce con exactitud la naturaleza de la resistencia de la cebolla a *Fusarium oxysporum*, pero según el presente ensayo, el desarrollo de la pudrición basal en todos los cultivares estaría indicando que la resistencia a *F. oxysporum* en cebolla no es extrema. Estos resultados coinciden con lo reportado por Abawi et al (2), Lorber et al (25) y Rabinowitch et al (34), quienes encontraron desarrollo de la enfermedad en todos los cultivares probados. Rabinowitch et al (34) menciona que probablemente la resistencia a *F. oxysporum* de las cebollas y en general de las alliáceas es expresada por genes menores, es decir que no se trata de una resistencia extrema sino poligénica, que aún permite un cierto grado de desarrollo de la enfermedad en las plantas.

Al observar los resultados del comparativo de cultivares, sólo Atena resultó ligeramente susceptible. Este cultivar es un híbrido de cebollas amarillas de gran vigor, lo cual le estaría ayudando a un comportamiento favorable contra *F. oxysporum*. Dentro del grupo de cultivares que se comportaron como moderadamente susceptibles se tiene a TG438 y Roja

Arequipeña, que son de polinización abierta. En general el comportamiento de estos cultivares es muy variable por el hecho de ser de polinización abierta donde las características genéticas no son uniformes. En el caso del cultivar Roja Arequipeña, la variabilidad es muy alta debido a que la mayoría de agricultores tiene selecciones propias. Todas estas selecciones han sido agrupadas dentro de un cultivar denominado en forma genérica Roja Arequipeña, siendo muy probable que puedan existir selecciones de Roja Arequipeña que sean mas o menos susceptibles a la selección empleada en este ensayo.

Bajos las condiciones del presente experimento no se encontró relación entre el color de la cebolla y su comportamiento a *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*. Cultivares como Red Bone y la Hibrid Onion Rojo se mostraron muy susceptibles, pero la Roja Arequipeña se mostró Moderadamente Susceptible.

Para el caso del ensayo con las diferentes enmiendas orgánicas, el mayor porcentaje de plantas muertas y las menores longitudes de raíces han sido obtenidas con el estiércol de vacuno. Está enmienda tuvo un efecto negativo para el desarrollo de las plantas. Al observar el testigo donde sólo se le adicionó la enmienda y no se inoculó *Fusarium*, se encuentra un porcentaje de mortandad del 10%. Ninguna de las otras enmiendas produjo mortandad de plantas en el testigo, lo cual indica que el estiércol tuvo un efecto negativo sobre el prendimiento de las plántulas. Esto probablemente se deba a que el estiércol es una materia orgánica que no ha sufrido un proceso de transformación (descomposición) por lo que no se encuentra todavía estabilizada. Hoitink et al (21) señalan que en el proceso de estabilización hay una fase de incremento de temperatura y cambios cualitativos en la materia orgánica. Es muy probable que este proceso se dio durante la realización del

experimento, lo cual dañó el sistema radicular de la planta. Adicionalmente el estiércol pudo tener un contenido elevado de sales ya que provino de un establo lechero donde las excretas incrementan el contenido de sales.

En todos los parámetros evaluados se obtuvieron mejores resultados con el humus de lombriz, que es una materia orgánica muy estabilizada incluso mejor que el compost. Estos resultados coinciden y amplían lo reportado por Camacho (12), quien evaluó el efecto de las lombrices y sobre *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* en frejol.

En todas las enmiendas orgánicas se encontraron diferencias al comparar los métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum*. Todas las enmiendas tuvieron un mejor control de *Fusarium* cuando la inoculación fue al suelo. Esto se debe a que el efecto antibiosis y competencia de la flora microbiana antagónica es mayor cuando el patógeno se dirige del suelo a la planta y penetra en ella (inoculación al suelo) que cuando ya esta en el interior (inoculación al disco basal).

De las cuatro enmiendas, la paja seca de cereales mostró diferencias no tan marcadas entre los dos métodos de inoculación. Esto se debe a que esta enmienda tiene poca carga microbiana comparada con las otras. Adicionalmente, al usar suelo estéril no se tuvo una carga microbiana adicional que incrementara el efecto antagónico. Estos resultados estarían mostrando la importancia de la flora microbiana inherente a cada enmienda, que coincide en lo señalado por Chet (14) y Hoitink et al (21).

