



*Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Escuela para Graduados*



**EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL QUÍMICO DE LA
PODREDUMBRE BLANCA DEL AJO Y LA
CEBOLLA (*Sclerotium cepivorum* BERK.) EN LA
PROVINCIA DE CÓRDOBA**

Martha Yolanda Conles

Tesis

Para optar al Grado Académico de
Magister en Ciencias Agropecuarias
Mención: Producción Vegetal

Córdoba, 2008

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL QUÍMICO DE LA PODREDUMBRE BLANCA DEL AJO Y LA CEBOLLA (*Sclerotium cepivorum* BERK.) EN LA PROVINCIA DE CÓRDOBA

Martha Yolanda Conles

Comisión Asesora de Tesis

Director: Ing. Agr. (M. Sc.) Viviana E. Yossen

Asesores: Ing. Agr. Guillermo J. March

Ing. Agr. (M. Sc.) Clara I. Cragolini

Tribunal Examinador de Tesis

Ing. Agr. Guillermo J. March

Dra. (Ph. D.) Mónica G. Balzarini

Ing. Agr. (M. Sc.) Ricardo J. Novo

Presentación formal académica:

2 de septiembre de 2008

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Universidad Nacional de Córdoba

AGRADECIMIENTOS

A la directora, Ing. Agr. (M. Sc.) Viviana E. Yossen y a los asesores, Ing. Agr. (M. Sc.) Clara I. Cragolini e Ing. Agr. Guillermo J. March, por su permanente estímulo, su confianza, muy valiosas enseñanzas, importante ejemplo de honestidad, calidad y empeño en el trabajo y generosidad para brindar sus conocimientos.

Al tribunal examinador de tesis, Ing. Agr. Guillermo J. March, Dra. (Ph. D) Mónica G. Balzarini y Ing. Agr. (M. Sc.) Ricardo J. Novo, por su tiempo, su trabajo y valiosas correcciones que permitieron mejorar esta investigación.

A la Dra. (Ph. D.) Mónica G. Balzarini, por su tiempo de trabajo, constante asistencia y muy valiosos aportes para el análisis estadístico de todos los datos.

Al Dr. (Ph. D.) Raúl Macchiavelli, de la Universidad de Mayagüez, Puerto Rico, por su excelente aporte y su gran amabilidad y generosidad al brindar su ayuda y conocimientos.

Al Ingeniero Agrónomo Eduardo Orecchia de la EER - INTA, Cruz del Eje y a los productores Alfredo Sattler y Juan Carlos Pérez, por su permanente asistencia e imprescindible y valioso aporte en los ensayos, materiales y trabajos de campo.

A todos los ayudantes “ad honorem” que colaboraron en los ensayos, por su tiempo y trabajo; a los Ing. Agr. Patricia Conte y Guillermo Más, por el enorme aporte de su colaboración técnica y gran responsabilidad y precisión para la realización de los trabajos; a Edith Turturro, por su generosa, valiosa y responsable ayuda y amistad.

Al personal de los laboratorios de Análisis de Semillas, Edafología, Química Biológica, Fitopatología y Microbiología Agrícola y del vivero de Silvicultura, por su asistencia, permanente colaboración con lugar y equipamiento imprescindible para la realización de los ensayos y por su amable atención; a Enrique Lucini y a Jacqueline Joseau por su permanente estímulo, sugerencias y amistad.

A todos los profesores de los cursos de postgrado, por las valiosas enseñanzas recibidas.

A mis compañeros de trabajo, Ricardo Novo, Alicia Cavallo, Raúl Nóbile, Enzo Bracamonte, Adriana Viglianco, Gustavo Ruosi, Patricia Ficchetti y Sandra Koop, por su permanente estímulo, compañerismo, valiosas sugerencias y colaboración para la realización de este trabajo

Al Dr. Juan Arguello, por las excelentes, enormemente útiles y precisas enseñanzas recibidas y su valiosa ayuda en la redacción de la tesis.

A la Ing. Agr. Marina Zaninetti, por su colaboración con la traducción del resumen y amistad.

A las autoridades de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba y autoridades y personal de la Escuela para Graduados, por su enorme, permanente y meritorio trabajo para el sostenimiento y progreso de esta institución en Córdoba, Argentina, que hizo posible la realización de este trabajo.

A la Agencia Córdoba Ciencia del Gobierno de la Provincia de Córdoba y a la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Córdoba, cuyos subsidios otorgados para esta investigación posibilitaron la realización de los ensayos.

Al Ingeniero Agrónomo Erik S. T. Artero, por su ayuda, su aliento y enorme aporte económico, sin el que no hubiera sido posible la realización de esta maestría.

A todos los integrantes de la Fundación Internacional “El Arte de Vivir”, cuyas valiosas y profundas enseñanzas me hicieron posible terminar, valorar y disfrutar de la realización de este trabajo.

A todas aquellas personas, cuya colaboración directa o indirecta hizo posible la realización de esta tesis.

*Dedicado a Erik S. T. Artero,
Victoria B. Aguirre y Diego M. Aguirre.*

RESUMEN

Los objetivos del trabajo fueron determinar características epidemiológicas espaciales y temporales de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, causada por *Sclerotium cepivorum* Berk. y evaluar la eficacia de fungicidas para su control. Se trabajó desde 2000 a 2003 en Cruz del Eje y Jesús María, Córdoba, en cultivos de ajo (*Allium sativum* L.) del cultivar “Rosado Paraguayo”. Los resultados indican que en los suelos de Córdoba los esclerocios tienden naturalmente a tener un patrón de distribución agregado y que la cantidad de esclerocios aumenta cada año cuando se cultiva ajo en forma continuada, principalmente en las zonas con baja contaminación. En Cruz del Eje la principal fuente de esclerocios del lote en estudio fueron las zonas aledañas contaminadas, por donde pasa previamente el agua de riego. Los esclerocios se dispersan dentro del lote mediante el riego y las labranzas y su cantidad disminuye exponencialmente con el aumento de la distancia al canal. La densidad de esclerocios se determina con precisión con una muestra de suelo cada 50 m² y el procesamiento de 100 gramos de suelo por muestra. La podredumbre blanca aparece por primera vez (t_0) entre el 18 y el 30 de mayo y después continúa apareciendo progresivamente hasta la cosecha en los distintos sitios de los lotes. Las curvas de progreso de la enfermedad poseen una marcada variabilidad. Las características de las curvas epidémicas y la incidencia final de la enfermedad dependen de la densidad de esclerocios que hay en el suelo previamente a la plantación del cultivo. El modelo logístico generalizado, mixto, de coeficientes aleatorios con efecto específico de sujeto, describe adecuadamente las curvas de progreso de la enfermedad en los cultivos de ajo de Córdoba. La forma general de las curvas epidémicas depende del ambiente (localidad y año) y de la densidad inicial de esclerocios, pero la variabilidad de los “interceptos” y pendientes depende solamente de la densidad inicial de inóculo. Los fungicidas fluazinam, tebuconazole, tolclofós metil, procimidone, iprodione, azoxistrobina y carbendazim, en este orden decreciente de eficacia, reducen el crecimiento del micelio de *S. cepivorum* originario de Córdoba *in vitro*, pero no controlan los esclerocios.

Palabras claves: Podredumbre blanca, *Allium sativum*, epidemiología, modelos mixtos, fungicidas.

SUMMARY

This work was aimed at determining the spatial and temporal epidemiological characteristics of *Allium* white rot caused by *Sclerotium cepivorum* Berk., and evaluating fungicide efficacy in controlling this disease. Experiments were conducted in cultivars of “Rosado Paraguayo” garlic (*Allium sativum* L.) in two locations (Cruz del Eje and Jesús María) from 2000 to 2003. Results show that sclerotia naturally tend to adopt an aggregate spatial pattern in Córdoba soils and continuous garlic cultivation causes the amount of sclerotia to increase every year, mainly in low contaminated areas. The main source of sclerotia in plot under study in Cruz del Eje was located in the surrounding contaminated areas where irrigation water flows. Sclerotia are spread not only by irrigation but also by field work, and they decrease exponentially with increasing distance from the main irrigation canal. Sclerotia density can be precisely determined from one soil sample per 50 m² and processing 100 gr. of soil from each sample. The white rot first appears between 18 th and 30 th may and then it develops progressively until harvest time in different plot locations. Disease progress curves are extremely variable. Epidemic curves characteristics and final incidence of the disease depend on the density of sclerotia which are already present in the soil before planting garlic. The generalized logistic mixed model of random coefficients with subject-specific effect, correctly describes disease progress curves in garlic crops in Córdoba. The general form of epidemic curves depends on both environment conditions (location and year) and initial sclerotia density. But the variability of intercepts and slopes depends only on initial inoculum density. Fungicides such as fluazinam, tebuconazole, tolclofós metil, procimidone, iprodione, azoxistroina and carbendazim, following that decrease sequence of efficacy, reduce the growth of the Cordoban *S. cepivorum* mycelium *in vitro*, but they do not control sclerotia.

Keywords: White rot, *Allium sativum*, epidemiology, mixed models, fungicides.

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	xvii
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.....	1
HIPÓTESIS.....	5
OBJETIVOS GENERALES.....	6
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
CAPÍTULO 2. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS ESPACIALES DE <i>Sclerotium cepivorum</i> EN SUELOS DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA.	7
INTRODUCCIÓN.....	7
Objetivo general.....	10
Objetivos específicos.....	10
MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
Determinación de la densidad horizontal de esclerocios presentes en los suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba.....	12
Patrón de distribución espacial de los esclerocios en suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba.....	14
Mapas de distribución espacial.....	14
Ajuste de datos a modelos teóricos de distribuciones discretas.....	15
Cálculo de índices de agregación.....	16
Ajuste de modelos empíricos de dispersión espacial de esclerocios de <i>S. cepivorum</i> en suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba.....	17
Modelo de la Ley Ponderada.....	18
Modelo Exponencial Negativo.....	19
Modelo Constante.....	20
Cálculo del número de muestras de suelo para estudiar la densidad de esclerocios en los suelos.....	21
RESULTADOS.....	23
Determinación de la densidad horizontal de esclerocios presentes en los suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba.....	23
Patrón de distribución espacial de los esclerocios en suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba.....	25

Ajuste de modelos empíricos de dispersión espacial de esclerocios de <i>S. cepivorum</i> en suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba.....	29
Cálculo del número de muestras de suelo para estudiar la densidad de esclerocios en los suelos.....	33
DISCUSIÓN.....	36
CONCLUSIONES.....	43
CAPÍTULO 3. CARACTERIZACIÓN DE EPIDEMIAS DE LA PODREDUMBRE BLANCA DEL AJO Y LA CEBOLLA EN LA PROVINCIA DE CÓRDOBA.....	44
INTRODUCCIÓN.....	44
Objetivo general.....	48
Objetivos específicos.....	48
MATERIALES Y MÉTODOS.....	49
Descripción de las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, en dos zonas productoras de ajo de la provincia de Córdoba.....	50
Análisis de la relación entre densidad inicial de esclerocios en el suelo e incidencia final de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla	51
RESULTADOS.....	52
Descripción de las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, en dos zonas productoras de ajo de la provincia de Córdoba.....	52
Análisis de la relación entre densidad inicial de esclerocios en el suelo e incidencia final de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla	65
DISCUSIÓN.....	70
CONCLUSIONES.....	81
CAPÍTULO 4. MODELIZACIÓN DE LAS CURVAS DE PROGRESO DE LA PODREDUMBRE BLANCA DEL AJO Y LA CEBOLLA.....	84
INTRODUCCIÓN.....	84
Objetivo general.....	88
Objetivos específicos.....	89
MATERIALES Y MÉTODOS.....	89

Modelización de las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, en dos zonas productoras de ajo de la provincia de Córdoba.....	89
Modelos no lineales comúnmente usados en epidemiología.....	90
Estimación de parámetros por análisis de regresión lineal.....	92
Modelo mixto para la curva de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla.....	93
Comparación de las curvas de progreso estimadas para las dos zonas productoras en los distintos años.....	98
RESULTADOS.....	98
Modelización de las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, en dos zonas productoras de ajo de la provincia de Córdoba.....	98
Comparación de las curvas de progreso estimadas para las dos zonas productoras en los distintos años.....	107
DISCUSIÓN.....	110
CONCLUSIONES.....	120
CAPÍTULO 5. EFICACIA DE FUNGICIDAS IN VITRO PARA EL CONTROL DE <i>Sclerotium cepivorum</i>.....	123
INTRODUCCIÓN.....	123
Objetivo general.....	126
Objetivos específicos.....	126
MATERIALES Y MÉTODOS.....	127
Evaluación de la eficacia de control de fungicidas sobre los esclerocios de <i>S. cepivorum</i>	129
Evaluación de la eficacia de control de fungicidas sobre el micelio de <i>S. cepivorum</i>	130
RESULTADOS.....	131
Evaluación de la eficacia de control de fungicidas sobre los esclerocios de <i>S. cepivorum</i>	131
Evaluación de la eficacia de control de fungicidas sobre el micelio de <i>S. cepivorum</i>	133
DISCUSIÓN.....	135
CONCLUSIONES.....	142
Capítulo 6. CONCLUSIONES GENERALES.....	144
CONSIDERACIONES SOBRE FUTURAS LÍNEAS DE TRABAJO.....	146
BIBLIOGRAFÍA.....	148

LISTA DE TABLAS

Tabla 2. 1. Modelos de distribución espacial, índices de agregación y patrones de distribución espacial de esclerocios de <i>Sclerotium cepivorum</i> , con referencia a distintas distancias desde el canal de riego, en dos localidades de Córdoba, años 2001 a 2003.....	29
Tabla 2. 2. Modelos empíricos de dispersión espacial de esclerocios de <i>Sclerotium cepivorum</i> con referencia a distintas distancias del canal de riego, en dos localidades de Córdoba, años 2001 a 2003.....	31
Tabla 2. 3. Parámetros cantidad de esclerocios de <i>Sclerotium cepivorum</i> en la fuente (a_E), pendiente del gradiente de dispersión de esclerocios (b_E) y número medio de esclerocios (y), estimados para dos localidades de la provincia de Córdoba, en distintos años, en áreas adyacentes y alejadas del canal de riego.....	32
Tabla 2. 4. Números de muestras (n) y superficies de cada muestra para distintos coeficientes de variación de la media (CV_ξ) del número de esclerocios/100 g de suelo, con respecto a la superficie total de cada ensayo, para dos localidades de Córdoba. Años 2001 a 2003.....	34
Tabla 3. 1. Días medios de inicio y duración de las epidemias de podredumbre blanca del ajo y la cebolla (<i>Sclerotium cepivorum</i>) en cultivos de ajo, en dos localidades de la provincia de Córdoba, años 2002 a 2003.....	56
Tabla 3. 2. Incidencia inicial (y_0) y final (y_f) de epidemias de podredumbre blanca del ajo y la cebolla en cultivos de ajo (<i>Sclerotium cepivorum</i>), en dos localidades de la provincia de Córdoba, años 2001 a 2003.....	57
Tabla 3. 3. Incidencia final (y_f) de podredumbre blanca del ajo y la cebolla (<i>Sclerotium cepivorum</i>) en un cultivo de ajo, para dos categorías de densidad inicial de inóculo (DII), a distintas distancias del canal de riego en Cruz del Eje, años 2001 a 2003.	68
Tabla. 4. 1. Características de los modelos mixtos con efecto aleatorio de sujeto, comparados para los ambientes Cruz del Eje, años 2001 a 2003 y Jesús María, años 2001 y 2002 y las categorías de densidad inicial de inóculo, menor o igual a 15 y mayor de 15 esclerocios/100 g de suelo.....	97

Tabla 4. 2. Estimaciones de los parámetros ordenada al origen y pendiente mediante análisis de regresión lineal, para tres modelos estadísticos usados para describir las curvas de progreso de podredumbre blanca del ajo y la cebolla (<i>Sclerotium cepivorum</i>) en ajo, en dos localidades de la provincia de Córdoba, en distintos años.	100
Tabla 4. 3. Estimaciones de los parámetros α , β y γ (pendiente) mediante análisis de regresión no lineal, para tres modelos estadísticos usados para describir las curvas de progreso de podredumbre blanca del ajo y la cebolla (<i>Sclerotium cepivorum</i>) en ajo, en dos localidades de la provincia de Córdoba, en distintos años.....	101
Tabla. 4. 4. Valores de -2 Log Likelihood y BIC obtenidos para los modelos ajustados a los datos de incidencia de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (<i>Sclerotium cepivorum</i>) en Cruz del Eje, años 2001 a 2003 y Jesús María, años 2001 y 2002.	102
Tabla 4. 5. Parámetros “intercepto” (B) y pendiente (r) estimados para las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (<i>Sclerotium cepivorum</i>) en un sitio típico (efecto aleatorio (0, 0)), en cinco ambientes, Cruz del Eje años 2001 a 2003 y Jesús María años 2001 y 2002 y dos categorías de densidad inicial de inóculo (DII).....	103
Tabla 4. 6. Comparación de a pares de “interceptos” (B) y pendientes (r), estimados para las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (<i>Sclerotium cepivorum</i>) en un cultivo de ajo, en un sitio típico (efecto aleatorio (0,0), en cinco ambientes, Cruz del Eje años 2001 a 2003 y Jesús María años 2001 y 2002 y dos categorías de densidad inicial de inóculo (DII).....	109
Tabla 5. 1. Fungicidas evaluados para el control de <i>Sclerotium cepivorum</i> . Ingrediente activo (i.a), clasificación química y nombre químico, nombre comercial de la formulación del i.a. (NC) y empresa fabricante, tipo de formulación utilizada (F), concentración del i.a. en porcentaje (C) y dosis evaluadas en partes por millón (ppm).....	128
Tabla 5. 2. Esclerocios de <i>Sclerotium cepivorum</i> viables (%), recuperados del suelo tratado con distintos fungicidas y dosis después de las 120 horas de tratamiento, para dos aislamientos de Córdoba.....	132

Tabla 5. 3. Inhibición del crecimiento del micelio de <i>Sclerotium cepivorum</i> con respecto al crecimiento del micelio de la colonia control (%), para cada fungicida agregado al medio de cultivo (ADP 2%), en tres dosis.....	133
--	-----

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 2. 1. Densidades de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en suelo de dos localidades de la provincia de Córdoba, en distintos años.....24
- Fig. 2. 2. Densidades medias de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba, en distintos años.....24
- Fig. 2. 3. Mapas de la distribución de la densidad de inóculo (DI)* de *Sclerotium cepivorum* en suelos de Cruz del Eje, años 2001/ 200327
- Fig. 2. 4. Mapas de la distribución de la densidad de inóculo (DI)* de *Sclerotium cepivorum* en suelos de Jesús María, años 2001 y 2002.....28
- Fig. 2. 5. Densidad de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en función de la distancia al canal de riego para Cruz del Eje, en tres años, en el área del lote adyacente al canal de riego.....32
- Fig. 2. 6. Número de muestras de suelo para estimar densidad de esclerocios de *Sclerotium cepivorum*, en función de la media y el desvío estándar, en Cruz del Eje en tres años. Cálculos realizados con un total de 60 muestras en cada año35
- Fig. 2. 7. Número de muestras de suelo para estimar la densidad de esclerocios de *Sclerotium cepivorum*, en función de la media y el desvío estándar, en Jesús María, en dos años. Cálculos realizados con un total de 50 y 25 muestras, en cada año.....36
- Fig. 3. 1. Progreso anual de las temperaturas medias, máximas medias y mínimas medias del aire, en Cruz del Eje y Jesús María, Córdoba.....49
- Fig. 3. 2. Cantidad de sitios de muestreo en los que apareció por primera vez la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*), para cada fecha de evaluación de incidencia, en dos localidades de la provincia de Córdoba, años 2001 a 2003.....54
- Fig. 3. 3 Día de inicio de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*), para distintas densidades iniciales de esclerocios en el suelo de dos localidades de la provincia de Córdoba, años 2001 a 2003.....55

Fig. 3. 4. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (<i>Sclerotium cepivorum</i>) en un cultivo de ajo, en Cruz del Eje en tres años, para 60 sitios de muestreo cada año.....	60
Fig. 3. 5. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (<i>Sclerotium cepivorum</i>) en un cultivo de ajo, en Cruz del Eje en tres años, para sitios de muestreo con densidades iniciales de inóculo mayores a 15 esclerocios/100 g de suelo.....	61
Fig. 3. 6. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (<i>Sclerotium cepivorum</i>) en un cultivo de ajo, en Cruz del Eje en tres años, para sitios de muestreo con densidades iniciales de inóculo menores o iguales a 15 esclerocios/100 g de suelo.....	62
Fig. 3. 7. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (<i>Sclerotium cepivorum</i>) en un cultivo de ajo, en Jesús María en dos años, para 50 y 25 sitios de muestreo en los años 2001 y 2002, respectivamente.....	63
Fig. 3. 8. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (<i>Sclerotium cepivorum</i>) en un cultivo de ajo, en Jesús María, año 2002, para 25 sitios de muestreo.....	64
Figura 3. 9. Relación entre la densidad inicial de inóculo en el suelo (Nº de esclerocios/100 g de suelo) y la incidencia final (%) de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (<i>Sclerotium cepivorum</i>) para dos localidades de la provincia de Córdoba, en distintos años.....	66
Figura 3. 10. Relación entre la densidad inicial de inóculo en el suelo (Nº de esclerocios/100 g de suelo) y la incidencia final (%) de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (<i>Sclerotium cepivorum</i>) para Cruz del Eje en dos años, en dos zonas con respecto al canal de riego.....	67
Figura 3.11. Relación entre incidencia final (%) de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (<i>Sclerotium cepivorum</i>) y densidad inicial de inóculo en el suelo en número de esclerocios/100 g de suelo), para Cruz del Eje, años 2001 a 2003, en sitios de muestro con densidad inicial ≤ 15 esclerocios/100 g de suelo, ubicados en zonas del lote donde todos los sitios de muestreo tenían densidad inicial de inóculo baja (≤ 15 esclerocios/100 g de suelo).....	70

- Figura 4. 1. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un cultivo de ajo, para sitios típicos (efectos aleatorios (0,0)) en cinco ambientes, Cruz del Eje, años 2001 a 2003 y Jesús María, años 2001 y 2002 y dos categoría de inóculo inicial.....104
- Figura 4. 2. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un cultivo de ajo, para sitios hipotéticos con efectos aleatorios $u = \pm 0,67\sigma_u$ y $v = \pm 0,67\sigma_v$ y para sitios típicos con efectos aleatorios $u = 0, v = 0$, en Cruz del Eje para tres años y dos categorías de densidad inicial de inóculo.....106
- Figura 4. 3. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un cultivo de ajo, para sitios hipotéticos con efectos aleatorios $u = \pm 0,67\sigma_u$ y $v = \pm 0,67\sigma_v$ y para sitios típicos con efectos aleatorios $u = 0, v = 0$, en Jesús María para dos años y dos categorías de densidad inicial de inóculo.....107
- Figura 5. 1. Eficacia de control de los fungicidas sobre el micelio de *Sclerotium cepivorum*, independientemente de la dosis evaluada.....134

LISTA DE ABREVIATURAS Y/O SÍMBOLOS

ADP	Agar papa dextrosa
cm	Centímetro
DADS	Dialil-disulfuro
dm ³	Decímetro cúbico
ec.	Ecuación
EER-INTA	Estación Experimental Regional del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
Fig.	Figura
g	Gramo
g/l	Gramos por litro
ha	Hectárea
IB	Índice de bulbificación
INTA	Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
kg	Kilogramo
km	Kilómetro
m	Metro
m ²	Metro cuadrado
mm	Milímetro
°C	Grados Centígrados
p/p	Peso en peso
PCNB	Pentacloronitrobenceno
PICM	Porcentaje de inhibición de crecimiento del micelio
ppm	partes por millón
rpm	Revoluciones por minuto
<i>Syn.</i>	Sinónimo
TN	Toneladas
UNC	Universidad Nacional de Córdoba

INTRODUCCIÓN

El ajo (*Allium sativum* L.), originario de Asia Central (Kazajistán, Uzbekistán y Turkmenistán) fue introducido por los españoles en América a través de México, desde donde fue diseminado hacia el sur (McCollum, 1976). Argentina se encuentra entre los diez principales países productores de ajo a nivel mundial, con una superficie cultivada de 12.500 ha, una producción anual de 140.000 TN y un rendimiento promedio por hectárea que varía entre 8,4 y 10,8 TN/ha según los cultivares. El volumen de las exportaciones asciende a 91.174 TN, aproximadamente el 65 % de la producción total y representa 73,1 millones de dólares. Argentina ocupa el segundo lugar entre los países exportadores de esta hortaliza después de China (Alonso, 2005).

La superficie cultivada en Córdoba ha variado entre 250 y 600 ha en el último decenio, debido principalmente a la inestabilidad de los mercados externo e interno y a condiciones climáticas y ocupa el cuarto lugar luego de Mendoza, San Juan y Buenos Aires. Las principales zonas productoras de ajo de la provincia son las regiones Noroeste-Traslasierras con los Departamentos Cruz del Eje, Ischilín, San Alberto y San Javier y Centro-Norte, con los Departamentos Capital, Colón, Santa María, Río Primero y Totoral. El cultivar más difundido es el “Rosado Paraguayo” debido a que posee una excelente adaptación a las condiciones ambientales de la zona y posibilita abastecer al mercado entre septiembre y noviembre (“ajos tempranos”), cuando no hay oferta de las otras zonas productoras del país. Además, el producto logrado es de muy buena calidad, debido al mejoramiento genético y a la implementación de esquemas de producción de semillas de sanidad controlada, llevada a cabo por la Universidad Nacional de Córdoba (UNC), el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y productores. Por otra parte, este cultivo contribuye al sostenimiento de economías regionales en Córdoba, por la alta demanda de mano de obra que requiere durante la siembra, cosecha, clasificación y empaque, por ser un producto semiperecedero, por la época en la que se cosecha y por la posibilidad de exportación (Orecchia, 2005).

De acuerdo a encuestas realizadas a productores y agentes de extensión de las Estaciones Experimentales Regionales del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EER- INTA) de Cruz del Eje y Jesús María, en Córdoba existen grandes superficies de suelo infestadas con esclerocios de *Sclerotium cepivorum* Berk. Este patógeno causa la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, enfermedad de amplia distribución mundial que puede provocar pérdidas hasta del 100 % de la producción (Crowe, 1996; Pinto *et al.*, 1998). Los campos contaminados son descartados para el cultivo de ajo y todos los años se incorporan nuevos suelos para su producción, los que progresivamente se van contaminando. No obstante la investigación realizada en otros países sobre medidas de prevención y control, no existe a la fecha la posibilidad cierta de controlar esta enfermedad en las zonas productoras de ajo de la provincia de Córdoba. El manejo de la podredumbre blanca es complejo y las medidas aisladas de prevención, control cultural, químico y biológico, no proveen un control adecuado del patógeno (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996). La combinación de estas medidas en un programa de manejo integrado, se plantea como la única solución para realizar un manejo efectivo, consistente y confiable (Coley Smith, 1990; Crowe, 1996; Stewart y Fullerton, 1999). Esto implica la necesidad de contar con un mayor conocimiento de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla en las zonas de producción, en aspectos como la densidad y distribución del inóculo presente en los suelos, los factores que influyen en el desarrollo de las curvas de progreso de la enfermedad y los parámetros epidemiológicos que las identifican y la efectividad de control actual de los fungicidas disponibles. Este conocimiento de la enfermedad aún no ha sido generado para la provincia de Córdoba.

S. cepivorum, clase Agonomycetes (*Syn.* Mycelia Sterilia), orden Agonomycetales (*Syn.* Myceliales), se caracteriza por la ausencia de esporas sexuales y asexuales (Agrios, 2004). Causa podredumbre húmeda de las raíces y el bulbo, marchitamiento de la parte aérea y muerte de la planta. Sobre los bulbos se visualiza un micelio blanco, a partir del cual se forman abundantes esclerocios negros, redondos, uniformes y muy pequeños (0,2 - 0,6 mm) que constituyen el inóculo primario de la enfermedad. Recién formados poseen un período de dormancia constitutiva de 1 – 3 meses, durante los cuales no germinan aunque estén presentes plantas susceptibles y una vez superada esta dormancia lo hacen

exclusivamente en respuesta a exudados de las raíces de plantas de género *Allium* (Coley-Smith, 1959; Coley-Smith *et al.*, 1987; Crowe, 1996). En ausencia de cultivos estimulantes permanecen en dormancia exógena viables hasta 20 años, por efectos fungistáticos de los microorganismos del suelo, pero colocados en medios artificiales estériles germinan fácilmente (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996).

La germinación de los esclerocios, el crecimiento del micelio y el progreso de la enfermedad en el campo, están afectados principalmente por la temperatura y la humedad del suelo, la edad del cultivo y la densidad de raíces y plantas (Crowe y Hall, 1980a). La enfermedad se desarrolla entre 6 °C y 24 °C y -45 milibares y -3 bares, pero la actividad micelial en las raíces se detiene si la temperatura supera los 22 °C durante una hora por día (Crowe y Hall, 1980b; Crowe, 2002). Cuando los esclerocios germinan, el micelio penetra por las raíces y se instala primero en el disco y desde allí en el bulbo, luego crece desde las raíces y bulbos en descomposición a través del suelo e infecta plantas vecinas muy próximas (Crowe y Hall, 1980a). Entwistle (1990) y Crowe y Hall (1980a), afirman que bajo condiciones ambientales favorables, las plantas del género *Allium* pueden ser afectadas en cualquier estado de desarrollo, dependiendo del momento en que las raíces alcancen un esclerocio. Sin embargo, Pinto *et al.* (1998), encontraron que una estrecha relación entre la temperatura propicia para el hongo y la bulbificación del ajo, determina el momento de aparición de la podredumbre blanca y que las siembras realizadas en los meses más fríos, tienen tasas de progreso de la enfermedad más tempranas y rápidas, y una incidencia final más alta que a las realizadas en los meses más cálidos.

Cuando la enfermedad se instala por primera vez, produce pequeños grupos de plantas enfermas que en años sucesivos aumentan de tamaño (Crowe *et al.*, 1980; Crowe, 1996). En cultivos de cebolla y de ajo a medida que incrementa la densidad del inóculo también lo hace la incidencia de la enfermedad, pero debido a la propagación planta a planta, no existe una relación matemática simple entre la densidad de inóculo presente y la incidencia de la enfermedad en el campo (Crowe *et al.*, 1980). Así, bajas densidades de inóculo han sido asociadas con altas incidencias de la enfermedad (Coley-Smith, 1990).

Los esclerocios se distribuyen horizontalmente de manera irregular y con densidades variables en un mismo lote y uniformemente hasta los 25 cm de profundidad (Crowe y Hall, 1980a; Adams, 1981). Se dispersan principalmente con propágulos y maquinaria o agua de riego contaminados, originando patrones de distribución espacial y gradientes de dispersión (Crowe, 1996). Interacciones entre el patógeno, el hospedante, el ambiente y el hombre originan este movimiento del patógeno y las variaciones que resultan, tanto en la manifestación del patógeno como de la enfermedad, pueden describirse y cuantificarse como una característica epidemiológica (Campbell y Madden, 1990; Bassanezi *et al.*, 2003). El conocimiento de estos aspectos epidemiológicos espaciales permite conocer aspectos de la biología y ecología del patógeno, ubicar fuentes de inóculo, conocer los mecanismos de dispersión y establecer gradientes, seleccionar métodos de análisis de los datos y diseñar el muestreo (Bassenazi *et al.*, 2003; Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004).

Además, para comprender las relaciones entre los numerosos factores involucrados y poder aplicar los principios epidemiológicos en el control de una epidemia, es indispensable obtener la curva de progreso de la enfermedad. Esta curva integra al hospedante, al patógeno y al ambiente en una relación única. El análisis de éstas curvas permite determinar características epidemiológicas y anticipar el posible modelo matemático de mejor ajuste (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004). La selección de un modelo matemático apropiado para describir los datos de la curva de progreso, es esencial para el análisis temporal de las epidemias, ya que los parámetros estimados por el modelo son básicos para caracterizar, analizar, comprender y comparar las epidemias (Campbell y Madden, 1990). No obstante su utilidad, las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, no han sido realizadas en las zonas productoras de ajo de de nuestro país. Los aspectos epidemiológicos espaciales y temporales de esta enfermedad provienen de otros patosistemas.

Por otra parte, los fungicidas correctamente utilizados son una técnica valiosa dentro del manejo de las enfermedades. Entre los principales grupos químicos estudiados para el control de *S. cepivorum* se citan benzimidazoles, dicarboximidas, triazoles y fenil piridinamina (Clarkson *et al.*, 2006; Entwistle y Munasinghe, 1980; Entwistle y

Munasinghe, 1981; Fullerton *et al.*, 1995; Lane y Bowen, 2005; Lopes y Kimati, 1999; Tyson *et al.*, 1999; Utkhede, 1983; Zewide *et al.*, 2007). Sin embargo, la utilización de fungicidas para controlar esta enfermedad presenta inconvenientes. Entre éstos se han citado la degradación microbiana cuando se aplican al suelo, la resistencia cruzada entre grupos químicos, el desarrollo de resistencia por parte del patógeno y el prolongado período de protección del cultivo necesario cuando es destinado a cosecha de bulbos (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Delp, 1980; Littlely y Rahe, 1984; Tyson *et al.*, 1999). En nuestro país los fungicidas registrados para el control de *S. cepivorum* en ajo son carbendazim, tiabendazol y dicloram en tratamientos a bulbillos (CASAFE, 2007). Pero no se tienen en cuenta la protección necesaria durante el desarrollo del cultivo, la degradación microbiana de los fungicidas, la aparición de resistencia por parte del patógeno y estudios de eficiencia de control de otros grupos químicos. Para superar los inconvenientes derivados del uso de los fungicidas y lograr un control efectivo, es necesario conocer el efecto de fungicidas de grupos químicos con distintos modos de acción, sobre las poblaciones del patógeno presentes en la provincia de Córdoba.

Considerando lo expresado se plantean las siguientes hipótesis:

HIPÓTESIS

El conocimiento de aspectos epidemiológicos espaciales y temporales de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla permite fundamentar la identificación, selección y aplicación de técnicas adecuadas de manejo de la enfermedad.

La utilización de fungicidas de distintos modos de acción permite controlar a *Sclerotium cepivorum* y contribuye a reducir los inconvenientes derivados del uso de éstos.

OBJETIVOS GENERALES

Determinar características epidemiológicas espaciales y temporales de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla en dos zonas de producción de ajo de la provincia de Córdoba.

Evaluar la eficacia de fungicidas para el control de *Sclerotium cepivorum* originario de la provincia de Córdoba.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Analizar características epidemiológicas espaciales de *Sclerotium cepivorum* en suelos de la provincia de Córdoba.
- b) Caracterizar epidemias de podredumbre blanca del ajo y la cebolla en la provincia de Córdoba.
- c) Modelizar las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla en la provincia de Córdoba.
- d) Evaluar la eficiencia de fungicidas para el control de *Sclerotium cepivorum* originario de la provincia de Córdoba, en condiciones de laboratorio.

CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS ESPACIALES DE *Sclerotium cepivorum* EN SUELOS DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA

INTRODUCCIÓN

Los esclerocios de *S. cepivorum* se distribuyen en el suelo con densidades variables, horizontalmente de manera irregular y en profundidad uniformemente hasta los 25 cm (Adams, 1981; Crowe, 1996; Crowe y Hall, 1980a). Germinan exclusivamente en respuesta a exudados de las raíces de plantas de género *Allium*, pero en ausencia de cultivos hospedantes pueden permanecer viables en el suelo por períodos hasta de 20 años (Coley-Smith, 1990; Coley-Smith *et al.*, 1987). Cuando el patógeno se instala por primera vez, aparecen pequeños manchones de plantas enfermas, que en años sucesivos aumentan de tamaño, llegando a producir pérdidas hasta del 100% de la producción (Adams, 1981; Crowe, 1996; Crowe y Hall, 1980a; Pinto *et al.*, 1998).

De acuerdo a encuestas realizadas a productores y agentes de extensión de las Estaciones Experimentales Regionales (EER- INTA) de Cruz del Eje y Jesús María, en Córdoba existen grandes áreas infestadas con esclerocios de *S. cepivorum*. Los campos contaminados son descartados para el cultivo de ajo y todos los años se incorporan nuevos suelos para su producción, que progresivamente se van contaminando (Orecchia, com. pers.). Pese a la importancia de este hecho, no se ha determinado el origen de las infestaciones, como tampoco la densidad, distribución y mecanismo de dispersión de los esclerocios, ni la metodología de muestreo más adecuada para su determinación en los suelos de Córdoba. Los aspectos epidemiológicos espaciales conocidos de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla provienen de otros patosistemas.

Adams (1981) encontró que si bien el promedio de 16 parcelas muestreadas, en suelos naturalmente infestados en New Jersey, fue 40,2 esclerocios cada 100 g de suelo, los valores hallados variaron entre 6 y 136. También que la mayoría de las parcelas tenían entre 1 y 6 esclerocios cada 100 g de suelo y ocasionalmente pequeñas áreas contenían 100 o más. Al respecto, Crowe *et al.* (1980), hallaron poblaciones entre 0,1 - 100 esclerocios cada 100 g de suelo, en campos que habían sido cultivados con especies de *Allium* entre uno y ocho años antes, y poblaciones entre 0,1 - 1 esclerocios cada 100 g de suelo, en campos cultivados entre 10 y 15 años antes. Por otra parte, los mismos autores señalan que suelos que contenían entre 0,1 y 100 esclerocios cada 100 g de suelo antes de la emergencia de plantas de *Allium*, después de la cosecha del cultivo contenían entre 100 y 1.000 esclerocios. Además, los niveles de densidad de inóculo poscosecha más altos, resultaron en las parcelas que originalmente poseían las densidades de inóculo en preemergencia más bajas, entre 0,1 y 1 esclerocios cada 100 g de suelo (Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a). La mayoría de los autores coinciden en señalar que el patrón de distribución espacial característico de *S. cepivorum* es el agregado (Adams, 1981; Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980; Hartman y Datnoff, 1997). Sin embargo, en suelos recientemente infestados o cuando la densidad de esclerocios es muy baja, la distribución de los esclerocios puede ser aleatoria (Crowe *et al.*, 1980; Entwistle, 1990).

