

Efecto de la Preparación del Suelo en la Dispersión de Esclerocios de *Sclerotium cepivorum* Berk

Effect of Soil Preparation in Dispersion of Sclerotia of *Sclerotium cepivorum* Berk

Rodolfo Velásquez Valle, Manuel Reveles Hernández, María Mercedes Medina Aguilar, INIFAP, Campo Experimental Zacatecas, Km. 24.5 Carretera Zacatecas-Fresnillo, Calera de Víctor Rosales, Zacatecas, CP 98500, México; **Mario Domingo Amador Ramírez**, Asesor del INIFAP en el Campo Experimental Zacatecas, Km. 24.5 Carretera Zacatecas-Fresnillo, Calera de Víctor Rosales, Zacatecas, CP 98500, México. Correspondencia: fitovalle58@yahoo.com.mx

(Recibido: Junio 05, 2012 Aceptado: Agosto 24, 2012)

Velásquez Valle, R., Reveles Hernández, M., Medina Aguilar, M. M. y Amador Ramírez, M.D. 2012. Efecto de la preparación del suelo en la dispersión de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* Berk. Revista Mexicana de Fitopatología 30:150-154.

Resumen. La pudrición blanca del ajo es la principal enfermedad fungosa de este cultivo en Zacatecas, México. La mayoría de las parcelas con ajo se encuentran infestadas con esclerocios de *Sclerotium cepivorum*, sin embargo, no existe información acerca de la influencia de las prácticas culturales previas a la siembra, sobre la dispersión de los esclerocios del patógeno. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de las prácticas culturales previas a la siembra, sobre la dispersión de esclerocios del hongo. En una parcela de 0.9 h con antecedentes de *S. cepivorum*, se tomaron 90 muestras de suelo a profundidades de 0 - 20 y 21-40 cm y se analizaron para contar el número de esclerocios antes y después de la preparación del suelo. Después de la preparación del suelo hubo un incremento del 30.3 % en el número de muestras con esclerocios en la capa de suelo más profunda y no hubo diferencia en número de esclerocios en la capa superior del suelo.

Palabras clave adicionales: movimiento de esclerocios, labores culturales, estratos del suelo.

La pudrición blanca es la enfermedad fúngica más importante del ajo (*Allium sativum* L.) en el Estado de Zacatecas, México. Entre las principales características del agente causal de la enfermedad (*Sclerotium cepivorum* Berk.), se encuentra la producción de esclerocios que pueden permanecer viables en el suelo por periodos prolongados, aún sin la presencia de hospedantes de la familia Alliaceae, a la que pertenece el ajo (Metcalf *et al.*, 2004). En Zacatecas, en la mayoría de las parcelas dedicadas a la producción de ajo, la distribución de los esclerocios se determinó en manchones en el 60.8 % de las parcelas (Velásquez-Valle *et al.*, 2005); sin embargo, estos resultados

Abstract. The garlic white rot is the main fungal disease of this crop in Zacatecas, Mexico. Even if most garlic fields are infested with *Sclerotium cepivorum* sclerotia, there are no current reports about the influence of cultural practices prior to planting on the dispersal of sclerotia of the pathogen. Therefore, the aim of this study was to determine the effect of cultural practices prior to planting on the dispersal of sclerotia of the fungus. From a 0.9 h field with a history of *S. cepivorum*, 90 soil samples were taken at depths ranging from 0 - 20cm (A) and from 21- 40 cm (B) and they were analyzed to count the number of sclerotia before and after soil preparation. After soil preparation there was a 30.3 % increase in the number of samples with sclerotia in the deeper soil layer and no difference in the number of sclerotia in the upper soil layer was observed.

Additional key words: Sclerotia movement, cultural practices, soil layers.

