



Camino a 60 cuabras Km 5 1/2 | X5020ICA - Córdoba - Argentina
Contacto: aafitopatologos@yahoo.com.ar; - <http://aafitopatologos.com.ar>

PATOLOGÍA DE SEMILLAS DE CEBOLLA (*Allium cepa* L.) EN LA REGIÓN DE CUYO, ARGENTINA

Valdez, J.G.; Caligiore Gei, P.F. (Capítulo Cuyo)

INTA EEA La Consulta, Ex Ruta 40 km 96.5 (5567) La Consulta, San Carlos, Mendoza.

Contacto: valdez.jorge@inta.gob.ar

Resumen

En las provincias de San Juan y Mendoza, Argentina, se producen semillas de cebolla en una superficie aproximada a 1000 hectáreas. Varios patógenos que producen enfermedades en cebolla pueden transportarse/transmitirse por semillas. El estudio de los análisis de sanidad de semillas y resultados de ensayos llevados a cabo por el Laboratorio de Análisis de Semilla José Crnko, INTA EEA La Consulta (Mendoza), en el periodo 1980 hasta el presente constituye un aporte al conocimiento y permite comprender la patología del cultivo de cebolla. Entre las enfermedades detectadas se mencionan la podredumbre basal causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* (Foc) y la podredumbre blanda causada por *F. proliferatum* (Fp). Ambas especies presentan algunas diferencias en su prevalencia y transmisión; además el inóculo de Fp se encuentra principalmente en semillas, mientras que Foc aparece predominantemente asociado a la pudrición de los bulbos. Otra especie patogénica encontrada en semillas es *Botrytis allii*, que puede presentarse esporádicamente y afectar el cultivo si se dan las condiciones predisponentes, atacando especialmente variedades de cebollas blancas. Por otro lado, *Penicillium allii*, *Penicillium* spp. y *Stemphylium vesicarium* han sido detectados en análisis de sanidad de semillas en cámara húmeda; estos patógenos pueden producir infecciones durante el cultivo, aunque no representan un problema serio. En el caso de *Alternaria porri*, patógeno importante, no ha sido detectado en semillas de cebolla.

Introducción

La producción de semillas de cebolla (*Allium cepa* L.) es una actividad que se desarrolla principalmente en las provincias de Mendoza y San Juan, abarcando una superficie total aproximada de 1000 hectáreas. Anualmente, la demanda de semilla para el cultivo de bulbos de cebolla en Argentina asciende a unas 125 t, de las cuales aproximadamente el 10% es cubierta por

semillas importadas (Gaviola, 2003). El resto es abastecido por la producción de unas 210 ha en San Juan y 140 ha en Mendoza. Con un rendimiento promedio de 600 a 1.300 kg/ha de semillas de polinización abierta (Acosta *et al.*, 1993), ambas provincias satisfacen la demanda nacional. Por otra parte, la superficie destinada a semilla para exportación asciende a aproximadamente a 540 ha en San Juan y 80 ha en Mendoza. En San Juan se involucran unos 150

productores (Tiempo de San Juan, 2017), mientras que en Mendoza se estiman entre 60 y 80.

La producción de semilla de cebolla en general, se lleva a cabo mediante dos métodos. El primero, llamado *semilla-semilla*, se basa en una siembra en el periodo estival para que las plantas alcancen un desarrollo suficiente a la llegada del invierno y se produzca la vernalización, necesaria para florecer. Una vez alcanzado ese requerimiento de horas frío, en el mismo ciclo, se emite el escapo y la planta florece, sin bulbificar o produciendo bulbos pequeños. El otro método, denominado *semilla-bulbo-semilla*, consiste en obtener los bulbos, almacenarlos durante unos meses, seleccionarlos y plantarlos antes de la entrada del invierno. Estos bulbos entonces alcanzan la vernalización y florecen en la primavera siguiente. Durante el cultivo, la cebolla está expuesta a diferentes patógenos de acuerdo con la zona de producción y las condiciones climáticas. Entre las enfermedades foliares de origen fúngico se citan el mildiu (*Peronospora destructor*), la mancha blanca (*Cladosporium allii-cepae*^{1*}) y el tizón foliar (*Botrytis squamosa*, *Stemphylium vesicarium**). Esta última enfermedad, si bien está citada en Mendoza es poco importante en la zona productora de bulbos (Delhey *et al.*, 2015; Gatica & Oriolani, 1997). En general, estas enfermedades no son de gran importancia en Cuyo, excepto en algunas temporadas en las cuales se presentan condiciones predisponentes. Se menciona además la mancha púrpura (*Alternaria porri**), la oidiopsis (*Leveillula taurica*), el carbón (*Urocystis magica**) y la antracnosis (*Colletotrichum circinans*). La mancha púrpura no es importante en la zona de Cuyo porque son necesarias más de 8 h de humedad en hoja a 15-25 °C. La oidiopsis no presenta relevancia en Argentina, mientras que el carbón no ha sido identificado hasta el momento. La antracnosis es muy importante en Brasil y si bien está presente en la provincia de Corrientes, no ha sido registrada en las principales zonas de producción de cebolla en Argentina (Delhey *et al.*, 2015).