A partir de las raíces de una planta enferma el micelio puede propagarse 1-2 cm e infectar las raíces de plantas vecinas muy próximas, produciendo un conjunto de plantas enfermas (Crowe, 1996; Crowe y Hall, 1980a; Campbell y Madden, 1990; Mc Lean y Stewart, 2000). Cuando éstas mueren, los esclerocios se liberan y permanecen cerca de la superficie, constituyendo el inóculo para la próxima estación de cultivo. No obstante, pueden ser transportados de distintas maneras hasta otros sitios, originando distintos patrones de distribución espacial y gradientes de dispersión (Crowe, 1996; Crowe y Hall, 1980a; Campbell y Madden, 1990). Este movimiento y la variación resultante en la presencia del patógeno y de la enfermedad pueden describirse y cuantificarse como una característica epidemiológica (Bassanezi, *et al.*, 2003; Campbell y Madden, 1990). La susceptibilidad, el marco de plantación y el crecimiento del hospedante, como así también

las condiciones ambientales y las técnicas de cultivo, modifican la expresión del patrón de dispersión del inóculo (Cambell y Madden, 1990; Crowe y Hall, 1980a).

Según Campbell y Madden (1990), la disposición espacial de los individuos se puede visualizar rápidamente a través de mapas, que proporcionan un punto de partida para la realización de los análisis estadísticos. Otros métodos de análisis clásicos, muy utilizados y fáciles de calcular e interpretar, incluyen el ajuste de distribuciones de probabilidad discreta y el cálculo de índices de agregación (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004). Por otra parte, mediante el ajuste de modelos empíricos de dispersión se estiman parámetros como la pendiente del gradiente de dispersión y la cantidad de inóculo en la fuente de origen, que permiten explicar el modo de dispersión del patógeno, hacer inferencias acerca del rol y localización de las fuentes de inóculo y comparar patosistemas (Campbell y Madden, 1990; March *et al.* 2004; Minogue, 1986).

Por otra parte, Campbell y Madden (1990) afirman que la determinación del número mínimo de muestras de suelo, es de fundamental importancia para asegurar precisión, exactitud y confiabilidad en los resultados. Para su determinación sugieren dos modalidades, en forma gráfica y estableciendo previamente el valor del coeficiente de variación de la media, con el que se pretende trabajar. Asimismo, sugieren que es necesario tener algún conocimiento previo acerca de la densidad y distribución espacial que posee el inóculo, ya que el número mínimo de muestras para las poblaciones con distribución espacial agregada, es en general más grande que para las que poseen distribución regular o aleatoria. Si el conocimiento previo no existe en el contexto en estudio, debería utilizarse la información sugerida por la literatura, pero no existe ningún protocolo universal para establecer el diseño experimental y de muestreo. Al respecto, Adams (1981) sugirió que un muestreo sistemático del terreno tomando una submuestra cada 40 m², resultó el número más práctico para detectar esclerocios de *S. cepivorum* y que la metodología por él utilizada podría ser aplicable a otras áreas.

Numerosos estudios confirman que para los patógenos de las raíces, la densidad, la distribución y la dispersión del inóculo primario en el suelo, pueden influenciar

fuertemente las características de las epidemias (Campbell, 1986; Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004). Por este motivo, el conocimiento de las características epidemiológicas espaciales de *S. cepivorum* en Córdoba, permite mayor eficiencia en el diseño de programas de muestreo, en la selección de los métodos más apropiados para el análisis de los datos, en el estudio de aspectos de la biología del patógeno, en el ajuste de modelos a las curvas epidémicas y en el diseño experimental de ensayos de manejo de la enfermedades (Bassanezi, *et al.*, 2003; Campbell, 1986; Campbell y Madden, 1990; Crowe *et al.*, 1980; Johnston, 1986; March *et al.*, 2004).

Considerando la utilidad de los estudios de epidemiología espacial, se establecen como objetivos del presente capítulo:

Objetivo General

Analizar características epidemiológicas espaciales de los esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en suelos de la provincia de Córdoba.

Objetivos específicos

a) Determinar la densidad horizontal de los esclerocios presentes en suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba.

b) Estudiar el patrón de distribución espacial de los esclerocios, en suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba.

c) Ajustar modelos empíricos de dispersión espacial de los esclerocios, en suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba.

d) Calcular el número de muestras de suelo más apropiado para estudiar la densidad de los esclerocios presentes en los suelos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en dos zonas productoras de ajo de la provincia de Córdoba, Cruz del Eje (30° 44' latitud S; 64° 49' longitud O), en los años 2001, 2002 y 2003 y Jesús María (30° 59' latitud S; 64° 06' longitud O), en los años 2001 y 2002. En Cruz del Eje se trabajó en un lote naturalmente infestado, proveniente de cultivos previos de ajo, que presentaban sectores de plantas enfermas distribuidos heterogéneamente hasta el centro del lote. En Jesús María se trabajó en un lote que nunca había sido cultivado con Alliáceas y se infestó con esclerocios cultivados en laboratorio. Para ello se utilizó un aislamiento identificado como JM1 (1996), que se obtuvo a partir de un esclerocio que se formó sobre una planta de ajo proveniente de un suelo contaminado de Jesús María. El patógeno se cultivó en arena más harina de maíz en proporción 20:1 p/p y los esclerocios obtenidos fueron enterrados durante cuatro meses para romper la dormancia constitutiva (Coley- Smith 1959; Coley-Smith, *et al.*, 1987; Conles *et al.* 2001). Previamente a la utilización de los esclerocios en el ensayo se les comprobó la viabilidad en agar-agua al 2%, la cual resultó del 91% (Crowe *et al.*, 1980; Punja y Rahe, 1993). Para inocular el suelo se utilizaron 500 g de una mezcla de esclerocios más la arena en la cual se formaron. Para poder dispersar los esclerocios con la arena de manera homogénea en la superficie del ensayo, se mezclaron con 40 kg de tierra sana del mismo lote y se dispersaron al voleo un mes antes de la siembra. Luego se pasó una rastra de discos dos veces, en sentidos cruzados.

Las muestras de suelo se tomaron un día antes de la plantación del ajo, el 8/3/ 2001, el 28/2/2002 y el 26/3/2003, en Cruz del Eje y el 9/4/2001 y el 24/4/2002, en Jesús María. Para la realización de los ensayos, cada año se identificaron en forma sistemática 60 sitios de muestreo en Cruz del Eje y 50 y 25 sitios en Jesús María. Cada sitio de muestreo fue georeferenciado, registrando la distancia en metros desde el margen del canal de riego (latitud) y desde el primer surco lateral de la parcela (longitud) e identificado con

estaquillas metálicas. En Cruz del Eje, en el año 2001 el lote tuvo una superficie de 2.231,25 m² y cada muestra de suelo representó 37,19 m²; en los años 2002 y 2003 se evaluaron superficies de 2.408,00 m² en cada año y cada muestra de suelo representó 40,13 m². En esta localidad el ensayo se llevó a cabo en el mismo sitio durante los tres años pero con un diseño diferente en el año 2001. En Jesús María el lote tuvo 1.786,40 m² y 835,40 m² en los años 2001 y 2002, respectivamente y cada muestra de suelo representó superficies de 35,73 m² y 33,42 m² en cada año. En esta localidad el ensayo también se llevó a cabo en el mismo sitio durante los dos años, pero se trabajó en la mitad de la superficie en el año 2002. La superficie representada por la muestra de suelo obtenida en cada sitio de muestreo contiguo, representó un cuadrante a los fines de los análisis estadísticos. Los datos se analizaron con el programa para análisis estadísticos InfoStat (2006).

Los ensayos se implantaron con bulbillos de ajo del cultivar Rosado Paraguayo de calidad comercial y se condujeron con las técnicas de manejo habituales para cada zona. El marco de plantación fue 0,70 m entre surcos por 0,11 m entre bulbillos en Cruz del Eje y 0,10 m en Jesús María. La plantación se realizó el 9/3/2001, 1/3/2002 y 27/3/2003 en Cruz del Eje y el 10/4/2001 y 25/4/2002 en Jesús María y los ensayos se dieron por finalizados el 29/8/2001, 4/9/2002 y 27/8/2003 en Cruz del Eje y el 10/10/2001 y 20/9/2002 en Jesús María. La densidad inicial de plantas a los 50 días desde la plantación, fue de 128.471, 133.189 y 130.249 plantas/ha en los años 2001, 2002 y 2003 respectivamente, en Cruz del Eje y de 141.028 y 146.031 plantas/ha en los años 2001 y 2002 respectivamente, en Jesús María.

Determinación de la densidad horizontal de los esclerocios presentes en los suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba

En cada sitio se tomaron muestras de 1 kg de suelo, de los primeros 10 cm de profundidad y a una distancia recta de 2,5 m hacia cada lado del punto identificado con una estaquilla. Las muestras se secaron al aire y se pasaron por un tamiz de alambre de 1 mm de abertura de poro, para eliminar las piedras y restos de materia orgánica de mayor

tamaño. Modificando la metodología descrita por Crowe *et al.* (1980), de cada muestra se procesaron 100 g de suelo de Cruz del Eje y 250 g de suelo de Jesús María (Conles *et al.*, 2002). Cada muestra se colocó en un vaso de precipitado y se agregaron 100 ml de agua corriente, se dejó en reposo 5 minutos y luego se agitó. La suspensión se volcó sobre dos tamices metálicos superpuestos, de 0,710 mm y 0,180 mm de abertura de poro y se lavó con agua corriente durante 5 minutos. La fracción de suelo que permaneció sobre el segundo tamiz se lavó un tiempo adicional, hasta que el agua de lavado salió limpia, luego se volcó sobre un embudo de papel de filtro donde permaneció hasta que se secó completamente. Una vez secas las muestras de suelo, se colocaron cada una en un tubo de centrífuga de 45 cc de capacidad. Cada muestra se humedeció con 1 ml de agua destilada, luego se agregó una solución de sucrosa 2,5 M (densidad 1,33 kg/dm³), hasta completar una altura de la mezcla suelo-sucrosa dentro del tubo que permitiera mantener vacíos los 3 cm superiores. Las muestras así acondicionadas se centrifugaron a 570 g. (2.300 rpm) durante 10 minutos. Una vez retirados los tubos se dejaron reposar 10 minutos en posición vertical, posteriormente el sobrenadante de cada tubo fue volcado separadamente, sobre un tamiz de 0,710 mm de abertura de poro y enjuagado con agua corriente. La fracción de suelo que permaneció sobre el tamiz se colocó en una caja de Petri con 0,5 cm de agua y se observó bajo lupa binocular estereoscópica para detectar la presencia de esclerocios. La fracción de suelo que permaneció en el fondo de cada tubo fue descartada.

Los esclerocios de cada muestra fueron retirados del agua con una pinza y contados con una grilla colocada debajo de una caja de Petri de vidrio. Para evaluar su viabilidad se colocaron en agua destilada esterilizada durante 10 minutos para que se hidrataran y luego se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio comercial (50 g/l de Cl activo) al 10%, durante 1 a 3 minutos. Al cabo de ese tiempo se extrajeron, se presionaron con una pinza de punta fina y se sembraron en cajas de Petri con agar - agua al 2% (Crowe *et al.*, 1980). Las cajas se incubaron durante 5 días en una cámara a 19,5±0,5 °C y al cabo de ese tiempo se evaluó el porcentaje de esclerocios germinados. El micelio se observó bajo lupa binocular estereoscópica, iluminando desde arriba las cajas invertidas sobre un papel plateado brillante. Los esclerocios se consideraron viables cuando mostraron micelio de crecimiento esparcido y refringente a la luz, surgiendo desde la corteza (Crowe *et al.*,

1980). Se registró el número de esclerocios viables/ 100 g de suelo correspondiente a cada sitio de muestreo.

Para conocer como evolucionó en el tiempo la densidad de esclerocios en los lotes, se comparó el número medio de esclerocios/100 g de suelo de cada localidad, en cada año. La comparación se realizó en áreas de trabajo de tamaños semejantes y ubicadas en el mismo sector. Para ello los lotes se dividieron en dos zonas, una adyacente al canal de riego y otra alejada del canal. En Cruz del Eje, el área adyacente se consideró desde el margen del canal hasta los 86 m hacia el centro del lote, incluyó 30 sitios de muestreo y se compararon los promedios de los tres años. En la misma localidad, el área alejada del canal de riego abarcó desde los 86 m del canal hasta el final del lote, incluyó 30 sitios de muestreo y se compararon los años 2002 y 2003. En Jesús María, el área adyacente al canal de riego abarcó desde el margen del canal hasta los 116 m hacia el centro del lote, incluyó 25 sitios de muestreo y se compararon los promedios de los años 2001 y 2002. El análisis se realizó mediante un ANAVA y prueba de comparación de medias LSD de Fisher ($\alpha = 0,05$).

Patrón de distribución espacial de los esclerocios en suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba

El patrón de distribución espacial se estudió en Cruz del Eje en los años 2001, 2002 y 2003 y en Jesús María, en los años 2001 y 2002. Los análisis se realizaron mediante la confección de mapas bidimensionales, el ajuste de modelos teóricos de distribuciones de probabilidad discreta a los datos de frecuencia de densidad de esclerocios y el cálculo de índices de agregación (Campbell y Madden, 1990).

Mapas de distribución espacial

Con los datos del número de esclerocios viables/100 g de suelo en cada cuadrante, su superficie y las dimensiones de los lotes, se diseñaron mapas bidimensionales de

distribución espacial de los esclerocios (Campbell y Madden, 1990). Se establecieron ocho clases de densidad en número de esclerocios viables/100 g de suelo, por el método probabilístico (InfoStat, 2006).

Ajuste de datos a modelos teóricos de distribuciones discretas

Para cada localidad y año de estudio los valores de densidad de esclerocios obtenidos en cada cuadrante, se organizaron en una tabla de frecuencias y se probó el ajuste de modelos distribucionales teóricos sobre la distribución de frecuencia empírica. Se ajustaron las distribuciones de probabilidad discretas Poisson y Binomial negativa (InfoStat, 2006).

La distribución Poisson puede ser representada como:

$$P_{(x)} = \frac{\exp^{-\lambda} \cdot \lambda^x}{x!} \quad (2.1)$$

Donde $P_{(x)}$ es la probabilidad de que la unidad de muestreo analizada contenga x individuos ($x = 0, 1, 2, \dots$) y λ es la media poblacional estimada por la media muestral (X). Con la distribución discreta Poisson, la $\lambda = \sigma^2$, por lo tanto la variabilidad de los conteos aumenta con el nivel medio de los mismos. Cuando una variable, por ejemplo número de esclerocios viables/100 g de suelo, tiene disposición espacial aleatoria, la distribución de frecuencias de las observaciones es descripta por la distribución Poisson (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004).

La distribución Binomial negativa puede ser representada como:

$$P_{(x)} = \binom{\mu}{k}^{-k} \left(\frac{(k+x-1)!}{x! (k-1)!} \right) \binom{\mu}{\mu+k}^x \quad (2.2)$$

Donde $P_{(x)}$ es la probabilidad de que la unidad de muestreo analizada contenga x individuos ($x = 0, 1, 2, \dots$), μ es la media poblacional estimada por la media muestral (X) y

k es un índice de dispersión. El parámetro k puede ser estimado de distintos modos, por ejemplo:

$$k = \frac{X^2}{S^2 - X} \quad (2.3)$$

Dónde S^2 es la varianza muestral y X la media muestral. El parámetro k varía entre 0 e infinito positivo. Cuando $k = +\infty$, la distribución Binomial negativa es igual a la Poisson, pero en la práctica, ya cuando $k \geq 8$, las dos distribuciones no se diferencian. El parámetro k es considerado un índice de agregación, pero debe utilizarse solo cuando la distribución de frecuencia subyacente está descrita por la Binomial negativa. A medida que el valor del parámetro k se acerca a cero, indica mayor grado de agregación. Cuando una variable, por ejemplo número de esclerocios viables/100 g de suelo, tiene disposición espacial agregada, la distribución de frecuencias de las observaciones es descrita por la distribución Binomial negativa (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004).

Para probar si los valores de frecuencia provenientes de las distribuciones de probabilidad ajustadas, diferían significativamente de los valores de frecuencia observados, se aplicó la prueba de bondad de ajuste mediante el uso del estadístico Chi – cuadrado. La hipótesis nula especifica un modelo distribucional teórico para los datos, en este caso Poisson o Binomial Negativo. Un valor p menor al nivel de significación nominal de la prueba, conduce al rechazo del modelo distribucional propuesto (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004).

Cálculo de índices de agregación

Con los datos de densidad de esclerocios en cada cuadrante, se calcularon los índices relación varianza/media y de Morisita (Campbell y Madden, 1990).

El índice relación varianza/media (VM) se calculó dividiendo la varianza muestral por la media muestral, con los datos de densidad de esclerocios de todos los cuadrantes.

$$VM = S^2/X \quad (2.4)$$

Dónde S^2 es la varianza muestral y X la media muestral. El índice VM es un estimador de σ^2/μ y se espera que sea < 1 para una distribución espacial regular, $= 1$ para una distribución espacial aleatoria y > 1 para una distribución espacial agregada.

El índice de agregación propuesto por Morisita se calculó como:

$$I\delta = n [\sum x (x - 1)] / [\sum x (\sum x - 1)] \quad (2.5)$$

Resolviendo queda:

$$I\delta = n [\sum (x^2) - \sum x] / (\sum x)^2 - \sum x \quad (2.6)$$

Donde x representa el conteo en cada sitio de muestreo o cuadrante, en este caso el número de esclerocios viables/ 100 g de suelo y n representa el número de cuadrantes. Los valores del índice de Morisita tienen la misma interpretación que el índice VM (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004).

Ajuste de modelos empíricos de dispersión espacial de los esclerocios en suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba

Los gradientes de dispersión del inóculo de un patógeno representan la variación en la cantidad de inóculo dispersado y pueden resultar en gradientes de enfermedad (Campbell y Madden, 1990). Para estudiar los gradientes de dispersión de los esclerocios de *S. cepivorum* en Cruz del Eje y en Jesús María se tomó como referencia el canal de riego. Se ajustaron los modelos de Ley Ponderada (Ley de Potencia de Taylor) y Exponencial Negativo, a los datos de densidad de esclerocios y distancia desde el margen del canal de riego de cada sitio de muestreo (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004; InfoStat, 2006).

Modelo de la Ley Ponderada

Este modelo asume que la cantidad de inóculo del patógeno o la incidencia de la enfermedad, es inversamente proporcional a la distancia a la fuente de inóculo.

$$y = a_P x^{-b_P} \quad (2.7)$$

Donde y es la cantidad de inóculo o la intensidad de la enfermedad a diferentes distancias de la fuente de inóculo, x es la distancia, el parámetro a_P es la cantidad de inóculo en la fuente y el parámetro b_P la pendiente del gradiente y mide la tasa de disminución de y en función de la distancia desde la fuente de inóculo.

Para estimar los parámetros a_P y b_P la ecuación 2. 7 fue linearizada usando logaritmos naturales:

$$\ln (y) = \ln (a_P) - b_P \ln (x) \quad (2.8)$$

En la ecuación 2. 8 el $\ln (a_P)$ es el punto de intersección de la recta y b_P la pendiente del gradiente $\ln (y)$ y es adimensional. Comúnmente varía entre 0,1 (pendiente suave) a 5,0 (pendiente pronunciada). Los parámetros a_P y b_P se estimaron por análisis de regresión lineal. El valor del punto de intersección de la recta $\ln (a_P)$ se utilizó para comparar la cantidad de inóculo en la fuente y la pendiente b_P para comparar gradientes.

En el modelo de la Ley ponderada, a_P de la ecuación 2. 7, representa y cuando $x = 1$ (no 0), (es decir que $y = a_P 1^{-b_P} = a_P 1 = a_P$), entonces depende de las unidades de distancia utilizadas (cm, m, km). En este modelo, a medida que x se aproxima a cero y tiende a infinito, por consiguiente sobreestima la cantidad de inóculo en la fuente de origen ($x = 0$) (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004).

Modelo Exponencial Negativo

Este modelo asume que y disminuye exponencialmente con la distancia a la fuente de inóculo.

$$y = a_E e^{-b_E x} \quad (2.9)$$

Donde y es la cantidad de inóculo o la intensidad de la enfermedad a diferentes distancias de la fuente de inóculo, x es la distancia, el parámetro a_E es la cantidad de inóculo en la fuente y el parámetro b_E es la pendiente del gradiente y mide la tasa de disminución de y en función de la distancia desde la fuente de inóculo.

Para estimar los parámetros a_E y b_E la ecuación 2. 9 fue linearizada usando logaritmos naturales:

$$\ln (y) = \ln (a_E) - b_E x \quad (2.10)$$

En la ecuación 2. 10 el $\ln (a_E)$ es el punto de intersección de la recta y b_E la pendiente del gradiente $\ln (y)$ y tiene unidades de longitud explícitas (por ejemplo: cm^{-1} , m^{-1} , km^{-1}). Al igual que en la Ley ponderada un valor más grande de b_E significa una pendiente más pronunciada. Los parámetros a_E y b_E se estimaron por análisis de regresión lineal. El valor del punto de intersección de la recta $\ln (a_E)$ se utilizó para comparar la cantidad de inóculo en la fuente y la pendiente b_E para comparar gradientes.

En el modelo Exponencial Negativo, a_E de la ecuación 2. 9, no depende de las unidades de distancia, ya que el parámetro representa el valor de y en la fuente ($x = 0$) (es decir que $y = a_E e^{-b_E \cdot 0} = a_E = a$). Por lo tanto este modelo predice valores finitos de y a cualquier distancia, incluyendo la fuente de inóculo ($x = 0$), pero tiende a subestimar la cantidad de inóculo o enfermedad cerca de la fuente de origen (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004).

Modelo Constante

Cuando no hay disminución del inóculo o de la cantidad de enfermedad con el incremento de la distancia desde la fuente de origen, la pendiente es igual a cero y el modelo que ajusta a los datos es el modelo Constante (Balzarini, com. pers.).

$$y = \text{Constante} \quad (2.11)$$

Donde y es la cantidad de inóculo o la intensidad de la enfermedad promedio, que puede ser encontrado en cualquier punto de la superficie estudiada.

Los parámetros epidemiológicos pendiente del gradiente de dispersión y cantidad de inóculo en la fuente estimados por el modelo que ajustó a los datos, fueron comparados mediante el error estándar asociado, estableciendo el intervalo de confianza correspondiente a la diferencia entre los dos parámetros, de acuerdo con la metodología propuesta por Campbell y Madden (1990). En los casos en que ajustó el modelo constante, fueron comparados los valores promedio del número de esclerocios/100 g de suelo, que con sus respectivos errores estándar asociados, fueron utilizados para la construcción del intervalo de confianza (Campbell y Madden, 1990; Balzarini, com. pers.).

El intervalo de confianza para la diferencia entre los dos parámetros fue estimado por:

$$(\theta_1 - \theta_2) \pm t [P/2; n_1 + n_2 - (2p)] s [d] \quad (2.12)$$

Donde θ_1 y θ_2 representan los parámetros estimados para dos epidemias diferentes, p es el número de parámetros para cada modelo, n_1 y n_2 son el número de observaciones que se realizó para cada epidemia, $t [.]$ es el valor crítico de una tabla “ t ” con nivel de significancia $P/2$, $n_1 + n_2 - (2p)$ son los grados de libertad y $s [d]$ es el error estándar de la diferencia de los parámetros estimados.

El error estándar de la diferencia de los parámetros estimados ($s [d]$) es calculado como:

$$s [d] = (s^2 [\theta_1] + s^2 [\theta_2])^{1/2} \quad (2.13)$$

Donde $s^2 [\theta_1]$ y $s^2 [\theta_2]$ son las varianzas estimadas de los dos parámetros.

Si el intervalo de confianza no incluye el cero, puede rechazarse la hipótesis nula que establece que los valores de los parámetros comparados son iguales, a favor de la hipótesis alternativa de desigualdad, para el valor del nivel de significancia establecido (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004).

Cálculo del número de muestras de suelo para estudiar la densidad de los esclerocios en los suelos

Para cada localidad y año de ensayo se determinó el número mínimo de muestras (n) que permite obtener resultados confiables en distintos estudios epidemiológicos, utilizando dos modalidades del método de confiabilidad definido en ambos casos, por el error estándar (o por el coeficiente de variabilidad) (Campbell y Madden 1990).

Con la primera modalidad se estimó n de modo gráfico. Se calcularon la media (ξ) y el desvío estándar (s) del número de esclerocios/100 g de suelo para un número cada vez mayor de muestras y se graficaron en los ejes de las ordenadas (y e y'), con el tamaño de muestra en el eje de la abscisa (x). Después de un cierto número de muestras ambas curvas se paralelizan y el punto de (n) para el cual las curvas de media y desvío estándar presentan relativa estabilidad, puede ser elegido como el tamaño mínimo de muestra que asegurará confianza en los resultados (Campbell y Madden, 1990).

Con la segunda modalidad se calculó, el número de muestras necesarias para trabajar con un coeficiente de variación de la media del número de esclerocios/ 100 g de

suelo (CV_X) predeterminado. Los CV_X probados fueron 5%, 10%, 15%, 20%, 25% y 30%. El coeficiente de variación de la media muestral es igual a:

$$CV_X = (S_X / X) \quad (2.14)$$

Donde S_X es el error estándar y X la media de los datos.

Como el error estándar es igual a $S_X = \sqrt{S^2 / n}$, donde S^2 es la varianza muestral y n el número de muestras, luego el CV_X es igual a:

$$CV_X = S / \sqrt{n} X \quad (2.15)$$

y el número de muestras (n) es:

$$n = S^2 / X^2 CV_X^2 \quad (2.16)$$

La ecuación 2. 15 resume el principio fundamental de la determinación del tamaño muestral.

Un caso especial es cuando la agregación está presente en la población. Por definición $\sigma^2 = \mu + (\mu^2 / k)$, con S^2 y X como estimadores de σ^2 y μ , la ecuación 2. 16 queda

$$n = (1 / X) + (1 / k) / CV_X^2 \quad (2.17)$$

Donde k , el parámetro de la distribución Binomial negativa cuando la agregación está presente en la población, puede ser calculado a partir de estimaciones muestrales de la variancia y la media como $k = X^2 / (S^2 - X)$.

Otro caso especial es cuando la distribución de frecuencias de las observaciones es descrita por la distribución Poisson, indicando que poseen disposición espacial aleatoria. Por definición $\sigma^2 = \mu$ (o $X = S^2$), la ecuación 2. 16 se simplifica a:

$$n = 1 / X CV_X^2 \quad (2.18)$$

RESULTADOS

Determinación de la densidad horizontal de los esclerocios presentes en los suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba

Las distribuciones de frecuencias del número de esclerocios viables/100 g de suelo encontrados en Cruz de Eje, en 2001 a 2003 y en Jesús María, en 2001 y 2002 pueden observarse en la figura 2. 1. En Cruz del Eje, las densidades de inóculo de los distintos sitios de muestreo alcanzaron valores entre 0 y 69, 67 y 59 esclerocios viables/100 g de suelo en los años 2001, 2002 y 2003, respectivamente. En Cruz del Eje en el año 2002, se incluyó en el ensayo una zona alejada del canal de riego cuya densidad de inóculo era muy baja, con sitios con un esclerocio/ 100 g de suelo y sitios sin esclerocios. Esto originó una disminución en el número medio de esclerocios/ 100 g de suelo en ese año. En Jesús María, en el primer año de estudio se registraron densidades de inóculo muy bajas, entre 0 y 1,2 esclerocios viables/100 g de suelo. En el año 2002, se encontraron densidades de inóculo marcadamente superiores, registrándose valores desde 0 hasta 36 esclerocios viables/100 g de suelo.

La evolución del número medio de esclerocios/100 g de suelo en las superficies estudiadas, en los años sucesivos, se muestra en la figura 2. 2. En Cruz del Eje, tanto en la zona del lote adyacente al canal de riego como en la más alejada, la cantidad media de inóculo aumentó significativamente ($p < 0,0001$ y $p = 0,0003$) en cada año, con las sucesivas plantaciones de ajo (Fig. 2. 2 A y B). En Jesús María, la cantidad media de esclerocios contenida en la superficie estudiada, aumentó significativamente ($p < 0,0001$) y de manera notoria en dos años consecutivos con el mismo cultivo (Fig. 2. 2 C).

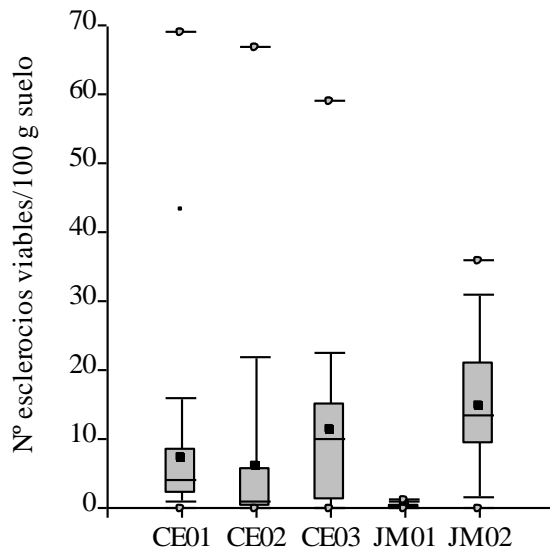


Fig. 2. 1. Densidades de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en suelo de dos localidades de la provincia de Córdoba, en distintos años.

CE01, CE02 y CE03: Cruz del Eje, años 2001, 2002 y 2003, respectivamente. JM01 y JM02: Jesús María, años 2001 y 2002, respectivamente.

Los puntos negros sobre las figuras representan las medias.

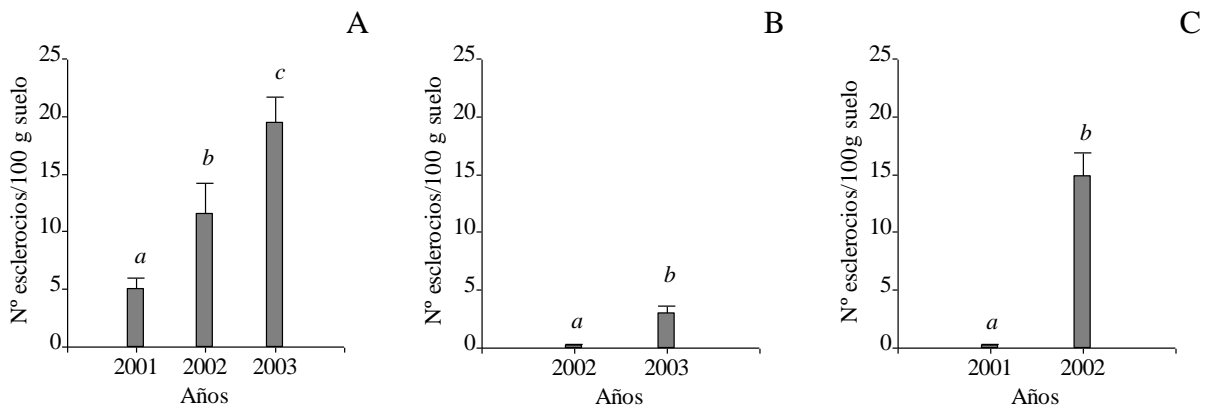


Fig. 2. 2. Densidades medias de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba, en distintos años.

A: Cruz del Eje, zona adyacente al canal de riego (0 m a 86 m). Valores medios de 30 sitios de muestreo.

B: Cruz del Eje, zona alejada del canal de riego (86 m a 172 m). Valores medios de 30 sitios de muestreo.

C: Jesús María, zona adyacente al canal de riego (0 m a 116 m). Valores medios de 25 sitios de muestreo.

Las líneas sobre las barras muestran el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas ($\alpha = 0,05$).

Patrón de distribución espacial de los esclerocios en suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba

Los mapas bidimensionales de distribución espacial de los esclerocios de *S. cepivorum* (Fig. 2. 3 y 2. 4), muestran los valores de densidad de inóculo encontrados en cada localidad y año, agrupados en ocho clases. En los mapas correspondientes al suelo de Cruz del Eje, puede observarse que los esclerocios se distribuyeron horizontalmente de manera heterogénea en el terreno, distinguiéndose sitios vecinos con cantidades variables de esclerocios y marcándose zonas claras de agregación (Fig. 2. 3 A, B y C). En los años 2002 y 2003, se observa mayor densidad de esclerocios en la zona adyacente al canal de riego, donde la mayoría de los sitios presentaron más de 5 esclerocios/100 g de suelo, con respecto a la zona más alejada del canal. En la zona más alejada del canal, en 2002 la densidad siempre fue menor a 1 esclerocio/100 g de suelo, pero en 2003 ya puede detectarse un incremento en la cantidad de inóculo, encontrándose sitios con densidades de hasta 15 esclerocios/ 100 g de suelo. En esta zona, en el año 2003 también se detecta un incremento en la agregación de los esclerocios con respecto al año anterior. Además, en los años 2002 y 2003 se observa que la densidad disminuye notoriamente a medida que aumenta la distancia al canal.

En Jesús María, donde el suelo fue artificialmente infestado, el primer año se observa una densidad siempre inferior a 1,2 esclerocios/100 g de suelo y uniformidad en la distribución de los esclerocios en todo el lote. En el segundo año, la densidad se incrementó a valores superiores a 10 esclerocios/100 g de suelo en la mayoría de los sitios y se advierte la presencia de notorias zonas de agregación (Fig. 2. 4 A y B). No obstante, a diferencia de lo que ocurre en Cruz del Eje, no se observa un gradiente en la densidad de esclerocios.

Los patrones de distribución espacial del inóculo de *S. cepivorum*, que resultaron del ajuste de distribuciones de probabilidad discreta, efectuado a los datos de frecuencia de densidad de esclerocios y del cálculo de los índices de agregación, se indican para cada localidad y año en la tabla 2.1. En Cruz del Eje en el año 2001, cuando la zona estudiada

abarcó desde el margen del canal de riego hasta los 62,5 metros hacia adentro del lote, los esclerocios presentaron un patrón de distribución agregado, ajustando el modelo Binomial Negativo con un índice de distribución (k) igual a 4,883. En esta situación, los valores de los índices de agregación relación varianza media y Morisita fueron mayores a uno. En el año 2002, en el área adyacente al canal de riego hasta la distancia de 86 metros hacia adentro del lote, los esclerocios presentaron un patrón de distribución espacial con un mayor grado de agregación, según el valor del índice k .

Mientras tanto, en la zona que va desde los 86 m hasta los 172 m en el final del lote, los esclerocios se distribuyeron de manera aleatoria y regular, según el modelo de distribución discreta que mejor ajustó (Poisson) y los valores de los índices de agregación (menores a 1), respectivamente. Al año siguiente (2003), el patógeno presentó un patrón de distribución agregado en todo el lote, ajustando el modelo Binomial Negativo con un índice de agregación (k) de valor intermedio con respecto a los años anteriores. Coincidentemente, los índices de agregación tuvieron valores mayores a uno.

En Jesús María en el año 2001, la distribución de frecuencias de las observaciones fue descrita por la distribución Poisson, mostrando los esclerocios una disposición espacial aleatoria. Pero, el valor de los índices calculados fue menor que uno, que indica que presentaron un patrón de distribución espacial regular. Sin embargo, al año siguiente la disposición espacial de los esclerocios mostró un patrón agregado, ya que ajustó el modelo Binomial Negativo y los dos índices tuvieron un valor mayor que uno.

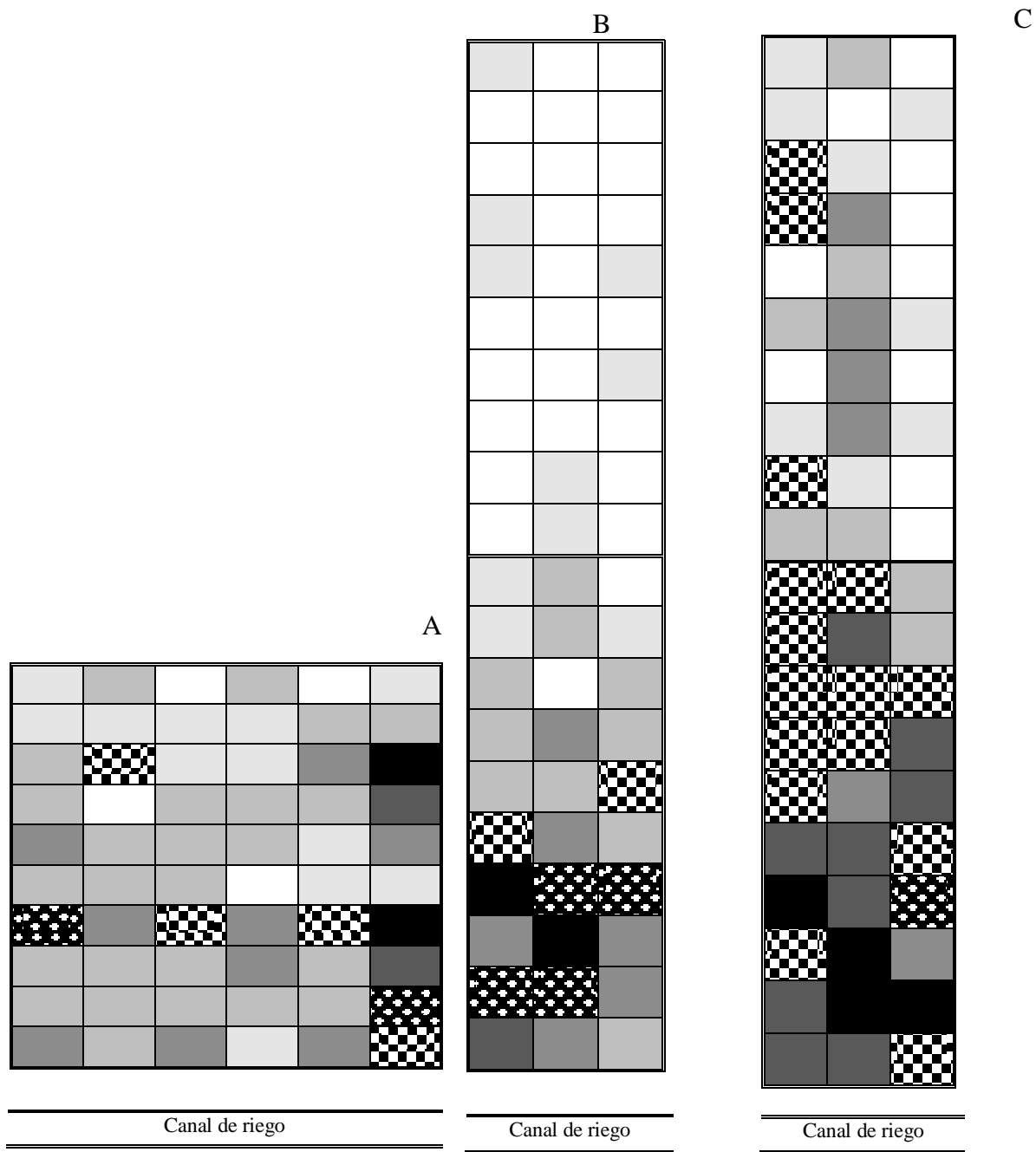
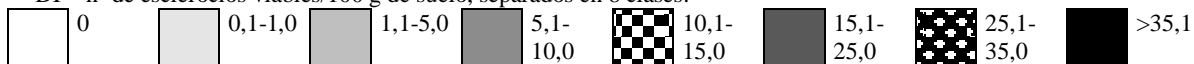


Fig. 2. 3. Mapas de la distribución de la densidad de inóculo (DI)* de *Sclerotium cepivorum* en suelos de Cruz del Eje, años 2001 a 2003.