Al analizar el efecto de *Trichoderma viride* sobre *Fusarium oxysporum*, las enmiendas compost y humus de lombriz fueron las únicas que mostraron diferencias estadísticas entre los tratamientos con y sin *T. viride* para los parámetros altura de planta y longitud de raíces. Comparando ambos métodos de inoculación de *Fusarium*, en el método de inoculación al suelo se obtuvo mejor control que en el método de inoculación a la planta. Esto puede explicarse porque *Trichoderma viride* tiene mayores posibilidades de inhibición de la germinación de las estructuras de *F. oxysporum* y su posterior penetración, que cuando este ya está dentro del tejido vegetal.

Adicionalmente en el compost y humus de lombriz se ha observado un mayor desarrollo radicular y de planta en los tratamientos con inoculación de *F. oxysporum* y *T. viride* al suelo, que en el testigo sin inocular. Es probable que *T. viride* actué como un estimulador del crecimiento radicular, característica citada por Chet (13) y Baker et al (5), quienes señalan que *Trichoderma* es un organismo promotor del crecimiento de plantas.

Hoitink et al (21) y Nelson (29) sostienen que el grado de madurez de las enmiendas orgánicas es un factor que afecta la actividad de los antagonistas. Sus trabajos, realizados con diferentes tipos de compost que tenían una relación C/N alta no obtuvieron buenos resultados. Los mismos autores indican que la disponibilidad de carbono podría favorecer el incremento total de microorganismos, pero el factor más importante es la estabilidad de la enmienda, que permitiría una mejor colonización de ciertos antagonistas. En el caso de las enmiendas probadas, el humus de lombriz y compost fueron las más estabilizadas dando los mejores resultados tanto solas como con *Trichoderma viride*. Por lo tanto estas

enmiendas interactúan positivamente con este antagonista permitiendo la inhibición de *Fusarium oxysporum* tanto por competencia como por antibiosis.

Debido a las características que muestra *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* causante de la pudrición basal de la cebolla, las medidas de control deben ser enfocadas dentro de un programa de Manejo Integrado, donde la resistencia genética al no ser extrema requiere de medidas que reduzcan los niveles de daño de este patógeno. En este contexto el control químico debe ser utilizado como medida preventiva en desinfección de plántulas. El uso de enmiendas orgánicas (especialmente humus de lombriz y compost), mejoran el efecto supresivo del suelo y estas tienen interacción con los antagonistas del suelo como es el caso de *Trichoderma viride*.

VI. CONCLUSIONES

1. El agente causal de la pudrición basal de bulbos de cebolla en Arequipa es el hongo *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*.
2. El mejor método de inoculación para *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* fue el de punción en el disco basal de la cebolla e inmersión en una suspensión de conidias.
3. Los fungicidas que mejor controlaron la pudrición basal de la cebolla fueron los Benzimidazoles y Tiofanatos , siendo el Benomil, Metil Tiofanato y Tiabendazol los de mejor resultados seguidos de la Carbendazima.
4. Todas los cultivares mostraron desarrollo de la enfermedad, Atena se comportó como ligeramente susceptible, seguida de XPH6700, TG738, AG33, Roja Arequipeña y Granex 33 que fueron moderadamente susceptibles. El resto de cultivares se comportaron como susceptibles.
5. Para las condiciones de este experimento, la enmienda orgánica de mayor efecto contra la pudrición basal de la cebolla fue el humus de lombriz.
6. *Trichoderma viride* tuvo un mayor control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en las enmiendas humus de lombriz y compost.

VII. RECOMENDACIONES

1. Evaluar el comportamiento agronómico de los distintos cultivares de cebolla en campo y su calidad para el consumo y exportación
2. Evaluar los cultivares mas resistentes frente a otros patógenos como *Phoma terrestris* (raíz rosada) y las posibles interacciones con *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*.
3. Evaluar la eficiencia de otras cepas de *Trichoderma viride* así como otras especies de *Trichoderma*.
4. Evaluar la eficiencia de otros métodos de aplicación de controladores biológicos y sus interacciones con las distintas enmiendas orgánicas.

VIII. RESUMEN

Se tomaron muestras de plantas de cebolla con síntomas de pudrición en el disco basal y necrosis del follaje de tres zonas del departamento de Arequipa (Tiabaya, El Cural y Sachaca). Las muestras fueron analizadas en cámara húmeda y sembradas en medios Papa-Dextrosa-Agar (PDA) y Pimaricina-Ampicilina-Rifampicina (PAR). El hongo aislado fue identificado como *Fusarium oxysporum*. Con los aislamientos de este patógeno se inocularon diferentes hospedantes como cebolla, ajo, tomate, melón, coliflor y algodón. Sólo se observó síntomas en cebolla y ajo, por lo que el patógeno fue identificado como *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*.