Por otra parte, las enfermedades provocadas por hongos habitantes del suelo suelen ser más

importantes que las foliares. Entre ellas se mencionan la podredumbre basal (*Fusarium oxysporum f. sp. cepae**), la podredumbre blanda (*F. proliferatum**), la raíz rosada (*Setophoma terrestris*), la pudrición del cuello (*Botrytis allii**) y la podredumbre blanca (*Stromatinia cepivora*) (Delhey *et al.*, 2015; R. B. Maude, 2006; Richardson, 1990; Welbaum, 2005). El moho azul, causado por *Penicillium* spp., puede ser importante en situaciones de secado deficiente en cámara con bulbos heridos. Hay varias especies involucradas, siendo *P. albocoremium*, *P. allii* y *P. hirsutum* los principales patógenos, tanto en cebollas amarillas como rojas (Overy *et al.*, 2005). También se presentan podredumbres bacterianas del bulbo en poscosecha, especialmente en años lluviosos. Los síntomas comienzan a observarse al final del ciclo y se hacen evidentes en la etapa de almacenamiento. En general, no se asocian los síntomas con una bacteria en particular, y deben hacerse análisis específicos para determinar el agente etiológico (Delhey *et al.*, 2015; Mark *et al.*, 2002). Es posible consultar manuales y revisiones sobre estas enfermedades a nivel mundial (Maude, 2006; Schwartz & Mohan, 2008; Vinay Kumar *et al.*, 2015) o local (Delhey *et al.*, 2015; Gatica & Oriolani, 1997; Kiehr & Delhey, 2007). De todas las enfermedades nombradas, para el método *semilla-bulbo-semilla*, la principal es la pudrición del bulbo causada por especies de *Fusarium*, que además son transmitidas por semilla.

Dado que la mayor cantidad de semilla producida tiene por destino la exportación, toma importancia la realización de certificaciones fitosanitarias. Para ello, se debe tener en cuenta el estado fitosanitario de la plaga en el país productor y los requisitos del país importador. Entre los patógenos que deben certificarse como ausentes en lotes de semillas destinados a Brasil, Chile, EEUU y la Unión Europea se encuentran los siguientes, que hasta el presente tienen estado fitosanitario ausente en Argentina: Bacterias: *Erwinia rhapontici* (ex *Pectobacterium rhapontici*); Fungi: *Ciborinia allii* (Ex *Botrytis byssoidea*; Ex *Botryotinia allii*); Chromista: *Phytophthora vexans*

¹ En todo el documento se indica con un asterisco (*) aquellas especies patógenas transportadas por semilla.

(ex *Pythium vexans*) y Virus: *Iris yellow spot virus* (IYSV). La mayoría de los patógenos se determinan por análisis en laboratorios acreditados por SENASA, y otros son determinados en inspecciones a campo.

Dada la importancia de la producción de semillas hortícolas en general, y de semillas de cebolla en particular, el INTA EEA La Consulta está involucrado en la certificación de la calidad y sanidad de las semillas desde hace más de 40 años a través de las actividades desarrolladas en el laboratorio de análisis de semillas “Ing. José Crnko” (LJC).

Selección del método de análisis de semillas para patógenos

La elección del método correcto implica conocer previamente la localización del patógeno y el tipo de inóculo. La localización puede ser en, sobre o junto a la semilla. Por ejemplo, los esclerocios de *Stromatinia cepivora* no se transmiten por semillas sino por bulbos, razón por la cual esta enfermedad no constituye un problema serio en la zona del sur de la provincia de Buenos Aires (Delhey *et al.*, 2015), donde el sistema de producción más difundido es por siembra directa de semillas, pero constituye un riesgo en la producción de semillas al afectar los bulbos en producción.

Principales métodos de detección de patógenos en semillas de cebolla

Para virus

En Argentina se encuentra presente el *Onion yellow dwarf virus* (OYDV), agente causal del enanismo amarillo de la cebolla (Conci *et al.*, 1992; SINAVIMO, 2022). Si bien la transmisión del virus por semilla es posible (Härdtl, 1972), su persistencia es dudosa (Manglli *et al.*, 2020; Smith *et al.*, 1991). En la temporada 2021, 23 lotes de semillas producidos en San Juan y analizados en el INTA IPAVE (Córdoba), fueron negativas (Santarelli, com. pers.). La detección de rutina de este virus se realiza por técnicas serológicas; además se puede usar RT-PCR y qPCR (Lunello *et al.*, 2004).

Para bacterias

Hasta el presente no hay protocolos de detección para bacterias presentes en semillas de cebolla citados en el capítulo 7 de las reglas ISTA (2022c), o entre los protocolos de la Federación Internacional de Semillas (ISF, 2022). En general, se realiza una preselección usando de blanco secuencias específicas de los patógenos con detección por qPCR directamente de un extracto de semillas; o de colonias desarrollando en medios selectivos o semiselectivos (ISHI, 2019; ISTA, 2022a). Este tipo de análisis indirecto se realiza en laboratorios que procesan una gran cantidad de muestras cuyos procedimientos están parcialmente robotizados. En laboratorios sin esta tecnología, o con un número mínimo o esporádico de muestras, se tiende a la identificación por métodos directos y eventualmente amplificación específica por PCR de tiempo final para confirmación. Los métodos directos consisten en la obtención de una suspensión, generalmente en medio PBS (buffer fosfato salino), siembra de diluciones seriadas en medios selectivos o semiselectivos e incubación a temperatura y tiempo adecuado (Tabla1). Se debe disponer de una cepa patógena como control positivo, para comparación con las colonias sospechosas observadas. Éstas son transferidas a un medio específico y si hay coincidencia con el fenotipo buscado, se realiza una prueba de patogenicidad o de hipersensibilidad (ISTA, 2022b). Usualmente esta prueba se realiza con plantas de tabaco de los cultivares Hicks, Xanthi, Samsun u otros. En ciertos laboratorios se obtienen las colonias y se hacen las pruebas sobre las plantas de tabaco, previo a la marcha de identificación bacteriana, como una manera de descartar los aislados no patógenos. En cada hoja de tabaco es posible realizar tres o más reacciones. Se puede también inocular directamente el extracto obtenido de las semillas. Sin embargo, ciertas combinaciones de saprófitos pueden generar una respuesta de hipersensibilidad similar a la causada por especies patógenas (Schaad, 1989).