* DI = n° de esclerocios viables/100 g de suelo, separados en 8 clases:



A. Año 2001: superficie total 2.231,2 m², ancho 35,7 m, longitud 62,5 m, superficie de cada cuadrante 37,2 m². **B.** Año 2002: superficie total 2.408,8 m², ancho 14,0 m, longitud 172,0 m, superficie de cada cuadrante 40,1 m². **C.** Año 2003: ídem año 2002.

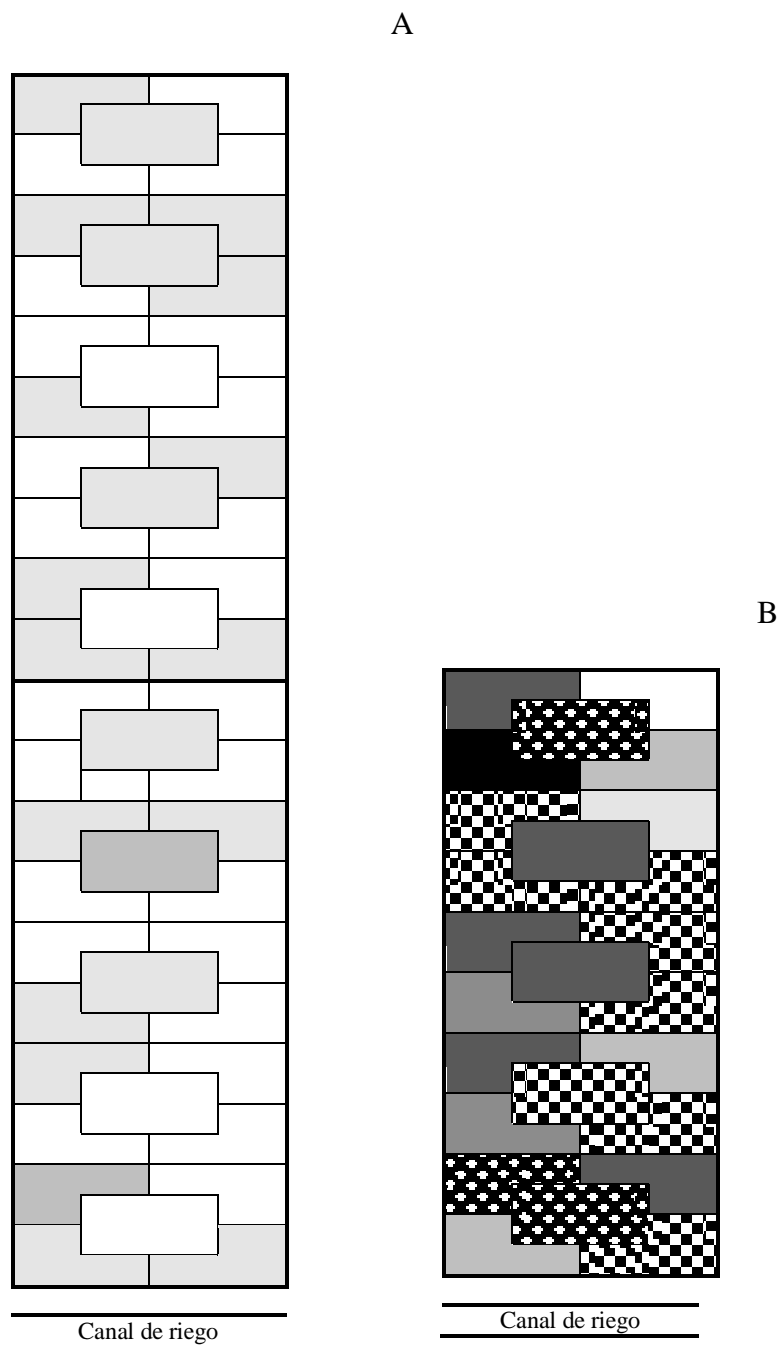
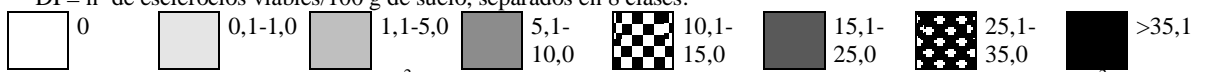


Fig. 2. 4. Mapas de la distribución de la densidad de inóculo (DI)* de *Sclerotium cepivorum* en suelos de Jesús María, años 2001 y 2002.

* DI = nº de esclerocios viables/100 g de suelo, separados en 8 clases:



A. Año 2001: superficie total 1.786,4 m², ancho 7,7 m, longitud 232,0 m, superficie de cada cuadrante 35,3 m². **B.** Año 2002: superficie total 835,4 m², ancho 7,7 m, longitud 108,5 m, superficie de cada cuadrante 33,4 m².

Tabla 2. 1. Modelos de distribución espacial, índices de agregación y patrones de distribución espacial de esclerocios de *Sclerotium cepivorum*, con referencia a distintas distancias desde el canal de riego, en dos localidades de Córdoba, años 2001 a 2003.

Localidad	Año	Distancia ⁽¹⁾	Modelo ajustado ⁽²⁾	Valor $p^{(3)}$	Índices de agregación		Patrón espacial
					$V/M^{(4)}$	Morisita	
Cruz del Eje	2001	0 – 62,5	Binomial negativa $k = 4,883$	0,052	16,7	3,1	Agregado
		0 - 86	Binomial negativa $k = 1,777$	0,101	19,3	2,5	Agregado
	2002	86 - 172	Poisson $\lambda = 0,233$	0,734	0,8	0	Aleatorio y regular
		0 - 86	Binomial negativa $k = 3,348$	0,442	8,3	1,4	Agregado
	2003	86 - 172	Binomial negativa $k = 0,562$	0,585	5,1	2,3	Agregado
		0 - 232	Poisson $\lambda = 0,600$	0,323	0,4	- 1,3	Aleatorio y regular
Jesús María	2002	0 – 108,5	Binomial negativa $k = 3,253$	0,591	6,9	1,4	Agregado

⁽¹⁾ Distancia (desde – hasta) del margen del canal de riego, en metros.

⁽²⁾ Modelo distribucional ajustado con parámetros estimados, k : índice de dispersión del modelo Binomial Negativo. λ : media poblacional estimada por la media muestral del modelo Poisson.

⁽³⁾ Valor p de la prueba de bondad de ajuste (estadístico Chi – cuadrado Pearson) para la H_0 : las observaciones provienen del modelo distribucional ajustado ($\alpha = 0,05$).

⁽⁴⁾ Índice de agregación relación varianza – media.

Ajuste de modelos empíricos de dispersión espacial de los esclerocios en suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba

En la tabla 2. 2, se indican los modelos de dispersión espacial de esclerocios de *S. cepivorum* que mejor ajustaron a los datos para cada localidad y año, a distintas distancias del canal de riego. Además, se indican las ecuaciones que corresponden a la cantidad de esclerocios/100 g de suelo (y) que se espera encontrar a cada distancia (x) del canal, según el modelo de dispersión que ajustó a los datos.

En la localidad Cruz del Eje, año 2001, el modelo Exponencial Negativo fue el que mejor explicó la dispersión del patógeno desde el margen del canal de riego hasta los 65 metros hacia adentro del lote (Tabla 2. 2). La pendiente estimada de la relación entre el número de esclerocios viables/100 g de suelo y la distancia al canal de riego fue de -0,03. En los años 2002 y 2003, cuando se estudió la dispersión espacial del patógeno en una distancia longitudinal desde el margen del canal de riego hasta los 172 metros, los gráficos de dispersión de los residuos estudentizados versus los valores predichos por el modelo, mostraron una estructura de residuos agrupados en dos conjuntos claramente separados. Esto indicó falta de homogeneidad en las varianzas, debido a la existencia de dos modelos diferentes dentro del mismo análisis (Balzarini, com. pers.). Considerando este aspecto y después de probar el ajuste de los modelos de dispersión a distintas distancias desde el canal, la superficie estudiada se dividió en dos partes, una hasta los 86 metros desde el canal y la otra desde esa distancia hasta el final del lote. En la zona adyacente al canal, ajustó el modelo de dispersión espacial Exponencial Negativo. Las pendientes estimadas fueron -0,04 y -0,01 en los años 2002 y 2003, respectivamente y los gráficos de residuos versus valores predichos mostraron un patrón aleatorio. La disminución en la densidad de esclerocios con el aumento de la distancia al canal de riego, puede apreciarse gráficamente en los diagramas de dispersión del logaritmo natural del número de esclerocios/100 g de suelo, en función de la distancia al canal (Fig. 2. 5). En cambio, desde los 86 m desde el canal hasta final del lote ajustó el modelo Constante, con pendiente igual a cero. En Jesús María, en 2001 y 2002, el número de esclerocios/100 g de suelo se mantuvo uniforme a medida que aumentó la distancia al canal de riego, ajustando un modelo de dispersión espacial constante (Tabla 2. 2).

Las comparaciones de los parámetros epidemiológicos, cantidad de inóculo en la fuente (a_E) y pendiente del gradiente de dispersión (b_E) en las áreas adyacentes al canal de riego, para Cruz del Eje en los años 2001 a 2003, se muestran en la tabla 2. 3. Además, pueden observarse las comparaciones de los números medios de esclerocios/100 g de suelo, estimados por el modelo constante en las áreas distantes del canal de riego en Cruz del Eje y en las áreas adyacentes al canal de riego en Jesús María. En Cruz del Eje, cerca del canal de riego la cantidad de inóculo aumentó significativamente ($p < 0,05$) del año 2001 al 2002, pero se mantuvo sin diferencias significativas ($p > 0,05$) del año 2002 al 2003

(Tabla 2. 3 y Fig. 2. 5). La pendiente del gradiente de dispersión del inóculo se mantuvo sin diferencias ($p > 0,05$) en los dos primeros años y fue significativamente menor ($p < 0,05$) en el año 2003, con respecto al 2002. Esto significa un aumento en la cantidad de inóculo presente en el centro del lote. En la zona alejada del canal de riego, la densidad media de inóculo aumentó significativamente ($p < 0,05$) del año 2002 al 2003, pero no hubo gradiente de dispersión, ya que la pendiente del modelo constante es cero. En Jesús María, la densidad media de inóculo en la zona adyacente al canal de riego aumentó significativamente ($p < 0,05$) del año 2001 al 2002 y no hubo disminución en la densidad de esclerocios, a medida que aumentó la distancia canal (Tabla 2. 3).

Tabla 2. 2. Modelos empíricos de dispersión espacial de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* con referencia a distintas distancias del canal de riego, en dos localidades de Córdoba, años 2001 a 2003.

Localidad	Año	Distancia ⁽¹⁾	Modelo ajustado ⁽²⁾	Valor p		
				PFA ⁽⁴⁾	Pendiente ⁽⁵⁾	
Cruz del Eje	2001	0 – 62,5	$y^{(3)} = 9,488 e^{-0,03 x}$	Exponencial Negativo	0,123	0,001
		0 - 86	$y = 33,448 e^{-0,04 x}$	Exponencial Negativo	0,055	0,000
	2002	86 - 172	$y = 0,310$	Constante	-	-
		0 - 86	$y = 30,569 e^{-0,01 x}$	Exponencial Negativo	0,372	0,001
	2003	86 - 172	$y = 3,000$	Constante	-	-
		2001	0 - 232	$y = 0,256$	Constante	-
Jesús María	2002	0 – 108,5	$y = 14,840$	Constante	-	-

⁽¹⁾ Distancia en metros (desde – hasta) del margen del canal de riego.

⁽²⁾ Modelo de dispersión espacial ajustado por regresión lineal y ecuación correspondiente al modelo.

⁽³⁾ y : valor de cantidad de esclerocios que se espera encontrar a cada distancia (x), predicho por el modelo de dispersión espacial ajustado; x : distancia al canal de riego.

⁽⁴⁾ Valor p de la prueba de falta de ajuste para la H_0 : el modelo ajusta ($\alpha = 0,05$).

⁽⁵⁾ Valor p de la prueba F para la H_0 : la pendiente es igual a cero ($\alpha = 0,05$).

- Valores no estimados para el modelo constante.

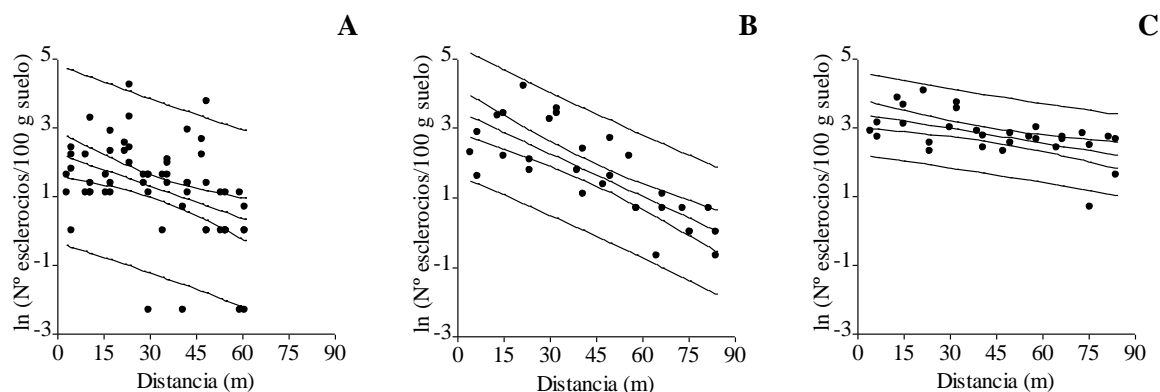


Fig. 2. 5. Densidad de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en función de la distancia al canal de riego para Cruz del Eje, en tres años, en el área del lote adyacente al canal de riego.

A: año 2001, desde el margen del canal de riego hasta 62,5 m hacia el centro del lote; B: año 2002 y C: año 2003, ambos desde el margen del canal de riego hasta 86 m hacia el centro del lote.

La línea central corresponde a la forma linearizada del modelo de dispersión espacial ajustado por regresión lineal (A: $\ln y = 2,25 - 0,03x$; B: $\ln y = 3,51 - 0,04x$; C: $\ln y = 3,42 - 0,01x$). Las líneas siguientes corresponden a las bandas de confianza, las líneas externas a las bandas de predicción, con probabilidad $1 - \alpha$ ($\alpha = 0,05$).

Tabla 2. 3. Parámetros cantidad de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en la fuente ($\ln(a_E)$), pendiente del gradiente de dispersión de esclerocios (b_E) y número medio de esclerocios (y), estimados para dos localidades de la provincia de Córdoba, años 2001 a 2003, en áreas adyacentes y alejadas del canal de riego.

Localidad	Año	Distancia ⁽¹⁾	$\ln(a_E)$	E.E.	b_E	E. E.	y	E. E.
Cruz del Eje	2001	0 – 62,5	2,25 a ⁽²⁾	0,330	-0,03 ab ⁽²⁾	0,010	-	-
		0 - 86	3,51 b	0,320	-0,04 a	0,010	-	-
	2002	86 - 172	-	-	-	-	0,31a ⁽²⁾	0,070
		0 - 86	3,42 b	0,210	- 0,01 b	0,004	-	-
	2003	86 - 172	-	-	-	-	3,00 b	0,700
		Jesús	2001	0 – 108,5	-	-	-	0,26 a
María	2002	-	-	-	-	14,84 c	2,020	

$\ln(a_E)$ y b_E : parámetros estimados por el modelo Exponencial Negativo. Los valores corresponden al punto de intersección y a la pendiente de la recta de la forma linearizada del modelo: $\ln(y) = \ln(a_E) - b_E x$.

y : valor predicho por el modelo constante, corresponde a la media de la densidad de esclerocios en 30 sitios para Cruz del Eje y en 25 sitios para Jesús María.

E.E.: Error estándar asociado al parámetro estimado por el modelo, con un nivel de significancia $\alpha = 0,05$.

⁽¹⁾ distancia en metros (desde - hasta) desde el margen del canal de riego.

⁽²⁾ valores seguidos por la misma letra dentro de una columna no difieren significativamente ($\alpha = 0,05$).

- Valores no estimados para esa distancia.

Cálculo del número de muestras de suelo para estudiar la densidad de esclerocios en los suelos

En las figuras 2. 6 y 2. 7, pueden observarse las determinaciones gráficas de los números mínimos de muestras (n) necesarios para obtener resultados confiables, para Cruz del Eje años 2001 a 2003 y Jesús María años 2001 y 2002. Para la localidad de Cruz del Eje, considerando los tres años de ensayos, las curvas comienzan a estabilizarse a partir de las 55 muestras (Fig. 2. 6). Considerando las superficies estudiadas cada año, éste número (n) representa una muestra de suelo cada $40,57 \text{ m}^2$ (2001) y cada $43,79 \text{ m}^2$ (2002 y 2003). Para Jesús María en el año 2001, las curvas de media y desvío estándar comienzan a estabilizarse a partir de las 40 muestras, pero la estabilización es más notoria a partir de las 45 muestras (Fig. 2. 7). Considerando la superficie estudiada en ese año, estos números (n) representan una muestra de suelo cada $44,66 \text{ m}^2$ y cada $39,70 \text{ m}^2$, para 40 y 45 muestras, respectivamente. Al contrario, en el año 2002, las curvas no se estabilizan para la cantidad de muestras tomadas (Fig. 2. 7).

En la tabla 2. 4 se muestran para cada localidad y año, los n necesarios para trabajar con CV_{ξ} predeterminados de 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25 y 0,30, y la superficie que representa una muestra de suelo de acuerdo a los n calculados, con respecto a la superficie total de cada ensayo. En Cruz del Eje, en los años 2001 a 2003 y en Jesús María en el año 2002, el cálculo se realizó utilizando la ecuación 2. 17, con los datos de densidad de esclerocios de 60 sitios de muestreo en cada año, en Cruz del Eje y de 25 sitios en Jesús María. En Cruz del Eje en el año 2002, si bien en la parte del lote más alejada del canal de riego la distribución fue aleatoria/regular (Tabla 2. 1), el cálculo también se realizó mediante la ecuación 2. 17, utilizando todos los sitios de muestreo del lote. Principalmente porque los esclerocios mostraron un patrón agregado en toda la superficie del lote al año siguiente. Además, porque solamente 30 muestras tomadas en el año 2002 en el área del lote alejada del canal, no hubieran resultado suficientes para la realización de estimaciones precisas del número mínimo de muestras. En Jesús María en el año 2001, donde la distribución de los esclerocios fue aleatoria/regular (Tabla 2. 1), el cálculo se realizó utilizando la ecuación 2. 18, con los datos de densidad de esclerocios de los 50 sitios de

muestreo de ese año. Como puede observarse en la tabla 2. 4, a medida que el coeficiente de variación de la media disminuye de 0,30 a 0,05, el número de muestras a tomar aumenta considerablemente y el área de suelo que representa cada muestra disminuye a valores inferiores a 5 m². Los CV_X con los que se trabajó en cada año variaron, tanto en Cruz del Eje como en Jesús María. Considerando que en Cruz del Eje se realizaron 60 muestras de suelo y que cada muestra representó una superficie de 37,2 m² en 2001 y de 40,1 m² en 2002 y 2003, los CV_X con los que se trabajó fueron 0,19; 0,26 y 0,14 para cada año, promediando un CV_X igual a 0,20. En Jesús María en 2001, se tomaron 50 muestras de suelo, considerando que cada una representó una superficie de 35,3 m² el CV_X con el que se trabajó fue de 0,28. En 2002, la superficie representada por cada una de las 25 muestras fue de 33,4 m² y el CV_X con que se trabajó fue 0,14, promediando un CV_X igual a 0,21. En la tabla 2. 4 puede calcularse que para trabajar con un nivel de CV_X igual a 0,20 se debería tomar en promedio, una muestra de suelo cada 50,57 m² en Cruz del Eje y cada 45,20 m² en Jesús María. Estos tamaños de muestra se corresponden marcadamente con los utilizados en los ensayos de ambas localidades.

Tabla 2. 4. Números de muestras (n) y superficies de cada muestra para distintos coeficientes de variación de la media (CV_X) del número de esclerocios/100 g de suelo, con respecto a la superficie total de cada ensayo, para dos localidades de Córdoba, años 2001 a 2003.

Localidad.	Año		$CV_\xi^{(1)}$					
			0,30	0,25	0,20	0,15	0,10	0,05
Cruz del Eje	2001	$n^{(2)}$	26	37	58	102	231	922
		Sup.	87,09	60,48	38,71	21,77	9,68	2,42
	2002	$n^{(2)}$	46	66	103	183	411	1643
		Sup.	52,76	36,64	23,45	13,19	5,86	1,47
	2003	$n^{(2)}$	14	20	31	55	124	496
		Sup.	174,75	121,36	77,69	43,69	19,42	4,85
Jesús María	2001	$n^{(3)}$	43	62	98	174	391	1562
		Sup.	41,16	28,56	18,29	10,29	4,57	1,14
	2002	$n^{(2)}$	5	7	12	21	46	185
		Sup.	162,28	112,69	72,12	40,57	18,03	4,51

Cruz del Eje: año 2001, superficie total 2.231,2 m². Años 2002 y 2003, superficie total 2.408,8 m² en cada año. Jesús María: año 2001, superficie total 1.786,4 m². Año 2002, superficie total 835,4 m².

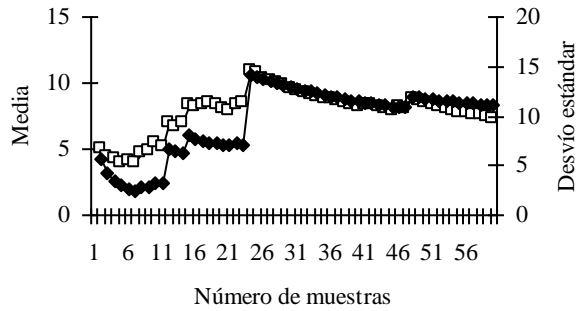
⁽¹⁾: Coeficientes de variabilidad de la media del número de esclerocios/100 g de suelo ($CV_X = (S_X / X)$)

$n^{(2)}$: Número de muestras calculado como $n = (1 / X) + (1 / k) / CV_X^2$; $k = X^2 / (S^2 - X)$.

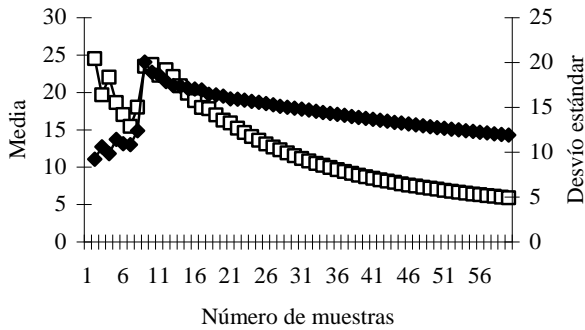
$n^{(3)}$: Número de muestras calculado como $n = 1 / X CV_X^2$

Sup.: Superficie en m² representada por una muestra de suelo, para el correspondiente valor de n calculado, para cada coeficiente de variabilidad.

A



B



C

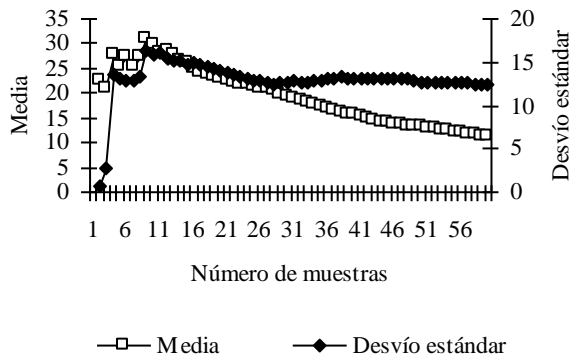
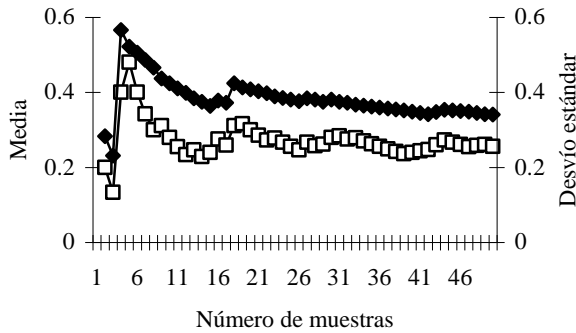


Fig. 2. 6. Número de muestras de suelo para estimar la densidad de esclerocios de *Sclerotium cepivorum*, en función de la media y el desvío estándar, en Cruz del Eje, años 2001 a 2003. Cálculos realizados con un total de 60 muestras en cada año.

A. Año 2001, superficie total 2.231,2 m², una muestra cada 37,2 m². **B.** Año 2002, superficie total 2.408,8 m², una muestra cada 40,1 m². **C.** Año 2003, ídem año 2002.

El número de muestras óptimo se lee en el eje de las abscisas cuando ambas curvas se estabilizan aproximadamente.

D



E

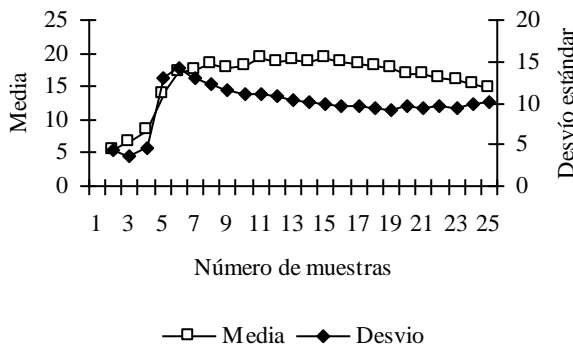


Fig. 2. 7. Número de muestras de suelo para estimar la densidad de esclerocios de *Sclerotium cepivorum*, en función de la media y el desvío estándar, en Jesús María, años 2001 y 2002. Cálculos realizados con un total de 50 y 25 muestras, en cada año.

D. Año 2001, superficie total 1.786,4 m², una muestra cada 35,3 m². E. Año 2002, superficie total 835,4 m², una muestra cada 33,4 m².

El número de muestras óptimo se lee en el eje de las abscisas cuando ambas curvas se estabilizan aproximadamente.

DISCUSIÓN

La cantidad de esclerocios encontrada en cada sitio de muestreo fue marcadamente variable en el lote de Cruz del Eje, en los tres años estudiados. Resultados semejantes encontraron Adams (1981) en lotes naturalmente infestados de New Jersey, y Crowe *et al.* (1980) en campos que fueron cultivados con especies de *Allium* durante 1 a 15 años. En cambio, en Jesús María el primer año se determinó una variación pequeña en la cantidad de esclerocios en los distintos sitios de muestreo. Pero al año siguiente esa variación fue más grande, aunque no tanto como la observada en Cruz del Eje. Estos resultados indican que

en los suelos naturalmente infectados de Cruz del Eje, aún en una superficie pequeña existe una marcada variación en la densidad de esclerocios. En cambio, cuando la infección se realiza artificialmente, como en Jesús María, la densidad de esclerocios en el suelo es prácticamente homogénea en el primer año.

Asimismo, es notorio el aumento de la cantidad media de inóculo con el transcurso de los años, en los lotes infectados ya sea natural o artificialmente. En Cruz del Eje, en la zona del lote adyacente al canal de riego, donde la cantidad de inóculo era más alta que en la zona más alejada del canal, la densidad media de esclerocios aumentó 2,3 veces desde el año 2001 al 2002 y 1,7 veces desde el año 2002 al 2003. En las situaciones en que la cantidad de inóculo era muy baja, la densidad media de esclerocios también aumentó, pero en mayor proporción. Así, en Cruz del Eje la densidad media de esclerocios incrementó 12,9 veces en la zona del lote más alejada del canal de riego, desde el año 2002 al 2003 y en Jesús María, incrementó 57,1 del año 2001 al 2002. Coincidentemente, Crowe *et al.* (1980) y Crowe y Hall (1980a) observaron aumentos en la cantidad de inóculo de *S. cepivorum* con el transcurso del tiempo, al realizar sucesivamente cultivos de Alliáceas. De acuerdo con estos autores, cuando hay numerosos esclerocios las raíces los alcanzan rápidamente y la mayoría de las plantas mueren cuando son pequeñas, proveyendo pocos nutrientes para la formación de más esclerocios. Además, debido al pequeño tamaño de las plantas cuando éstas mueren el contagio es menor, debido a que las raíces aún no están en contacto. Contrariamente, los mayores aumentos en la densidad de inóculo, registrados en las zonas con densidades originalmente más bajas, podrían deberse a que muchas plantas se van enfermando tardíamente en la estación de cultivo y proporcionan nutrientes de manera continua para la producción de una numerosa cantidad de esclerocios. Conjuntamente, si las plantas se infectan cuando ya están desarrolladas sus raíces se ponen en contacto y el contagio entre plantas vecinas es mayor que si se infectan cuando son pequeñas, tal como lo afirman Crowe *et al.* (1980) y Crowe y Hall (1980a). En coincidencia con estos autores y conforme a los resultados obtenidos, es evidente que tanto en Cruz del Eje como en Jesús María, al cultivar ajo continuamente en el mismo lote, la cantidad media de esclerocios en el suelo aumenta cada año, principalmente en las zonas con densidad de inóculo más baja y en menor medida en las zonas con densidades más altas.

Por otra parte, los mapas de densidad y distribución del inóculo de *S. cepivorum* permitieron una rápida visualización de las características espaciales del patógeno en los lotes en estudio, tal como lo afirman Campbell y Madden (1990). La notable variación en la densidad de esclerocios entre los distintos sitios de muestreo, observada en los mapas de Cruz del Eje, coincidió con lo hallado por Adams (1981) en lotes naturalmente infectados de New Jersey. El análisis de los mapas de Cruz del Eje revela que hay un aumento en la cantidad y en la agregación del inóculo con el transcurso de los años (Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a) y que la densidad del inóculo disminuye con el aumento de la distancia al canal de riego, tomado como referencia para localizar los sitios de muestreo. El análisis de los mapas del lote de Jesús María, también revela un notable aumento en la cantidad de inóculo de un año al siguiente (Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a). Sin embargo, a diferencia de Cruz del Eje, se observó uniformidad en la distribución de los esclerocios en el primer año, como resultado de la infestación artificial del lote. Además, en ambos años se observó falta de gradiente en la densidad del inóculo. Estas características no son comunes en campos infestados naturalmente (Cambell y Madden, 1990; Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980). No obstante, en el segundo año el mapa ya indica agregación de los esclerocios en el suelo.

Tanto el modelo distribucional ajustado como el valor de los índices de agregación coincidieron en indicar que el patrón de distribución espacial de los esclerocios fue todos los años agregado, en la zona adyacente al canal de riego en Cruz del Eje. Este resultado coincide con el patrón de distribución característico para éste patógeno, observado por diversos autores (Adams, 1981; Campbell y Madden, 1990; Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980; Hartman y Datnoff, 1997). Según lo indicado por el índice de agregación (k) de la distribución Binomial Negativa (Campbell y Madden, 1990), el grado de agregación del patógeno fue mayor en el segundo año de ensayos con respecto al primero, presentando un comportamiento intermedio en el tercer año. En cambio, en la zona más alejada del canal, en el año 2002, donde la densidad de inóculo de todos los sitios fue muy baja, igual o menor a un esclerocio cada 100 g de suelo, la probabilidad de encontrar un esclerocio fue la misma para todos los puntos del lote. Similares observaciones fueron hechas por Crowe *et al.* (1980) y Entwistle (1990) en lotes naturalmente infestados con bajas densidades de inóculo, donde también observaron una

distribución aleatoria. Sin embargo, al año siguiente (2003), los escasos esclerocios presentes en esta zona del lote de Cruz del Eje actuaron como fuentes puntuales, alrededor de los cuales el patógeno se fue agregando (Campbell y Madden, 1990; Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a; McLean y Stewart, 2000). Algo semejante ocurrió en Jesús María, donde en el primer año de estudio el ajuste de distribuciones de probabilidad discretas indicó un patrón aleatorio y los índices de agregación un patrón uniforme, pero al año siguiente todos los análisis revelaron la existencia de un patrón agregado. Este cambio en el patrón de distribución espacial y el importante aumento en la densidad de inóculo del primer año al segundo, pudieron surgir como consecuencia de la baja densidad de inóculo y su distribución uniforme en el ciclo anterior de cultivo. Debido a esto, la mayoría de las plantas se infectaron por contacto directo de las raíces con algún esclerocio, cuando ya estaban desarrolladas y conjuntamente, la diseminación planta a planta a través del micelio, incrementó la base nutricional sobre la cual se multiplicaron los esclerocios (Crowe, 1996; Crowe, *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a; McLean y Stewart, 2000). En consecuencia, los resultados de estos ensayos demuestran que los esclerocios de *S. cepivorum* en los suelos de la provincia de Córdoba tienden naturalmente a tener un patrón de distribución agregado. No obstante, en las zonas con baja densidad de inóculo la distribución puede ser aleatoria y en ese caso, el inóculo se va agregando a medida que se multiplica.

El modelo de dispersión del inóculo Exponencial Negativo, es el que mejor explicó la dispersión del patógeno en la zona del lote adyacente al canal de riego, todos los años en Cruz del Eje (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004). Si bien este resultado concuerda con lo observado en los mapas de distribución del inóculo, a partir de la observación de éstos no quedaba lo suficientemente claro, si la disminución en la cantidad de esclerocios existía a lo largo de todo el lote o solamente hasta el centro de éste. Los análisis estadísticos revelaron que desde el centro hasta el final del lote, ajustó el modelo Constante, en los años 2002 y 2003. A pesar de la gran utilidad y sencillez de los modelos empíricos de dispersión (Minogue, 1986; Campbell y Madden, 1990; March *et al.* 2004), ningún autor los ha utilizado para estudiar la dispersión del inóculo de *S. cepivorum*. Tampoco ha sido hecha ninguna inferencia, mediante la utilización de estos modelos, acerca de cual podría haber sido el mecanismo de dispersión y el origen de la infección en

los suelos. A partir de los resultados obtenidos en estos ensayos, es claro que en la zona adyacente al canal de riego del lote de Cruz del Eje, la cantidad de esclerocios que se espera encontrar en cada sitio disminuye exponencialmente con el aumento de la distancia desde el canal. Pero, desde el centro hasta el extremo final del lote, existe la probabilidad de encontrar la misma cantidad de esclerocios a cada distancia desde el canal.

Por otra parte, la cantidad de inóculo ($ln_{(aE)}$) en la zona adyacente al canal de riego aumentó en el segundo año de ensayos y se mantuvo sin diferencias en el tercer año. Este resultado concuerda con lo manifestado por Crowe *et al.* (1980) y Crowe y Hall (1980a), con respecto a que la densidad de inóculo puede aumentar, estabilizarse o fluctuar un poco, pero probablemente permanecerá en niveles altos con la plantación continuada de cultivos de *Allium* en suelos infestados. Además, la pendiente, que representa la variación de la cantidad de inóculo con respecto a la distancia (b_E), se mantuvo igual los dos primeros años y fue menor al tercer año. Esto demuestra que en Cruz del Eje, la contaminación con esclerocios de *S. cepivorum* fue progresando hacia el centro del lote con el transcurso de los años. Asimismo, la mayor densidad de esclerocios en la zona adyacente al canal de riego y su disminución hacia el centro del lote, sugiere que el origen de la infección fueron las zonas aledañas contaminadas por donde pasa previamente el agua de riego. Posteriormente, con el uso recurrente del riego por gravedad y de maquinarias para laboreo del suelo, los esclerocios se fueron dispersando hacia el centro del lote a través de los años, tal como lo expresan Crowe (1996), Crowe *et al.* (1980) y Coley-Smith (1990). De la misma forma, esto ocurre en una amplia zona de producción de Cruz del Eje, donde gran parte de los campos en los que se produce ajo presentan mayor incidencia de podredumbre blanca en las cabeceras, donde comienzan el riego y las labores del suelo. Es en esas áreas, donde pueden verse los primeros grupos de plantas enfermas cuando la enfermedad aparece por primera vez (*Oreochia com. pers.*). Estas evidencias demuestran que en Cruz del Eje la principal fuente de inóculo del lote en estudio son las zonas aledañas contaminadas, por donde pasa previamente el agua de riego que ingresa al lote y que los esclerocios se dispersan mediante el riego y las labores culturales, infectando zonas no contaminadas.