Se probaron dos métodos de inoculación de *F. oxysporum* f.sp. *cepae*: a) inoculación del hongo desarrollado en trigo, al suelo estéril b) Punción en el disco basal e inmersión en suspensión de conidias. El mejor método fue el de punción e inmersión en la suspensión de conidias. Con este método, se evaluaron nueve densidades de inóculo, siendo la densidad 10^5 conidias/ mililitro la de mejor resultado.

Con el aislamiento de *F. oxysporum* se hizo una prueba de alimento envenenado en medio PDA con los siguientes fungicidas: Fosetil Aluminio, Benomil, Blastidina, Metil Tiofanato, Cimoxanil, Tebuconazol, Carbendazim, Isoprothiolane, Imazalil, Kasugamicina, Flutolanil, Propamocarb, Metalaxil, Fenarimol, Miclobutanil, Tiabendazol y Propiconazol. Todos los fungicidas fueron probados con la concentración de 0.1%. Los fungicidas que inhibieron el 100% del crecimiento micelial fueron Benomil, Tiabendazol, Metil Tiofanato Carbendazim, Tebuconazol e Imazalil. Estos fungicidas fueron seleccionados para la prueba de invernadero.

En condiciones de invernadero, se inocularon mediante la técnica de punción en el disco basal plántulas de 45 días de edad. Las cuales fueron tratadas por inmersión en los fungicidas seleccionados de la prueba in-vitro. Los fungicidas que mejor controlaron fueron el Benomil, Tiabendazol y Metil tiofanato.

Se evaluaron 22 cultivares de cebolla, los cuales fueron inoculadas mediante la técnica de punción del disco basal y posterior inmersión en una suspensión de 10^5 conidias/ml. Los cultivares evaluados fueron: XPH6700, Columbia 15179, Atena, AG33, Granex 33, Granex 429, RG-ER 074, Mercedes, RCR 1919, TG438, Mr. Max, PSR 1190, Sweet Dixie, Rio Enrique, Linda Vista, Lara, Sweet Sunrise, Hybrid Onion Rojo, XPH 6712, Roja Arequipeña, Red Bone y Red Fano. Atena fue el cultivar que tuvo un comportamiento de ligeramente susceptible. Mientras que XPH6700, TG438, AG33, Roja Arequipeña y Granex 33 se comportaron como moderadamente susceptibles. El resto de cultivares fueron susceptibles.

Se evaluó el efecto de cuatro enmiendas orgánicas: estiércol de vaca, paja seca de cereales, compost y humus de lombriz. Junto con las enmiendas se adicionó el hongo controlador *Trichoderma viride*. Todos los tratamientos se probaron con dos técnicas de inoculación: 1) al suelo con *F. oxysporum* desarrollado en trigo y 2) por punción en el disco basal e inmersión en una suspensión de conidias. Las enmiendas que inhibieron a *F. oxysporum* fueron el humus de lombriz seguido por el compost. Estas enmiendas también mostraron una interacción positiva con *Trichoderma viride*. El efecto de *T. viride* y de las enmiendas fue mayor bajo el método de inoculación al suelo. *T. viride* en interacción con las enmiendas humus de lombriz y compost mostraron un efecto estimulador del crecimiento radicular.

IX. ABSTRACT

Some onion plants with basal plate rot and necrotic leaves symptoms were taken from three areas of Arequipa department (Tiabaya, El Cural and Sachaca). The samples were analyzed by wet chamber, Potato – Dextrosa – Agar (PDA) and Pimaricin-Ampicilin-Rifampicin (PAR) media. The fungus *Fusarium oxysporum* was isolated and identified. With this isolate many hosts such as onion, garlic, melon, cauliflower and cotton were inoculated with the fungus. Only onion and garlic developed symptoms, therefore the pathogen was identified as *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepa*.

Two methods of inoculation of *Fusarium oxysporum* f.sp. were tested: a) Inoculating the pathogen in wheat to the sterile soil and b) Puncture of basal plate and plant immersion in a conidial solution. The best method was puncture of basal plate and immersion. Nine densities of inoculum were tested, where 10^5 conidias per milimeter were the best result.