Tabla 1. Bacterias citadas como patógenas en cebolla, medios de cultivo y recomendaciones para su aislamiento.

Clase	Orden	Familia	Especie	Selectivo /Semiselectivo	Incubación	Referencia
Betaproteobacteria	Burkholderia	Burkholderiales	<i>Burkholderia cepacia*</i>	TB-T / PCAT, OEM	29 °C, 4d	(Yáñez <i>et al.</i> , 2003; Zaid <i>et al.</i> , 2012)
Gammaproteobacteria	Enterobacter	Enterobacteriales	<i>Enterobacter cloacae</i>	OEM	28 °C, 1d	(Zaid <i>et al.</i> , 2012)
Enterobacteriales	Klebsiella	Enterobacteriaceae	<i>Klebsiella oxytoca</i>	BIND	30 °C, 40 h	(Ohtomo & Saito, 2003)
Gammaproteobacteria	Erwinia	Enterobacteriales	<i>Erwinia rhapontici</i> (ex <i>Pectobacterium rhapontici</i>)	NA (Nutrient Agar) KB / NAS	27 °C, 2-5d	(Hsieh <i>et al.</i> , 2010)
Erwiniaceae	Pantoea	Erwiniaceae	<i>Pantoea ananatis*</i> (ex <i>Erwinia ananatis</i>)	NA (Nutrient Agar) PA-20, OEM	25 °C, 7d	(Rodríguez & Contreras, 2006; Zaid <i>et al.</i> , 2012)
Gammaproteobacteria	Pectobacterium	Enterobacteriales	<i>Pectobacterium carotovorum*</i>	OEM	28 °C, 1d	(Yáñez <i>et al.</i> , 2003; Zaid <i>et al.</i> , 2012)
Yersiniaceae	Rahnella	Yersiniaceae	<i>Rahnella aquatilis</i>	NSCAA, BSCAA, FS	30° C, 3d	(Berg <i>et al.</i> , 2005)
Gammaproteobacteria	Serratia	Lysobacterales	<i>Serratia marcescens*</i>	NA (Nutrient Agar), YDC, MD, KMB	28 °C, 2d	(Yáñez <i>et al.</i> , 2003)
Lysobactereaceae	Xanthomonas	Lysobactereaceae	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i> pv. <i>allii*</i> (ex <i>X. axonopodis</i> pv. <i>allii</i> ; ex <i>X. campestris</i> pv. <i>allii</i>)	NCTM1 / YPGA	28 °C, 4d	(P. Roumagnac <i>et al.</i> , 2004; Rodríguez & Contreras, 2006; Zaid <i>et al.</i> , 2012)
Pseudomonadales	Pseudomonas	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Modified KB medium	28 °C, 2d	(Saettler <i>et al.</i> , 1989)

* Bacterias que se pueden encontrar en semillas

Para hongos

Existen tres metodologías ampliamente usadas para la identificación de hongos transportados por semillas de cebolla.

a. Medio de cultivo agarizado

Las semillas de cebolla se siembran sin desinfección. Se utilizan cajas de Petri de 9 cm, conteniendo medios adecuados según los patógenos buscados. Luego de esterilizar en autoclave, se agregan 300 mg/L de sulfato de estreptomycin (Mathur & Kongsdal, 2003). Se colocan nueve semillas a 1 cm del borde de la caja

de Petri y una en el centro (10 semillas). Se deben incubar a 20-22 °C durante 7 días con un fotoperiodo de 12 h. En aquellas especies con protocolo estandarizado, ISTA sugiere analizar 400 semillas como mínimo. En cebolla, este procedimiento se utiliza para *Aspergillus*, *Botrytis* y *Fusarium*. Para *Aspergillus niger* se utiliza Agar Papa Dextrosa (PDA), para *Botrytis* sp. se puede utilizar PDA, BCS (Selectivo de *Botrytis cinerea*) (Mathur & Kongsdal, 2003) o el medio de Kritzman & Netzer (1978), mientras que para *Fusarium* se utiliza PDA o Agar Extracto de Malta.

b. Cámara húmeda (*blotter test*)

Las semillas se ubican sobre papel de filtro humedecido e incubadas normalmente por 7 d a 22 °C bajo ciclos alternantes de 12 h de luz y oscuridad. Para cebolla se recomiendan 25 semillas por caja, una en el centro, nueve en el anillo medio y quince en el anillo externo. Se deben ubicar a 1 cm del borde de la caja de Petri para facilitar la lectura con microscopio estereoscópico. Una vez desarrolladas las colonias, se pueden extraer muestras, hacer un montaje rápido y observar al microscopio óptico. Una desventaja de este método es que las semillas viables germinan durante la incubación, pudiendo ejercer presión sobre las tapas de las cajas, elevarlas y producir el secado del papel. Asimismo, muchos patógenos portados no alcanzan a esporular, debido a la resistencia generada por las plántulas.