En contraste con los resultados obtenidos en Cruz del Eje, en Jesús María el modelo Constante fue el que mejor explicó la dispersión del inóculo en los dos años estudiados (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004). El hecho que ajustara este modelo se debió a que la infección artificial de este lote, se realizó intentando lograr homogeneidad en la densidad y distribución de los esclerocios. Consecuentemente, la falta de gradiente del inóculo, conjuntamente con la elevada densidad y la importante agregación de los esclerocios en el segundo año de ensayos, representan condiciones ideales para la realización futura de ensayos de control de la podredumbre blanca en este lote (Crowe *et al.*, 1980; Johnston, 1986).

Con respecto al número mínimo de muestras (n) para obtener resultados confiables, el método de estimación gráfica indicó tomar no menos de 55 muestras en Cruz del Eje, equivalentes a una cada $40,57 \text{ m}^2$ en 2001 y una cada $43,80 \text{ m}^2$ en 2002 y 2003. De acuerdo con estimación gráfica, también en Jesús María, en el primer año de ensayos el número de muestras se podría haber reducido a 45, equivalentes a una muestra cada 40 m^2 . En cambio, en el año 2002, las 25 muestras de suelo analizadas en esta localidad, fueron insuficientes para aproximar el número de muestras con certeza mediante el método gráfico. A pesar que esta determinación gráfica es aproximada y su interpretación es subjetiva (Campbell y Madden, 1990), los resultados obtenidos en los presentes ensayos coinciden ajustadamente con lo sugerido por Adams (1981), cuya investigación se había tomado como referencia. Debido a que este autor trabajó con numerosos campos de productores, consideró como una submuestra a la cantidad de suelo recolectado en cada sitio de 40 m^2 y unió las 50 submuestras procedentes de un área de 2000 m^2 , procesando 100 g de suelo del conjunto resultante. Sin embargo, lo importante es que el suelo estuvo sistemáticamente muestreado en un punto cada 40 m^2 . En la presente investigación, debido a la reducida superficie del ensayo, se decidió procesar la muestra obtenida en cada sitio separadamente, para poder tener un panorama exacto de la situación y realizar análisis estadísticos precisos. En consecuencia, de acuerdo a lo indicado por el método gráfico, en los ensayos realizados en Córdoba se trabajó con un número de muestras ligeramente superior al adecuado.

Por otra parte, los resultados obtenidos revelan que tanto en Cruz del Eje como en Jesús María, los CV_X con los que se trabajó estuvieron entre 0,28 y 0,14, promediando un CV_X 0,20, considerado de buena precisión por Campbell y Madden (1990). Además, la superficie que cada muestra de suelo representó estuvo entre 33,4 m² y 40,1 m², promediando 37,26 m², que es un valor cercano al propuesto por Adams (1981), para determinar la densidad de esclerocios de *S. cepivorum* en los suelos. Pero, para haber trabajado con un CV_X 0,20 en todos los ensayos, se debería haber tomado en promedio, una muestra de suelo cada 50 m². También, de estos resultados puede inferirse que cuando en un área la densidad de inóculo promedio es tan alta como Cruz del Eje año 2003 o en Jesús María año 2002, tomando una muestra de suelo cada 80 m², lo que representaría tomar 25 muestras en una superficie de 2.000 m², ya se estaría trabajando con un CV_X predeterminado de 0,20, considerado de buena precisión. Esto indica que el número de muestras analizado en estos dos ensayos fue superior al mínimo requerido para trabajar con buena precisión. En contraste con esto, cuando la densidad de inóculo es tan baja como en Cruz del Eje año 2002 o en Jesús María año 2001, para trabajar con un CV_X predeterminado de 0,20, debería tomarse una muestra de suelo cada 20 m², lo que representaría tomar 100 muestras en una superficie de 2.000 m². Esto indica que el número de muestras analizado en estos dos ensayos fue inferior al mínimo requerido para trabajar con buena precisión. Esto se debió a que en aquellos casos en que la media de la densidad de inóculo es muy baja, como cuando el patógeno recién se instala, puede resultar dificultoso detectar fuentes de infestación incipientes a partir de un bajo número de muestras (Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980; Coley-Smith, 1990; Entwistle, 1990). Sin embargo, de acuerdo a lo manifestado por Campbell y Madden (1990), tomar un elevado número de muestras puede hacer complicada la evaluación y en la práctica se puede decidir el grado de precisión de trabajo de acuerdo de la superficie que se quiera estudiar. Por este motivo, a partir del análisis de los resultados obtenidos en este trabajo se puede concluir que si no existe ningún conocimiento previo de las características del lote, para determinar la densidad de esclerocios de *S. cepivorum* es necesario realizar un muestreo sistemático del terreno, extraer una muestra de suelo cada 50 m² y procesar 100 gramos de suelo por punto de muestreo, con ello se lograría trabajar con un coeficiente de variación entre 0,25 y 0,15.

CONCLUSIONES

En Cruz del Eje existe una variación muy grande de la densidad de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* dentro de un mismo lote, aún en una superficie pequeña.

Al cultivar ajo en forma continuada, la cantidad media de esclerocios de *S. cepivorum* en el suelo aumenta cada año, en mayor medida en las zonas con baja contaminación y en menor medida, en las zonas con alta contaminación.

Los esclerocios de *S. cepivorum* en los suelos de la provincia de Córdoba tienden naturalmente a tener un patrón de distribución agregado. No obstante, en las zonas con baja densidad de inóculo la distribución puede ser aleatoria y en ese caso, el inóculo se va agregando a medida que se multiplica.

En la zona adyacente al canal de riego del lote de Cruz del Eje, la cantidad de esclerocios que se espera encontrar disminuye exponencialmente con el aumento de la distancia desde el canal. Pero, desde el centro hasta el extremo final del lote la densidad de inóculo no varía con la distancia.

En Cruz del Eje, la principal fuente de inóculo del lote en estudio son las zonas aledañas contaminadas, por donde pasa previamente el agua de riego que ingresa al lote y el inóculo se dispersa mediante el uso recurrente del riego por gravedad y las labores del suelo.

La densidad de inóculo de *S. cepivorum* se puede determinar con precisión y obtener resultados confiables mediante la realización de un muestreo sistemático del terreno, la extracción de una muestra de suelo cada 50 m² y el procesamiento de 100 gramos de suelo por sitio de muestreo.

CARACTERIZACIÓN DE EPIDEMIAS DE LA PODREDUMBRE BLANCA DEL AJO Y LA CEBOLLA EN LA PROVINCIA DE CÓRDOBA

INTRODUCCIÓN

La podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*S. cepivorum*) causa pudrición húmeda de las raíces y el bulbo, marchitamiento de la parte aérea y muerte de la planta. (Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980). Esta enfermedad es el principal factor limitante para la producción comercial de cultivos de Alliáceas, en aquellas regiones en las cuales una parte significativa del crecimiento del hospedante se produce durante la estación fría, llegando a ocasionar pérdidas hasta del 100% de la producción (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996). Debido a que su control es complejo, la combinación de medidas de prevención, control cultural, químico y biológico en un programa de manejo integrado se plantea como la única solución para realizar un manejo efectivo (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Stewart y Fullerton, 1999). Al respecto, diversos autores (Berger, 1977; Campbell, 1986; Campbell y Madden, 1990) indican que el desarrollo e implementación de estrategias efectivas de manejo de una enfermedad, se fundamentan en el conocimiento y comprensión de los factores que contribuyen al desarrollo de las epidemias, para lo cual es necesario determinar y cuantificar las características de las epidemias.

La podredumbre blanca es un factor limitante para producción de ajo, en las principales zonas productoras de este cultivo de la provincia de Córdoba. La mayor parte del desarrollo de las plantas se produce durante los meses más fríos del año y cuando la enfermedad aparece causa grandes pérdidas, que no han sido cuantificadas de manera precisa. Además, no existen estrategias efectivas de manejo de esta enfermedad en la

región (Orecchia, 2005; Orecchia *et al.*, 2003). Se ha observado que los síntomas comienzan a visualizarse en el mes de mayo, que a partir de ese momento el número de plantas enfermas aumenta y durante la cosecha las pérdidas pueden ser prácticamente totales. Sin embargo, las características de las epidemias de podredumbre blanca no han sido determinadas con exactitud ni cuantificadas, en las zonas productoras de ajo de nuestro país. Tampoco se conoce la relación que existe entre la densidad de esclerocios que hay en el suelo previamente a la plantación y la incidencia que puede alcanzar esta enfermedad en la cosecha.

Los aspectos epidemiológicos conocidos de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla provienen de otros patosistemas (Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a; Pinto *et al.*, 1998). De acuerdo a lo afirmado por diversos autores (Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a; Entwistle, 1990), los primeros síntomas de podredumbre blanca pueden aparecer en cualquier etapa del desarrollo de las plantas de ajo, a partir del momento de la emergencia de los bulbillos. Sin embargo, Pinto *et al.* (1998) encontraron que los primeros síntomas de esta enfermedad comenzaron a los 60 o más días después de la plantación, debido a que una estrecha relación entre la temperatura propicia para el hongo y la bulbificación del ajo, determina el momento de aparición de la podredumbre blanca. Las plantas enfermas van apareciendo progresivamente en el cultivo, a medida que las raíces en desarrollo van localizando los esclerocios que están distribuidos en el perfil del suelo antes de la plantación (Adams, 1981; Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a; McLean y Stewart, 2000). Los esclerocios que están localizados en un sitio del lote, pueden trasladarse mediante el riego o labores mecánicas durante el ciclo del cultivo e iniciar un foco de infección en un sitio distante, incluso en etapas avanzadas del desarrollo de las plantas (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980). Cuando ya han aparecido plantas enfermas en el cultivo, las plantas vecinas pueden contagiarse a partir del micelio que se propaga entre uno y dos centímetros desde las raíces en descomposición (Crowe, 1996; Crowe y Hall, 1980a).

En presencia de un cultivo susceptible y a temperaturas entre 9 - 24 °C germinan la mayoría de los esclerocios presentes en el suelo (Crowe, 1996; Crowe, 2002; Crowe y Hall, 1980b). Además, los esclerocios de *S. cepivorum* germinan exclusivamente en

respuesta a exudados producidos por las raíces de las plantas de género *Allium*. Dentro de éstos, el dialil disulfuro (DADS) ha sido identificado como el principal compuesto capaz de estimular la germinación de los esclerocios, aún en ausencia de plantas hospedantes y ha sido introducido al suelo artificialmente para reducir la densidad de inóculo (Coley-Smith, 1960; Coley-Smith, 1990; Hovius y McDonald, 2002; Merriman *et al.*, 1980; Tyson *et al.*, 2000). Esto ha sido posible debido a que las hifas que surgen de los esclerocios en germinación mueren si no alcanzan la raíz de un hospedante susceptible (Coley-Smith, 1990; Coley-Smith *et al.*, 1987; Crowe, 1996; Crowe y Hall, 1980a). Cuando la infección se produce, el marchitamiento se hace evidente recién entre uno y dos días después que el micelio alcanza el disco del bulbo. Así, los síntomas en la parte aérea se manifiestan entre una y dos semanas después de la infección, dependiendo de la profundidad de los esclerocios en el suelo y de la distancia que haya entre el sitio de infección en la raíz y el disco (Crowe, 1996; Crowe y Hall, 1980a; McLean y Stewart, 2000; Metcalf y Wilson, 1999). En los bulbos se visualiza un micelio blanco a partir del cual se forman los esclerocios, principalmente alrededor de la base del bulbo (Crowe, 1996; Crowe y Hall, 1980a). Los esclerocios recientemente formados sufren un período de dormancia constitutiva de uno a seis meses, durante el cual no son infectivos aún en presencia de plantas de ajo. Por este motivo, los esclerocios que se forman durante un ciclo de cultivo son infectivos recién en la siguiente temporada (Coley-Smith *et al.*, 1987; Crowe, 1996; McLean *et al.*, 2005).

Cuando la densidad de esclerocios en el suelo es alta las raíces los localizan en sus primeras etapas de desarrollo, al ser las plantas pequeñas los síntomas aparecen pronto y la mayoría de las plantas tienen oportunidad de enfermarse. En cambio, cuando la densidad es baja las raíces pueden tardar en localizar los esclerocios, mientras tanto las plantas se van desarrollando y los síntomas tardan más tiempo en manifestarse (Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a; McLean y Stewart, 2000). Asimismo, si la densidad de esclerocios es muy baja puede ser que las raíces no se pongan en contacto con ningún esclerocio o que lo hagan muy tarde y los síntomas ya no se expresen de manera notoria. (Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a; McLean y Stewart, 2000).

El análisis de la curva epidémica de una enfermedad permite determinar el momento de inicio y duración de la epidemia y la cantidad inicial y final de enfermedad. También posibilita visualizar el comportamiento de la incidencia durante el ciclo del cultivo, la forma de la curva de progreso de la enfermedad y anticipar el posible modelo matemático de mejor ajuste (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004). Estudios empíricos y teóricos confirman que en las enfermedades de raíces con reservorio de inóculo en el suelo, la caracterización cuantitativa de las epidemias resulta compleja (Campbell, 1986). Esto se debe principalmente a que en este tipo de enfermedades, las variaciones en la densidad inicial y en el nivel de agregación del inóculo modifican las características de las epidemias e inducen gran variabilidad en las curvas de progreso de (Campbell, 1986; Campbell y Madden, 1990). Uno de los pocos trabajos que analizan epidemias de podredumbre blanca es el realizado por Pinto *et al.* (1998) en Brasil, con distintas combinaciones de fechas de plantación y cultivares de ajo. Las curvas de progreso que estos autores obtuvieron para esta enfermedad resultaron exponenciales en las dos a tres primeras semanas y posteriormente lineales.

Con referencia a la relación entre la densidad de esclerocios y la incidencia final de podredumbre blanca, ésta ha sido estudiada por muchos autores con resultados muy variables (Coley-Smith, 1990; Delgadillo *et al.*, 2002). Al respecto, Adams (1981) estableció una correlación altamente significativa entre la densidad de inóculo y la incidencia de la podredumbre blanca en cebolla de verdeo, mediante una ecuación cuadrática. Por otra parte, Crowe *et al.* (1980) determinaron en cultivos de ajo, que no existe una relación matemática simple entre la densidad de inóculo y la incidencia de la enfermedad, debido al contagio entre plantas vecinas y a la aparición de nuevos sitios de infección en diferentes momentos del ciclo del cultivo. Sin embargo, pudieron establecer que densidades de 0,1 a 10 esclerocios/ 100 g de suelo resultan en 10% a 100 % de incidencia final. Según Fry (1977), si la cantidad de inóculo inicial o su eficacia para producir enfermedad son altas, la epidemia puede ser severa. Así, debido a que la mayoría de los esclerocios de *S. cepivorum* germinan y a que cada esclerocio puede iniciar una infección, bajas poblaciones de esclerocios en el suelo pueden conducir a altas incidencias de podredumbre blanca a cosecha (Crowe *et al.*, 1980; Crowe, 1996).

Por otra parte, el conocimiento de las características epidemiológicas de una enfermedad permite utilizar fungicidas oportunamente, para reducir la cantidad o la tasa de infección del inóculo primario (Campbell y Madden, 1990; Fry, 1977). Sin embargo, para la podredumbre blanca no hay referencias de fungicidas que puedan reducir eficientemente la cantidad de inóculo inicial (Crowe, 1996; Coley-Smith, 1990). Además, debido a la aparición progresiva de la enfermedad en el cultivo, para reducir la tasa de infección de los esclerocios y el contagio a través del micelio entre plantas vecinas, es necesario efectuar un largo período de protección (Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a; Coley-Smith, 1990). Por estos motivos, la determinación y cuantificación de las características epidemiológicas de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de la provincia de Córdoba, permite analizar, comprender y comparar las epidemias y fundamentar las estrategias de manejo de la enfermedad en la región (Berger, 1977; Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004).

Objetivo General

Caracterizar epidemias de podredumbre blanca del ajo y la cebolla en la provincia de Córdoba.

Objetivos específicos

a) Describir las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, en dos zonas productoras de ajo de la provincia de Córdoba.

b) Analizar la relación entre densidad inicial de esclerocios en el suelo e incidencia final de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar la incidencia de la enfermedad se registró el número de plantas enfermas cada 15 días durante el ciclo de cultivo, en muestras de 50 plantas (unidad experimental), localizadas en los mismos sitios de muestreo en los que previamente se había tomado la muestra de suelo para la determinación de la densidad de esclerocios, en la forma descrita en el capítulo 2. En Cruz del Eje la incidencia se evaluó en 60 sitios cada año, en 2001, 2002 y 2003 y en Jesús María en 50 y 25 sitios en los años 2001 y 2002, respectivamente. La incidencia (y) se calculó como el porcentaje de plantas enfermas en cada fecha de evaluación, con respecto al stand inicial de plantas. Las plantas se consideraron enfermas cuando presentaron notorios síntomas y signos de *S. cepivorum* (Crowe, 1996; Pinto *et al.*, 1998; McLean y Stewart, 2000). Además, en cada fecha de evaluación de la incidencia se registró el número de hojas que tenían las plantas. Cada año se registró el inicio de la bulbificación, como la fecha en la cual la relación entre el diámetro del cuello y el diámetro del bulbo o índice de bulbificación (IB) fue igual a 0,5 (Mann, 1952; Portela y Cavagnaro, 2003). En la figura 3.1 se muestra el progreso anual de las temperaturas media, máxima media y mínima media del aire, para Cruz del Eje y Jesús María.

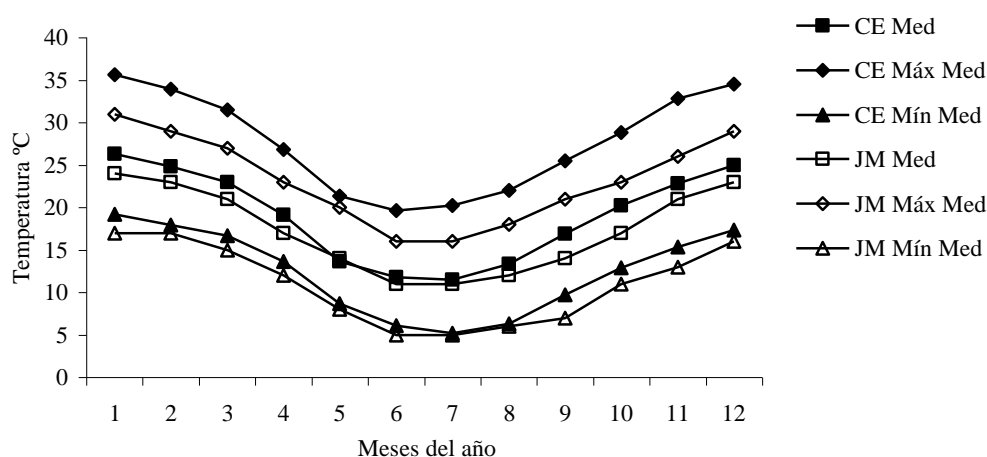


Fig. 3. 1. Progreso anual de las temperaturas medias, máximas medias y mínimas medias del aire, en Cruz del Eje y Jesús María, Córdoba

Los valores corresponden a promedios históricos en °C (Fuente: The Weather Chanel: <http://espanol.weather.com>).
CE: Cruz del Eje; JM: Jesús María; Med.: medias; Máx. Med.: Máximas Medias y Mín. Med.: Mínimas medias

Descripción de las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, en dos zonas productoras de ajo de la provincia de Córdoba

Para estudiar el progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, la incidencia (y) fue graficada en función del tiempo, obteniéndose las curvas de progreso de la enfermedad para cada localidad y año. Para determinar el día de inicio de la epidemia, cada año se registró la fecha de primera observación de la enfermedad en el lote (t_0) y en cada sitio de muestreo. Las fechas se transformaron a días julianos. Además, se calculó el porcentaje de sitios de muestreo en los cuales la enfermedad apareció por primera vez, para cada fecha de evaluación. También se relacionó la fecha de primera observación de la enfermedad en cada sitio de muestreo, con la densidad inicial de esclerocios que había en ese sitio. Los valores medios de día de inicio de la epidemia en cada año, se analizaron mediante medidas resumen univariadas (InfoStat, 2006). Seguidamente se compararon entre pares de años dentro de cada localidad mediante el error estándar asociado, estableciendo el intervalo de confianza correspondiente a la diferencia entre dos valores, de acuerdo con la metodología propuesta por Campbell y Madden (1990) (ecuaciones 2. 12 y 2. 13). La duración de cada epidemia ($t_f - t_0$), se calculó como la diferencia entre el día de finalización de los ensayos (t_f) y el día en que se observó la enfermedad por primera vez en el lote (t_0), en días juliano.

La incidencia inicial de la enfermedad (y_0) se calculó cuando la enfermedad apareció por primera vez en el lote (t_0) y la incidencia final (y_f) cuando los ensayos se dieron por finalizados (t_f). En ese momento, todas las plantas que aún se encontraban vivas en cada sitio de muestreo se cosecharon y se calculó la incidencia final (y_f) como el porcentaje de plantas enfermas en la cosecha. Los valores medios de incidencia inicial y final de la enfermedad se compararon entre pares de años mediante el error estándar asociado, estableciendo el intervalo de confianza correspondiente a la diferencia entre dos valores, de acuerdo con la metodología propuesta por Campbell y Madden (1990) (ecuaciones 2. 12 y 2. 13).

La descripción de las curvas de progreso de la podredumbre blanca se realizó mediante análisis gráficos. Se tuvieron en cuenta, el comportamiento de la incidencia en

las sucesivas fechas de evaluación, el momento de inicio de las curvas, la forma de éstas y su relación con la densidad inicial de inóculo que había en el sitio de muestreo.

Análisis de la relación entre densidad inicial de esclerocios en el suelo e incidencia final de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla

Para analizar la relación entre la densidad inicial de inóculo en el suelo y la incidencia final de la enfermedad, se graficó la incidencia final que alcanzó la enfermedad en cada sitio de muestreo, en función del número de esclerocios viables/100 g de suelo que había en ese sitio. Con la finalidad de visualizar los patrones existentes en esta relación se analizaron los datos considerando diferentes situaciones:

- Cada localidad y año de estudio abarcando toda la superficie estudiada cada año.
- Ambas localidades juntas y todos los años estudiados abarcando toda la superficie.
- Cruz del Eje, años 2002 y 2003, pero dividiendo las superficies estudiadas en dos zonas. Una zona adyacente al canal de riego, desde el margen del canal hasta los 86 m hacia el centro del lote y una zona alejada del canal de riego, desde los 86 m hasta los 172 m hacia el extremo final del lote. La división del lote se estableció en el lugar donde previamente se había observado un cambio en el patrón de distribución y también en el modelo de dispersión espacial de los esclerocios, analizados en las tablas 2.1 y 2.2.

También se comparó la incidencia final media de la enfermedad para dos categorías de densidad inicial de inóculo, menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo (baja) y mayor de 15 esclerocios/100 g de suelo (alta), pero considerando dos zonas, la adyacente y la alejada del canal de riego. Las comparaciones se realizaron mediante el error estándar asociado (ecuaciones 2.12 y 2.13), estableciendo el intervalo de confianza correspondiente a la diferencia entre los dos valores (Campbell y Madden, 1990).

Por otra parte, en Cruz del Eje se separaron zonas donde cada sitio de muestreo con densidad inicial de inóculo baja (menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo) estaba rodeado por otros sitios que también tenían densidad inicial de inóculo baja, abarcando los tres años estudiados. Se consideraron distintos agrupamientos de sitios de baja densidad de esclerocios, rodeados de otros sitios también de baja densidad. Por medio de análisis de regresión no lineal se probó si el modelo exponencial ($y = \alpha e^{(\beta x)}$) ajustaba a la relación entre la incidencia final de la enfermedad y la densidad inicial de inóculo en el suelo. La bondad de los ajustes se evaluó considerando el cuadrado medio del error (CME), la significancia y el error estándar de los parámetros estimados y el gráfico de dispersión de los residuos con respecto a los valores predichos por el modelo (Campbell y Madden, 1990; InfoStat, 2006).

RESULTADOS

Descripción de las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, en dos zonas productoras de ajo de la provincia de Córdoba

En Cruz del Eje la enfermedad fue detectada por primera vez (t_0) en el lote los días 30/5/2001, 22/5/2002 y 20/5/2003, a los 82 días desde la plantación en los años 2001 y 2002 y a los 54 días desde la plantación en el año 2003. En esos momentos las plantas tenían entre tres y seis hojas. En Jesús María la enfermedad fue detectada por primera vez (t_0) en el lote los días 18/5/2001 y 29/5/2002, a los 38 y 34 días desde la plantación respectivamente, las plantas tenían entre dos y tres hojas. La bulbificación se inició en la primer semana de julio en Cruz del Eje y de agosto en Jesús María. Las temperaturas medias, máximas medias y mínimas medias fueron conductivas para la enfermedad desde mayo hasta septiembre, en ambas localidades (Fig. 3. 1).

Por otra parte, en esas fechas comenzó la epidemia en 22, 10 y 18 sitios de muestreo, los años 2001, 2002 y 2003 respectivamente, en Cruz del Eje y en 1 y 18 sitios de muestreo, los años 2001 y 2002 respectivamente, en Jesús María. Sucesivamente, en las

siguientes fechas de evaluación de incidencia hubo otros sitios en los cuales la enfermedad apareció por primera vez (Fig. 3. 2, A-E). En Cruz del Eje en los años 2001 y 2003 y en Jesús María en el año 2002, la cantidad de sitios de muestreo en los que apareció por primera vez la enfermedad fue disminuyendo con el transcurso del tiempo (Fig. 3. 2 A, C y E). En cambio, en Cruz del Eje en el año 2002, la cantidad de sitios en los que la enfermedad apareció por primera vez se mantuvo homogénea a través del tiempo (Fig. 3. 2 B) y en Jesús María en el año 2001, fue aumentando hasta mediados del ciclo del cultivo y disminuyó hacia el final (Fig. 3. 2 E). En Cruz del Eje en todos los años y en Jesús María en el año 2001, hubo sitios de muestreo en los que la enfermedad apareció por primera vez hasta el día de la cosecha de los ensayos (*tf*) (Fig. 3. 2, A, B, C y D). En cambio en Jesús María en el año 2002, para el 9 de julio la enfermedad ya había aparecido en todos los sitios de muestreo (Fig. 3. 2, E). En el año 2001 en Cruz del Eje, al finalizar el ciclo del cultivo se había desarrollado enfermedad en todos los sitios de muestreo. En cambio, en los años 2002 y 2003 la enfermedad se desarrolló en el 62% y 75% de los sitios, respectivamente. En Jesús María la enfermedad se presentó en el 98% de sitios de muestreo en el año 2001 y en todos en el año 2002.

En la figura 3. 3 se muestra la relación entre el día de inicio de la enfermedad (DIE) y la densidad inicial de inóculo (DII) que había en el sitio de muestreo. Puede observarse que todos los años en Cruz del Eje, en los sitios de muestreo que contenían densidad inicial de inóculo mayor de 15 esclerocios/100 g de suelo (alta), la enfermedad se inició en las primeras fechas de evaluación de la incidencia. En cambio, en los sitios de muestreo que tenían densidad inicial de inóculo menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo (baja), la enfermedad se inició a lo largo de todo el período de evaluación de incidencia. Este mismo comportamiento se observó en el año 2001 en Jesús María, donde la densidad inicial de inóculo de todos los sitios fue muy baja (menor o igual a 1,2 esclerocios/100 g de suelo). A diferencia de esto, en el año 2002 en Jesús María, en los sitios que contenían densidad de inóculo alta, la enfermedad se inició en las dos primeras fechas de evaluación y en los que contenían densidad baja, se inició durante la primera mitad del tiempo total de evaluación.

Como puede observarse en la tabla 3. 1, los valores medios de día de inicio de la epidemia fueron semejantes ($p > 0,05$) en Cruz del Eje, independientemente de la fecha de

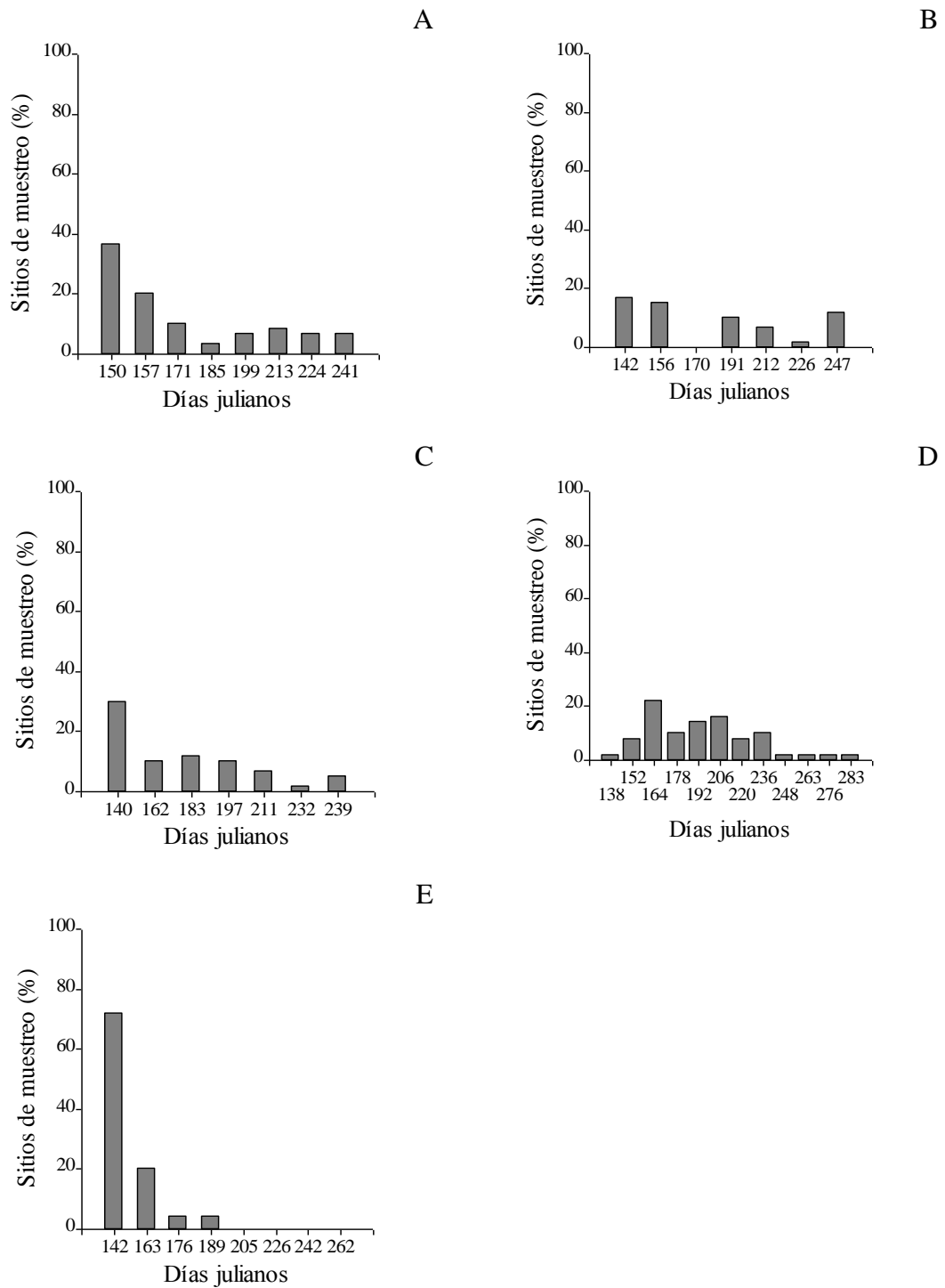


Fig. 3. 2. Cantidad de sitios de muestreo en los que apareció por primera vez la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*), para cada fecha de evaluación de la incidencia, en dos localidades de la provincia de Córdoba, años 2001 a 2003.

Ejes de las ordenadas: Cantidad de sitios de muestreo en porcentaje. Ejes de las abscisas: Fechas de evaluación de incidencia en días julianos. A, B y C: Cruz del Eje, años 2001, 2002 y 2003, respectivamente. D y E: Jesús María, años 2001 y 2002, respectivamente.

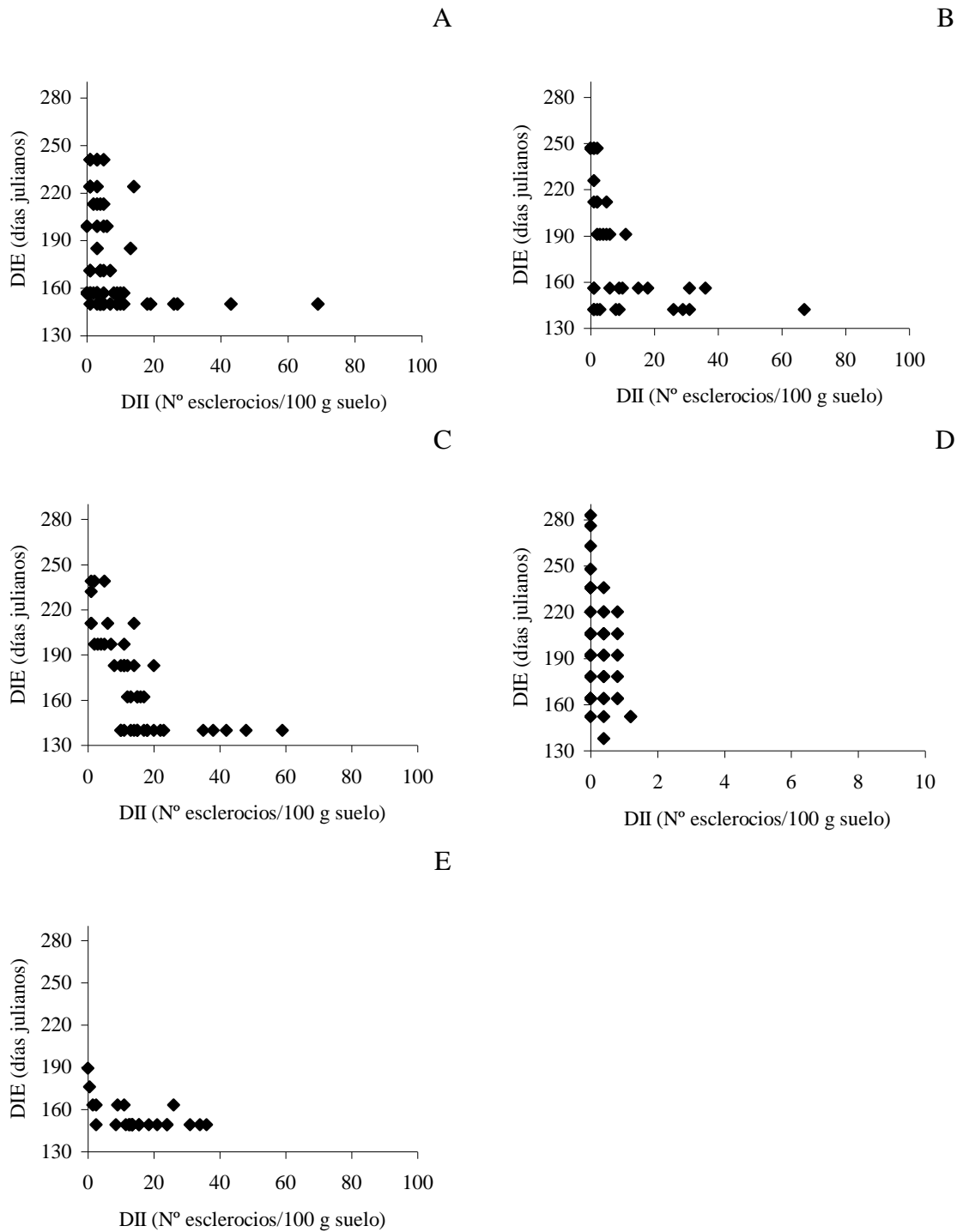


Fig. 3. 3 Día de inicio de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*), para distintas densidades iniciales de esclerocios en el suelo de dos localidades de la provincia de Córdoba, años 2001 a 2003.

Ejes de las ordenadas: DIE (día de inicio de la enfermedad en días julianos). Ejes de las abscisas: DII (densidad inicial de inóculo en número de esclerocios/100 g de suelo). A, B y C: Cruz del Eje años 2001, 2002 y 2003, respectivamente; D y E: Jesús María, años 2001 y 2002, respectivamente.

plantación de los ensayos, cuando se confrontaron entre pares de años. En cambio, en Jesús María los valores medios de días de inicio de las epidemias difirieron significativamente ($p < 0,05$) entre los dos años estudiados. La duración de las epidemias fue mayor en Jesús María que en Cruz del Eje (Tabla 3. 1).

Tabla 3. 1. Días medios de inicio y duración de las epidemias de podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en cultivos de ajo, en dos localidades de la provincia de Córdoba, años 2002 a 2003.

Localidad	Año	F. S	Día de inicio de la epidemia				Duración de la epidemia ($t_f - t_0$) ⁽⁴⁾
			Mínimo (t_0) ⁽¹⁾	Máximo ⁽²⁾	Media ⁽³⁾	E. E.	
Cruz del Eje	2001	68	150	241	176,23 b ^(*)	4,08	91
	2002	60	142	247	183,05 bc	6,58	105
	2003	86	140	239	172,18 b	4,86	99
Jesús María	2001	100	138	283	195,14 c	5,00	145
María	2002	115	149	189	154,48 a	2,06	120

F. S: Fecha de siembra en días juliano. E. E.: Error estándar.

⁽¹⁾ Los valores corresponden al primer día de inicio de la epidemia en el ensayo.