The food poisoned PDA media test was made with the isolate of *F. oxysporum*. The fungicides tested were: Fosetil Aluminio, Benomil, Blasticidina, Metil Tiofanato, Cimoxanil, Tebuconazol, Carbendazim, Isoprotilane, Imazalil, Kasugamicina, Flutolanil, Propamocarb, Metalaxil, Fenarimol, Miclobutanil, Tiabendazol y Propiconazol. All the fungicides were tested with the dosage of 0.1%. Benomil, Tiabendazol, Metil Tiofanatom Carbendazim, Tebuconazol and Imazalil had a 100% inhibition of micelial grow. All of them were chosen for the greenhouse testing.

In greenhouse, 45 days old plants were inoculated by the method of basal plate puncture, then they were treated with the fungicides chosen in the in-vitro test. The best control was made by Benomil, Tiabendazol, Metil tiofanato.

22 onion cultivars were evaluated. All of them were inoculated with the basal plate puncture method with a concentration of 10^5 conidias/ml. The cultivars evaluated were: XPH6700, Columbia 15179, Atena, AG33, Granex 33, Granex 429, RG-ER 074, Mercedes, RCR 1919, TG438, Mr. Max, PSR 1190, Sweet Dixie, Rio Enrique, Linda Vista, Lara, Sweet Sunrise, Hybrid Onion Rojo, XPH 6712, Roja Arequipeña, Red Bone and Red Fano. Atena was slightly susceptible. XPH6700, TG438, AG33, Roja Arequipeña and Granex 33 were intermediately susceptible. All of the rest cultivars were susceptible.

The effect of four following organic amendments was evaluated: cow manure, cereal dry canopy, compost and worm humus. Each amendment was tested also in combination with *Trichoderma viride*. Two methods of inoculation were tested, *F. oxysporum* grown in wheat added to the sterile soil and inoculated by puncture on the basal plate. The amendments that inhibited *F. oxysporum* were worm humus and compost. Both showed a positive interaction effect with *T. viride*. The control of *F. oxysporum* to *T. viride* depended on the kind of amendment. The best control was obtained when *F. oxysporum* was inoculated to the soil. *T. viride* induced a stimulation of root growth when used in combination with worm humus and compost.

X. LITERATURA CITADA

1. Abawi, G. S., and Lorbeer, J. W. 1971. Pathological histology of four onion cultivars infected with Fusarium oxysporum f.sp. cepae. *Phytopathology* 61:1164-1169.
2. Abawi, G. S., and Lorbeer, J. W. 1971. Reaction of selected onion varieties to infection by Fusarium oxysporum f.sp. cepae. *Plant Dis. Rep.* 55. 1000-1004.
3. Abawi, G. S., and Lorbeer, J. W. 1972. Several aspects of the Ecology of infection by Fusarium oxysporum f.sp. cepae. *Phytopathology* 62:870-876.
4. Alabouvette, C. 1990. Biological Control of Fusarium Wilt Pathogens in Suppressive Soils pp. 27-43. In: *Biological Control of Soilborne Plant Pathogens*. Ed. D. Hornby. C.A.B. International, Wallingford. UK. 479 pp.
5. Baker, R., Elad, Y. and Chet, I. 1984. The controlled experiment in the scientific method with special emphasis on biological control. *Phytopathology* 24:1019-1021.
6. Barnett, H. and B. Hunter. 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess Publishing Company. Third edition. 241 pp.

7. Barron, G. 1968. The Genera of Hyphomycetes from soil. The Williams & Wilkins Company. Baltimore. USA. 364 pp.
8. Bazán de Segura, C. 1975. Enfermedades de cultivos frutícolas y hortícolas. Ed. Jurídica S.A. Lima-Perú. 276 pp.
9. Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Surrey. England. 237 pp.
10. Bruehl, G. 1987. Soil Borne Plant Pathogens. Machillan Publishing Company. Newyork. U.S.A. 368 pp.
11. Calzada Benza. 1967. Métodos Estadísticos para la investigación. Edi Agraria, Lima. Perú. 459 pp.
12. Camacho, D., P. 1994. La Lombriz de Tierra y su efecto sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. y *F. oxysporum* Schl. f.sp. *phaseoli* Kendrick & Snyder. Tesis para optar el grado de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. 108 pp.
13. Chef, D.G., Hoitink H. A. J. and Madden, L. V. 1983. Effects of Organic Components in Container Media on Suppression of *Fusarium* Wilt of Chrysanthemum and Flax. *Phytopathology* 73:279-281.