c. Método del congelado profundo (*deep frozen method*)

Se siembran 25 semillas por caja y se incuban por tres días; al cuarto día se colocan a -20 °C durante 8 h. Mejores resultados se obtuvieron con congelación a -20 °C por 24 h. Posteriormente al tratamiento con frío, las cajas se incuban en cámara a 22 °C, con fotoperiodo de 12 h durante 6 d. El test tarda tres días más que la cámara húmeda convencional, pero los patógenos se desarrollan mejor dado que utilizan el germen muerto por congelación como sustrato. Todos los hongos patógenos de cebolla se pueden identificar con esta metodología. Algunos lotes

pueden presentar un olor fétido, indicador del desarrollo de bacterias.

Análisis de identificación de patógenos en semillas de cebolla realizados por el LJC, periodo 1978-1986 y 2005-2018

Para el periodo 1978-1986, se consultaron los boletines de análisis de rutina del Laboratorio LJC realizados por la Ing. María A. Makuch. La metodología usada correspondió a cámara húmeda, con análisis realizados en 400 semillas por muestra. Para el segundo período, se tomaron los datos obtenidos en distintos trabajos de investigación realizados entre 2005-2018 usando el método de congelación profunda, donde se analizaron 200 semillas por muestra

Botrytis allii.

Los resultados del primer periodo, sobre 114 muestras de San Juan y Mendoza, indicaron un 6,1 % de muestras infectadas por *Botrytis* spp. con una incidencia de 0,03% (Tabla 2). Posteriormente, sobre 127 muestras durante las temporadas 2014-2015 (7 muestras), 2015-2016 (60 muestras) y 2017-2018 (60 muestras), se encontraron 11 muestras positivas (8,7%) con un nivel de infección del 0,11 % (Valdez *et al.*, 2019). En esta segunda fase todas las semillas con colonias sospechosas se repicaron al medio de Kritzman & Netzer (1978) para confirmar la presencia de *Botrytis* (Figura 1).

Tabla 2. Registro histórico de análisis de semillas realizado en el LJC (INTA EEA La Consulta), durante el periodo 1978-1986.

Año	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	Total
Muestras analizadas	16	12	25	41	4	1	4	8	3	114
Semillas examinadas	6400	4800	10000	16400	1600	400	1600	3200	1200	45600
Muestras Positivas <i>Botrytis</i>	2	0	0	3	1	0	0	1	0	7
Semillas infectadas	6	0	0	4	1	0	0	4	0	15
Muestras Positivas <i>Fusarium</i>	11	5	9	23	3	0	1	1	2	55
Semillas infectadas	195	64	121	248	9	0	10	3	7	657
Muestras Positivas <i>Stemphylium</i>	10	12	21	36	1	1	3	8	3	95
Semillas infectadas	567	248	282	873	1	1	143	233	33	2381
										5,22%

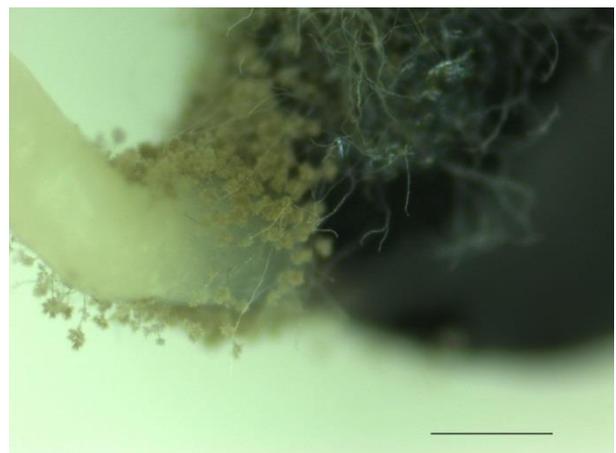


Figura 1. Izq. Colonias de *Botrytis* spp. en el medio de Kritzman & Netzer (1978). Der. Fructificación sobre semilla de cebolla (la barra negra equivale a 0.5 mm)

Posteriormente, los patógenos se identificaron por PCR-RFLP, usando el método propuesto por Nielsen *et al.* (2002); la nucleasa XapI (ApoI) fue usada para digerir el amplicón obtenido y todas las cepas coincidieron con el perfil de *Botrytis allii* Munn. De acuerdo a estos resultados, el nivel de infección de *Botrytis* en semillas producidas en San Juan y Mendoza es bajo, comparado a semillas producidas en otros países. Por ejemplo, lotes producidos en Holanda presentaron una prevalencia del 39,5 al 71,4 %, con incidencias superiores a 30 % en más del 22 % de los lotes, y el 11 % de los casos con una incidencia superior al

60% (Maude & Presly, 1977). En Nueva Zelanda, 65% de los lotes de semillas resultaron contaminados, con niveles de infección entre 0,5 y 31,5 % (Stewart & Franicevic, 1994). La región de Cuyo en general es restrictiva para la infección por *Botrytis*, no obstante, hay ataques ocasionales en zonas húmedas del departamento de Tunuyán, Mendoza. Algunos cultivos presentan ataques de podredumbre del cuello en floración, lo cual genera importantes pérdidas de producción, por ejemplo la región con mayor frecuencia (17,9% de las muestras) y mayor nivel de infección (0,286%) es el Valle de Uco (Tabla 3). En San Juan, también

se producen infecciones, predominantemente en cultivares blancos. Por otra parte, durante las mañanas primaverales, las umbelas suelen presentar agua libre, lo cual presenta las condiciones predisponentes para la infección. Los cultivos se protegen con aplicaciones preventivas de carbendazim en el inicio del cultivo, o curativas

con productos específicos para el patógeno (Caselles C., Pugliese G., Yaciofano G. y Sánchez M., com. pers.). En algunos cultivos muy atacados por *Botrytis* se puede quebrar el escape floral y la umbela detiene el desarrollo.