White rot is the most important garlic (*Allium sativum* L.) fungal disease in Zacatecas state, Mexico. Among the main characteristics of the causative agent of the disease (*Sclerotium cepivorum* Berk), is the production of sclerotia that can remain viable in the soil during long periods of time, even without the presence of Alliaceae family hosts, which garlic belongs to (Metcalf *et al.*, 2004). In most fields with garlic production in Zacatecas, the sclerotia distribution was determined to be in patches in 60.8 % of the fields (Velásquez-Valle *et al.*, 2005); however, these results were obtained by analysis of soil samples systematically taken from commercial garlic fields and they may not reflect the effect of garlic planting beds preparation. In Zacatecas the soil preparation process includes the moldboard disk plowing, disk harrowing, and marking for planting; it is common the double step of the harrow or an extra step with the roller for loosening the soil containing large lumps (Reveles *et al.*, 2009). It can be supposed that tillage most likely favors the movement of sclerotia of the pathogen

se obtuvieron por el análisis de muestras de suelo sistemáticamente tomadas de parcelas comerciales de ajo y pudieran no reflejar el efecto de la preparación de la cama de siembra de ajo. En Zacatecas el proceso de preparación del suelo incluye el barbecho, rastra y marcado para la siembra; es frecuente el doble paso de rastra o el paso adicional del rodillo de picos para mullir el suelo que presenta terrones grandes (Reveles *et al.*, 2009). Es previsible que la labranza propicie el desplazamiento de los esclerocios del patógeno, por lo que el propósito de este trabajo consistió en determinar el efecto de prácticas de preparación del suelo previas a la siembra, sobre la dispersión de esclerocios de *S. cepivorum*.

El trabajo se hizo en Chaparrosa, municipio de Villa de Cos, Zacatecas, durante septiembre de 2010, en una parcela comercial de 0.9 h, infestada con *S. cepivorum*. Se marcaron 90 puntos de muestreo equidistantes (10 m) y en cada uno se obtuvieron, con una pala, dos muestras de suelo de aproximadamente 500 g cada una, de 0-20 cm (A) y a 21-40 cm (B) de profundidad. El muestreo se hizo antes de preparar el suelo para la siembra de ajo y después de preparar el suelo (paso de arado de disco, dos pasos de rastra, nivelación y levantamiento de "camas") previo a la siembra. La profundidad de preparación del suelo se midió después del paso de arado de disco y varió de 25 a 35 cm. Una vez realizado el primer muestreo, se colocaron estacas en el perímetro de la parcela (cada 10 m), a fin de que sirvieran como referencia para llevar a cabo el segundo muestreo lo más cercano posible al punto donde se tomó cada muestra en el primer muestreo. En el laboratorio, los esclerocios se extrajeron y se contaron por la técnica del tamizado húmedo (Papavizas, 1972) en una sub-muestra de 30 g del suelo previamente homogenizado obtenido de cada una de las muestras. La viabilidad de los esclerocios se confirmó con la disección de esas estructuras bajo el microscopio de disección (VELAB, Mod. VE-SS, Alemania); se consideraron viables aquellos que al disectarlos mostraban un contenido de aspecto blanco-cremoso; los esclerocios inviables se fragmentaban al presionarlos con la aguja de disección y se encontraban huecos (Velásquez-Valle *et al.*, 2005), por lo tanto las cantidades de esclerocios que se reportaron en este trabajo representaron exclusivamente aquellos que conservaban su viabilidad. Para determinar si el número de esclerocios muestreados en los estratos A y B antes y después de preparar el terreno para la siembra diferían significativamente entre sí, los datos se sometieron a la prueba t de Student por el procedimiento PROC TTEST de SAS (2009). Se especificó la opción COCHRAN con el objeto de utilizar la aproximación del mismo nombre ($\alpha = 0.05$, 90 gl) para así descartar la posibilidad de que las distribuciones del número de esclerocios en los distintos estratos y etapas presentaban varianzas diferentes.

En el primer muestreo en el estrato superior se detectaron poblaciones variables de esclerocios de *S. cepivorum* en 77 de los 90 puntos de muestreo. El rango de esclerocios en las muestras varió de uno hasta cinco en cada 30 g de suelo; más del 60 % de las muestras presentaron uno o dos esclerocios (Cuadros 1 y 2). El promedio de esclerocios tomando en cuenta todas las muestras del perfil

present in the field, so the purpose of this study was to determine the effect of tillage practices prior to planting on the dispersion of *S. cepivorum* sclerotia.