14. Chet, I. 1990. Biological Control of Soil borne plant pathogens with fungal antagonists in combination with soil treatments pp. 15-25. In: Biological Control of Soilborne Plant Pathogens. Ed. D. Hornby. C.A.B. International, Wallingford. UK. 479 pp.
15. Cook, R. J. and Baker, K. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society. Minnesota. USA. 539 pp.
16. Everts, K. L., Schwartz, H. F., Epsky, N. D., and Capinera, J. L. 1985. Effects of maggots and wounding on occurrence of *Fusarium* basal rot of onions in Colorado. *Plant Dis.* 69: 878-882.
17. Farr, D., G. Bills, G. Chamuris, and A. Rossman. 1989. *Fungi. On Plants and Plant Products in the United States.* APS press. Minnesota, USA. 1252 pp.
18. French, E. y H. Teddy. 1980. *Métodos de Investigación en Fitopatología.* IICA. San José Costa Rica, 327 pp.
19. Gordon, T. R., Okamoto, D., and Jacobson, D. J. . 1989. Colonization of muskmelon and nonsusceptible crops by *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* and other species of *Fusarium*. *Phytopathology* 79:1095-1100.
20. Hadar, Y., Mandelbaum, R. and B. Gorodecki. 1992. Biological Control of Soilborne Plant Pathogens by Suppressive Compost. In: *Biological Control of Plant Diseases.*

- Progress and Challenges for the Future. Ed. E.C.Tjamos, G.C. Papavizas and R.J. Cook pp. 79-83. Plenum Press, New York. 462 pp.
21. Hoitink, H. A. and P. Fahy. 1986. Basis for the Control of Soilborne Plant Pathogens with compost. *Ann. Rev. Phytopathol.* 24:93-114.
 22. Latorre B. 1989. *Fungicidas y Nematicidas*. Universidad Católica de Chile. Santiago-Chile. 215.
 23. Lacy, M. L., and Roberts, D. L. 1982. Yields of onion cultivars in midwestern organic soils infested with *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*. and *Pyrenochaeta terrestris*. *Plant Dis. Rep.* 42:667-668.
 24. Lewis, J.A. and G.C. Papavizas. 1974. Survival and Multiplication of soil borne Plant Pathogens as affected by Plant Tissue Amendments. In: *Biology and Control of Soil-Borne Plant Pathogens*. APS. 84-89 pp.
 25. Lorbeer, J.W. and Stone, K.W. 1965. Reaction of onion to *Fusarium* basal rot. *Plant Dis. Rep.* 49:522-526.
 26. Marlatt, R.B. 1958. Onion *Fusarium* Basal rot in Arizona. *Plant Dis. Rep.* 42:667-668.
 27. Mont, R. 1993. *Principios del control de enfermedades de las plantas*. Ediagraria. Lima, Perú. 287 pp.

28. Nelson, E. B., Hoitink, H. A. J. 1983. The Role of microorganism in the suppression of *Rhizoctonia solani* in container media amended with composted hardwood bark. *Phytopathology* 73:274-278.
29. Nelson, E. B., Kuter, G.A. and Hoitink, H. A. 1983. Effects of fungal antagonists and compost age on suppression of Rhizontonia damping-off in container media amended with composted hardwood bark. *Phytopathology* 73:1457-1462.
30. Nelson, P.E., T. A. Toussoun, and R.J. Cook. 1981. *Fusarium diseases, biology and taxonomy*. The Pennsylvania State University Press. USA. 459 pp.
31. Pantoja, N. 1994. *Phytophthora capsici* características morfológicas y culturales, su efecto sobre tres cultivares comerciales de *Capsicum*, Control Químico y con *Trichoderma viride* Pers. Tesis para optar el grado de Magister Scietiac. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. 91 pp.
32. Papavizas, G. C. 1992. Biological Control of Soilborne Plant Pathogens with *Gliocladium* and *Trichoderma*. In: *Biological Control of Plant Diseases. Progress and Challenges for the Future*. Ed. E.C.Tjamos, G.C. Papavizas and R.J. Cook pp. 223-230. Plenum Press, New York. 462 pp.