Tabla 3. Identificación de *Botrytis allii* en 127 muestras de semillas de cebollas según el área de producción. Periodo 2016-2018.

Lugar	Muestras analizadas	Muestras positivas <i>Botrytis</i>	Semillas infectadas	Nivel de infección (%)	Sup.en producción (ha)
San Juan, Norte	1	0	0	0,0	23
San Juan, Oeste	8	0	0	0,0	47
San Juan, Valle del Tulúm	71	4 (5,63%)	11	0,078	400
Mendoza, Noreste	6	2 (33,3%)	2	0,167	33
Mendoza, Luján de Cuyo	13	0	0	0,0	99
Mendoza, Valle de Uco	28	5 (17,86%)	16	0,286	88
Total	127	11 (8,66%)	29	0,114	690

** Método de análisis: cámara húmeda con congelado profundo y confirmación en medio Kritzman.

Fusarium oxysporum f.sp. *cepae* (Foc)* y *F. proliferatum** (Fp)

El 48,3 % de las muestras analizadas entre los años 1978-1986 (Tabla 2) presentó contaminación con *Fusarium* spp., con un nivel de infección del 1,44%. Mathur & Kongsdal (2003) reportaron que el método del congelado profundo puede producir un crecimiento profuso de saprófitos y por ello podría ser necesaria una desinfección

superficial como se indicó para el método con medios agarizados. Entre 2005-2018 (Tabla 4) se determinó una frecuencia de 95,9% de muestras de semillas infectadas (Figura 2, Izq.), con una incidencia del 19,3%. A partir de 60 muestras incluidas en la tanda, se obtuvo un total de 134 aislados de *Fusarium* spp., los cuales fueron evaluados por su patogenicidad y parcialmente identificados (Valdez *et al.*, 2011).

Tabla 4. Determinación de *Fusarium* spp. en muestras de semillas de cebolla.

Año	Muestras analizadas	Semillas examinadas	Muestras Positivas <i>Fusarium</i>	Muestras infectadas (%)	Semillas infectadas	Nivel de infección (%)
2005	6	2400	5	83.3	103	4.29
2006	53	21200	49	92.5	1484	7.00
2009	1	400	1	100.0	8	2.00
2011	1	200	1	100.0	15	7.50
2013	23	4600	19	82.6	1007	21.89
2014	30	6000	30	100.0	2540	42.33
2015	2	250	2	100.0	49	19.60
2016	58	7250	58	100.0	2853	39.35
2017	5	1000	5	100.0	81	8.10
2018	64	12800	63	98.4	2669	20.85
10 años	243	56100	233	95.9	10809	19.27

Método de análisis: cámara húmeda con congelado profundo.

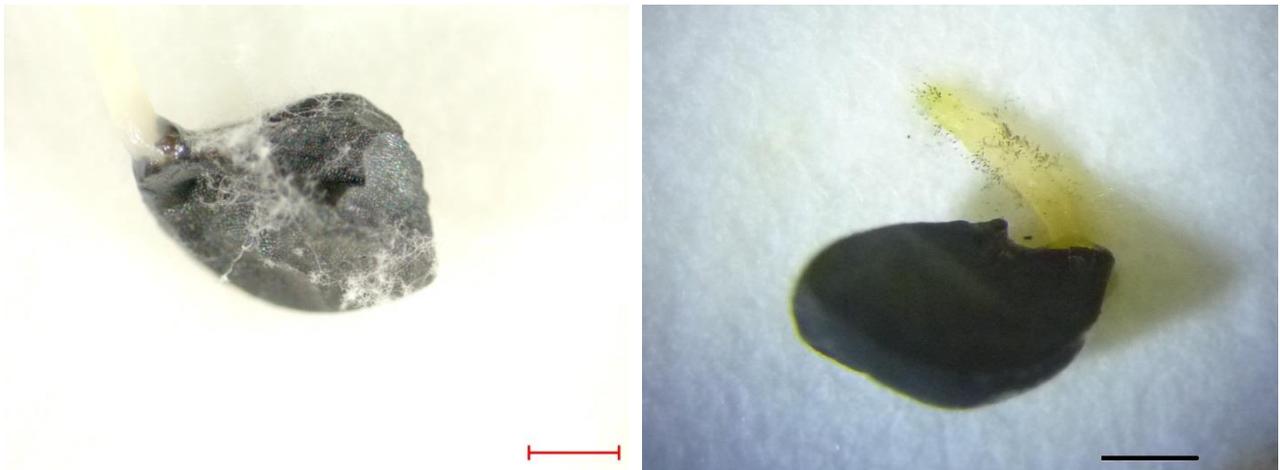


Figura 2. Izq. Semilla de cebolla colonizada por *Fusarium* spp (la barra roja equivale a 1 mm). Der. *Stemphylium* spp. en semilla de cebolla (la barra negra equivale a 1 mm).