This study was carried out in Chaparrosa, Villa de Cos municipality, Zacatecas state, during September 2010 in a commercial field of 0.9 h infested with *S. cepivorum*. Ninety equidistant (10 m) sampling points were labeled and from each of them, with a shovel, two soil samples of approximately 500 g each, from 0-20 cm (A) and 21-40 cm (B) depth were obtained. Sampling was done before preparing the soil for garlic planting and after preparing the soil (one pass of disk plough, two passes of disk harrow, leveling, and beds construction) before planting. The depth of soil preparation was measured after the disk harrow step and ranged from 25 to 35 cm. Once the first sampling was done, some poles were placed on the perimeter of the field (every 10 m), to serve as a reference for conducting the second sampling as close as possible to the point where each sample was taken in the first sampling. On the laboratory, sclerotia were extracted and counted by wet sieving technique (Papavizas, 1972) on a 30 g sub-sample of previously homogenized soil obtained from each of the samples. Sclerotia viability was confirmed by dissection of these structures under the dissecting microscope (VELAB, Mod VE-SS, Germany); viable sclerotia were considered those that after dissection showed a creamy-white content and non-viable sclerotia naturally fragmented upon pressure with the dissecting needle and were hollow (Velasquez-Valle *et al.*, 2005); therefore, sclerotia amounts reported in this study represent only the viable ones. In order to determine if the number of sclerotia sampled in A and B layers before and after soil preparation for planting differed significantly from each other, the data were subjected to Student's t test by SAS PROC TTEST (2009) procedure. COCHRAN option was used in order to use the approximation of the same name ($\alpha = 0.05$, 90 df), thus ruling out the possibility that the number of sclerotia distributions in the different layers and stages showed different variances.

In the first sampling (upper layer) variable populations of sclerotia of *S. cepivorum* were detected in 77 of the 90 sampling points. From one to five sclerotia were found per each 30 g of soil sample; more than 60 % of the samples showed one or two sclerotia (Tables 1 and 2). Considering only A soil profile samples, the sclerotia average was 35.3 sclerotia per kg of soil. In layer B, sclerotia were only found in 40 of the 90 sampling points. Sclerotia range in these samples varied from one to two sclerotia in the 40 positive samples; in 85 % of the positive samples only one sclerotium was found (Tables 1 and 2).

During the second sampling, variable sclerotia populations were detected in 85 of the 90 sampling points, which meant an increase of eight additional points in comparison to the first sampling; approximately 87 % of the samples in this sampling showed between one and three sclerotia. Number of samples with two or three sclerotia increased, and conversely, the number of samples with one single sclerotium decreased. These results are important because the recommendation for garlic planting fields is

Cuadro 1. Poblaciones de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en los estratos A (0-20 cm) y B (21-40 cm) antes y después de preparar el suelo para la siembra de ajo en una parcela de Villa de Cos, Zacatecas, México.

Table 1. Sclerotia populations of *Sclerotium cepivorum* in A (0-20 cm) and B (21-40 cm) soil layers before and after preparing the soil for planting garlic in a Villa de Cos field, Zacatecas, Mexico.

Estrato de suelo	Muestreo	Número de puntos de muestreo N/90		Rango de esclerocios en puntos de muestreo infestados
		Infestados ^y	No infestados ^z	
A	Previo ^w	77	13	1 - 5
B	Previo	40	50	1 - 2
A	Posterior ^x	85	5	1 - 4
B	Posterior	59	31	1 - 2

^wMuestreo realizado antes de la preparación del suelo para la siembra; ^xMuestreo realizado después de la preparación del suelo para la siembra; ^yPunto de muestreo con al menos un esclerocio; ^zPunto de muestreo donde no se detectaron esclerocios.