33. Papavizas, G. C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, Ecology, and Potential for Biocontrol. *Ann. Rev. Phytopathol.* 23:23-54.
34. Rabinowitch, H.D., and Brewster, J.L. 1990. *Onions and Allied Crops. Vol 2, Agronomy Biotic Interations, Pathology, and Crop Protection*, CRC Press, Boca Raton Florida. U.S.A.. 320 pp.
35. Rengwalska, M, M. and Simon, P W. 1986. Laboratory evaluation of Pink Root and *Fusarium* Basal Rot Resistance in Garlic. *Plant Disease* 70:670-672.
36. Rivera, A. 1995. *Trichoderma viride* Pers. y fungicidas sistémicos en el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc. en mani (*Arachis hypogea* L.) bajo condiciones de invernadero. Tesis para optar el grado de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. 96 pp.
37. Swartz, H.F., and Mohan, S.K. 1995. *Compendium of onion and Garlic Diseases*. The American Phytopathology Society. Minesota - USA. 54 pp.

XI. ANEXOS

Anexo 1. Análisis de variancia para Grados de severidad, longitud de raíces y plantas muertas de 6 fungicidas sistémicos en el control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en plántulas de cebolla.

1. Variable grados de severidad

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
TRAT	7	63.80	9.115	76.13	0.0000
REP	4	0.89	0.223	1.86	0.1452
Error	28	3.35	0.120		
Total	39	68.05			

Coefficient of Variation= 13.27%

2. Variable Plantas muertas

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
TRAT	7	11.53	1.647	82.70	0.0000
REP	4	0.03	0.008	0.38	0.8210
Error	28	0.56	0.020		
Total	39	12.11			

Coefficient of Variation= 22.39%

3. Variable Longitud de raíces

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
TRAT	7	726552.81	103793.259	274.05	0.0000
REP	4	1595.66	398.915	1.05	0.3978
Error	28	10604.83	378.744		
Total	39	738753.31			

Coefficient of Variation= 8.10%

Anexo 2. Análisis de variancia para porcentaje de plantas muertas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* de 22 cultivares de cebolla bajo condiciones de invernadero.

F.V	Gl	S.C	C.M.	F cal	Significación
Repeticiones	3	0,102	0,034	0,9243	
Tratamientos	21	7,803	0,372	10,094	**
Error	63	2,319	0,037		
Total	87	10,224			

C.V. 12,61%

Anexo 3. Análisis de variancia para plantas muertas, altura de plantas, longitud de raíces y peso de plantas usando dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en cebolla en tratamiento de con la enmienda de estiércol de vaca.

1. Variable Plantas muertas

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	6.18	1.237	25.57	0.0000
rep	4	0.21	0.053	1.09	0.3870
Error	20	0.97	0.048		
Total	29	7.36			

Coefficient of Variation= 25.04%

2. Variable Altura de Planta

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	3240.80	648.160	97.81	0.0000
rep	4	24.87	6.217	0.94	0.4622
Error	20	132.53	6.627		
Total	29	3398.20			

Coefficient of Variation= 21.27%

3. Variable Longitud de raíces

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	166799.19	33359.837	84.81	0.0000
rep	4	1210.67	302.667	0.77	0.5577
Error	20	7866.76	393.338		
Total	29	175876.61			

Coefficient of Variation= 23.29%

4. Variable Peso de plantas

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	3027.39	605.478	92.37	0.0000
rep	4	44.54	11.135	1.70	0.1898
Error	20	131.10	6.555		
Total	29	3203.03			

Coefficient of Variation= 14.85%

5. Variable grados de severidad

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	46.62	9.325	14.24	0.0000
rep	4	0.71	0.178	0.27	0.8927
Error	20	13.09	0.655		
Total	29	60.43			

Coefficient of Variation= 23.34%

Anexo 4. Análisis de variancia para plantas muertas, altura de plantas, longitud de raíces y peso de plantas usando dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en cebolla en tratamiento con la enmienda de compost.