⁽²⁾ Los valores corresponden al último día en que apareció la enfermedad por primera vez en un sitio de muestreo.

⁽³⁾ Los valores corresponden en Cruz del Eje, a la media de 60, 37 y 45 sitios de muestreo en los cuales hubo enfermedad, en los años 2001, 2002 y 2003, respectivamente y en Jesús María, a la media de 49 y 25 sitios de muestreo en los cuales hubo enfermedad, en los años 2001 y 2002, respectivamente.

⁽⁴⁾ Los valores corresponden a la diferencia entre el día de finalización (cosecha) del ensayo (t_f) y el día de inicio de la epidemia (t_0) en el lote.

^(*) Valores seguidos por la misma letra dentro de una columna no difieren significativamente ($\alpha = 0,05$).

En la tabla 3. 2 se muestra que en Cruz del Eje, la incidencia inicial media de la enfermedad fue significativamente diferente ($p < 0,05$) en los tres años. En el año 2001, se observa la mayor diferencia entre los valores mínimos y máximos de incidencia inicial de la enfermedad, siguiendo los años 2003 y 2002. En Jesús María, la incidencia inicial media de la enfermedad fue significativamente diferente ($p < 0,05$) entre los dos años. En el año 2001, el inicio de la enfermedad se detectó solo en un sitio de muestreo, por lo cual no hubo diferencia entre valores mínimos y máximos de incidencia inicial. En cambio, en el año 2002 se pudo detectar diferencia en la incidencia inicial de los distintos sitios de muestreo en los cuales la enfermedad se presentó (Tabla 3. 2).

La incidencia final fue muy variable en los sitios de muestreo en los cuales se presentó la enfermedad, tanto en Cruz del Eje como en Jesús María (Tabla 3. 2). Considerando todos los años estudiados, se encontraron sitios en los cuales la incidencia final alcanzó valores desde 2% hasta 100% y sitios en los cuales no hubo enfermedad. Tanto en Cruz del Eje como en Jesús María, la incidencia final media fue diferente ($p < 0,05$) todos los años. El mayor valor de incidencia final media se registró en Jesús María en el año 2002, y el menor valor en el mismo año en Cruz del Eje, registrándose valores intermedios en los restantes años (Tabla 3. 2).

Tabla 3. 2. Incidencia inicial (y_0) y final (y_f) de epidemias de podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en cultivos de ajo, en dos localidades de la provincia de Córdoba, años 2001 a 2003.

Localidad	Año	Incidencia (%)							
		Inicial (y_0)				Final (y_f)			
		Mín.	Máx.	Media ⁽¹⁾	E. E	Mín.	Máx.	Media ⁽²⁾	E. E
Cruz del Eje	2001	2	48	13,09 c ^(*)	3,09	2,00	100	48,23 c	4,81
	2002	2	4	2,20 a	0,20	2,00	98	38,34 b	5,97
	2003	2	16	5,11 b	0,92	2,00	100	58,84 d	5,87
Jesús María	2001	2	2	2,00 a	0,00	2,00	100	41,02 a	4,14
	2002	2	28	9,44 c	1,66	8,00	98	79,28 e	4,66

Mín.: valor mínimo; Máx.: valor máximo; E. E: error estándar.

⁽¹⁾ Los valores corresponden a la media de 22, 10 y 18 sitios de muestreo en Cruz del Eje, años 2001, 2002 y 2003 y de 1 y 18 sitios en Jesús María, años 2001 y 2002, respectivamente.

⁽²⁾ Los valores corresponden a la media de 60, 35 y 45 sitios de muestreo en los cuales hubo enfermedad en Cruz del Eje, años 2001, 2002 y 2003 y de 49 y 25 sitios en los cuales hubo enfermedad en Jesús María, años 2001 y 2002, respectivamente.

^(*) Valores seguidos por la misma letra dentro de una columna no difieren significativamente ($\alpha = 0,05$).

En el análisis gráfico se observa mucha variabilidad en las curvas de progreso de la enfermedad obtenidas en cada sitio de muestreo de la incidencia, en ambas localidades y en todos los años estudiados (Fig. 3. 4 y 3. 7). La forma de las curvas epidémicas es predominantemente sigmoidea o exponencial.

Como puede observarse en la figura 3. 4 (A, B, C), en Cruz del Eje las curvas de progreso de la enfermedad se iniciaron en diferentes fechas en los distintos sitios, desde que la enfermedad apareció por primera vez en el lote (t_0) hasta la cosecha. Hubo curvas

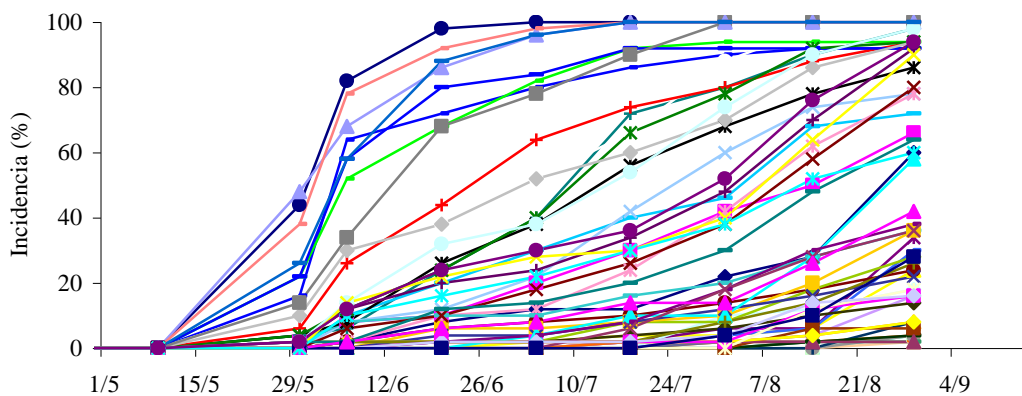
que progresaron muy rápido, alcanzando en poco tiempo incidencias del 80% - 100%. Por ejemplo, en los años 2001 y 2003, hubo curvas epidémicas que alcanzaron esas incidencias a la mitad del tiempo total de evaluación (Fig. 3. 4, A, C). Otras curvas fueron progresando lentamente. Por ejemplo, en el año 2002 recién se alcanzaron valores de incidencia superiores al 80% una vez superada la primera mitad del tiempo total de evaluación (Fig. 3. 4, B). También hubo curvas que progresaron aún más lentamente que las anteriores y cuyas incidencias finales estuvieron por debajo del 80%. Además, las curvas epidémicas que comenzaron tarde, desde la mitad del tiempo total de evaluación en adelante, siempre alcanzaron incidencias finales no mayores al 50%. Por otra parte, las curvas epidémicas que tuvieron progresos rápidos fueron las que se desarrollaron en los sitios de muestreo con densidades mayores a 15 esclerocios/100 g (Fig. 3. 5, A, B, C). Estas curvas siempre se iniciaron en la primera o segunda fecha de evaluación de la incidencia. A mediados del tiempo total de evaluación ya habían alcanzado a incidencias entre el 20% y el 100% y alcanzaron incidencias finales altas, entre 64% y 100%. En cambio, las curvas que se desarrollaron en los sitios de muestreo con densidades menores o iguales a 15 esclerocios/100 g de suelo, presentaron una variabilidad mucho mayor que las anteriores y se iniciaron a lo largo de todo el tiempo de evaluación de la incidencia (Fig. 3. 6, A, B, C). Hacia la mitad del tiempo total de evaluación alcanzaron incidencias entre 2% y 96% y llegaron a incidencias finales entre 2% y 98 -100%.

En Jesús María, en el año 2001 las curvas epidémicas se iniciaron en diferentes fechas en los distintos sitios, desde que la enfermedad apareció por primera vez en el lote (t_0) hasta la cosecha y tuvieron un progreso más lento que en el año 2002 (Fig. 3. 7, A, B). En cambio, en el año 2002 el inicio de las curvas de progreso de la enfermedad se concentró en las primeras fechas de evaluación de la incidencia. En el primer año, a la mitad del tiempo total de evaluación la incidencia varió entre 2% y 46% y valores superiores al 80% se alcanzaron recién en las últimas fechas de evaluación, llegando la incidencia al 100% en el momento de la finalización del ensayo (Fig. 3. 7, A). Además, las curvas epidémicas que comenzaron tarde, desde la mitad del tiempo total de evaluación en adelante, alcanzaron siempre incidencias finales por debajo del 40%. En cambio en el año 2002, ya en la tercera fecha de evaluación hubo curvas que llegaron al 88% de incidencia y en la primera mitad del tiempo total de evaluación la incidencia ya alcanzó valores hasta

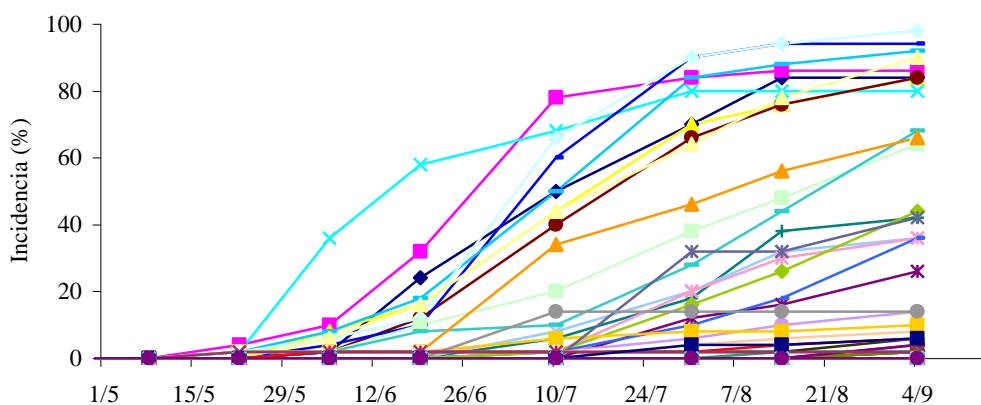
del 98% (Fig. 3. 7, B). Por otra parte, en el año 2001 todas las curvas se desarrollaron en sitios de muestreo con densidades de inóculo menores o iguales a 1,2 esclerocios/100 g de suelo, progresaron lentamente y la mitad del tiempo total de evaluación alcanzaron incidencias no mayores al 30%. Además, estas curvas mostraron una variabilidad entre 2% y 100% en las incidencias finales alcanzadas (Fig. 3. 7, A). En el año 2002, a semejanza de lo que ocurrió en Cruz del Eje, las curvas epidémicas que se desarrollaron en los sitios con densidades iniciales de inóculo mayores a 15 esclerocios/100 g de suelo tuvieron progresos rápidos (Fig. 3. 8, A). A la mitad del tiempo total de evaluación ya habían llegado a incidencias entre 32% y 96% y alcanzaron incidencias finales altas, entre 74% y 98%. En cambio, las curvas de los sitios con densidades iniciales menores o iguales a 15 esclerocios/100 g de suelo, presentaron gran variabilidad (Fig. 3. 8, B). Hacia la mitad del tiempo de evaluación ya alcanzaban incidencias entre 2% y 96%, llegando a incidencias finales entre 8% y 98%.

En ambas localidades y considerando todos los años estudiados, en general las curvas que comenzaron temprano mostraron forma sigmoidea y las que comenzaron tarde tuvieron forma exponencial. Asimismo, las curvas correspondientes a los sitios con densidad de inóculo alta tuvieron forma sigmoidea, en cambio, las de los sitios con densidad de inóculo baja tuvieron forma sigmoidea o exponencial.

A



B



C

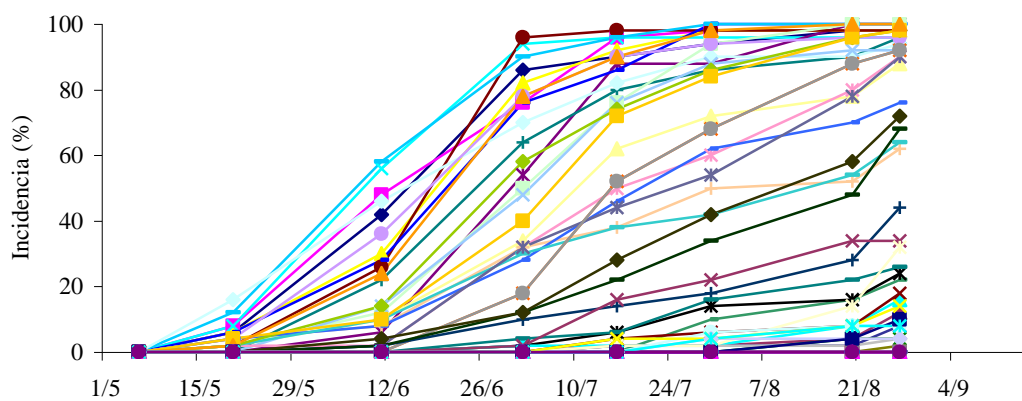
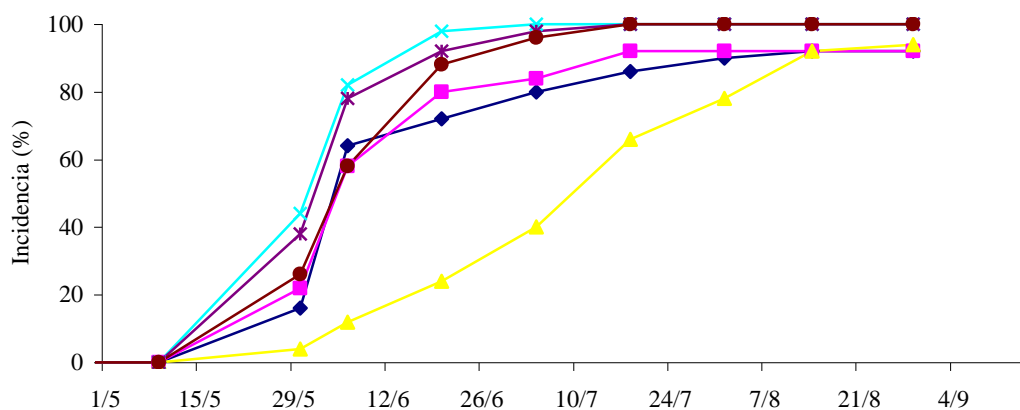


Fig. 3. 4. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un cultivo de ajo, en Cruz del Eje, años 2001 a 2003, para 60 sitios de muestreo cada año.

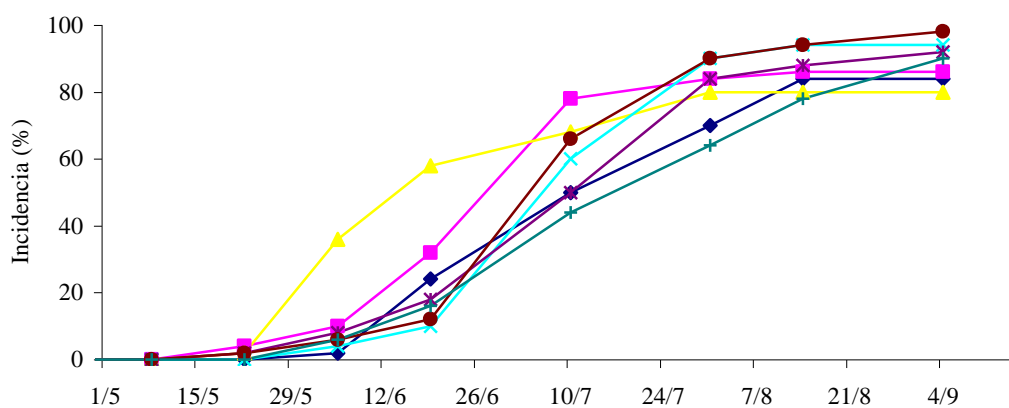
A: año 2001. B: año 2002. C: año 2003

Eje de las abscisas: Fechas en las que se realizaron las evaluaciones.

A



B



C

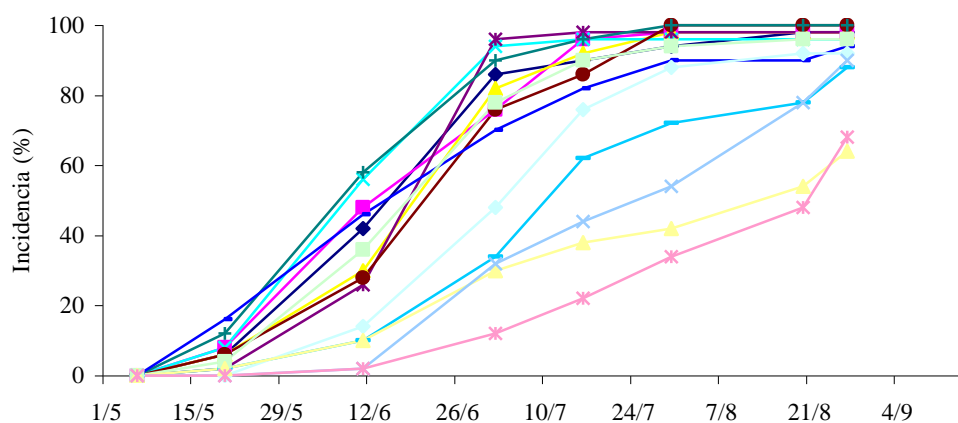
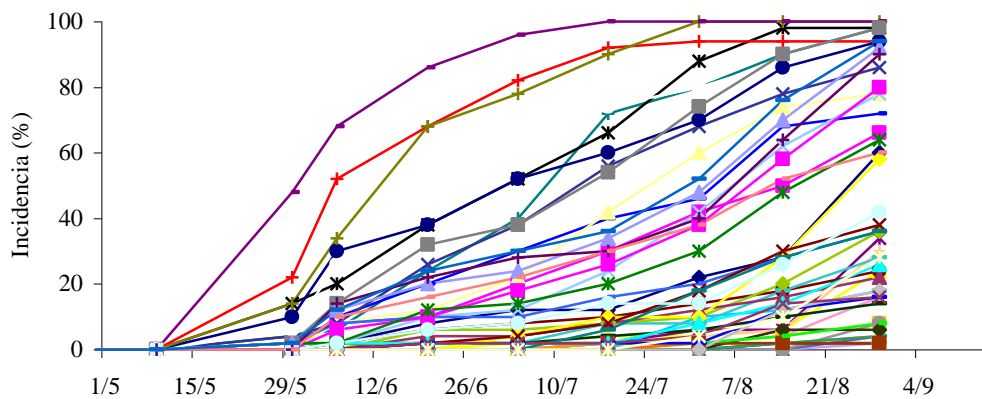


Fig. 3. 5. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un cultivo de ajo, en Cruz del Eje, años 2001 a 2003, para sitios de muestreo con densidades iniciales de inóculo mayores a 15 esclerocios/100 g de suelo.

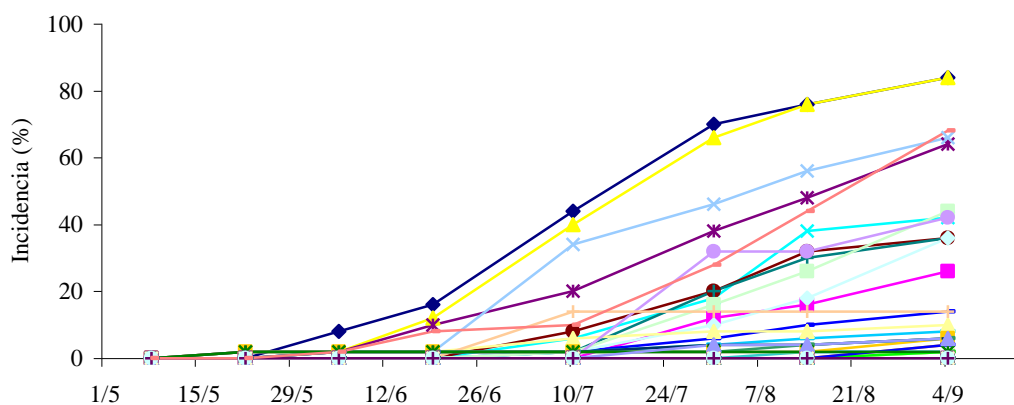
A: año 2001. B: año 2002. C: año 2003

Eje de las abscisas: Fechas en las que se realizaron las evaluaciones.

A



B



C

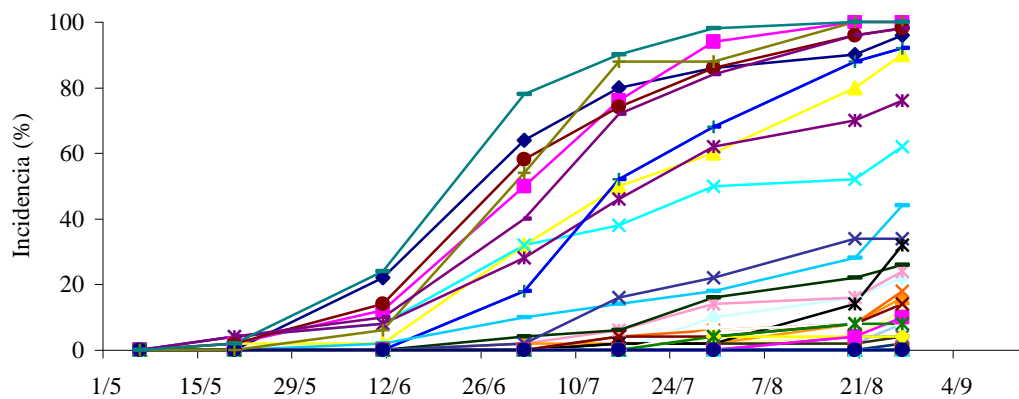
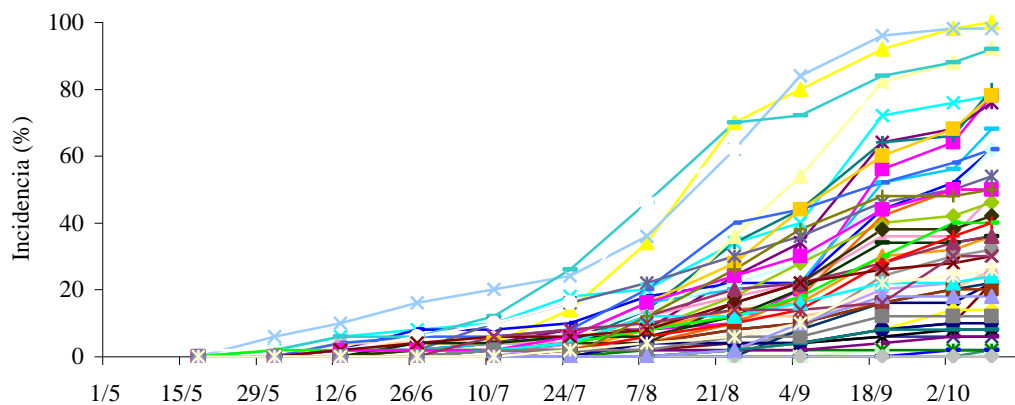


Fig. 3. 6. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un cultivo de ajo, en Cruz del Eje, años 2001 a 2003, para sitios de muestreo con densidades iniciales de inóculo menores o iguales a 15 esclerocios/100 g de suelo.

A: año 2001. B: año 2002. C: año 2003

Eje de las abscisas: Fechas en las que se realizaron las evaluaciones.

A



B

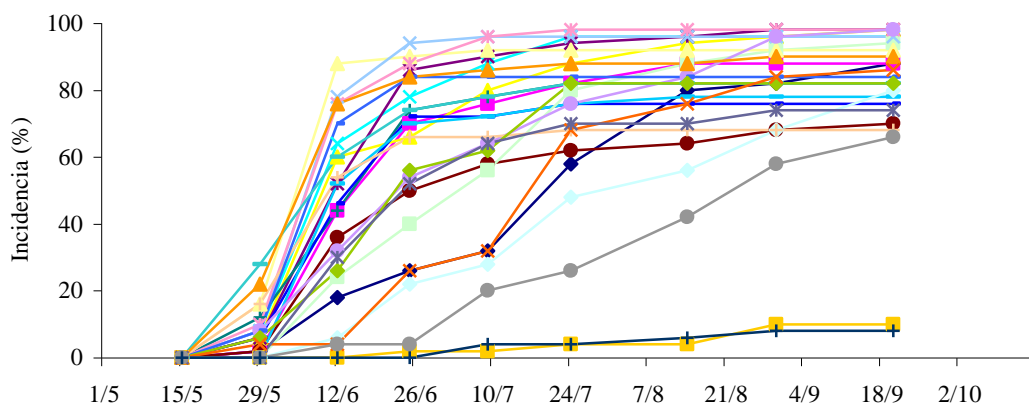
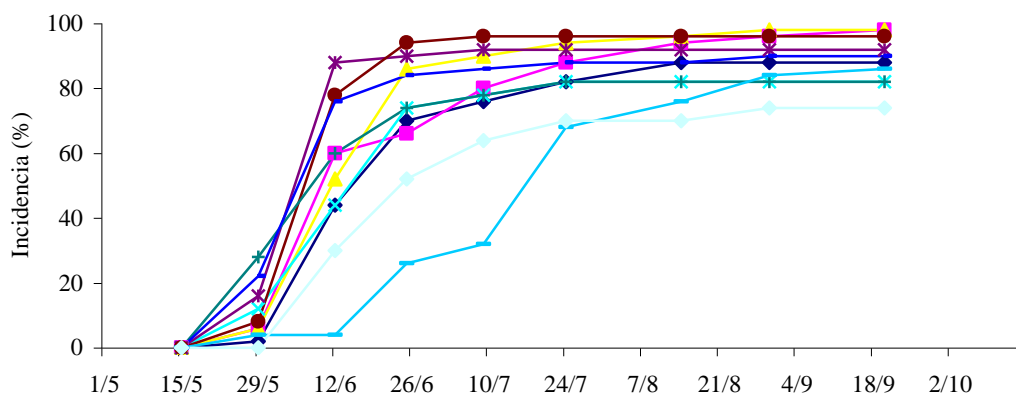


Fig. 3. 7. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un cultivo de ajo, en Jesús María, años 2001 y 2002, para 50 y 25 sitios de muestreo, respectivamente.

A: año 2001. B: año 2002.

Eje de las abscisas: Fechas en las que se realizaron las evaluaciones.

A



B

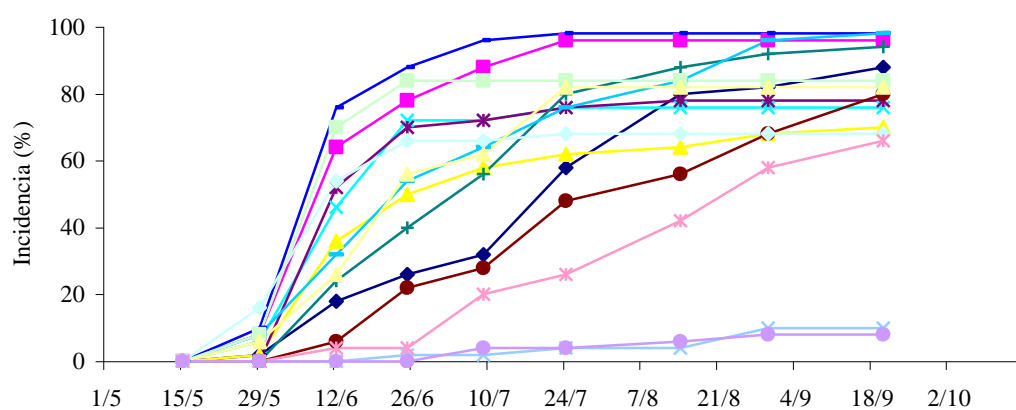


Fig. 3. 8. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un cultivo de ajo, en Jesús María, año 2002, para 25 sitios de muestreo.

A: Sitios de muestreo con densidades iniciales de inóculo mayores a 15 esclerocios/100 g de suelo. B: Sitios de muestreo con densidades iniciales de inóculo menores o iguales a 15 esclerocios/100 g de suelo.

Eje de las abscisas: Fechas en las que se realizaron las evaluaciones

Análisis de la relación entre densidad inicial de esclerocios en el suelo e incidencia final de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla

Cuando la densidad inicial de inóculo fue mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo (alta), la incidencia final en el lote de Cruz del Eje varió entre 92 - 100%, 68 - 98% y 64 - 100%, los años 2001, 2002 y 2003, respectivamente y en Jesús María en el año 2002, entre 74 - 98% (Fig. 3. 9, A, B, C, E). Además, cuando la densidad inicial de inóculo fue alta la enfermedad se manifestó en todos los sitios de muestreo.

Cuando la densidad inicial de inóculo fue menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo (baja), la incidencia final fue muy variable. En el lote de Cruz del Eje alcanzó valores tan extremos como 2 - 100%, 2 - 84% y 2 - 100% en los años 2001, 2002 y 2003, respectivamente. Más aún, en 2002 y 2003 hubo sitios de muestreo de los lotes en los cuales no hubo enfermedad (Fig. 3. 9 A, B, C). En Jesús María en el año 2001, la incidencia final varió entre 2 - 100% y solamente en un sitio de muestreo no se manifestó enfermedad (Fig. 3. 9, D). En cambio, en el año 2002 la incidencia final alcanzó valores entre 8 - 98% y en todos los sitios de muestreo hubo enfermedad (Fig. 3.9, E).

Por otra parte, se observa que la forma de la relación entre la densidad inicial de esclerocios y la incidencia final de la podredumbre blanca es semejante en ambas localidades y en todos los años (Fig. 3. 9 A, B, C, D, E). No obstante, en Cruz del Eje en el año 2002 hubo 23 sitios de muestreo con densidades iniciales de inóculo bajas en los cuales no se desarrolló enfermedad, y ese año la incidencia final no alcanzó valores de 100 % (Fig. 3. 9, B). En la misma localidad el año 2003, se observa un ligero corrimiento de los valores hacia la derecha, debido a que hubo menos sitios que en el año anterior con densidades iniciales de inóculo bajas en los cuales no se desarrolló enfermedad y mayor cantidad de sitios con densidad de esclerocios alta (Fig. 3. 9, C). Considerando todos los sitios muestreados en ambas localidades y para todos los años (Fig. 3. 9, F), se puede observar que cuando la densidad inicial es mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo, la incidencia final siempre es mayor a 64%. En cambio, cuando la densidad inicial es menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo la incidencia final varía entre 2 - 100%.

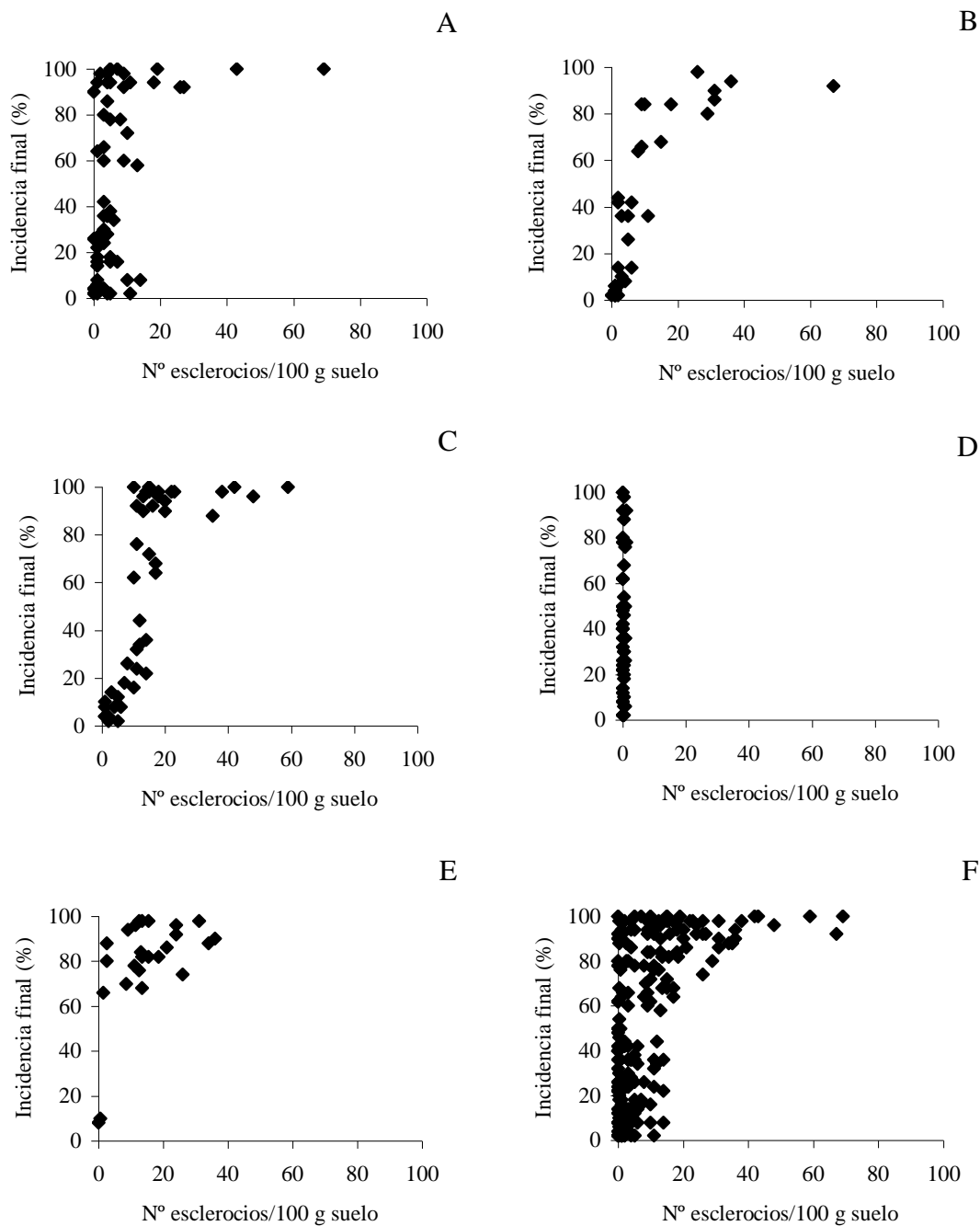


Figura 3. 9. Relación entre la densidad inicial de inóculo en el suelo (N° de esclerocios/100 g de suelo) y la incidencia final (%) de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) para dos localidades de la provincia de Córdoba, años 2001 a 2003.

A, B y C: Cruz del Eje años 2001, 2002 y 2003, respectivamente. D y E: Jesús María años 2001 y 2002, respectivamente. F: Cruz del Eje años 2001, 2002 y 2003, más Jesús María años 2001 y 2002.

Como puede observarse en la figura 3. 10 (A, B), Cuando la superficie total estudiada en Cruz del Eje se separó en dos zonas para el análisis, en la zona adyacente al canal de riego (0 – 86 m) se mantuvo el mismo tipo de relación, entre la densidad inicial de esclerocios y la incidencia final, que se había encontrado para la superficie total del lote (Fig. 3. 10, A, B). En cambio, en el área alejada del canal (86 – 172 m), donde todos los sitios de muestreo tenían menos o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo, se observa que la incidencia final alcanzó valores muy bajos, entre 2 - 6% en el año 2002 y entre 2 - 34% en el año 2003 (Fig. 3. 10, C, D).

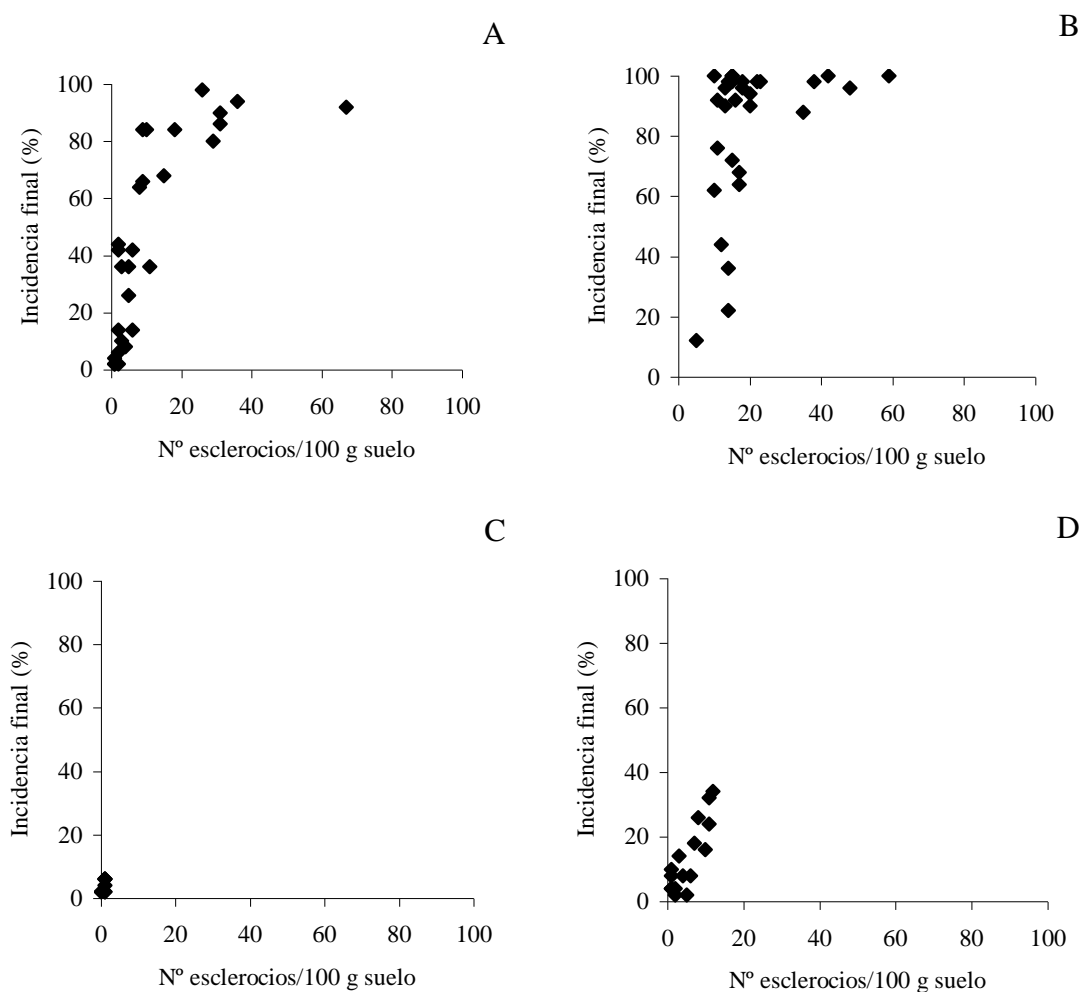


Figura 3. 10. Relación entre la densidad inicial de inóculo en el suelo (Nº de esclerocios/100 g de suelo) y la incidencia final (%) de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) para Cruz del Eje, años 2002 y 2003, en dos zonas con respecto al canal de riego.