A del suelo fue de 35.3 esclerocios por kg de suelo. En el estrato B solamente se encontraron esclerocios en 40 de los 90 puntos de muestreo. El rango de esclerocios en estas muestras osciló de uno a dos esclerocios en las 40 muestras positivas; en el 85 % de las muestras positivas solo se encontró un esclerocio (Cuadros 1 y 2).

En el segundo muestreo se detectaron poblaciones variables de esclerocios en 85 de los 90 puntos de muestreo, lo cual significó un aumento de ocho puntos adicionales con respecto al primer muestreo; aproximadamente el 87 % de las muestras en este muestreo mostraron entre uno y tres esclerocios. Se registró aumento en el número de muestras con dos y tres esclerocios y por el contrario disminuyó el número de muestras con un solo esclerocio. Los resultados anteriores son importantes ya que la recomendación para la

based on the average number of sclerotia found on the soil of a given field, consequently, if the range of these structures increases, it will be more likely to be considered as a non-appropriate field for planting garlic (Tables 1 and 2).

The average of sclerotia for the whole field was 38.4 per kg of soil, this value is statistically similar to the value obtained in the first sampling (35.3 sclerotia per kg of soil). There was also an increase in the lower layer, from 40 to 59 sampling points with at least one sclerotium; although the number of sampling points with a single sclerotium increased from 85 to 88.1 % between the first and second sampling, respectively (Tables 1 and 2).

During the second sampling, the number of total sclerotia increased in both layers, from 159 (pre-sampling) to 173 (subsequent sampling) in layer A (both values were

Cuadro 2. Porcentaje de muestras de suelo con esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en dos estratos A (0-20 cm) y B (21-40 cm) antes y después de preparar el suelo para la siembra de ajo en una parcela en Villa de Cos, Zacatecas, México.

Table 2. Percentage of soil samples with *Sclerotium cepivorum* sclerotia in two soil layers A (0-20 cm) and B (21-40 cm) before and after preparing the soil for garlic planting in a Villa de Cos field, Zacatecas, Mexico.

Estrato	Muestreo	No. de esclerocios por muestra de suelo (30 g)				
		1	2	3	4	5
A	Previo ^x	33.8 ^z	38.9	15.6	10.4	1.3
B	Previo	85.0	15.0	0.0	0.0	0.0
A	Posterior ^y	28.2	42.3	27.0	2.33	0.0
B	Posterior	88.1	11.9	0.0	0.0	0.0

^xMuestreo realizado antes de la preparación del suelo para la siembra; ^yMuestreo realizado después de la preparación del suelo para la siembra; ^zPorcentaje de muestras con un número dado de esclerocios.

siembra de parcelas con ajo se fundamenta en el número promedio de esclerocios encontrados en el suelo de una parcela dada, consecuentemente, si el rango de esas estructuras aumenta será más probable que la parcela sea dictaminada como no apropiada para la siembra de ajo (Cuadros 1 y 2).

El promedio de esclerocios para la parcela completa fue de 38.4 por kg de suelo, valor estadísticamente similar al obtenido en el primer muestreo (35.3 esclerocios por kg de suelo). En el estrato inferior también aumentó, de 40 a 59 puntos de muestreo con al menos un esclerocio; aunque el

not statistically different) and by contrast in layer B, the number of total sclerotia varied from 46 (pre-sampling) to 66 (subsequent sampling), which was statistically different and, consequently, from 205 to 239 considering both layers combined (Table 3). In terms of percentage, it seems more important the increase in layer B, 30.3 % in the sclerotia population, whereas in layer A the increase was close to 8.1 %; considering both layers of the field, there was a 14.2 % increase in sclerotia detected.

The percentage increase of the total number of sclerotia in the field (between the two samplings) wouldn't

número de puntos de muestreo con solo un esclerocio aumentó de 85 a 88.1 % entre el primero y segundo muestreo respectivamente (Cuadros 1 y 2).