1. variable Plantas muertas

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	12.84	2.568	65.57	0.0000
rep	4	0.22	0.054	1.38	0.2755
Error	20	0.78	0.039		
Total	29	13.84			

Coefficient of Variation= 32.09%

2. Variable: Altura de Planta

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	3572.38	714.476	31.18	0.0000
rep	4	337.58	84.394	3.68	0.0210
Error	20	458.28	22.914		
Total	29	4368.23			

Coefficient of Variation= 26.78%

3. Variable longitud de raíces

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	343352.00	68670.400	160.28	0.0000
rep	4	656.18	164.045	0.38	0.8182
Error	20	8568.69	428.435		
Total	29	352576.87			

Coefficient of Variation= 13.62%

4. Variable Peso de plantas

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	3833.44	766.689	44.93	0.0000
rep	4	47.28	11.820	0.69	0.6057
Error	20	341.29	17.065		
Total	29	4222.02			

Coefficient of Variation= 20.26%

5. Variable Grados de severidad

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	57.60	11.521	84.29	0.0000
rep	4	0.57	0.142	1.04	0.4123
Error	20	2.73	0.137		
Total	29	60.91			

Coefficient of Variation= 11.55%

Anexo 5. Análisis de variancia para plantas muertas, altura de plantas, longitud de raíces y peso de plantas usando dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en cebolla en tratamiento con la enmienda de Paja seca de cereales.

1. Variable Plantas muertas

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	5.12	1.024	102.15	0.0000
rep	4	0.14	0.034	3.42	0.0277
Error	20	0.20	0.010		
Total	29	5.46			

Coefficient of Variation= 11.96%

2. Variable Altura de planta

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	2982.74	596.548	53.13	0.0000
rep	4	19.95	4.988	0.44	0.7753
Error	20	224.55	11.227		
Total	29	3227.24			

Coefficient of Variation= 16.91%

3. Variable Longitud de raíces

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	93356.68	18671.337	122.21	0.0000
rep	4	415.90	103.974	0.68	0.6135
Error	20	3055.52	152.776		
Total	29	96828.10			

Coefficient of Variation= 14.03%

4. Variable Peso de planta

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	2037.95	407.589	82.76	0.0000
rep	4	2.14	0.535	0.11	0.9781
Error	20	98.50	4.925		
Total	29	2138.59			

Coefficient of Variation= 11.89%

5. variable grados de severidad

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	52.10	10.420	73.99	0.0000
rep	4	0.88	0.221	1.57	0.2214
Error	20	2.82	0.141		
Total	29	55.80			

Coefficient of Variation= 11.73%

Anexo 6. Análisis de variancia para plantas muertas, altura de plantas, longitud de raíces y peso de plantas usando dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en cebolla en tratamiento con humus de lombriz.

1. Variable Plantas muertas

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	5.34	1.068	55.75	0.0000
rep	4	0.22	0.054	2.84	0.0517
Error	20	0.38	0.019		
Total	29	5.94			
Coefficient of Variation=		18.09%			

2. Variable Altura de planta

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	5707.77	1141.553	201.18	0.0000
rep	4	24.22	6.054	1.07	0.3987
Error	20	113.48	5.674		
Total	29	5845.47			
Coefficient of Variation=		10.30%			

3. Variable Longitud de raíces

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	779027.32	155805.464	895.13	0.0000
rep	4	1053.27	263.318	1.51	0.2363
Error	20	3481.18	174.059		
Total	29	783561.76			
Coefficient of Variation=		7.59%			

4. Variable Peso de Planta:

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	6758.17	1351.635	680.04	0.0000
rep	4	32.23	8.057	4.05	0.0145
Error	20	39.75	1.988		
Total	29	6830.15			
Coefficient of Variation=		4.90%			

5. Variable grados de severidad

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob
trat	5	48.94	9.788	116.30	0.0000
rep	4	0.62	0.154	1.83	0.1623
Error	20	1.68	0.084		
Total	29	51.24			
Coefficient of Variation=		9.62%			

Anexo 7. Análisis de variancia combinado para plantas muertas usando dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en cebolla en tratamiento con cuatro enmiendas orgánicas.

A N A L Y S I S O F V A R I A N C E T A B L E

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
1	Replication	4	0.128	0.032	0.8119	
2	Factor A	3	1.518	0.506	12.8700	0.0000
4	Factor B	5	19.077	3.815	97.0360	0.0000
6	AB	15	4.184	0.279	7.0942	0.0000
-7	Error	92	3.617	0.039		
Total		119	28.525			

Coefficient of Variation: 25.87%

Anexo 8. Análisis de variancia combinado para Altura de planta usando dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en cebolla en tratamiento con cuatro enmiendas orgánicas en cebolla.

A N A L Y S I S O F V A R I A N C E T A B L E

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	1927.858	642.619	46.1952	0.0000
4	Factor B	5	14016.667	2803.333	201.5198	0.0000
6	AB	15	1487.023	99.135	7.1264	0.0000
-7	Error	96	1335.452	13.911		
Total		119	18767.000			

Coefficient of Variation: 20.46%

Anexo 9. Análisis de variancia combinado para Longitud de raíces usando dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en cebolla en tratamiento con cuatro enmiendas orgánicas.