A y B: desde el margen del canal de riego hasta 86 m hacia adentro del lote, años 2002 y 2003, respectivamente. C y D: desde 86 m desde el canal de riego hasta 172 m hacia el final del lote, años 2002 y 2003, respectivamente.

En la tabla 3. 3 puede observarse que en Cruz del Eje, en los sitios de muestreo con densidad inicial de inóculo alta la incidencia final de la enfermedad alcanzó valores altos, entre 64 - 100%, y en todos los sitios de muestreo se manifestó la enfermedad. Solamente hubo sitios con alta densidad inicial de esclerocios en la zona adyacente al canal de riego. A diferencia, en los sitios con densidad inicial de inóculo baja la incidencia final de la enfermedad alcanzó valores muy variables, entre 2% - 100%, y hubo sitios en los cuales no se manifestó enfermedad (Tabla 3. 3). Además, en los sitios con densidad inicial de inóculo baja la incidencia final tuvo un comportamiento distinto en las zonas adyacente y alejada del canal de riego. En la zona adyacente al canal, donde los sitios con densidad de inóculo baja estaban rodeados de otros con densidad alta, la incidencia final varió entre 2%-100%, pero en la zona alejada del canal, donde todos los sitios tenían densidad de inóculo baja, la incidencia final varió menos, entre 2% - 34% (Tabla 3. 3). En los sitios de muestreo con densidad inicial de esclerocios alta, la incidencia final media de la enfermedad fue significativamente mayor ($p < 0,05$) que la incidencia final media en los sitios con densidad de esclerocios baja (Tabla 3. 3). Además, en los sitios con densidad de esclerocios baja, la incidencia final media fue significativamente ($p < 0,05$) más alta en la zona adyacente al canal que en la zona alejada del canal (Tabla 3. 3).

Tabla 3. 3. Incidencia final (y_f) de podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un cultivo de ajo, para dos categorías de densidad inicial de inóculo (DII), a distintas distancias del canal de riego en Cruz del Eje, años 2001 a 2003.

Año	Distancia ⁽¹⁾	Incidencia final									
		n	y_f mín.	y_f máx.	y_f media	E. E	n	y_f mín.	y_f máx.	y_f media	E. E
2001	0 - 62,5	6	92	100	96,33f ^(*)	1,7	54	2	100	42,89c	4,8
2002	0 - 86	7	80	98	89,14 e	2,3	21	2	84	32,86 c	6,0
	86 - 172	-	-	-	-	-	7	2	6	4,00 a	0,8
2003	0 - 86	14	64	100	91,43 ef	3,0	15	12	100	73,20 d	7,9
	86 -172	-	-	-	-	-	16	2	34	13,38 b	2,7

DII>15 y DII≤15: densidad inicial de inóculo mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo (alta) y menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo (baja). y_f mín., y_f máx. e y_f media: incidencia final mínima, máxima y media respectivamente, de n sitios de muestreo. n : número de sitios de muestreo con DII>15 o DII≤15, en cada distancia. E. E.: error estándar de la incidencia final media. -: Valores no registrados porque no hubo sitios con valores de DII>15

⁽¹⁾ Distancia (desde - hasta) del margen del canal de riego, en metros.

^(*) Valores seguidos por la misma letra dentro de una columna o fila no difieren significativamente ($\alpha = 0,05$)

En Cruz del Eje, el modelo exponencial fue significativo para explicar la relación entre la densidad inicial de inóculo y la incidencia final de la podredumbre blanca, en zonas del lote donde todos los sitios tenían densidad de esclerocios baja (Fig. 3. 11). La ecuación del modelo que mejor ajustó a los datos fue

$$y = 3,94 e^{(0,18 \cdot x)} \quad (3.1)$$

Donde y es la incidencia final de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla en porcentaje y x es la densidad inicial de inóculo en el suelo, en número de esclerocios/100 gramos de suelo. Los parámetros α y β estimados por el modelo fueron significativos ($p < 0,0001$); los errores estándar de los parámetros fueron 0,66 y 0,02, respectivamente; el cuadrado medio del error (CME) tuvo un valor de 17,06 y el gráfico de residuos versus valores predichos por el modelo mostró un patrón de dispersión aceptable. Los sitios de muestreo considerados en el análisis fueron: cinco sitios del ensayo realizado en el año 2001, ubicados desde 50,00 m hasta 65,00 m desde el margen del canal de riego; más 36 sitios del año 2002, ubicados desde 68,80 m hasta 172,00 m desde el canal; más 30 sitios del año 2003, ubicados desde 86,00 m hasta 172,00 m desde el canal (Fig. 2. 3, A, B, C). Los sitios de muestreo considerados en el ajuste de este modelo (ec. 3. 1) tuvieron una densidad inicial menor o igual a 12 esclerocios/100 g de suelo y en todos los casos estuvieron rodeados por sitios con densidades iniciales de esclerocios bajas (menores o iguales a 15 esclerocios/100 g de suelo). La incidencia final máxima que alcanzó la enfermedad en esta situación fue 34%. Si bien se probó el ajuste de distintos agrupamientos de sitios de muestreo con densidad inicial de esclerocios baja, los resultados no son expuestos, debido a que no se obtuvieron buenos ajustes en esos casos. Cuando en los análisis se consideraron zonas con sitios de densidad de inóculo baja pero que limitaban con sitios de densidad de inóculo alta (mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo), el CME aumentó a valores de 100 y superiores y los gráficos de residuos versus valores predichos no mostraron patrones de dispersión aceptables.

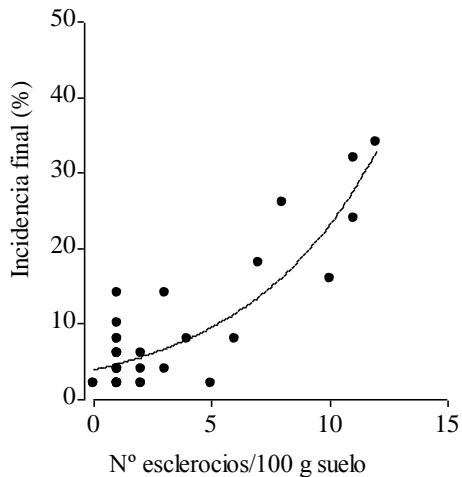


Figura 3. 11. Relación entre incidencia final (%) de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) y densidad inicial de inóculo en número de esclerocios/100 g de suelo), para Cruz del Eje, años 2001 a 2003, en sitios de muestro con densidad inicial ≤ 12 esclerocios/100 g de suelo, ubicados en zonas del lote donde todos los sitios de muestreo tenían densidad inicial de inóculo baja (≤ 15 esclerocios/100 g de suelo).

La línea representa el ajuste de una función exponencial: $y = 3,94 e^{(0,18 \cdot x)}$; y: incidencia de la enfermedad; x: densidad inicial de esclerocios en el suelo.

DISCUSIÓN

La podredumbre blanca fue detectada por primera vez (t_0) entre el 18 y el 30 de mayo en los años 2000 a 2003, en los lotes de Cruz del Eje y Jesús María. El período en el cual aparece la enfermedad en la provincia de Córdoba es de corta duración, a pesar de las diferencias en las fechas de plantación de los ensayos. Entre la plantación y la primera aparición de la enfermedad transcurrieron entre 34 y 82 días, particularmente en Cruz del Eje en 2003 y en Jesús María en 2001 y 2002, comenzó entre 34 y 54 días después. Esto difiere con lo expresado por Pinto *et al.* (1998) acerca de que la enfermedad se manifiesta a partir de los 60 días después de la plantación. Cuando la enfermedad apareció por primera vez en los lotes las plantas tenían entre dos y seis hojas, por lo tanto el comienzo de la enfermedad no coincidió con la emergencia de las plantas, como lo reportan Crowe *et al.*, (1980) y Crowe y Hall (1980a) para cultivos de ajo en ensayos realizados en California, sino que fue posterior a ese estado. Esto se debió a que las condiciones de temperatura en las localidades de Córdoba comúnmente no son conductivas para la enfermedad durante la emergencia de las plantas (Crowe, 1996; Crowe, 2002). Los resultados encontrados en la presente investigación muestran que después de la emergencia del cultivo, la podredumbre

blanca puede aparecer en cualquier etapa del desarrollo de las plantas de ajo, coincidentemente con lo expresado por diversos autores (Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a; Entwistle, 1990). Además, a diferencia de lo determinado por Pinto *et al.* (1998) los primeros síntomas de enfermedad ocurrieron antes del inicio de la bulbificación de las plantas, en ambas localidades de Córdoba. En consecuencia, el día de inicio de las epidemias (t_0) de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla se mantiene estable a través de los años, independientemente de las diferencias en las fechas de plantación del cultivo y las plantas de ajo pueden enfermarse a partir del estado de dos hojas y antes de la bulbificación, tanto en Cruz del Eje como en Jesús María.

Por otra parte, la aparición por primera vez de la enfermedad en los lotes ocurrió en una cantidad variable de sitios de muestreo, entre uno y 22 sitios de los 60 sitios muestreados, considerando ambas localidades y los tres años de ensayos. Posteriormente, en los restantes sitios la enfermedad fue apareciendo por primera vez en diferentes fechas, desde el primer día de inicio de la enfermedad en el lote (t_0) hasta la cosecha, durante 13 a 21 semanas. Esta aparición progresiva de la enfermedad en los distintos sitios también fue observada por Crowe y Hall (1980a) en ensayos con ajo, en los cuales a las 13,5 semanas después de la plantación aún estaban apareciendo plantas enfermas. En cada sitio de muestreo la enfermedad comenzó a partir de los esclerocios distribuidos en el perfil del suelo, debido a que los sitios estaban demasiado separados como para que pudiera ocurrir contagio entre plantas de sitios vecinos, tanto en Cruz del eje como en Jesús María (Crowe, 1996; Crowe y Hall, 1980a). La aparición progresiva de la enfermedad en los distintos sitios del lote, se debió a que las raíces de las plantas de ajo fueron alcanzando en distintos momentos a los esclerocios distribuidos en el suelo, a medida que su sistema radical fue desarrollándose (Adams, 1981; Crowe *et al.*, 1980; McLean y Stewart, 2000). La enfermedad pudo comenzar tanto a partir de los esclerocios que ya estaban en el suelo antes de la plantación del ajo, como de los que llegaron al sitio posteriormente durante el ciclo del cultivo, trasladados por el agua de riego o las labores mecánicas (Adams, 1981; Crowe, 1996; Crowe y Hall, 1980a; Coley-Smith, 1990). Los esclerocios trasladados desde otros sitios pudieron iniciar la enfermedad en distintos momentos, siempre que quedaron lo suficientemente enterrados como para que las raíces en desarrollo los localizaran. Esto pudo observarse principalmente en los sitios de baja densidad de inóculo, donde la

enfermedad comenzó en diferentes fechas a lo largo de todo el ciclo del cultivo (Crowe, 1996; Crowe y Hall, 1980a; McLean y Stewart, 2000). Los resultados obtenidos en estos ensayos indican que hasta el momento de la cosecha del cultivo, hay nuevos sitios del lote en los cuales la enfermedad aparece por primera vez, tanto en Cruz del Eje como en Jesús María.

Con respecto a la relación entre la densidad inicial de inóculo en el suelo y el momento en el cual apareció la enfermedad, se determinó que cuando la densidad de inóculo fue alta (mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo), la enfermedad invariablemente apareció en las primeras fechas de lectura de la incidencia, a partir de t_0 . En cambio, cuando la densidad de inóculo fue baja (menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo), la aparición de la enfermedad se extendió desde el primer día de inicio de la enfermedad en el lote (t_0), hasta la cosecha del cultivo. Coincidentemente con lo señalado por diversos autores (Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a; McLean y Stewart, 2000), cuando la densidad de inóculo de un sitio fue alta, las raíces se pusieron prontamente en contacto con los esclerocios, las plantas se enfermaron cuando eran pequeñas y los síntomas se manifestaron rápidamente. A diferencia de esto, cuando la densidad de esclerocios de un sitio fue baja, las raíces se fueron poniendo en contacto con los esclerocios en distintos momentos, a medida que fueron creciendo y los fueron alcanzando. Por esto muchas plantas se enfermaron cuando ya eran grandes y tardaron más tiempo en manifestar los síntomas (Crowe, 1996; McLean y Stewart, 2000). Por otra parte, en ambas localidades hubo sitios de muestreo en los cuales la enfermedad nunca se presentó, destacándose que estos sitios no contuvieron inóculo o tuvieron densidades muy bajas menores o iguales a 1 esclerocio/100 g de suelo. Cuando la densidad fue muy baja, la ausencia de enfermedad pudo deberse a que ninguna raíz localizara un esclerocio o a que el momento de infección ocurriera muy tarde y al ser las plantas ya grandes no hubiera manifestación visible de síntomas, en coincidencia con lo determinado por Crowe *et al.* (1980), Crowe y Hall (1980a) y McLean y Stewart (2000). Los resultados obtenidos en estos ensayos muestran que existe una relación entre el momento de aparición de la podredumbre blanca en Cruz del Eje y en Jesús María, y la densidad de esclerocios que hay en el suelo antes de la plantación del ajo. Si la densidad de esclerocios de un sitio de muestreo es alta (mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo), la aparición de la enfermedad no

se extiende más allá de la primera mitad del ciclo del cultivo; en cambio si la densidad de esclerocios de un sitio es baja (menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo), la aparición de la enfermedad se prolonga hasta la cosecha del cultivo.

El día medio de inicio de la epidemia tuvo mucha dispersión en ambas localidades y en todos los años. Esto ocurrió porque cada sitio de muestreo tuvo su propia fecha de inicio de la enfermedad dentro de un período muy amplio, que abarcó desde fines de mayo (t_0) hasta agosto o septiembre del mismo año (t_f). Esta variable indicó que la enfermedad apareció en momentos semejantes en los tres años en Cruz del Eje y en momentos diferentes en Jesús María. El menor valor observado en Jesús María en 2002 con respecto 2001, se debió a la mayor cantidad de sitios con alta densidad inicial de esclerocios en ese año (Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a; McLean y Stewart, 2000). Sin embargo, debido a la gran dispersión, el día medio de inicio de la epidemia es una variable de poca utilidad práctica; mientras que el día de inicio de la enfermedad en el lote (t_0) es una variable de gran utilidad práctica para definir la aplicación de medidas de manejo (Campbell y Madden, 1990; Fry, 1977). De acuerdo con estos autores, esta variable (t_0) permite conocer cuando hay que realizar la primera aplicación de un fungicida, con el objetivo de reducir oportunamente la tasa de infección del inóculo primario. Sin embargo, hay que considerar que en la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, entre la infección en las raíces y la manifestación de los síntomas en la parte aérea transcurren entre una y dos semanas (Crowe, 1996; Crowe y Hall, 1980a; McLean y Stewart, 2000; Metcalf y Wilson, 1999). Debido a esto, como los primeros síntomas de podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Córdoba se observan entre el 18 y el 30 de mayo, para lograr una reducción efectiva de esta enfermedad habría que evitar las infecciones en las raíces de las plantas, protegiéndolas con fungicidas a partir de los primeros días de mayo. Pero además, por la elevada dispersión que posee la variable día medio de inicio de la epidemia, se deduce que para reducir la tasa de infección de los esclerocios las plantas deberían mantenerse protegidas con un fungicida hasta la cosecha, coincidentemente con lo sugerido por Coley-Smith (1990) y Crowe (1996). Por otra parte, el día de inicio de la enfermedad en el lote (t_0) y la elevada dispersión que posee la variable día medio de inicio de la epidemia, implican que los esclerocios están en condiciones de germinar e infectar a las plantas desde los primeros días de mayo hasta la cosecha del cultivo. Siempre y cuando reciban el

estímulo de los exudados de las raíces de las plantas de ajo, y las condiciones ambientales sean favorables para el desarrollo del patógeno, como ocurre normalmente en Cruz del Eje y en Jesús María desde mayo hasta septiembre (Coley-Smith, 1960; Coley-Smith 1990; Crowe, 1996; Crowe, 2002; Crowe y Hall, 1980b). Por estos motivos, para reducir con éxito la densidad inicial de inóculo de *S. cepivorum* en los suelos de Córdoba, mediante la incorporación de compuestos estimulantes de la germinación de los esclerocios, habría que incorporarlos al suelo a partir de fines de mayo, de acuerdo a lo propuesto por diversos autores (Coley-Smith, 1990; Hovius y McDonald, 2002; Merriman *et al.*, 1980; Tyson *et al.*, 2000). Por consiguiente, de acuerdo a los resultados de estos ensayos los esclerocios de *S. cepivorum* de los suelos de Cruz del Eje y de Jesús María están capacitados para germinar e infectar a las plantas de ajo desde los primeros días de mayo hasta la cosecha.

En cuanto a la duración de la epidemia, ésta fue mayor en Jesús María que en Cruz del Eje, a causa de que en esa localidad la cosecha se realizó más tarde y que hasta el momento de la cosecha estaban apareciendo nuevos sitios con enfermedad y nuevas plantas con síntomas dentro de cada sitio. Esta duración de la epidemia hasta la cosecha del cultivo de ajo coincide con lo reportado por Crowe *et al.* (1980) en ensayos realizados en campos naturalmente infestados en California. Este largo período de aparición de nuevas plantas enfermas se debió a que las plantas de cada sitio se enfermaron progresivamente, ya sea por contacto de las raíces con los esclerocios o por contagio a través del micelio proveniente de las raíces de plantas vecinas enfermas (Crowe y Hall, 1980a; Crowe, 1996). Por consiguiente, a partir de estos resultados y teniendo en cuenta la similitud en el día de inicio de la epidemia (t_0), puede inferirse que la duración de las epidemias de podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Cruz del Eje y Jesús María, varían de acuerdo a la fecha de cosecha de los cultivos.

Con respecto a la incidencia inicial, la enfermedad apareció por primera vez en los lotes con valores desde 2% hasta 48%, y la incidencia inicial media fue diferente entre los distintos años y en ambas localidades. En cuanto a la incidencia final, esta alcanzó valores tan bajos como 2%, hasta tan altos como 100%, a pesar que en las enfermedades de raíces es común que la cantidad máxima de enfermedad que se alcanza sea considerablemente inferior al 100% (Campbell, 1986). También la incidencia final media fue diferente entre

los distintos años y en ambas localidades. No obstante, debido al amplio rango entre los valores mínimos y máximos, la incidencia final media es poco representativa de lo que ocurre en el lote. Similares observaciones con respecto a la gran variabilidad en la incidencia final fueron hechas por Crowe *et al.* (1980), en cultivos de ajo en campos naturalmente infestados con *S. cepivorum*. Esta notable variabilidad en las incidencias inicial y final, se debió a la marcada variabilidad en la densidad de esclerocios que tenían los lotes de Córdoba (Capítulo 2) y es característica de las enfermedades de raíces que tienen inóculo inicial agregado en el suelo (Campbell, 1986; Campbell y Madden, 1990). Por consiguiente, los resultados obtenidos en estos ensayos indican que las incidencias inicial y final de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Cruz del Eje y de Jesús María, son considerablemente variables. La incidencia inicial puede variar entre 2% y 48%, y la incidencia final entre 2% y 100%.

Por otra parte, la gran variabilidad que se observa en las curvas de progreso de la podredumbre blanca en cultivos de ajo de Cruz del Eje y Jesús María, es común en las enfermedades de raíces con inóculo inicial en el suelo, como es el caso de *S. cepivorum*, coincidentemente con lo mencionado por Campbell (1986) y Campbell y Madden (1990). Con respecto a la forma predominante de las curvas, las que comenzaron temprano tuvieron forma sigmoidea y las que comenzaron tarde forma exponencial. Estas formas se debieron a que las plantas se enfermaron progresivamente, a partir de los esclerocios distribuidos en el perfil del suelo y del micelio proveniente de plantas vecinas enfermas (Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a; Campbell, 1996; McLean y Stewart, 2000). Coincidentemente, Campbell (1986) indica que el crecimiento de la raíz es el principal factor determinante del progreso de las epidemias de las enfermedades de raíces. En ningún caso la forma sigmoidea o exponencial de estas curvas se debió a la repetición de ciclos de la enfermedad durante la misma estación de crecimiento del ajo, tal como lo reportado por Campbell (1986) para otras enfermedades de raíces; principalmente debido a que los esclerocios de *S. cepivorum* que se producen en una estación de cultivo, no son infectivos sino recién en la estación siguiente (Coley-Smith *et al.*, 1987; Crowe, 1996; McLean *et al.*, 2005). Además, porque los esclerocios se forman principalmente en la parte basal del bulbo en descomposición y cuando las plantas afectadas mueren permanecen en la zona del suelo donde se formaron; lugar desde el cual no tienen

oportunidad de infectar las raíces cuando las plantas de ajo ya están desarrolladas (Coley-Smith, 1960; Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a; McLean y Stewart, 2000). La forma exponencial pertenece a las curvas que empezaron tarde y corresponden a la primera parte de una curva que sería sigmoidea si tuviera más tiempo para progresar, de acuerdo a lo manifestado por Campbell y Madden (1990). Las formas de las curvas epidémicas de la podredumbre blanca en Córdoba, fueron diferentes a las obtenidas por Pinto *et al.* (1998), en ensayos de campo realizados con distintos cultivares de ajo, en Brasil; debido a que estos autores encontraron que el progreso de la enfermedad fue exponencial en las dos a tres primeras semanas y lineal después de ese período. Consecuentemente, estos resultados muestran que las curvas de progreso de la podredumbre blanca en cultivos de ajo, fueron muy variables en ambas localidades de Córdoba. Esta notable variabilidad puede observarse en el momento de inicio de la curva correspondiente a cada sitio de muestreo, en el progreso de la incidencia en las sucesivas fechas de lectura, en la forma de las curvas y en los valores de incidencia final alcanzados.

Además, las curvas de progreso de la enfermedad correspondientes a los sitios con densidades iniciales mayores a 15 esclerocios/100 g de suelo, comenzaron temprano, progresaron rápido y alcanzaron incidencias finales entre 64% y 100%. En contraste, las curvas que se desarrollaron en los sitios con densidades iniciales iguales o menores a 15 esclerocios/100 g de suelo, comenzaron en distintas fechas desde el día de inicio de la enfermedad (t_0) hasta la cosecha, progresaron a distintas velocidades y alcanzaron incidencias finales entre 2% y 100%. Pero las curvas que comenzaron muy tarde, en las últimas fechas de evaluación, no superaron el 50% de incidencia. Por consiguiente, el progreso de la enfermedad estuvo relacionado con la densidad inicial de esclerocios del sitio, coincidentemente con lo determinado por Campbell (1986) y Campbell y Madden, (1990) para otras enfermedades de raíces con reservorio de inóculo en el suelo. En consecuencia, los resultados muestran que la marcada variación de la densidad inicial de esclerocios, en los suelos de Cruz del Eje y Jesús María, ocasionan notorias variaciones en el día de inicio, la tasa de progreso, la forma de las curvas epidémicas y la incidencia final de la podredumbre blanca en cultivos de ajo.

Acerca de la relación entre la densidad inicial de esclerocios en el suelo y la incidencia final de la podredumbre blanca, en un primer análisis se abarcó toda la superficie estudiada en cada localidad y año. Los resultados de este análisis mostraron que cuando la densidad inicial de los sitios de muestreo fue alta, mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo, la incidencia final alcanzó valores entre 64% y 100% y en todos los sitios la enfermedad se manifestó. En cambio, cuando la densidad fue baja, menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo, la incidencia final varió entre 2% y 100% y hubo sitios en los cuales no hubo enfermedad. Esta dependencia de la incidencia final de la podredumbre blanca con respecto a la densidad inicial de esclerocios, también fue señalada por diversos autores (Adams, 1981; Crowe, *et al.*, 1980; Delgadillo *et al.*, 2002). Al respecto, Adams (1981) en ensayos a campo con cebolla de verdeo estableció que la densidad inicial de esclerocios y la incidencia final se relacionaban mediante una ecuación cuadrática. En cambio, Crowe *et al.* (1980) en ensayos a campo con ajo, en suelos con densidad de inóculo uniforme, encontraron que con densidades entre 0,1 a 10 esclerocios/100 g de suelo en preplantación, la incidencia final varió entre 10% y 100%. Además, estos autores determinaron que densidades iniciales mayores a 10 esclerocios/100 g de suelo, siempre produjeron incidencias del 100%. Por otra parte, a diferencia de los resultados obtenidos en Córdoba, Delgadillo *et al.* (2002) en ensayos con ajo en bandejas colocadas en condiciones de campo, manifestaron que la incidencia de la podredumbre blanca aumentó en forma directamente proporcional a la densidad de esclerocios. La falta de linealidad encontrada en la relación entre la densidad inicial de esclerocios y la incidencia final, en ambas localidades de Córdoba, se debió a que las plantas pudieron enfermarse a partir de uno o de muchos esclerocios y/o contagiarse a través del micelio cuando sus raíces estuvieron en contacto. Además, pudieron enfermarse en distintos estados de desarrollo, lo que determinó una gran variación en el momento de aparición de los síntomas, de acuerdo con Crowe *et al.* (1980) y Crowe y Hall (1980a). En consecuencia, los análisis realizados abarcando toda la superficie de los ensayos, muestran que la incidencia final de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Cruz del Eje y Jesús María, depende de la densidad de esclerocios que hay en el suelo previamente a la plantación. Altas densidades iniciales de esclerocios en el suelo resultan en incidencias de la enfermedad entre 64% y 100%, en cambio bajas densidades iniciales de esclerocios resultan en incidencias finales entre 2% y 100%, o en ausencia de enfermedad.

Por otra parte, para estudiar la relación entre la densidad inicial de inóculo y la incidencia final de la enfermedad en Cruz del Eje, se consideraron una zona próxima y otra alejada del canal de riego. Los resultados de los análisis demostraron que en la zona adyacente al canal se mantuvo el mismo tipo de relación entre la densidad de esclerocios y la incidencia final que se había determinado cuando se estudió la superficie total del lote, para las densidades de inóculo alta y baja. En esta zona hubo sitios de muestreo con densidad inicial de esclerocios alta y baja. Por su parte, en la zona alejada del canal, donde todos los sitios tenían densidad de esclerocios baja, la incidencia final no superó el 34%. Una situación diferente a la de la zona alejada del canal en Cruz del Eje ocurrió en Jesús María en el primer año de ensayos, porque si bien todos los sitios tuvieron baja densidad de esclerocios la incidencia final alcanzó valores hasta del 100%. Esto se debió a que las raíces de la mayoría de las plantas pudieron ponerse en contacto con un esclerocio a causa de la distribución uniforme de los esclerocios en el suelo (Capítulo 2) (Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a). Además, la mayor densidad de plantas y la más prolongada duración de la epidemia con respecto a Cruz del Eje, permitieron un mayor contagio entre plantas vecinas a través del micelio del patógeno (Crowe, *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a). Por otra parte, coincidentemente Crowe (1996) menciona que bajas poblaciones de esclerocios pueden provocar altas incidencias de la enfermedad, debido principalmente a la gran eficiencia de infección de los esclerocios de *S. cepivorum*. Por consiguiente, estos resultados muestran que en los cultivos de ajo de Cruz del Eje, la incidencia final de la podredumbre blanca en los sitios de muestreo de baja densidad de esclerocios, depende de la densidad de esclerocios del sitio y de la densidad de los sitios que lo rodean. Cuando los sitios de densidad de inóculo baja están en una zona en la cual también hay sitios que tienen densidad alta, la incidencia final varía entre 2% y 100% y también puede no ocurrir enfermedad en el sitio. Pero cuando todos los sitios de una amplia zona tienen baja densidad de inóculo, la incidencia final no supera el 34%.

Además, en las zonas del lote de Cruz del Eje donde todos los sitios tenían densidad de inóculo baja, se encontró que la densidad inicial de esclerocios y la incidencia final de la enfermedad se relacionaban mediante una función exponencial. Al respecto, Coley-Smith (1990) manifestó que si bien la relación entre estas variables fue investigada por numerosos autores, en la mayoría de los casos no pudo establecerse una ecuación

matemática que las relacionara. No obstante, en los ensayos realizados en Cruz del Eje esto fue posible para las densidades de inóculo bajas. A diferencia de la función exponencial determinada para Cruz del Eje, Adams (1981) estableció que estas variables se relacionaban mediante una función cuadrática para todas las densidades de inóculo, en ensayos realizados con cebolla de verdeo en New Jersey. Además, la ecuación encontrada en Cruz del Eje es útil para predecir la incidencia de la enfermedad en situaciones de baja densidad de inóculo, a semejanza de lo manifestado por Adams (1981) para su función cuadrática. Por otra parte, la ecuación exponencial que relaciona la densidad inicial de esclerocios en el suelo de Cruz del Eje con la incidencia final de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo, indica que si no se encontrara ningún esclerocio podría esperarse una incidencia final de 3,94%. Esto se debió a que se procesaron 100 gramos de suelo de cada sitio de muestreo, por lo tanto, la mínima densidad de inóculo que se podría haber determinado es 1 esclerocio/100 de suelo. Este efecto también fue señalado por Adams (1981) en su ecuación para predecir la incidencia de podredumbre blanca en cebolla de verdeo, quien además sugirió que para mejorar la sensibilidad del análisis habría que procesar mayor cantidad de suelo. Pero que esto significaría un gran esfuerzo de dudoso valor práctico, debido a que si no fuera encontrado ningún esclerocio previamente a la plantación del cultivo, probablemente habría poco riesgo de tener grandes pérdidas. Por consiguiente, los resultados obtenidos en la presente investigación indican que en el suelo de Cruz del Eje, cuando previamente a la plantación del cultivo, la densidad de inóculo de todos los sitios de muestreo es inferior a 15 esclerocios/100 g de suelo, una función exponencial de la densidad de inóculo predice la incidencia final de la podredumbre blanca en cultivos de ajo.

Con respecto a la incidencia final media alcanzada en las distintas situaciones de densidad de inóculo, se observó que en los sitios de alta densidad de esclerocios la incidencia final media fue más alta (91,43% - 96,33%), que en los sitios de baja densidad de inóculo (4% - 73,20%). Esto se debió a que cuando la densidad de esclerocios fue alta, todas las plantas tuvieron oportunidad de enfermarse a partir de uno o de varios esclerocios (Crowe y Hall, 1980a; McLean y Stewart, 2000). En cambio, cuando la densidad fue baja hubo plantas que no se pusieron en contacto con ningún esclerocio y aunque algunas se enfermaron a partir del micelio proveniente de plantas vecinas, muchas permanecieron

sanas (Crowe, *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a). También las plantas pudieron enfermarse cuando ya estaban muy desarrolladas y por ese motivo no mostraron síntomas (Crowe y Hall, 1980a; McLean y Stewart, 2000). Por otra parte, en los sitios de baja densidad de esclerocios la incidencia final media tuvo valores distintos según se tratara de la zona adyacente o de la zona alejada del canal de riego. La incidencia final media en la zona adyacente al canal de riego, donde los sitios de baja densidad de inóculo estaban rodeados de sitios con alta densidad, fue más alta (32,86% - 73,20%) que la incidencia final media (4% - 13%) de la zona alejada del canal, donde todos los sitios tenían densidad baja. Estas diferencias en los valores de incidencia final media pudieron deberse a que en las zonas donde había sitios con alta y con baja densidad de inóculo, pudo ocurrir diseminación de esclerocios desde los sitios más hacia los menos contaminados, mediante el uso recurrente del riego por gravedad y las labores mecánicas del suelo (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980). En consecuencia, de estos resultados puede deducirse que en Cruz del Eje, cuando la densidad inicial de esclerocios en el suelo es alta, la incidencia final media de la podredumbre blanca en cultivos de ajo es alta (91,43% - 96,33%). En cambio, cuando la densidad inicial de esclerocios en el suelo es baja, la incidencia final media alcanza valores intermedios (32%-86%) si se trata de una zona donde hay sitios que tienen densidad baja y otros alta, pero alcanza valores bajos (4%-13%) si todos los sitios de la zona tienen densidad de esclerocios baja.

En base a los resultados encontrados en estos ensayos se puede concluir finalmente que la incidencia final de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Córdoba, depende de la densidad inicial de esclerocios que haya en el suelo previamente a la plantación del cultivo. Por este motivo, a pesar de la marcada variación en la densidad y distribución de los esclerocios de *S. cepivorum*, la densidad de éstos previa a la plantación puede usarse para predecir, dentro de valores aproximados, la incidencia final de la podredumbre blanca en cultivos ajo, coincidentemente con lo afirmado por Adams (1981) y Crowe *et al.* (1980). Por otra parte, en estudios realizados previamente en los suelos de Córdoba, se habían detectado notables aumentos en la cantidad de esclerocios con el transcurso de los años y también dispersión de los esclerocios desde las zonas contaminadas hacia las menos contaminadas o sanas (Capítulo 2). Debido a esto y a las relaciones que existen entre la densidad inicial de esclerocios y la incidencia final de la

enfermedad, coincidentemente con Crowe, *et al.* (1980), se recomienda no cultivar ajo en los suelos de Córdoba donde se detecten esclerocios, aún en bajas densidades.

CONCLUSIONES

La podredumbre blanca aparece por primera vez (t_0) en los cultivos de ajo de Córdoba de manera estable entre el 18 y el 30 de mayo, independientemente de la fecha de plantación. En ese momento las plantas tienen entre 2 y 6 hojas. A partir de ese momento, la aparición de la enfermedad en los distintos sitios dentro de los lotes se extiende hasta la cosecha.

El momento de aparición de la podredumbre blanca en los distintos sitios dentro de los lotes con cultivos de ajo, en Córdoba, depende de la densidad de esclerocios que hay en el suelo previamente a la plantación. En los sitios con densidad alta, mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo, la aparición de la enfermedad no se extiende más allá de la primera mitad del ciclo del cultivo. En los sitios con densidad baja, menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo, la aparición de la enfermedad ocurre desde el día de inicio de la enfermedad en el lote (t_0) hasta la cosecha.

Los esclerocios de *S. cepivorum* de los suelos de Cruz del Eje y de Jesús pueden germinar e infectar a las plantas de ajo desde los primeros días de mayo hasta la cosecha del cultivo.

La incidencia inicial y final de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Cruz del Eje y Jesús María son considerablemente variables dentro de los lotes. La incidencia inicial puede variar entre 2 y 48% y la incidencia final entre 2 y 100%, y puede haber sitios de los lotes donde la enfermedad no se presente.

La gran variabilidad que poseen las curvas de progreso de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Cruz del Eje y Jesús María, depende de las marcadas variaciones en la densidad inicial de esclerocios de *S. cepivorum* en los suelos.

Cuando la densidad inicial es mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo, las curvas epidémicas comienzan temprano, progresan rápido, tienen formas predominantemente sigmoideas y alcanzan incidencias finales entre 64 y 100%. Cuando la densidad inicial es igual o menor a 15 esclerocios/100 g de suelo, las curvas comienzan en distintas fechas hasta la cosecha, progresan con tasas muy variables, tienen formas sigmoideas o exponenciales y alcanzan incidencias finales entre 2 y 100%.

La incidencia final de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Córdoba, depende de la densidad de esclerocios que hay en el suelo previamente a la plantación del cultivo.

Conociendo la densidad de esclerocios que hay en los suelos naturalmente infestados de Cruz del Eje previamente a la plantación del cultivo, se puede predecir dentro de valores aproximados la incidencia final de podredumbre blanca en los cultivos de ajo.

Cuando la densidad inicial es alta, mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo, la incidencia final de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Cruz del Eje y Jesús María es alta, entre 64 y 100% y en todos los casos la enfermedad se manifiesta.

Cuando la densidad inicial es baja, menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo, y en ese lote hay sitios que tienen densidad de inóculo baja y otros que tienen densidad alta, la incidencia final de la podredumbre blanca en cultivos de ajo de Cruz del Eje es muy variable, entre 2 y 100% y puede ser que la enfermedad no se manifieste.

Cuando la densidad inicial es menor o igual a 12 esclerocios/100 g de suelo, pero todos los sitios del lote tienen densidad de inóculo baja, menor o igual a 15 esclerocios/100

g de suelo, la incidencia final de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Cruz del Eje responde a una función exponencial de la densidad inicial de esclerocios.

Si no se detectan esclerocios en el suelo, mediante la técnica de muestreo y procesamiento que se utiliza en la presente investigación, la incidencia final de la podredumbre blanca en cultivos de ajo de Cruz del Eje es menor a 3,94%.

Cuando la densidad inicial es baja, menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo, independientemente de si esos sitios están en una zona donde también hay sitios con alta densidad de inóculo o si todos los sitios tienen baja densidad, la incidencia final de la podredumbre blanca en cultivos de ajo de Jesús María es muy variable, entre 2 y 100% y puede ser que la enfermedad no se manifieste.

MODELIZACIÓN DE LAS CURVAS DE PROGRESO DE LA PODREDUMBRE BLANCA DEL AJO Y LA CEBOLLA

INTRODUCCIÓN

La selección de un modelo matemático apropiado para describir los datos de la curva de progreso de una enfermedad, permite caracterizar numéricamente el fenómeno biológico que significa una epidemia en un cultivo. Los parámetros estimados por el modelo, de los cuales la tasa de incremento de la enfermedad y la enfermedad inicial estimada son los más frecuentemente utilizados, son fundamentales para caracterizar, analizar, comprender y comparar las epidemias. Además, la modelización de la curva epidémica origina información que puede ser utilizada para elaborar estrategias de manejo de la enfermedad (Berger, 1977; Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004).