Durante el segundo muestreo se incrementó en ambos estratos el número de esclerocios totales detectados; de 159 (muestreo previo) a 173 (muestreo posterior) en el estrato A, ambos valores no fueron estadísticamente diferentes. En cambio, en el estrato B el número de esclerocios pasó de 46 (muestreo previo) a 66 (muestreo posterior), lo cual resultó estadísticamente diferente y, por consecuencia, de 205 a 239 considerando ambos estratos en

seem important, as sclerotia concentration already highly exceeds the recommended limit that the Zacatecas Experimental Field (Reveles-Hernández *et al.*, 2009) sets for garlic planting in a specific field, on which it is suggested that if the sclerotia population in soil is higher than 20 per kg of soil then planting garlic is not recommended. However, this percentage (14.2 %) in other fields can be the difference between planting garlic or an alternative crop like oats or barley which are winter resistant or leaving the field uncultivated. These last two options also mean losses for garlic or onion producers.

Cuadro 3. Resultados de la prueba de t de Student ($\alpha=0.05$) practicada al número de esclerocios presentes en dos estratos A (0-20 cm) y B (21-40 cm) antes y después de preparar el suelo para la siembra de ajo en una parcela en Villa de Cos, Zacatecas, México.

Table 3. Student's test results ($\alpha=0.05$) from the number of sclerotia present in two layers A (0-20 cm) and B (21-40 cm) before and after preparing the soil for garlic planting in a Villa de Cos field, Zacatecas, Mexico.

Estrato	Muestreo		Significancia	
	Previo ^x	Posterior ^y	Valor calculado	Valor de tablas
A	159 ^z	173	-0.98	1.98 (NS)
B	46	66	-2.22	0.98 *

^xMuestreo realizado antes de la preparación del suelo para la siembra; ^yMuestreo realizado después de la preparación del suelo para la siembra; ^zNúmero de esclerocios en las 90 muestras analizadas.

NS = no significativo

* significativo

conjunto (Cuadro 3). En términos de porcentaje parece más importante el aumento registrado en el estrato B, 30.3 % en la población de esclerocios, mientras que en el estrato A dicho incremento fue cercano a 8.1 %; considerando ambos estratos de la parcela, el crecimiento en el número de esclerocios detectados resultó de 14.2 %.

El incremento porcentual en el número total de esclerocios en la parcela entre ambos muestreos pareciera no ser importante ya que la concentración de esclerocios sobrepasa ampliamente el umbral de recomendación que utiliza el Campo Experimental Zacatecas (Reveles-Hernández *et al.*, 2009) para recomendar la siembra de ajo en una parcela específica, en la cual se sugiere que si la población de esclerocios en el suelo es mayor a 20 por kg de suelo no se recomienda la siembra de ajo. Sin embargo, dicho porcentaje (14.2 %) en otras parcelas puede ser la diferencia entre sembrar ajo o un cultivo alternativo como avena o cebada que soporte la temporada invernal o dejar la parcela en descanso; las dos últimas opciones significan también pérdidas para los productores de ajo o cebolla.

Por otro lado, el incremento de 30.3 % en el número de esclerocios en el estrato B en el segundo muestreo fue por un depósito profundo de estas estructuras, alejadas de las raíces de ajo, durante una parte considerable del ciclo de cultivo a una profundidad (16 cm) donde ocurren pocas infecciones como lo han mencionado Crowe y Hall (1980). Es posible que la acumulación de esclerocios en el estrato B pueda derivar en la formación de un "banco" de esclerocios que podrían alcanzar rápidamente el estrato A

On the other hand, the 30.3 % increase in the sclerotia number of layer B in the second sampling, was due to a deep reservoir of these structures away from garlic roots, during a considerable part of the growing season in a depth (16 cm) where few infections occur as reported previously by Crowe and Hall (1980). It is possible that sclerotia accumulation in layer B could lead to the formation of a sclerotium "bank" that quickly could reach layer A because of the potential upward movement of sclerotia contaminated soil aggregates and induced by tillage practices (such as subsoiling which is predominant in this region of Zacatecas), however, this hypothesis needs to be confirmed directly in the field.