Tabla 5. Aislados de *Fusarium* spp. obtenidos de bulbos y lotes de semillas, discriminados según clase patogénica.

Origen	Especie	CP 0	CP 1	CP 2	CP 3	CP 4	CP 5	Total
Bulbos	Foc	4	6	8	7	5	1	31
	Fp	0	0	1	3	2	2	8
	FS	1	2	0		0	1	4
	FV	0	0	1	0	1	1	3
	Fspp	3	3	1	2	1	0	10
Subtotal		8	11	11	12	9	5	56
Semillas	Foc	0	0	1	0	1	0	2
	Fp	2	4	2	26	23	2	59
	FV	1	0	0	0	0	0	1
	Fspp	21	28	19	3	0	1	72
Subtotal		24	32	22	29	24	3	134

Foc: *F. oxysporum* f. sp. *cepae*; Fp: *F. proliferatum*; FS: *F. solani*; FV: *F. verticilloides*. CP: Clase Patogénica. PC 5, >85 % plántulas muertas (PM); PC 4, >70 % PM; PC 3, > 55 % PM; PC 2, > 40 % PM; PC 1, > 25 % PM; PC 0, entre 0 y 25% PM. No patogénica. Las clases patogénicas se determinaron en Valdez *et al.* (2007) y la agresividad de las cepas portadas en semillas en Valdez *et al.* (2011).

En un ensayo donde se inocularon bulbos con cada una de estas especies por separado y que se dejaron florecer para producción de semilla, se observó que con presencia de Foc en suelo, la carga de Fp aumentaba de manera significativa en las semillas cosechadas. Por otra parte, cuando el patógeno inoculado en el suelo era Fp, su presencia en las semillas producidas fue equivalente al control sin inocular. Estos hallazgos fueron comparados en dos temporadas continuas con resultados similares (Valdez & Caligiore Gei, 2013). En resumen, si bien ambas especies pueden ser transportadas por semillas, el rol y el momento del ataque de cada especie aparentemente es distinto (Delhey *et al.*, 2015). En el suelo, el patógeno que se instala y afecta la etapa de cultivo y continúa en poscosecha es Foc. Esta especie produce clamidosporas (estructuras de resistencia), a diferencia de Fp, aunque el efecto de este último como el principal patógeno de semillas no puede ignorarse. Al respecto, se han determinado cepas de Fp altamente patogénicas que pueden encontrarse en semillas. Sin embargo, la gran proporción de cepas sin potencial patogénico podría explicarse por el efecto benéfico asignado a cepas endófitas del género *Fusarium* (Grabka *et al.*, 2022; Pappas *et al.*, 2018). Por otro lado, la presencia de estas cepas de bajo potencial patogénico incrementaría la frecuencia de muestras infectadas cuando se utiliza el método de cámara húmeda con congelamiento, a diferencia de la cámara húmeda tradicional, donde las plántulas germinadas ejercen control activo sobre los organismos saprófitos.

Stemphylium vesicarium y *Alternaria porri*

S. vesicarium (Figura 2, Der.) es detectable preferentemente por cámara húmeda y aparece muy poco en el método del congelamiento profundo, probablemente ocultado por saprófitos. A partir de las identificaciones realizadas por la Ing. Makuch (Tabla 2) se determinó una frecuencia de lotes infectados del 48,3% y un nivel de infección general del 5,22%. Neergaard (1977) indicó que este patógeno es particularmente común en semillas de cebolla. *Alternaria porri* no fue detectada por Makuch en muestras de semillas (Tabla 2) ni tampoco

apareció en muestras analizadas entre 2005-2018. La enfermedad no se determina a campo.

Penicillium spp.

Cuando está presente en semillas de cebolla se asocia con hongos saprófitos. En 2018, se tomaron 72 muestras de semillas producidas en la zona de donde se aislaron colonias de *Penicillium* spp. Se determinó el perfil de metabolitos secundarios en cromatografía en placa delgada (Fontana *et al.*, 2019; Overy *et al.*, 2005; Smedsgaard, 1997), y con estos datos se realizaron agrupamientos (Fontana, 2020). Cepas selectas de cada grupo se identificaron molecularmente por análisis multiloci. Se determinó la presencia de once especies de *Penicillium* en semillas de cebolla, seis de las cuales resultaron patógenas, entre ellas *P. allii*, el patógeno de ajo. No se encontraron cepas de los *Penicillia* patógenos *P. albocoremium* ni *P. hirsutum* en cebollas afectadas, ni en muestras de semillas. Una de las especies encontradas no ha sido reportada en Argentina. El trabajo se encuentra en redacción para publicación formal (Fontana, 2020).

Conclusiones

Los aspectos sanitarios deben ser tenidos en cuenta al momento de planificar un proyecto de producción de semillas de cebolla. Como medida general, es recomendable controlar los bulbos producidos en otras regiones, para evitar pudriciones, tanto bacterianas como fúngicas, así como prevenir la introducción de inóculo en sitios libres de patógenos. Asimismo, durante el cultivo, conviene prestar atención a las enfermedades foliares. Particularmente, si se realizan en zonas no apropiadas o conductivas para ciertos patógenos, se debe tener especial cuidado con *Botrytis*. En el caso de *Stemphylium vesicarium* es importante su control, dado que el inóculo es transportado por las semillas y *Alternaria porri* no ha sido observada en la región. De todos los patógenos descritos en semillas, el más peligroso es *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*, dado que pudre los bulbos en poscosecha, y puede comprometer futuros ciclos de producción. En cultivos, indudablemente el patógeno de mayor peligrosidad es *Stromatinia cepivora*, que puede transportarse en bulbos de cualquier aliícea.