Los datos de incidencia de la podredumbre blanca en cultivos de ajo, permitieron obtener las curvas de progreso de esta enfermedad en Cruz del Eje y en Jesús María. Es necesario entonces encontrar un modelo que pueda describirlas adecuadamente, que permita compararlas y que genere información válida para fundamentar estrategias de manejo de la enfermedad apropiadas para la región.

Los modelos clásicos más extensamente utilizados para describir epidemias en patología vegetal, han sido los modelos no lineales exponencial, monomolecular, logístico y Gompertz, por su simplicidad y por permitir atribuir variables biológicas a sus parámetros (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004). De estos el modelo logístico ha sido el de aplicación más extensamente difundida, debido a su precisión y adaptabilidad para describir numerosas epidemias. Normalmente las enfermedades que presentan curvas

sigmoideas son bien caracterizadas por este modelo, que integra los supuestos biológicos de los modelos exponencial y monomolecular (Campbell, 1986; Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004; Waggoner, 1986).

Para la estimación de los parámetros los modelos han sido tradicionalmente ajustados a los datos de incidencia por el método de regresión por mínimos cuadrados (Campbell y Madden, 1990). La regresión lineal, mediante la aplicación de transformaciones a los datos para su linearización, ha sido extensamente utilizada. Campbell y Madden (1990) la recomiendan y dicen que las estimaciones estarán cerca de las que se pueden obtener ajustando directamente un modelo no lineal. No obstante, sugieren que la regresión no lineal debería preferirse, por lograr una estimación de los parámetros más próxima a los datos observados, al tratar la variable de interés tal como fue registrada. Dentro de los parámetros estadísticos utilizados para la determinar la bondad de los ajustes de los modelos, el coeficiente de determinación (R^2) sugiere cuan útil será la recta como predictora, porque representa la proporción de la variabilidad total de la variable respuesta (y) respecto a su media, que es explicada por el modelo. De modo que grandes valores de R^2 sugieren baja variabilidad sobre la línea de predicción (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004). Sin embargo, las decisiones sobre que valor constituye un R^2 grande, dependen del tipo de estudio y de los objetivos del investigador (Campbell y Madden, 1990). A causa de que un modelo igualmente puede ser inapropiado aún con un R^2 grande, los gráficos de dispersión de los residuales con respecto a los valores predichos son indispensables para verificar el cumplimiento de los supuestos de la regresión y determinar si se está usando un modelo apropiado (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004). Estos supuestos deseables para la significancia de la prueba, son que los datos, por ejemplo la incidencia, sigan una distribución normal, que tengan varianzas homogéneas para cualquier valor de la variable independiente, en este caso el tiempo y que sean independientes entre si, el supuesto más importante (Campbell y Madden, 1990). Sin embargo, en las medidas longitudinales, como los datos de progreso de una enfermedad evaluados como la proporción de plantas enfermas o muertas a través del tiempo, estos supuestos habitualmente no se cumplen (Casanoves *et al.*, 2005; Balzarini, 2006; Macchiavelli *et al.*, 2004).

Por otra parte, los modelos y métodos de análisis clásicos no han sido desarrollados específicamente para aplicaciones en epidemiología vegetal. Estos han sido adaptados de análisis de curvas de crecimiento y dinámica de poblaciones y fueron desarrollados usando una serie de supuestos implícitos, entre los cuales está que el diseño espacial de la enfermedad sea aleatorio o regular (Campbell y Madden, 1990). De este modo, los modelos de curvas de crecimiento y métodos analíticos clásicos ignoran los aspectos espaciales de las epidemias y pueden conducir a conclusiones erróneas acerca de la naturaleza del progreso de la enfermedad (Campbell y Madden, 1990). Porque estudios empíricos y teóricos confirman que la densidad, el grado de agregación, la localización del inóculo y cómo éste interactúa con la planta hospedante, influyen fuertemente en las características de las epidemias de los patógenos del suelo (Campbell, 1986; Campbell y Madden, 1990). En estos casos las ecuaciones de los modelos pueden ser alteradas de distintos modos, incorporando características como por ejemplo la densidad de inóculo, a fin de representar más exactamente la epidemia y mejorar su descripción y comprensión (Guilligan, 1990, citado por Campbell y Madden, 1990; Waggoner y Rich, 1981, citado por Campbell y Madden, 1990). Si bien dependiendo de los objetivos de la investigación, el incumplimiento de los supuestos puede no afectar las conclusiones generales, su cuidadosa consideración conduce a una descripción más precisa de la epidemia y a una representación más exacta de los datos reales (Campbell y Madden, 1990). No obstante, Zewide *et al.* (2007), describieron adecuadamente las curvas de progreso de la podredumbre blanca en cultivos de ajo, linearizando los datos de incidencia y ajustando el modelo monomolecular por el método de regresión por mínimos cuadrados. En cambio Sanchez-Pale *et al.* (2002) ajustaron para esta enfermedad el modelo Weibull sin linearizar. Por otra parte, March *et al.* (1998) y Marinelli *et al.* (2001), lograron buenos ajustes de las curvas epidémicas de enfermedades de maní con inóculo inicial en el suelo, a los modelos logístico, Gompertz y monomolecular, mediante regresión lineal.

En los casos en los cuales no se cumplen los supuestos deseables para el ajuste de los modelos mediante el análisis de regresión por mínimos cuadrados, el marco teórico de los modelos lineales y generalizados mixtos, brinda la posibilidad de analizar y modelar datos experimentales con falta de normalidad, variancias heterogéneas y estructuras de dependencia (Casanoves *et al.*, 2005; Balzarini, 2006; Davidian y Giltinan, 2003;

Macchiavelli *et al.*, 2004). Los modelos mixtos permiten modelar la respuesta de un estudio experimental u observacional como función de factores o covariables, cuyos efectos pueden ser considerados tanto constantes fijas como variables aleatorias. Un efecto es considerado como fijo, si los niveles del factor asociado han sido arbitrariamente determinados por el investigador, mientras que se trata como aleatorio si los niveles de los factores en el ensayo pueden ser considerados como una muestra aleatoria de una población de niveles para el factor y por lo tanto, existe una distribución de probabilidad asociada que es necesario caracterizar (Casanoves *et al.*, 2005; Balzarini, 2006).

Distintos tipos de modelos son considerados bajo el marco general de los modelos mixtos (Casanoves *et al.*, 2005; Balzarini, 2006). En el modelo mixto de coeficientes aleatorios los efectos aleatorios están asociados a covariables, son coeficientes de una regresión. Por ejemplo, en un modelo de regresión de la incidencia sobre el tiempo, se podría pensar que el intercepto y/o la pendiente varían aleatoriamente entre los sujetos que aportan información para el ajuste de la regresión (Casanoves *et al.*, 2005; Balzarini, 2006). Los modelos mixtos de coeficientes aleatorios pueden ser modelos con efecto aleatorio de sujeto (o sujeto - específicos) o modelos promedio poblacionales. Los primeros expresan la relación entre la media condicional de la variable de interés (por ejemplo la incidencia de enfermedad) y las covariables o factores considerados (por ejemplo el tiempo). La palabra condicional enfatiza el hecho de que es la media de la variable respuesta para un dado valor del efecto aleatorio, o sea un sujeto específico. Eso es lo que los distingue de los modelos promedio poblacionales, en los que el modelo expresa la relación entre la media marginal de la variable respuesta y las covariables o factores involucrados (Davidian y Giltinan, 2003; Macchiavelli, com. pers.).

Entre los beneficios que pueden ser obtenidos con el uso de los modelos mixtos están el incremento en la precisión de las estimaciones, debido a que los errores estándar se calculan con mayor exactitud y por lo tanto se modifican las pruebas de hipótesis; la ampliación del espacio de inferencia, debido a la existencia de efectos aleatorios y la mejor comprensión de la estructura de los datos, que permite realizar interpretaciones biológicas más exactas de las curvas de progreso de las enfermedades (Casanoves *et al.*, 2005; Balzarini, 2006; Machiavelli *et al.*, 2004). Los modelos mixtos han sido ampliamente

utilizados en investigaciones médicas, bioquímicas y forestales, porque permiten superar la falta de precisión de los modelos clásicos en este tipo de investigaciones. Fundamentalmente debida a la presencia de fuertes estructuras de correlación entre las observaciones pertenecientes a una misma unidad experimental, (Davidian y Giltinan, 2003). En epidemiología vegetal su aplicación es más reciente. Al respecto, Macchiavelli, *et al.* (2004) aplicaron diferentes estrategias para modelar la curva de progreso del virus de la mancha anillada de la papaya (PRSA) bajo cuatro tratamientos para malezas. Entre estas estrategias ajustaron un modelo no lineal generalizado mixto que les permitió superar la falta de cumplimiento de los supuestos de la regresión y describir adecuadamente la enfermedad. Además, Torres y Macchiavelli (2007) propusieron una metodología de análisis estadísticos para interpretar las curvas sujeto-específicas en un modelo logístico con “interceptos” y pendientes aleatorias, y aplicaron los resultados al conjunto de datos de incidencia de podredumbre blanca, obtenidos en Cruz del Eje y Jesús María para la presente investigación.

Los parámetros epidemiológicos estimados a partir del ajuste de modelos a los datos de incidencia obtenidos experimentalmente, son básicos para comparar epidemias entre distintas zonas, años, variedades, tratamientos químicos y técnicas de manejo y también para formular sistemas de predicción (Berger, 1977; Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004). Por estos motivos, la selección de un modelo que caracterice adecuadamente los datos de las curvas de progreso de la podredumbre blanca en Córdoba, permite analizar, comprender y comparar las epidemias y genera información que fundamenta estrategias de manejo de la enfermedad apropiadas para la región (Berger, 1977; Campbell y Madden, 1990; March *et al.* 2004).

Objetivo General

Modelizar las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla en la provincia de Córdoba.

Objetivos específicos

- e) Modelizar las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, en dos zonas productoras de ajo de la provincia de Córdoba.
- f) Comparar las curvas de progreso estimadas en cada zona productora de ajo, en los distintos años.

MATERIALES Y MÉTODOS

Modelización de las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, en dos zonas productoras de ajo de la provincia de Córdoba

Se modelizaron estadísticamente las curvas empíricas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla en un cultivo de ajo, a partir de los valores de incidencia de la enfermedad registrados en las localidades de Cruz del Eje, los años 2001, 2002 y 2003 y en Jesús María, los años 2001 y 2002.

Los procesos dinámicos como los cambios en la intensidad de una enfermedad en el tiempo, están definidos por sus tasas de cambio con el tiempo (Campbell y Madden, 1990). Si y es la cantidad de enfermedad medida como incidencia, una epidemia puede ser descrita en términos de dy/dt , los cambios infinitesimales en y de la enfermedad (dy), con cada cambio infinitesimal en el tiempo (dt). El término dy/dt representa la tasa absoluta de incremento (o disminución) de la enfermedad o tasa absoluta de crecimiento. Esta tasa puede ser modelada en función de variables como el tiempo (t), o la incidencia (y) de la enfermedad (Campbell y Madden, 1990). En el presente trabajo la modelización se realizó en tres etapas:

Primera etapa: En la primera etapa de análisis, para estimar los parámetros incidencia inicial (y_0) y tasa de incremento de la enfermedad (r), se ajustaron los modelos determinísticos empíricos no lineales, monomolecular, logístico y Gompertz, mediante la técnica de regresión lineal simple. Para ello se efectuaron las transformaciones correspondientes de los datos de incidencia para su linearización, mediante logaritmos naturales. La bondad de los ajustes se evaluó considerando la significancia del modelo ($\text{Prob}>F$) y de los parámetros estimados, intercepto (β_0) y pendiente o tasa de incremento de la enfermedad (r), el coeficiente de determinación (R^2) y la dispersión de los residuos estudentizados con respecto a los valores predichos transformados (y^*) (Campbell y Madden, 1990). Los análisis se realizaron con el programa de análisis estadísticos InfoStat (2006).

Modelos no lineales comúnmente usados en epidemiología

Entre los modelos no lineales pero intrínsecamente lineales, más comúnmente utilizados en fitopatología para describir y analizar las curvas de progreso de una enfermedad, están el monomolecular, el logístico y el Gompertz (Campbell y Madden, 1990; March *et. al.*, 2004).

El modelo monomolecular tiene como supuesto biológico que la tasa absoluta (dy/dt) de incremento de intensidad de una enfermedad, en un momento específico del tiempo (t_i), es una proporción constante (r_M) de la cantidad de tejido vegetal o de plantas aparentemente sanas ($1 - y_i$) en ese momento del tiempo. La ecuación diferencial de este modelo puede ser escrita como (Campbell y Madden, 1990; March *et. al.*, 2004):

$$dy/dt = r_M (1 - y_i) \quad (4. 1)$$

El término r_M es el parámetro tasa con unidades de tiempo -1 . Para obtener el modelo determinístico se transforma la ecuación (4. 1) mediante el cálculo integral:

$$y = 1 - B \exp^{-r_M t} \quad (4. 2)$$

Donde B es una constante de integración igual a $(1 - y_0)$.

El modelo logístico tiene como supuesto biológico que la tasa absoluta (dy/dt) de incremento de intensidad de una enfermedad, en un momento específico del tiempo (t_i), es una proporción constante (r_L) de la cantidad de enfermedad (y) y del tejido vegetal o de plantas aparentemente sanas ($1 - y_i$) en ese momento del tiempo. La ecuación diferencial para el modelo logístico puede ser escrita como (Campbell y Madden, 1990; March *et. al.*, 2004):

$$dy/dt = r_L y (1 - y_i) \quad (4.3)$$

El término r_L es el parámetro tasa con unidades de tiempo -1 , con un nivel máximo de y igual a 1. Para obtener el modelo determinístico se transforma la ecuación (4.3) mediante el cálculo integral:

$$y = 1 / 1 + \exp^{-(B + r_L t)} \quad (4.4)$$

Donde B es una constante de integración y es igual a $\ln [y_0 / (1 - y_0)]$, desde ahora B se llamará “**intercepto**”.

El modelo **Gompertz** tiene como supuesto biológico que la tasa absoluta (dy/dt) de incremento de intensidad de una enfermedad, en un momento específico del tiempo (t_i), es una proporción constante (r_G) de la cantidad de enfermedad (y) y del logaritmo natural del tejido vegetal o de plantas aparentemente sanas ($1 - y_i$), en ese momento del tiempo. La ecuación diferencial para el modelo Gompertz puede ser escrita como (Campbell y Madden, 1990; March *et. al.*, 2004):

$$dy/dt = r_G y [(\ln 1) - (\ln y_i)]$$

$$dy/dt = r_G y [-\ln (y_i)] \quad (4.5)$$

El término r_G es el parámetro tasa con unidades de tiempo -1 . Para obtener el modelo determinístico se transforma la ecuación (4.5) mediante el cálculo integral:

$$y = \exp^{[-B \exp(-rG t)]} \quad (4. 6)$$

Donde B es una constante de integración y es igual a $-\ln(y_0)$.

Estimación de parámetros por análisis de regresión lineal

Para obtener los parámetros intensidad inicial (y_0) y tasa de incremento de la enfermedad (r), que caracterizan a una curva de progreso de enfermedad, los modelos no lineales son ajustados a los datos de incidencia mediante la técnica de regresión lineal simple. Para ello deben efectuarse las transformaciones correspondientes de los datos para su linearización mediante logaritmos naturales:

$$\text{Modelo monomolecular: } \ln [1/(1-y_i)] = \ln [1/(1-y_0)] + r_M t \quad (4. 7)$$

$$\text{Modelo logístico: } \ln [y_i/(1-y_i)] = \ln [y_0/(1-y_0)] + r_L t \quad (4. 8)$$

$$\text{Modelo Gompertz: } -\ln [-\ln (y_i)] = -\ln [-\ln (y_0)] + r_G t \quad (4. 9)$$

Donde $\ln [1/(1-y_0)]$, $\ln [y_0/(1-y_0)]$ y $-\ln [-\ln (y_0)]$ son las ordenadas al origen en la recta de los valores transformados para el uso de los modelos monomolecular, logístico y Gompertz, respectivamente, cuando $t = 0$, y r_M , r_L y r_G son las pendientes o tasas de incremento de la enfermedad en el tiempo t , para los modelos monomolecular, logístico y gompertz, respectivamente (Campbell y Madden, 1990; March *et. al.*, 2004).

Segunda etapa: En la segunda etapa de análisis, para estimar los parámetros “intercepto” (B) y tasa de incremento de la enfermedad (r) que caracterizan a una curva de progreso de enfermedad, se ajustaron los modelos monomolecular, logístico y Gompertz a los datos de incidencia, mediante la técnica de regresión no lineal. La bondad de los ajustes se evaluó considerando el cuadrado medio del error, la significancia y el error estándar de los parámetros estimados y el gráfico de dispersión de los residuos con respecto a los valores predichos (Campbell y Madden, 1990). Los análisis se realizaron con el programa de análisis estadísticos InfoStat (2006).

Tercera etapa: En la tercera etapa de análisis se trabajó dentro del marco teórico de los modelos mixtos y se ajustó un modelo logístico, generalizado, mixto de coeficientes aleatorios, con efecto aleatorio de sujeto (o sujeto - específico) (Balzarini, 2006; Casanoves *et al.*, 2005; Macchiavelli, com. pers.).

Los análisis se realizaron con el programa de análisis estadístico SAS versión 9, procedimiento PROC NLMIXED (SAS Institute, 2006), utilizando las 2375 observaciones disponibles.

Modelo mixto para la curva de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla

Para decidir la forma paramétrica del modelo se tuvieron en cuenta los siguientes criterios (Macchiavelli, com. pers.):

- La forma general del modelo debía ser la misma para las localidades, años y sitios de muestreo. El razonamiento para utilizar este criterio es que si bien en algunos casos no se observa una forma sigmoidea sino exponencial, esto podría deberse a que no se ha observado lo suficiente en el tiempo como para advertir la inflexión, debido a que hay sitios en los cuales la enfermedad empezó más tarde. Pero en general la forma logística de las curvas no cambió (Fig 3. 4 A, B y C y Fig. 3. 7 A y B).
- Una curva de dos parámetros era preferible si describía adecuadamente los datos.

En base a estos criterios se decidió usar una ecuación logística (ec. 4. 4).

Para decidir el tipo de modelo a utilizar se tuvieron en cuenta los siguientes criterios (Balzarini, 2006; Campbell y Madden, 1990; Casanoves *et al.*, 2005; Macchiavelli, com. pers.):

- Las curvas de progreso de la enfermedad son datos longitudinales. Por lo tanto, los datos no tienen distribución normal, no son independientes y las variancias de los datos de incidencia no son constantes.
- Debido a que los datos de incidencia son proporciones se supuso una distribución binomial.
- En la distribución binomial la variancia es proporcional a la media. En esta enfermedad la incidencia aumentó con el tiempo (Fig. 3. 4 y 3. 7), también lo hicieron sus variancias, resultando no homogéneas.
- Como las observaciones se tomaron a lo largo del tiempo sobre los mismos sitios de muestreo (Capítulo 3), no fueron independientes. El modelo debió capturar esta dependencia considerando las correlaciones entre las observaciones tomadas sobre el mismo sitio.
- Los sitios de muestreo en los cuales se determinó la densidad inicial de esclerocios y la incidencia a lo largo del ciclo de cultivo, representaron una muestra aleatoria de sitios posibles.
- Hubo variabilidad en la densidad inicial de inóculo (Fig. 2. 1; 2. 3 y 2. 4) y en la incidencia de la enfermedad (Fig. 3. 4 y 3. 7), en ambas localidades y en los distintos años.
- Hubo variabilidad en la densidad inicial de inóculo (Fig. 2. 3 y 2. 4) y en la incidencia de la enfermedad (Fig. 3. 4 y 3. 7) entre los distintos sitios de muestreo ed cada lote.
- El modelo debía reflejar la gran variabilidad detectada en los datos.

En base a estos criterios se decidió utilizar un modelo generalizado, mixto de coeficientes aleatorios.

Para decidir la especificación de los efectos aleatorios en el modelo se tuvieron en cuenta los siguientes criterios (Macchiavelli, com. pers.):

- Hubo una relación entre la densidad inicial de esclerocios en los sitios de muestreo y la incidencia máxima que la enfermedad alcanzó, como puede observarse en la

figura 3. 9, F. Con una densidad inicial mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo la incidencia final varió entre 64 - 100% y en todos los sitios se manifestó la enfermedad. Con una densidad inicial de inóculo menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo la incidencia final varió entre 2 - 100% y hubo sitios en los cuales no hubo enfermedad.

- La variabilidad observada en las curvas de progreso de la enfermedad fue mayor cuando las curvas pertenecieron a sitios de muestreo con una densidad inicial menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo (Fig. 3. 6; 3. 7, A y 3. 8, B) que cuando pertenecieron a sitios con más de 15 esclerocios/100 g de suelo (Fig. 3. 5 y 3. 8, A).
- El modelo debía considerar la dependencia de la densidad inicial de inóculo. En las figuras 3. 4 y 3. 7, puede observarse que cada sitio tiene una curva específica que muestra su propio progreso.

En base a estos criterios y con el objeto de capturar la variabilidad entre las curvas de cada sitio específico, en vez de modelar cada curva de sitio con parámetros individuales se decidió considerar la incorporación en el modelo de efectos aleatorios en el intercepto y/o la pendiente y considerar la separación de los ajustes, uno para la categoría densidad inicial mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo y otro para la categoría densidad inicial de inóculo menor o igual a 15 esclerocios/ 100 g de suelo. La combinación de localidad y año de estudio se denominó “ambiente”.

En base a estas consideraciones el modelo completo es:

$$E(Y_{ijkm} | u_{ik}; v_{ik}) = 1 / 1 + \exp^{[-B_{ij} - u_{ik} - (r_{ij} + v_{ik}) t_m]} \quad (4. 10)$$

Donde $E(Y_{ijkm} | u_{ik}; v_{ik})$, es la esperanza de la variable Y_{ijkm} (incidencia), dados los efectos aleatorios de sitio u_{ik} y de pendiente v_{ik} incorporados al modelo.

Y_{ijkm} = incidencia de enfermedad en el “ambiente” i , categoría de inóculo inicial j ($j = 1$ si $x_{ik} \leq a$ 15 y $j = 2$ si $x_{ik} > 15$), sitio k , tiempo t_m .

x_{ik} = densidad inicial de esclerocios en el “ambiente” i , sitio k

B , r y t tienen el mismo significado que en la ecuación 4. 4.

Se supuso una distribución binomial para la incidencia en cada “ambiente”, sitio de muestreo y día de observación de manera tal que:

$$50Y \mid u,v \sim \text{Binomial}(50, E(Y \mid u,v))$$

Los valores de $(u_{ik}$ y $v_{ik})$ se supusieron normalmente distribuidos con medias 0 y varianzas que dependen del “ambiente” y de si la densidad inicial de esclerocios en un sitio de muestreo, fue menor/igual o mayor de 15 esclerocios/100 gramos de suelo, de manera tal que:

$$[u_{ik}, v_{ik}] \sim N \left([0,0], \begin{pmatrix} \sigma^2_{u,ij} & \sigma_{uv,ij} \\ \sigma_{uv,ij} & \sigma^2_{v,ij} \end{pmatrix} \right)$$

Como las observaciones del mismo sitio compartieron el mismo valor de los efectos aleatorios, esto hizo que se induzca una correlación positiva entre estas observaciones. O sea que implícitamente se consideró que hubo correlación entre las observaciones tomadas en el mismo sitio (Macchiavelli, com. pers.).

Un modelo que incluyera todo lo anteriormente especificado tendría 45 parámetros, debido a que en el “ambiente” Jesús María, año 2001 no hay categoría de inóculo mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo:

- “Interceptos” diferentes para cada “ambiente” y categoría de inóculo inicial (9 parámetros).
- Pendientes diferentes para cada “ambiente” y categoría de inóculo inicial (9 parámetros).
- Efectos aleatorios que modifican tanto el intercepto como la pendiente.

- Varianzas de ambos efectos aleatorios diferentes para cada “ambiente” y categoría de inóculo inicial (18 parámetros).
- Covarianzas entre efectos aleatorios diferentes para cada “ambiente” y categoría de inoculo inicial (9 parámetros).

Sin embargo, es posible lograr un buen ajuste con un modelo más parsimonioso (Macchiavelli, com. pers.). Así, se probaron los ajustes de los siete modelos cuyas características se detallan en la tabla 4. 1. Los modelos se ajustaron por el método de máxima verosimilitud restringida (REML) para obtener las estimaciones de todos los parámetros de cada modelo. La bondad de los ajustes se evaluó considerando el criterio de Schwarz (BIC), con el cual el modelo de mejor ajuste es el que da el valor menor (Macchiavelli, com. pers.).

Tabla. 4. 1. Características de los modelos mixtos con efecto aleatorio de sujeto, comparados para los “ambientes” Cruz del Eje, años 2001 a 2003 y Jesús María, años 2001 y 2002 y las categorías de densidad inicial de inóculo, menor o igual a 15 y mayor de 15 esclerocios/100 g de suelo.

Modelo	p	“Intercepto”	Pendiente	Varianza del efecto aleatorio	Covarianza
1	11	Aleatorio, het. a	Fija, het. a	Hom. a, hom. i	-
2	15	Aleatorio, het. a	Fija, het. a	Het. a, hom. i	-
3	23	Aleatorio, het. a, het. i	Fija, het. a	Het. a, het. i	-
4	36	Aleatorio, het. a, het. i	Aleatoria, het. a, het. i	Het. a, het. i	No
5	22	Aleatorio, het. a, het. i	Aleatoria, het. a, het. i	Hom. a., het. i	No
6	24	Aleatorio, het. a, het. i	Aleatoria, het. a, het. i	Hom. a, het. i	Si
7	45	Aleatorio, het. a, het. i	Aleatoria, het. a, het. i	Het. a, het. i	Si

p: número de parámetros del modelo; het. a: heterogéneo por “ambiente”; Hom. a: homogéneo por “ambiente”; het i: heterogéneo por densidad inicial de inóculo; hom. i: homogéneo por densidad inicial de inóculo; Covarianza.: Covarianza del efecto aleatorio intercepto-pendiente.

Comparación de las curvas de progreso estimadas para las dos zonas productoras en los distintos años

Con el fin de comparar las curvas epidémicas desarrolladas en el objetivo anterior se consideraron los parámetros “intercepto” (B) y pendiente o tasa de incremento de la enfermedad (r), estimados por el modelo (ec. 4. 10). Los valores de los parámetros fueron comparados de a pares utilizando el procedimiento PROC NLMIXED (SAS Institute, 2006).

RESULTADOS

Modelización de las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla, en dos zonas productoras de ajo de la provincia de Córdoba

Primera etapa: tanto en Cruz del Eje como en Jesús María, los modelos logístico, Gompertz y monomolecular fueron significativos ($p < 0,0001$) para explicar las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla en los años estudiados. Los valores de los restantes estadísticos de regresión lineal utilizados para analizar la bondad de los ajustes de los tres modelos a los datos de incidencia (Tabla 4. 2), muestran diferencias en los tres modelos. En ambas localidades y todos los años de ensayos, las estimaciones de las ordenadas al origen fueron significativas para los modelos logístico y Gompertz, no así para el monomolecular. En cambio, las estimaciones de las pendientes resultaron significativas para los tres modelos, en ambas localidades y todos los años. En Cruz del Eje, el coeficiente de determinación más alto fue 35% y correspondió al modelo logístico en el año 2001 y el más bajo obtenido en esta localidad fue 9%, para el modelo monomolecular en el mismo año, obteniéndose los restantes años valores intermedios. En Jesús María, también el modelo logístico tuvo el coeficiente de determinación más alto (60%) en el año 2001, que además fue el mayor valor de R^2 obtenido en los ensayos realizados en Córdoba. El R^2 más bajo en esta localidad (15%), también fue para el modelo monomolecular en el mismo año, obteniéndose los restantes años valores intermedios. Por

otra parte, la distribución de los residuos no fue satisfactoria para ninguno de los modelos, si bien fue más favorable para el modelo logístico en la mayoría de los años.

Segunda etapa: como se detalla en la tabla 4. 3, en Cruz del Eje todos los parámetros estimados para los modelos logístico y Gompertz resultaron significativos en el año 2001 y sus errores estándar dentro de valores moderados. No ocurrió así en los años 2002 y 2003, cuando para los mismos modelos hubo parámetros que resultaron significativos y otros que no. Particularmente en el año 2002, todos los parámetros estimados por el modelo logístico fueron no significativos y sus errores estándar muy grandes. El modelo monomolecular no resultó adecuado ninguno de los tres años, debido a que los parámetros α no realizaron una contribución significativa y sus errores estándar fueron elevados y a que las tasas de progreso estimadas (γ) fueron no significativas. Por otra parte, cada año el CME tuvo valores semejantes para los tres modelos, aunque fue ligeramente inferior en el Gompertz. En cuanto a la distribución de los residuos, ésta no fue satisfactoria para ninguno de los tres modelos en los años estudiados, si bien solamente en el año 2001 fue más favorable para los modelos logístico y Gompertz.

En Jesús María, todos los términos del modelo Gompertz realizaron una contribución significativa en los años 2001 y 2002 y el error estándar de las estimaciones de los parámetros tuvo valores moderados (Tabla 4. 3). En cambio, el modelo logístico no resultó adecuado para explicar la curva de progreso de la enfermedad en ninguno de los años estudiados, debido a que el parámetro β resultó no significativo y sus errores estándar muy elevados. El ajuste del modelo monomolecular no fue adecuado en el año 2001 debido a que la pendiente (γ) estimada por este modelo no fue significativa. Sin embargo, en el año 2002 ajustó bien a los datos, tanto por la significancia de los parámetros estimados como por el reducido valor de los errores estándar de las estimaciones. Por otra parte, cada año el CME tuvo valores semejantes en los modelos logístico y Gompertz y más altos en el monomolecular. En cuanto a la distribución de los residuos, en esta localidad no fue satisfactoria para ninguno de los modelos en los años estudiados, si bien en el año 2002 fue más favorable para el modelo monomolecular.

Tabla 4. 2. Estimaciones de los parámetros ordenada al origen y pendiente mediante análisis de regresión lineal, para tres modelos estadísticos usados para describir las curvas de progreso de podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en ajo, en dos localidades de la provincia de Córdoba, años 2001 a 2002.

Localidad	Año	Modelo	Ordenada al origen (β_0)			Pendiente (r)			Bondad de ajuste	
			Valor estimado	Prob> T H ₀ : $\beta_0=0$	E. E.	Valor estimado	Prob> T H ₀ : $r=0$	E. E.	R ² (%)	Residuos
Cruz del Eje	2001	Logístico	-10,060	0,0001	0,4000	0,100	0,0001	0,0100	35	r
		Gompertz	-2,460	0,0001	0,2100	0,030	0,0001	0,0030	19	i
		Monomolecular	-0,260	0,1286	0,1700	0,020	0,0001	0,0026	9	i
	2002	Logístico	-10,870	0,0001	0,3500	0,050	0,0001	0,0100	17	i
		Gompertz	-2,440	0,0001	0,0900	0,010	0,0001	0,0013	18	i
		Monomolecular	-0,070	0,0001	0,0400	0,004	0,0001	0,0005	12	i
	2003	Logístico	-10,650	0,0001	0,4600	0,080	0,0001	0,0100	26	r
		Gompertz	-2,590	0,0001	0,2000	0,030	0,0001	0,0028	20	i
		Monomolecular	-0,310	0,0485	0,1600	0,020	0,0001	0,0022	12	i
Jesús María	2001	Logístico	-12,080	0,0001	0,2400	0,080	0,0001	0,0002	60	r
		Gompertz	-2,790	0,0001	0,0700	0,020	0,0001	0,0007	51	i
		Monomolecular	-0,190	0,0001	0,0400	0,005	0,0001	0,0005	15	i
	2002	Logístico	-6,010	0,0001	0,4100	0,080	0,0001	0,0100	47	i
		Gompertz	-1,340	0,0001	0,1500	0,030	0,0001	0,0020	52	r
		Monomolecular	0,150	0,1303	0,1000	0,020	0,0001	0,0001	43	i

Formas linealizadas de los modelos logístico: $\ln [y_i/(1-y_i)] = \ln [y_0/(1-y_0)] + r_L t$; Gompertz: $-\ln [-\ln (y_i)] = -\ln [-\ln (y_0)] + r_G t$ y monomolecular: $\ln [1/(1-y_i)] = \ln [1/(1-y_0)] + r_M t$
 E. E.: error estándar de los parámetros estimados. R²: coeficiente de determinación (porcentaje de la variación de incidencia explicada por el modelo). Residuos: dispersión de los residuos versus los valores predichos, a: adecuados, r: regulares, i: inadecuados.

Tabla 4. 3. Estimaciones de los parámetros α , β y γ (pendiente) mediante análisis de regresión no lineal, para tres modelos estadísticos usados para describir las curvas de progreso de podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en ajo, en dos localidades de la provincia de Córdoba, años 2001 a 2002.

Localidad	Año	Modelo	α			β			γ			Bondad de ajuste	
			Valor	Prob> T H ₀ : $\alpha=0$	E. E.	Valor	Prob> T H ₀ : $\beta=0$	E. E.	Valor	Prob> T H ₀ : $\gamma=0$	E. E.	CME	Res.
Cruz del Eje	2001	Log.	57,610	0,0001	13,290	13,100	0,0024	4,290	0,040	0,0003	0,010	829,57	r
		Gom.	72,970	0,0153	29,980	3,320	0,0001	0,490	0,020	0,0232	0,010	827,60	r
		Mon.	100,030	0,1780	74,170	1,030	0,0001	0,050	0,010	0,2997	0,010	829,25	i
	2002	Log.	310,560	0,9353	3821,040	130,700	0,9335	1564,920	0,020	0,0852	0,010	419,35	i
		Gom.	25,960	0,0002	6,940	7,250	0,1686	5,260	0,030	0,0435	0,020	412,87	i
		Mon.	108,670	0,7411	328,740	1,030	0,0001	0,090	0,002	0,7639	0,010	415,71	i
	2003	Log.	42,090	0,0001	3,700	39,670	0,3234	3,700	0,070	0,0008	0,020	965,05	i
		Gom.	45,200	0,0001	6,180	6,470	0,1148	4,090	0,040	0,0076	0,001	964,25	i
		Mon.	244,110	0,7165	671,720	1,010	0,0001	0,040	0,002	0,7407	0,010	979,74	i
Jesús María	2001	Log.	42,500	0,0001	3,600	1878,000	0,3998	2228,930	0,100	0,0001	0,010	246,84	i
		Gom.	70,330	0,0030	23,610	13,680	0,0404	6,660	0,020	0,0019	0,010	246,54	i
		Mon.	5220,40	0,9817	226888,8	1,000	0,0001	0,070	0,00005	0,9817	0,002	276,75	i
	2002	Log.	74,540	0,0001	2,300	22,360	0,0778	12,620	0,110	0,0001	0,020	534,26	i
		Gom.	75,970	0,0001	2,530	5,26	0,0029	1,740	0,070	0,0001	0,010	524,53	i
		Mon.	85,34	0,0001	4,92	1,07	0,0001	0,050	0,020	0,0001	0,004	545,17	r

Log.: logístico; Gom.: Gompertz; Mon.: monomolecular. Formas de los modelos: Logístico: $y = \alpha / (1 + \beta \exp^{-\gamma t})$; Gompertz: $y = \alpha \exp^{-\beta \exp^{-\gamma t}}$ y monomolecular: $y = \alpha (1 - \beta \exp^{-\gamma t})$. E. E.: error estándar de los parámetros estimados. CME: Cuadrado medio del error. Res.: dispersión de los residuos versus los valores predichos, a: adecuados, r: regulares, i: inadecuados.

Tercera etapa: el modelo que mejor ajustó a los datos de incidencia de podredumbre blanca del ajo y la cebolla en Cruz del Eje, años 2001 a 2003 y Jesús María, años 2001 y 2002, es el número 6, debido a que es el que tuvo menor valor según el criterio de Schwarz (BIC) (Tabla 4. 4). Es un modelo logístico, generalizado, mixto de coeficientes aleatorios, con efecto aleatorio de sujeto (o sujeto - específico).

Tabla. 4. 4. Valores de -2 Log Likelihood y BIC obtenidos para los modelos ajustados a los datos de incidencia de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en Cruz del Eje, años 2001 a 2003 y Jesús María, años 2001 y 2002.

Modelo	p	-2L	BIC
1	11	9790,4	9851,4
2	15	9728,5	9811,6
3	23	9595,1	9722,6
4	36	8670,5	8870,0
5	22	8734,4	8856,3
6	24	8721,5	8854,5
7	45	8638,3	8887,6

p: numero de parámetros del modelo; -2L: -2 Log Likelihood

El modelo elegido tuvo “interceptos” y pendientes aleatorias y diferentes para cada combinación de “ambiente” y categoría de densidad inicial de inóculo. Efectos aleatorios de intercepto y pendiente correlacionados. Varianzas de ambos efectos aleatorios y covarianza entre efectos aleatorios homogéneas para los “ambientes”. Varianza de ambos efectos aleatorios y covarianza entre efectos aleatorios diferentes para las categorías de densidad inicial de inóculo. Como las observaciones del mismo sitio comparten el mismo valor de los efectos aleatorios, esto hace que se induzca una correlación positiva entre estas observaciones. Los valores de u_{ik} y v_{ik} se suponen normalmente distribuidos con medias cero y varianzas que dependen de si la densidad inicial es menor/igual o mayor de 15 esclerocios/100 g de suelo. Entre los varios modelos probados el que mejor ajustó tenía correlación entre los valores de u_{ik} y v_{ik} . En la tabla 4. 5 se especifican los parámetros “intercepto” y pendiente para las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la

cebolla en un cultivo de ajo, estimados con el modelo 6 en un sitio típico (efecto aleatorio (0,0)), en Cruz del Eje, años 2001 a 2003 y Jesús María, años 2001 y 2002, a densidades iniciales de inóculo menores/iguales y mayores a 15 esclerocios/100 g de suelo. Conjuntamente se detallan los desvíos estándar de los efectos aleatorios de “intercepto”, pendiente y covarianza entre ambos efectos aleatorios. Se observa menor variabilidad en los “interceptos” para las densidades iniciales mayores a 15 esclerocios/100 g de suelo, que para las densidades menores o iguales a 15 esclerocios/100 g de suelo. Mientras que en las pendientes se observa el efecto opuesto, la variabilidad es mayor para las densidades iniciales mayores a 15 esclerocios/100 g de suelo que para las menores o iguales a ese valor.