From both samplings it can be concluded that layer A has the highest sclerotia population of this pathogen, which is consistent with Adams (1981) reports, who pointed out that the majority of the population is located in the upper soil layer (20-25 cm) which moves during tillage. In Zacatecas, garlic production tends to be cultivated with drip irrigation; therefore, it is most likely that the roots grow on the upper soil layer (25-30 cm) which is the layer that concentrates the sclerotia population.

In layer B, the number of sampling points with sclerotia and their concentration increased after pre-planting cultivation work. These are important observations for disease control since if it is demonstrated that no upward movement of sclerotia through cultivation work such as subsoiling or deep fallow happen, and that sclerotia are deposited deeply (far from garlic roots), then the sclerotia population on the top soil could be reduced using repeated

por el potencial movimiento ascendente de agregados del suelo contaminados con esclerocios y provocado por labores de cultivo como el sub-soleo que es frecuente en esta región de Zacatecas, sin embargo, es necesario corroborar en campo esta hipótesis.

En los muestreos se determinó que fue en el estrato A, donde se concentró la población de esclerocios de este patógeno, lo cual concuerda con lo señalado por Adams (1981), quien señaló que la mayor parte de dicha población se localiza en la capa superior del suelo (20-25 cm) misma que se mueve durante estas labores culturales. En Zacatecas la producción de ajo tiende a realizarse en riego por goteo, de ahí que es probable que la mayor parte de las raíces se desarrollen en la capa superficial (25-30 cm) del suelo, donde se concentra la población de esclerocios.

En el estrato B, se incrementó el número de puntos de muestreo con esclerocios y su concentración, después de las labores culturales de pre-siembra. Esto es importante para el manejo de la enfermedad ya que de comprobarse que no existe el movimiento ascendente de esclerocios por medio de labores culturales como el sub-soleo o barbecho profundo y que los esclerocios quedan depositados profundamente (fuera del alcance de las raíces de ajo) entonces la población de esclerocios en la capa superior del suelo podría ser reducida empleando pasos repetidos de barbecho o rastra, especialmente en aquellas parcelas donde la incidencia de la enfermedad es generalizada.

CONCLUSIONES

Hubo un incremento en el número de puntos de muestreo de suelo infestados con esclerocios de *S. cepivorum*, después de las labores de preparación del suelo para la siembra de ajo.

El número de esclerocios permaneció sin cambio en el estrato superior y se incrementó en el estrato inferior después de las labores de preparación del suelo.

LITERATURACITADA

- Adams PB. 1981. Forecasting onion white rot disease. *Phytopathology* 71:1178-1181.
- Crowe FJ and Hall DH. 1980. Vertical distribution of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and host root systems relative to white rot of onion and garlic. *Phytopathology* 70:70-73.
- Metcalf DA, Dennis JJC and Wilson CR. 2004. Effect of inoculum density of *Sclerotium cepivorum* on the ability of *Trichoderma koningii* to suppress white rot of onion. *Plant Disease* 88:287-291.
- Papavizas GC. 1972. Isolation and enumeration of propagules of *Sclerotium cepivorum* from soil. *Phytopathology* 62:545-549.

fallow or harrow steps, especially in fields where the incidence of the disease is widespread.

CONCLUSIONS

There was an increase in the number of soil sampling points infested with *S. cepivorum* sclerotia after soil cultivation work for garlic planting.

Sclerotia number remained unchanged in the upper layer (A) and it increased in the lower layer (B) after soil cultivation work.

-
- Reveles-Hernández M, Velásquez-Valle R y Bravo-Lozano AG. 2009. Tecnología para cultivar ajo en Zacatecas. Campo Experimental Zacatecas-INIFAP. Libro Técnico No. 11. Calera de Victor Rosales, Zacatecas, México. 272 p.
- Velásquez-Valle R, Amador-Ramírez MD y Medina-Aguilar MM. 2005. Distribución espacial de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* Berk. en cinco municipios de Aguascalientes y Zacatecas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 23:262-267.