Referencias Bibliográficas

- Acosta, A., Gaviola, J.C. y C.Galmarini 1993. Producción de semilla de cebolla. En: Manual de Producción de Semillas Hortícolas, (Vol. 3). INTA La Consulta, J. Crnko Ed. 83 p.
- Berg, T., Tesoriero, L. and D.L. Hailstones 2005. PCR-based detection of *Xanthomonas campestris* pathovars in *Brassica* seed. *Plant Pathology*, 54(3), 416-427.
- Conci, V.C., Nome, S.F. and R.G. Milne 1992. Filamentous viruses of Garlic in Argentina. *Plant Disease*, 76, 594-596.
- Delhey, R., Kiehr, M., Azpilicueta, A. y S. Frayssinet 2015. Diagnóstico y manejo de enfermedades de cebolla. 1ª Ed. 80 p.
- Fontana, L.I. 2020. Aislamiento, identificación y patogenicidad de *Penicillium* spp portado en semillas de cebolla [Tesis]. FCEQyN. Universidad Nacional de Misiones. 77 p
- Fontana, L.I., Tarnowski, C.G. y J.G.Valdez2019. Utilización de cromatografía en placa delgada para la identificación de *Penicillium* en cebolla (*Allium cepa*). En Camadro, E. (Ed), p.140). ALAG. <https://doi.org/Doi:10.35407/bag.2019.XXX.01.suppl.16>
- Gatica, M. y E. Oriolani1997. Enfermedades. En Galmarini C. (Ed.), Manual del cultivo de la cebolla (Vol. 16, pp. 76-82). INTA, CR Cuyo.
- Gaviola, J. 2003. Producción de semillas hortícolas en la Argentina. *IDIA XXI, III* (4), 19-24.
- Grabka, R., d'Entremont, T., Adams, S. J., Walker, A. K., Tanney, J. B., Abbasi, P. A. y S. Ali2022. Fungal Endophytes and Their Role in Agricultural Plant Protection against Pests and Pathogens. *Plants*, 11(3), 384.
- Härdtl, H. 1972. Die übertragung der Zwiebelgelbstreifigkeit durch den Samen [Seed transmission of OYDV]. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 694-701.
- Hsieh, T.-F., Huang, H.-C. y R.S. Erickson2010. Spread of seed-borne *Erwinia rhapontici* in bean, pea and wheat. *European Journal of Plant Pathology*, 127(4), 579-584. <https://doi.org/10.1007/s10658-010-9622-0>
- ISF 2022. *ISHI Methods – International Seed Federation*. <https://worldseed.org/our-work/seed-health/ishi-methods/>
- ISHI 2019. Detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* and pv. *phaseoli* var. *fuscans* in Bean Seed. https://worldseed.org/wp-content/uploads/2019/11/Bean_Xap_October_2019.pdf
- ISTA 2022a. 7-019a: Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and *Xanthomonas campestris* pv. *raphani* in *Brassica* spp. Seed. En *International Rules for Seed Testing* (p. 20).
- ISTA 2022b. 7-019b: Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in disinfested/disinfected *Brassica* spp. Seed. En *International Rules for Seed Testing* (p. 10).
- ISTA2022c. *International Rules for Seed Testing: Vol. Volume 2022. International Seed Testing Association*.
- Kiehr, M. y R. Del2007. Estrategias para el manejo de enfermedades de cebolla en el sur argentino. *AgroUNS*, 4(7), 5-10.
- Kritzman, G. and D. Netzer 1978. A selective medium for isolation and identification of *Botrytis* sp. from soil and onion seed. *Phytoparasitica*, 6(1), 3-7.
- Lunello, P., Mansilla, C., Conci, V. and F. Ponz 2004. Ultra-sensitive detection of two garlic potyviruses using a real-time fluorescent (Taqman®) RT-PCR assay. *Journal of Virological Methods*, 118(1), 15-21. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2004.01.012>
- Manglli, A., Tomassoli, L., Tiberini, A., Agosteo, G.E., Fontana, A. and H.R. Pappu2020. A survey on the infection of *Onion yellow dwarf virus* and *Iris yellow spot tospovirus* in seed and bulb productions systems of onion in Calabria, Italy. *European Journal of Plant Pathology*, 156(3), 767-778.
- Mark, G.L., Gitaitis, R.D. and J.W. Lorbeer2002. Bacterial Diseases of Onion. En Rabinowitch H.D. and L. Currah (Eds.), *Allium crop sciences. Recent advances* (pp. 267-292). CAB International.
- Mathur, S.B. and O. Kongsdal2003. *Common Laboratory Seed Health Testing Methods for Detecting Fungi* (1st Edition). ISTA.
- Maude, R.B. 2006. Onion diseases. In Cooke B.M., Gareth Jones D. and B. Kaye (Eds.). *The Epidemiology of Plant Diseases* (Vol. 2, pp. 491-520). Springer.
- Maude, R. and A.H. Presly1977. Neck rot (*Botrytis allii*) of bulb onions. I. Seed-borne infection and its