A N A L Y S I S O F V A R I A N C E T A B L E

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	181379.574	60459.858	220.6215	0.0000
4	Factor B	5	1106042.633	221208.527	807.2027	0.0000
6	AB	15	276492.555	18432.837	67.2625	0.0000
-7	Error	96	26308.162	274.043		
Total		119	1590222.924			

Coefficient of Variation: 13.27%

Anexo 10. Análisis de variancia combinado para Peso de planta usando dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en tratamientos cuatro enmiendas orgánicas en cebolla.

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE						
K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	2396.061	798.687	104.0584	0.0000
4	Factor B	5	14183.333	2836.667	369.5802	0.0000
6	AB	15	1473.622	98.241	12.7996	0.0000
-7	Error	96	736.836	7.675		
Total		119	18789.852			

Coefficient of Variation: 13.03%

Anexo 11. Análisis de variancia combinado para Grados de severidad de ataque usando dos métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en tratamiento con cuatro enmiendas orgánicas en cebolla.

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE						
K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	3	3.098	1.033	4.2903	0.0069
4	Factor B	5	196.857	39.371	163.5817	0.0000
6	AB	15	8.413	0.561	2.3303	0.0070
-7	Error	96	23.106	0.241		
Total		119	231.473			

Coefficient of Variation: 15.23%

Anexo 12. Número de plantas muertas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* de 22 cultivares de cebolla bajo condiciones de invernadero

Nro	Cultivares	0	12	19	26	33	
1	Hybrid Onion Rojo	0	0	6	7	10	83.3333333
2	XPH6700	0	0	1	2	4	33.3333333
3	Columbia 15179	0	0	7	9	10	83.3333333
4	Atena	0	0	1	2	2	16.6666667
5	Hibrid xph 6712	0	0	6	8	9	75
6	AG 33	0	0	2	3	6	50
7	Red Fano	0	0	6	8	8	66.6666667
8	Granex 33	0	0	4	6	7	58.3333333
9	Roja Arequipena	0	0	5	5	7	58.3333333
10	Granex 435	0	0	11	12	12	100
11	Red Bone	0	2	6	10	12	100
12	RG-ER 074	0	3	12	12	12	100
13	Mercedes	0	3	10	11	12	100
14	RCR 1919	0	3	12	12	12	100
15	TG438	0	0	3	4	6	50
16	Mr. Max	0	7	9	12	12	100
17	PSR 1190	0	2	12	12	12	100
18	Sweet Dixie	0	6	12	12	12	100
19	Rio Enrique	0	3	12	12	12	100
20	Linda Vista	0	3	11	11	12	100
21	Lara	0	3	12	12	12	100
22	Sweet Sunrise	0	0	3	8	12	100

Anexo 13. Grados de severidad de la pudrición de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* en 22 cultivares de cebolla bajo condiciones de invernadero.

Nro	cultivar	1	2	3	4	5	Promedio
1	Hybrid Onion Rojo	0	1	1	0	10	4.58
2	XPH6700	0	3	3	2	4	3.58
3	Columbia 15179	0	0	1	1	10	4.75
4	Atena	5	3	2	0	2	2.25
5	Hibrid xph 6712	0	1	2	0	9	4.42
6	AG 33	0	0	3	3	6	4.25
7	Red Fano	0	1	2	1	8	4.33
8	Granex 33	0	3	2	0	7	3.92
9	Roja Arequipaña	0	2	2	1	7	4.08
10	Granex 435	0	0	0	0	12	5.00
11	Red Bone	0	0	0	0	12	5.00
12	RG-ER 074	0	0	0	0	12	5.00
13	Mercedes	0	0	0	0	12	5.00
14	RCR 1919	0	0	0	0	12	5.00
15	TG438	3	4	1	0	4	2.83
16	Mr. Max	0	0	0	0	12	5.00
17	PSR 1190	0	0	0	0	12	5.00
18	Sweet Dixie	0	0	0	0	12	5.00
19	Rio Enrique	0	0	0	0	12	5.00
20	Linda Vista	0	0	0	0	12	5.00
21	Lara	0	0	0	0	12	5.00
22	Sweet Sunrise	0	0	0	0	12	5.00