- relationship to the disease in the onion crop. *Ann. appl. Biol.*, 86, 163-180.
- Neergaard, P. 1977. *Seed Pathology: Vol. Volume 1* (1st ed.). Macmillan Press.
- Nielsen, K., Yohalem, D.S. and D.F. Jensen 2002. PCR detection and RFLP differentiation of *Botrytis* species associated with neck rot of onion. *Plant Disease*, 86(6), 682-686. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.6.682>
- Ohtomo, R. and M. Saito 2003. A New Selective Medium for Detection of *Klebsiella* from Dairy Environments. *Microbes and Environments*, 18(3), 138-144.
- Overy, D.P., Frisvad J.C., Steinmeier U. and U. Thrane 2005. Clarification of the agents causing blue mold storage rot upon various flower and vegetable bulbs: Implications for mycotoxin contamination. *Postharvest Biology and Technology*, 35, 217-221.
- Pappas, M. L., Liapoura, M., Papantoniou, D., Avramidou, M., Kavroulakis, N., Weinhold, A., Broufas, G. D., & Papadopoulou, K. K. (2018). The Beneficial Endophytic Fungus *Fusarium solani* Strain K Alters Tomato Responses Against Spider Mites to the Benefit of the Plant. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2018.01603>
- Richardson, M. J. (1990). An annotated list of seed-borne diseases. ISTA.
- Rodríguez, C. E., & Contreras, N. (2006). ELISA technique for the detection of phytopathogenic bacteria in onion (*Allium cepa* L.) seeds. *Proc. Interamerican Soc. for Trop. Horticulture*, 50, 21-32.
- Roumagnac, O., Pruvost, O., Chiroleu F. and G. Hughes 2004. Spatial and Temporal Analyses of Bacterial Blight of Onion Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*. *Phytopathology*, 94, 138-146.
- Saettler, A.W., Schaad, N.W. and D.A. Roth 1989. Detection of bacteria in seed and other planting material. APS Press. St Paul, Minnesota. 122 p.
- Schaad, N.W. (1989). Detection and identification of bacteria. En *Detection of bacteria in seed and other planting material* (Saettler, AW; Schaad, NW; Roth, DA, pp. 9-16). APS Press.
- Schwartz, H.F. and S.K. Mohan 2008. *Compendium of Onion and Garlic Diseases and Pests* (2.^a ed.). APS. 54 p.
- SINAVIMO 2022. Onion yellow dwarf virus | Sistema Nacional de Vigilancia y Monitoreo de plagas. <https://www.sinavimo.gob.ar/plaga/onion-yellow-dwarf-virus>
- Smedsgaard, J. 1997. Micro-scale extraction procedure for standardized screening of fungal metabolite production in cultures. *Journal of Chromatography A*, 760(2), 264-270.
- Smith, I.M., Dunez, J., Phillips, D.H., Lelliot, R.A. and S.A. Archer 1991). *European Handbook of Plant Diseases*. Wiley-Blackwell; <https://www.wiley.com/en-us/European+Handbook+of+Plant+Diseases-p-9780632012220>.
- Stewart, A. and S.C. Franicevic 1994. Infected seed as a source of inoculum for *Botrytis* infection of onion bulbs in store. *Australasian Plant Pathology*, 23, 36-40.
- Tiempo de San Juan (2017, octubre 24). En 10 años, la producción de semillas de cebolla pasó de 548 hectáreas a 750. *Tiempo de San Juan*. <https://www.tiempodesanjuan.com/economia/2017/10/24/anos-produccion-semillas-cebolla-paso-hectareas-194627.html>
- Valdez, J.G. and P. Caligiore Gei 2013. Influence of *Fusarium oxysporum* and *F. proliferatum* on the *Fusarium* incidence recorded on mature onion seeds. 30th ISTA Seed Congress. June 12/18, Antalya, Turkey.
- Valdez, J.G., Caligiore Gei, P. and C.G. Tarnowski 2019. Identificación de *Botrytis allii* en semillas y bulbos de cebolla producidas en la región de Cuyo, Argentina. En: Camadro E. (Ed), p. 140. ALAG. <https://doi.org/Doi:10.35407/bag.2019.XXX.01.suppl.16>
- Valdez, J.G., Caligiore Gei, P. and U. Thrane 2011. Identification and pathogenicity of Argentinean seed-borne *Fusarium* isolates of onion seeds. *2do Congreso Argentino de Fitopatología, June, 1-3*, 234. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.30158.54082>
- Valdez, J.G., Salvalaggio, A.E. and A. del C. Ridao 2007. Pathogenicity of *Fusarium* spp. isolates in onion (*Allium cepa* L.) seedlings. pp 11. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.14286.15685>
- Vinay Kumar, N., Sharma S. and A.S. Narashans 2015. Post Harvest Management of Fungal Diseases in Onion—A Review. *International*

Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 4(6), 737-752.

Welbaum, G. 2005. *Vegetable Seed Production*.
<https://welbaum.spes.vt.edu/seedproduction/index.html>

Yáñez, M. de J., Fucikovsky, L., Lorbeer, J.W., González, A. and S. Aranda 2003. *Erwinia chrysanthemi* Burkholder, McFadden and Dimock and other Phytobacteria Causal Agents of Onion (*Allium cepa* L.) Bulb Decay, and their Detection. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(2), 189-198.

Zaid, A.M., Bonasera, J.M. and S.V. Beer 2012. OEM. A new medium for rapid isolation of onion-pathogenic and onion-associated bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 91(3), 520-526.