Tabla 4. 5. Parámetros “intercepto” (B) y pendiente (r) estimados para las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un sitio típico (efecto aleatorio (0, 0)), en cinco “ambientes”, Cruz del Eje años 2001 a 2003 y Jesús María años 2001 y 2002 y dos categorías de densidad inicial de inóculo (DII).

Ambiente		DII	B	r	σ_u	σ_v	ρ_{uv}
Localidad	Año						
CE	2001	<= 15	-5,8952	0,04960	2,0471	0,01536	0,2682
CE	2001	> 15	-3,0122	0,10177	0,7654	0,02561	-0,4734
CE	2002	<= 15	-7,7227	0,02885	2,0471	0,01536	0,2682
CE	2002	> 15	-3,9562	0,06224	0,7654	0,02561	-0,4734
CE	2003	<= 15	-7,8876	0,05005	2,0471	0,01536	0,2682
CE	2003	> 15	-3,7960	0,07418	0,7654	0,02561	-0,4734
JM	2001	<= 15	-7,0021	0,04016	2,0471	0,01536	0,2682
JM	2002	<= 15	-2,6818	0,04134	2,0471	0,01536	0,2682
JM	2002	> 15	-1,8618	0,04992	0,7654	0,02561	-0,4734

CE: Cruz del Eje; JM: Jesús María.

DII<=15: Categoría de densidad inicial de inóculo igual o menor a 15 esclerocios/100 g de suelo; DII> 15: Categoría de densidad inicial de inóculo mayor a 15 esclerocios cada 100 gramos de suelo.

B: “intercepto” estimado por el modelo logístico (ec. 4.10); r: pendiente estimada por el modelo logístico (ec. 4.10); σ_u : desvío estándar del efecto aleatorio de “intercepto”; σ_v : desvío estándar del efecto aleatorio de pendiente; ρ_{uv} : desvío estándar del efecto aleatorio de la covarianza entre los efectos aleatorios.

La figura 4. 1 muestra las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla para sitios típicos (efectos aleatorios iguales a cero), en los “ambientes” Cruz del

Eje años 2001 a 2003 y Jesús María años 2001 y 2002, para las categorías de densidad inicial de inóculo menor/igual y mayor a 15 esclerocios/ 100 g de suelo. Puede observarse que en general la forma logística de las curvas no cambia, ya que si bien en algunos casos se observa una forma exponencial, esto podría deberse a que no se ha observado lo suficiente en el tiempo como para determinar el punto de inflexión, debido a que hay sitios en los cuales la enfermedad empezó más tarde.

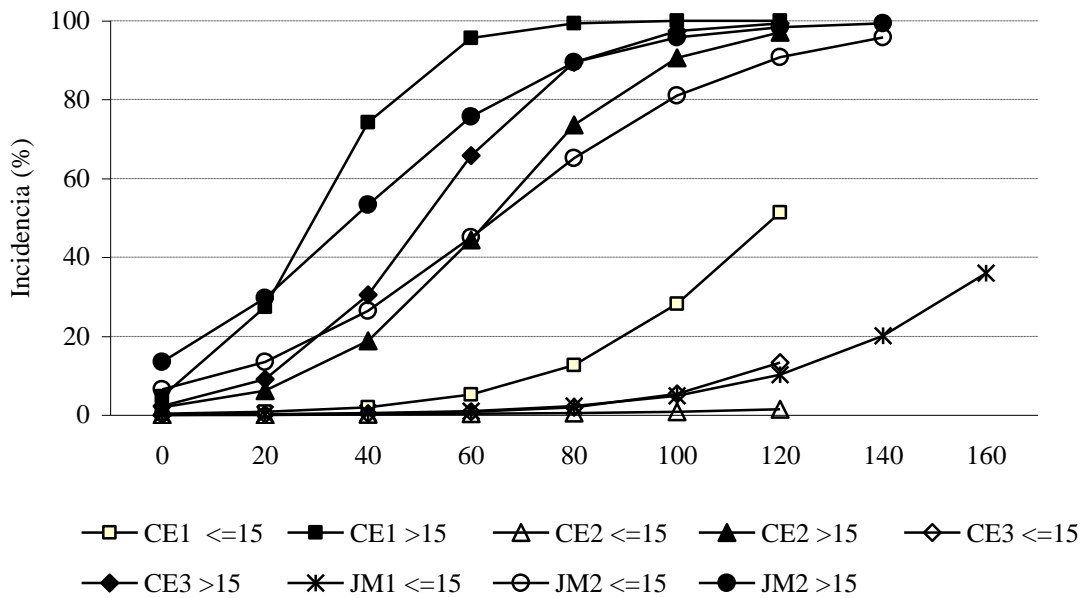


Figura 4. 1. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un cultivo de ajo, para sitios típicos (efectos aleatorios (0,0)) en cinco “ambientes, Cruz del Eje, años 2001 a 2003 y Jesús María, años 2001 y 2002 y dos categoría de inóculo inicial.

Eje de las abscisas: días desde el inicio de la epidemia. CE1, CE2 y CE3: Cruz del Eje, años 2001, 2002 y 2003, respectivamente. JM1 y JM2: Jesús María, años 2001 y 2002, respectivamente. <=15: categoría de densidad inicial de inóculo menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo. > 15: categoría de densidad inicial de inóculo mayor a 15 esclerocios/ 100 gramos de suelo.

Con el uso de este modelo cada curva de un sitio individual puede pensarse como se especifica en la ecuación 4. 10 y las curvas y sus parámetros “intercepto” y pendiente pueden interpretarse en un contexto específico para el sitio. Cada sitio de muestreo tiene sus propios valores de efectos aleatorios (u_{ik} y v_{ik}) que hacen que tanto el “intercepto” B como la pendiente r suban o bajen aleatoriamente. Hay una curva típica (mediana) con efectos aleatorios cero ($u=0$, $v=0$), cuyos valores de B y r dependen del “ambiente” y de la categoría de densidad inicial de esclerocios (si es menor/igual o mayor de 15

esclerocios/100 g de suelo) (Tabla 4. 5 y Fig. 4.1). Las curvas típicas fueron las mismas para todos los sujetos, dentro de cada “ambiente” y categoría de densidad inicial de esclerocios y expresaron la forma general del modelo. Como las curvas y sus parámetros “intercepto” y pendiente pueden interpretarse en un contexto específico para el sitio, las curvas presentadas en la figura 4. 1 no fueron todas las posibles, sino que representaron las curvas típicas (medianas), es decir aquellas que correspondieron a sitios cuyos efectos aleatorios fueron cero. La curva observada en cada sitio se desvía de la curva típica mediante valores aleatorios, cuya variabilidad depende solamente de la densidad inicial de esclerocios (si es menor/igual o mayor de 15 esclerocios/100 g de suelo) (Tabla 4. 5).

En las figuras 4. 2 y 4. 3 se muestran a modo de ejemplo, curvas para sitios hipotéticos con efectos aleatorios $u = \pm 0,67\sigma_u$ y $v = \pm 0,67\sigma_v$. Estas representaron las curvas asociadas a los primeros ($Q_{1(0,25)}$) y terceros ($Q_{3(0,75)}$) cuartiles de las distribuciones marginales de ambos efectos aleatorios. Es decir, $u = -0,67\sigma_u$ y $v = -0,67\sigma_v$ (Q_1) y $u = +0,67\sigma_u$ y $v = +0,67\sigma_v$ (Q_3), que fueron los valores de los efectos aleatorios que representaron el 50% del área bajo la curva de la función de distribución acumulada de la variable aleatoria normal. Por lo tanto el 50% de las curvas tuvieron tasas de progreso estimadas entre $r \pm 0,67\sigma_v$ y las formas que se muestran en las figuras 4. 2 y 4. 3. Estas otras curvas fueron “específicas” para cada sujeto dentro de cada “ambiente” y categoría de densidad inicial de esclerocios y expresaron las formas de las curvas para esos valores de los efectos aleatorios y la variabilidad existente. Así por ejemplo, para predecir cual sería la incidencia para un “ambiente” dado en un tiempo específico, se puede hacer para sitios típicos, o sea aquellos cuyos efectos aleatorios son promedio y por lo tanto igual a cero (debido a que se supuso una distribución normal, bivariada, centrada en cero) o para sitios específicos, es decir especificando los valores de los efectos aleatorios del sitio (u) y de la pendiente (v). Para las curvas extremas deberían considerarse valores de efectos aleatorios más extremos, por ejemplo $u = \pm 1,96\sigma_u$ y $v = \pm 1,96\sigma_v$, que son los valores de los efectos aleatorios que representaron el 95% del área bajo la curva de la función de distribución acumulada de la variable aleatoria normal. Por lo tanto las curvas de la mayoría de los sitios (95%) mostraron tasas de progreso estimadas entre $r \pm 1,96\sigma_v$

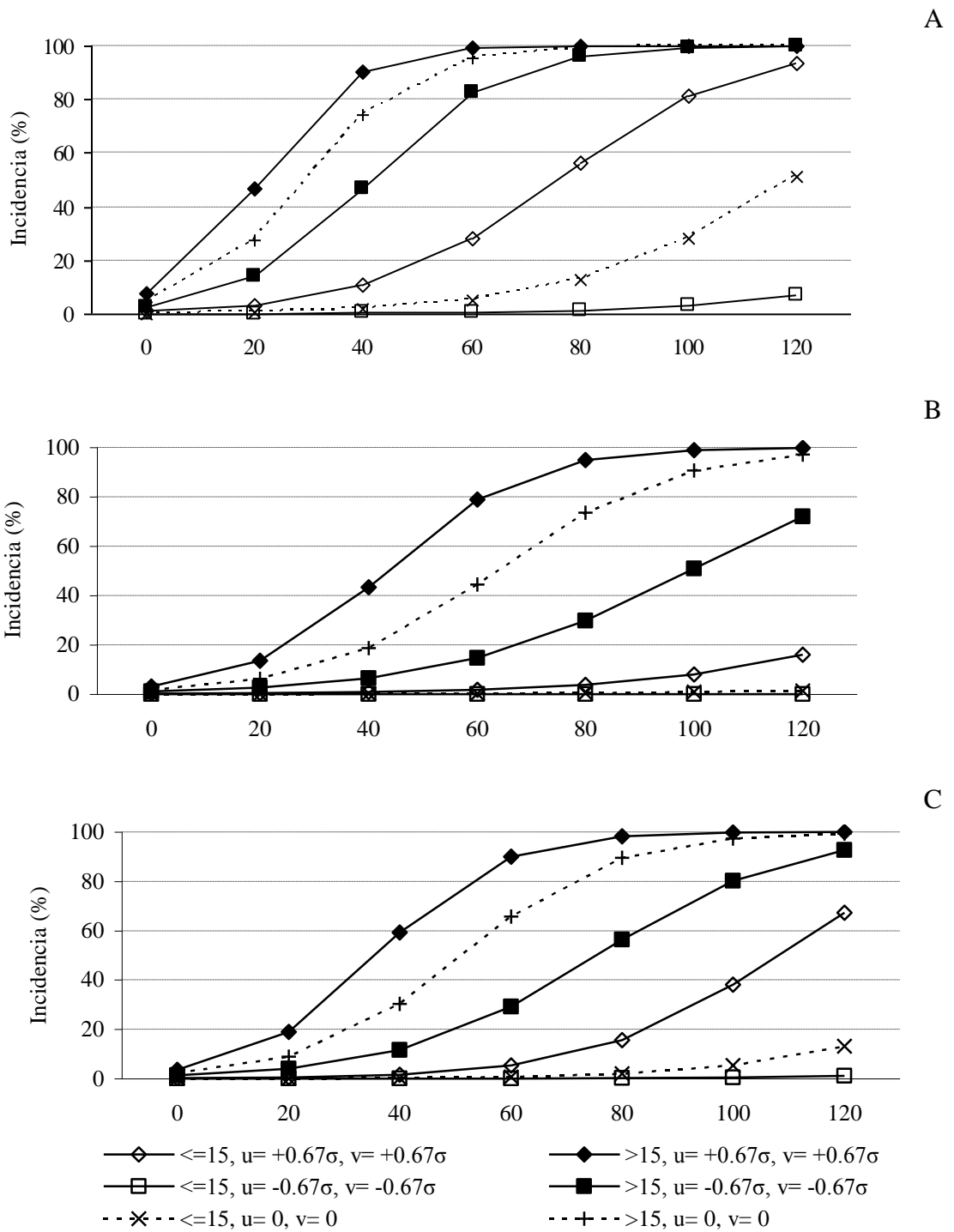


Figura 4. 2. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un cultivo de ajo, para sitios hipotéticos con efectos aleatorios $u = \pm 0,67\sigma_u$ y $v = \pm 0,67\sigma_v$ y para sitios típicos con efectos aleatorios $u = 0, v = 0$, en Cruz del Eje, años 2001 a 2003 y dos categorías de densidad inicial de inóculo.

Eje de las abscisas: días desde el inicio de la epidemia. A: año 2001. B: año 2002. C: año 2003. ≤ 15 : categoría de densidad inicial de inóculo menor o igual a 15 esclerocios/ 100 g de suelo; > 15 : categoría de densidad inicial de inóculo mayor a 15 esclerocios /100 g de suelo.

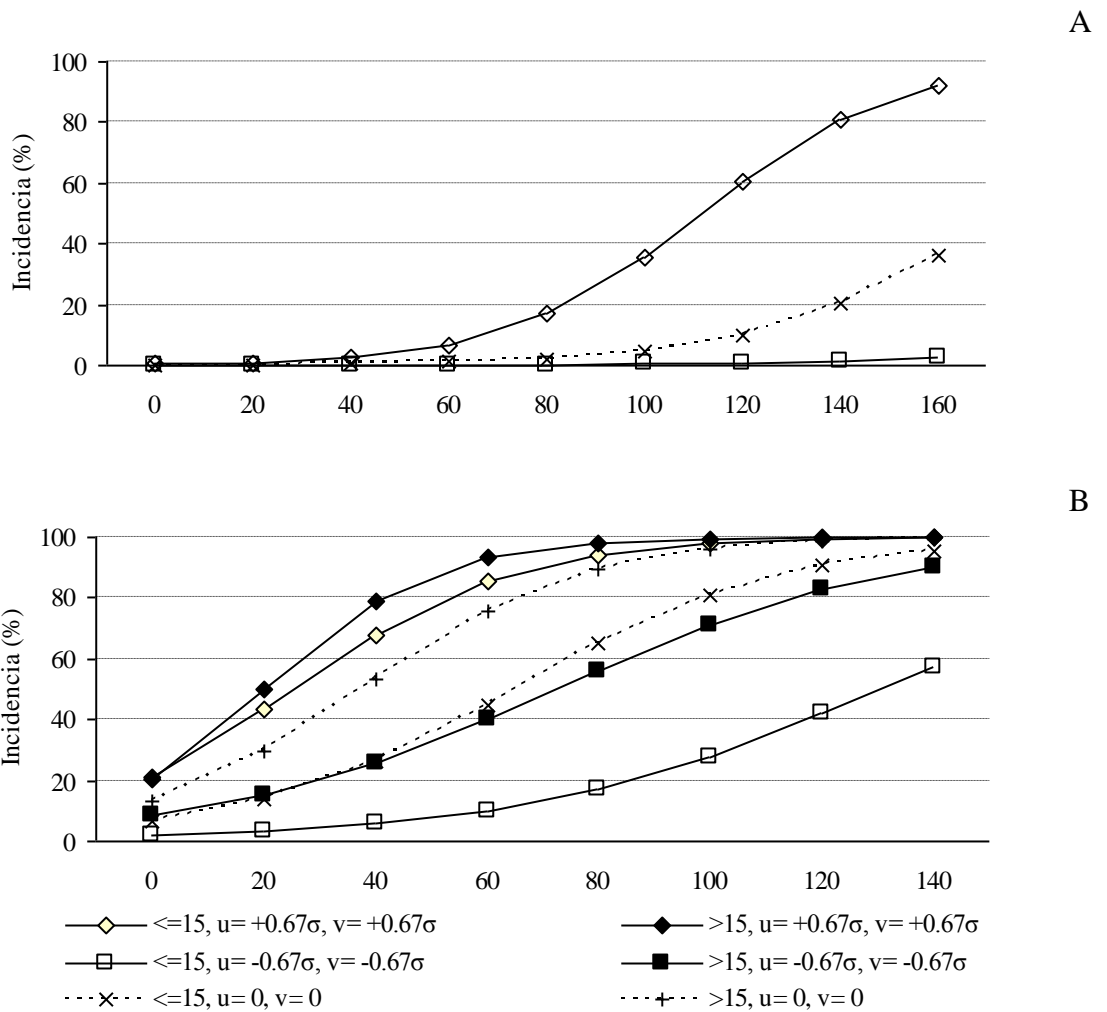


Figura 4. 3. Curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un cultivo de ajo, para sitios hipotéticos con efectos aleatorios $u = \pm 0,67\sigma_u$ y $v = \pm 0,67\sigma_v$ y para sitios típicos con efectos aleatorios $u = 0, v = 0$, en Jesús María, años 2001 y 2002 y dos categorías de densidad inicial de inóculo.

Eje de las abscisas: días desde el inicio de la epidemia. A: año 2001. B: año 2002.

≤ 15 : categoría de densidad inicial de inóculo menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo.

> 15 : categoría de densidad inicial de inóculo mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo.

Comparación de las curvas de progreso estimadas para las dos zonas productoras en los distintos años

En Cruz del Eje la enfermedad progresó significativamente más rápido ($p < 0,05$) para las densidades iniciales mayores a 15 esclerocios/100 g de suelo que para las densidades iniciales iguales o menores a 15 esclerocios/100 g de suelo (Tabla 4. 6). Por otra parte, los “interceptos” (B) de las curvas epidémicas para las densidades iniciales de

esclerocios altas mostraron valores más altos ($p < 0,05$) que para las densidades iniciales de inóculo bajas. Es decir que en los sitios con densidades iniciales mayores a 15 esclerocios/100 g de suelo las curvas de progreso de la enfermedad comenzaron antes que en los sitios con densidades iniciales iguales o menores a 15 esclerocios/100 g de suelo. A diferencia, en Jesús María en el año 2002, la enfermedad progresó de manera semejante ($p > 0,05$) para ambas densidades iniciales de inóculo (Tabla 4. 6). Además, si bien el “intercepto” para la densidad inicial de esclerocios alta mostró un valor ligeramente superior, no alcanzó a diferenciarse significativamente ($p > 0,05$) del correspondiente a la densidad inicial de esclerocios baja. Es decir que la curva de progreso de la enfermedad comenzó a subir en momentos semejantes para las dos categorías de densidad inicial de inóculo.

En Cruz del Eje cuando la densidad inicial de inóculo fue igual o menor a 15 esclerocios/100 g de suelo, la enfermedad creció más despacio ($p < 0,05$) en el año 2002 que en los años 2001 y 2003, en los que la enfermedad progresó de manera semejante ($p > 0,05$) (Tabla 4. 6). Además, el mayor valor ($p < 0,05$) de intercepto se obtuvo para el año 2001, es decir que la curva epidémica comenzó a subir más temprano ese año, siguiéndole las curvas del 2003 y 2002, que tuvieron “interceptos” más bajos y semejantes ($p > 0,05$). En Jesús María, las tasas de progreso de la enfermedad para las densidades iniciales de inóculo iguales o menores de 15 esclerocios/100 g de suelo, fueron semejantes ($p > 0,05$) en los años 2001 y 2002 (Tabla 4. 6). Por otra parte, en el año 2001 el “intercepto” de la curva epidémica fue notoriamente más bajo ($p < 0,05$) que el correspondiente a la curva del año 2002. Es decir que la curva de progreso de la enfermedad comenzó a subir más tarde el primer año.

En Cruz del Eje, cuando la densidad inicial de inóculo fue mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo, la enfermedad progresó más rápido ($p > 0,05$) en el año 2001 y más despacio y de manera semejante ($p < 0,05$) en los años 2002 y 2003 (Tabla 4. 6). Por otra parte, los “interceptos” de las curvas epidémicas de los tres años no mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$), si bien la curva del año 2001 comenzó a subir primero, seguida por las de los años 2003 y 2002.

Al comparar ambas localidades dentro de los mismos años, puede observarse que cuando la densidad inicial de inóculo fue igual o menor a 15 esclerocios/100 g de suelo, en Jesús María en el año 2001, la enfermedad creció más despacio ($p < 0,05$) y la curva comenzó a subir más tarde ($p < 0,05$) que en Cruz del Eje (Tabla 4.6). En el año 2002 ocurrió lo contrario, la enfermedad creció más rápido ($p < 0,05$) y la curva empezó a subir antes ($p < 0,05$) en Jesús María que en Cruz del Eje. Cuando la densidad inicial de inóculo fue mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo, en el año 2002 las tasas de progreso de la enfermedad entre ambas localidades no llegaron a diferenciarse estadísticamente ($p > 0,05$), si bien en Jesús María la tasa (r) tuvo un valor ligeramente inferior a la de Cruz del Eje. Es decir que la enfermedad creció de manera semejante en ambas localidades. El “intercepto”, fue menor ($p < 0,05$) en Cruz del Eje que en Jesús María, es decir que la enfermedad comenzó antes en Jesús María.

Tabla 4. 6. Comparación de a pares de “interceptos” (B) y pendientes (r), estimados para las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) en un cultivo de ajo, en un sitio típico (efecto aleatorio (0,0), en cinco “ambientes”, Cruz del Eje años 2001 a 2003 y Jesús María años 2001 y 2002 y dos categorías de densidad inicial de inóculo (DII).

Ambiente		DII	B	E.E.	r	E.E.
Localidad	Año					
CE	2001	≤ 15	-5,8952 b ⁽¹⁾	0,3125	0,04960 c	0,00257
CE	2001	> 15	-3,0122 c	0,3570	0,10177 f	0,01193
CE	2002	≤ 15	-7,7227 a	0,4118	0,02885 a	0,00366
CE	2002	> 15	-3,9562 c	0,3249	0,06224 c d	0,00993
CE	2003	≤ 15	-7,8876 a	0,4236	0,05005 c	0,00368
CE	2003	> 15	-3,7960 c	0,2340	0,07418 d	0,00715
JM	2001	≤ 15	-7,0021 a	0,3189	0,04016 b	0,00238
JM	2002	≤ 15	-2,6818 c d	0,5363	0,04134 b c	0,00417
JM	2002	> 15	-1,8618 d	0,2539	0,04992 c	0,00827

CE: Cruz del Eje; JM: Jesús María. DII \leq 15: categoría de densidad inicial de inóculo menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo; DII $>$ 15: categoría de densidad inicial de inóculo mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo.

B : “intercepto” estimado por el modelo logístico (ec. 4. 10); r : pendiente o tasa de incremento de la enfermedad estimada por el modelo logístico (ec. 4. 10); E.E: error estándar asociado al parámetro estimado por el modelo ($\alpha = 0,05$).

⁽¹⁾: Valores seguidos por la misma letra dentro de una columna no difieren significativamente ($\alpha = 0,05$).

DISCUSIÓN

Los modelos monomolecular, logístico y Gompertz, ajustados mediante la técnica de regresión lineal simple y sus tasas estimadas de progreso de la enfermedad, resultaron significativos para describir las curvas de progresos de la podredumbre blanca en Cruz del Eje y en Jesús María, en todos los años. En cambio, sus ordenadas al origen fueron significativas solamente en los modelos logístico y Gompertz. Sin embargo, los coeficientes de determinación (R^2) tuvieron valores muy bajos para los tres modelos, entre 60% y 9%. No obstante Campbell y Madden (1990) sugieren que en estudios de campo un R^2 de 60% puede ser considerado excelente, en las situaciones estudiadas en el presente trabajo el R^2 siempre resultó igual o inferior a ese valor. Esto significa que las rectas predictoras de los modelos lineales propuestos explican poco acerca de a la verdadera relación funcional que existe entre las variables incidencia y tiempo, de acuerdo con Campbell y Madden (1990) y March *et al.* (2004). Estos bajos valores de R^2 se debieron a que las curvas epidémicas tuvieron una variabilidad muy grande (Fig. 3. 4 y 3. 7) que no pudo ser expresada mediante el ajuste de los modelos citados a los datos de incidencia, utilizando la técnica de regresión lineal simple.

Por otra parte, los gráficos de dispersión de los residuales con respecto a los valores predichos no mostraron patrones al azar en ninguno de los tres modelos. Esto significa que los tres modelos ajustaron mal a los datos de incidencia de la podredumbre blanca, de acuerdo a los criterios estadísticos utilizados para determinar la bondad de los ajustes (Campbell y Madden, 1990; March *et al.*, 2004). Aunque el modelo logístico fue el que presentó los mejores ajustes y cuando el modelo Gompertz ajustó mejor, el primero fue levemente inferior, en la mayoría de los años y en ambas localidades. En cambio, el modelo monomolecular no fue apropiado para describir los datos de incidencia de la podredumbre blanca. A diferencia de los resultados obtenidos en Córdoba, Zewide *et al.* (2007) lograron buenos ajustes del modelo monomolecular mediante regresión lineal, en ensayos realizados para evaluar el efecto de funguicidas sobre la tasa de progreso de la podredumbre blanca en cultivos de ajo. También para otras enfermedades de raíces, monocíclicas y con inóculo inicial en el suelo, March *et al.* (1998) y Marinelli *et al.* (2001)

lograron buenos ajustes linearizando los datos de incidencia. Al respecto, March *et al.* (1998), obtuvieron buenos ajustes de los modelos logístico y Gompertz a las curvas de desarrollo del “marchitamiento” causado por *Sclerotium rolsfii* en maní. Asimismo, Marinelli *et al.* (2001) determinaron que las curvas epidémicas del tizón del maní, causado por *Sclerotinia minor*, fueron adecuadamente descritas por los modelos logístico, Gompertz y monomolecular, según los años de ensayos. Por consiguiente, los resultados obtenidos en la presente investigación muestran que los modelos monomolecular, logístico y Gompertz, ajustados mediante la técnica de regresión lineal simple, no describen de manera apropiada las curvas de progreso de la podredumbre blanca en cultivos de ajo en Córdoba.

Cuando los modelos fueron ajustados mediante regresión no lineal, solamente en Cruz del Eje en el año 2001 todos los parámetros estimados por los modelos logístico y Gompertz fueron significativos. En los restantes años alguno de los parámetros estimados por estos modelos resultó no significativo. A diferencia, el modelo monomolecular no resultó adecuado para explicar la curva de progreso de la enfermedad en ninguno de los años estudiados. En Jesús María, todos los parámetros estimados por el modelo Gompertz en los años 2001 y 2002 y para el monomolecular en el año 2002, fueron significativos. Sin embargo, hay que tener en cuenta que en los análisis realizados, los gráficos de distribución de los residuales con respecto a los valores predichos por los modelos mostraron patrones inadecuados, en ambas localidades y para todos los años de estudio. De acuerdo con Campbell y Madden (1990), esta consideración es de mucha importancia cuando se trata de decidir la adecuación de un modelo ajustado por regresión no lineal. Entonces, teniendo en cuenta los criterios estadísticos utilizados para determinar la bondad de los ajustes, en la presente investigación los tres modelos ajustaron mal a los datos de incidencia de la podredumbre blanca (Campbell y Madden, 1990). Esto significa que las curvas predictoras de los modelos no lineales propuestos no explican apropiadamente la verdadera relación funcional que existe entre las variables incidencia y tiempo (Campbell y Madden, 1990). Esto se debió a que las curvas epidémicas tuvieron una variabilidad muy grande (Fig. 3. 4 y 3. 7), como se expone en el capítulo 3, que no pudo ser expresada mediante el ajuste de estos modelos a los datos de incidencia, utilizando la técnica de regresión no lineal. De modo que la utilización del análisis de regresión no lineal no

mejoró la bondad de los ajustes con respecto a la regresión lineal, en las situaciones analizadas en Córdoba. A diferencia, Sanchez-Pale *et al.* (2002), determinaron que el modelo flexible de Weibull ajustado mediante regresión no lineal, describió adecuadamente las epidemias producidas por cuatro aislamientos de *S. cepivorum* en tres genotipos de ajo, en ensayos realizados en México. En consecuencia, los resultados obtenidos en la presente investigación muestran que los modelos monomolecular, logístico y Gompertz, ajustados mediante la técnica de regresión no lineal, no describen de manera apropiada las curvas de progreso de la podredumbre blanca en cultivos de ajo en Córdoba.

Estos ajustes inadecuados de los modelos, tanto con la técnica de regresión lineal como no lineal, se debieron en parte a que la proporción de plantas muertas por la podredumbre blanca a través del tiempo, no tuvo distribución normal ni varianzas homogéneas y a que la independencia estuvo afectada, como ocurre comúnmente en los datos longitudinales, coincidentemente con lo expresado por Casanoves *et al.* (2005), Balzarini (2006) y Machiavelli *et al.* (2004). Por lo tanto, no se cumplieron los supuestos de normalidad, igualdad de varianzas e independencia, de los modelos lineales clásicos de análisis de varianza y regresión (Balzarini, 2006; Campbell y Madden, 1990). Sin embargo, de acuerdo con Campbell y Madden (1990), si bien son propiedades deseables para la significancia de la prueba, la mayoría de los resultados de una regresión no son grandemente afectados por una razonable desviación de la normalidad ni por algo de variancias desiguales. En cambio, un supuesto definitivo e importante es que los datos sean independientes. Pero en el caso de los ensayos realizados en la presente investigación, existieron correlaciones entre las observaciones, debido a que las mediciones de incidencia se tomaron en varios momentos subsecuentes en el tiempo sobre los mismos sitios de muestreo en cada ensayo.

Por otra parte, Campbell (1986) y Campbell y Madden (1990), manifestaron que los modelos no lineales más extensamente utilizados para describir epidemias en patología vegetal y sus métodos de análisis, han sido adaptados de curvas de crecimiento y dinámica de poblaciones y fueron desarrollados utilizando una serie de supuestos implícitos. Entre los cuales se cita que el diseño espacial del patógeno y de la enfermedad dentro y entre los hospedantes sea aleatorio o regular. Pero, en los ensayos realizados en Cruz del Eje y Jesús

María hubo una marcada variabilidad en la densidad inicial de esclerocios, entre los sitios de muestreo dentro de los lotes y en las distintas localidades y años, como se describe en el capítulo 2. Además, los esclerocios de *S. cepivorum* en los suelos de la provincia de Córdoba tendieron naturalmente a tener un patrón de distribución espacial agregado (Capítulo 2). Asimismo, coincidentemente con lo manifestado por Campbell (1986) y Campbell y Madden (1990), la reserva de inóculo inicial en el suelo y como éste interactuó con las plantas hospedantes, influyeron fuertemente en las características de las epidemias de podredumbre blanca en Cruz del Eje y Jesús María (Capítulo 3). Los días de inicio, las características de las curvas de progreso de la enfermedad y las incidencias finales, mostraron una notable variabilidad en las dos localidades y en todos los años estudiados. Sin embargo, los modelos y métodos analíticos clásicos ignoran los aspectos espaciales de las epidemias (Campbell, 1986; Campbell y Madden, 1990). Por consiguiente, la ineficacia de los modelos y métodos clásicos para describir adecuadamente las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo en Córdoba, se debe a la falta de cumplimiento de los supuestos sobre los que fueron desarrollados, al hecho de no considerar la influencia del inóculo en los modelos y a la incapacidad para capturar la variabilidad existente en las curvas epidémicas.

Con referencia al modelo que mejor ajustó a los datos de incidencia de la podredumbre blanca, éste fue un modelo logístico, generalizado, mixto de coeficientes aleatorios, con efecto aleatorio de sujeto (o sujeto-específico), en Cruz del Eje y Jesús María, en todos los años. Como forma paramétrica del modelo propuesto se eligió la ecuación del modelo logístico para ambas localidades, en todos los sitios de muestreo y años. Esta decisión se fundamentó en que la forma logística de las curvas en general no cambió (Capítulo 3). Ya que si bien las curvas que comenzaron temprano tuvieron forma sigmoidea y las que comenzaron tarde forma exponencial, la presencia de estas últimas pudo deberse a que no se observó lo suficiente en el tiempo como para advertir la inflexión. Debido a que la forma exponencial pertenece a la primera parte de una curva que sería sigmoidea si tuviera más tiempo para progresar, conforme a lo afirmado por Campbell y Madden (1990). Las causas de estas formas de las curvas epidémicas estuvieron en la naturaleza de la enfermedad y ya fueron explicadas en el capítulo 3. Coincidentemente, Campbell (1986) afirmó que el modelo logístico fue estadísticamente

más adecuado que el monomolecular para describir diversos patosistemas de raíces. También, diversos autores (Campbell y Madden, 1990; March, *et al.*, 2004; Waggoner, 1986), han coincidido en señalar que si bien las enfermedades que presentan curvas sigmoides pueden describirse bien con los modelos logístico y Gompertz, en general son bien caracterizadas por el primero, que describe epidemias que tienen crecimiento exponencial al inicio y monomolecular en su fase final. En consecuencia, los resultados obtenidos en este trabajo muestran que la ecuación del modelo logístico es adecuada para describir las curvas de progreso de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Cruz del Eje y Jesús María, en todos los años.

Por otra parte, trabajar dentro del marco teórico de los modelos no lineales generalizados mixtos, permitió superar los inconvenientes derivados del incumplimiento de los supuestos del análisis de regresión y brindó la posibilidad de analizar y modelar adecuadamente los datos de incidencia de la podredumbre blanca en Córdoba, en coincidencia con lo afirmado por diversos autores (Casanoves *et al.*, 2005; Balzarini, 2006; Machiavelli *et al.*, 2004). Especialmente, permitió manejar las correlaciones que existieron entre los datos de incidencia mediante la incorporación de efectos aleatorios, en este caso asociados al “intercepto” y la pendiente del modelo logístico. En este aspecto, coincidentemente Macchiaveli *et al.* (2004) superaron los inconvenientes derivados de la falta de cumplimiento de los supuestos de la regresión, en los datos de incidencia del virus de la mancha anillada de la papaya (PRSV) bajo cuatro tratamientos, ajustando un modelo logístico dentro del marco teórico de los modelos no lineales generalizados mixtos. Consecuentemente, los resultados obtenidos indican que trabajar dentro del marco teórico de los modelos no lineales generalizados mixtos, permite superar adecuadamente la falta de normalidad y de homogeneidad de varianza y las estructuras de dependencia, en los datos de incidencia de la podredumbre blanca del ajo en Cruz del Eje y Jesús María.

Asimismo, la utilización de un modelo mixto permitió la incorporación del efecto de la densidad inicial de esclerocios en la ecuación del modelo logístico clásico, conforme a lo sugerido por Campbell y Madden (1990). Estos autores mencionaron como las modificaciones más típicas cambiar parámetros a variables, adicionar parámetros con significancia biológica y adicionar variables. Al respecto, Guilligan (1990) (citado por

Campbell y Madden, 1990), propuso un procedimiento para la introducción del inóculo como un factor dentro de los modelos de progreso de enfermedades y Waggoner y Rich (1981) (citados por Campbell y Madden, 1990), desarrollaron un nuevo modelo flexible para el incremento de las enfermedades que tienen inóculo agregado. A diferencia, en la presente investigación se incorporaron efectos aleatorios en el “intercepto” y en la pendiente del modelo, de modo que estos dos parámetros estimados ya no fueron constantes sino variables aleatorias y por consiguiente tuvieron asociada una distribución de probabilidades, de acuerdo a lo sugerido por diversos autores (Casanoves *et al.*, 2005; Balzarini, 2006; Machiavelli *et al.*, 2004). Asimismo, coincidentemente con lo propuesto por diversos autores (Casanoves *et al.*, 2005; Balzarini, 2006; Machiavelli *et al.*, 2004), mediante la adición de los términos aleatorios al modelo, se incorporó el efecto de la densidad inicial de esclerocios en las curvas epidémicas y por consiguiente la variabilidad que existía en los parámetros de las curvas de los distintos sitios.

En cuanto a la separación de los ajustes en dos categorías de densidad de inóculo, menor o igual a 15 y mayor de 15 esclerocios/100 g de suelo, se fundamentó en la relación que existió entre la densidad inicial de inóculo y la incidencia final de la enfermedad (Capítulo 3). La decisión de separar las categorías en 15 esclerocios/100 g de suelo se tomó en base al gráfico de dicha relación (Fig. 3. 9, F) (Macchiavelli, com. pers.). Sin embargo, el número de esclerocios con el cual separar las categorías podría determinarse estadísticamente, mediante el ajuste de modelos que permitieran establecer una posible diferencia de pendientes y esto podría ser motivo de futuras investigaciones en análisis estadísticos (Balzarini, com. pers.). La densidad inicial de esclerocios con la cual separar las categorías podría ser diferente en otra zona de producción y también podría no ser necesario separar en categorías, como ocurrió en los ensayos realizados en Jesús María en el año 2001, donde solamente hubo categoría de densidad inicial menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo. De este modo, el modelo puede extrapolarse a otras situaciones de densidad de inóculo. En consecuencia, los resultados obtenidos muestran que mediante la incorporación de efectos aleatorios en el “intercepto” y la pendiente del modelo logístico, se expresa el efecto de la densidad inicial de inóculo y la variabilidad existente en las curvas de progreso de la podredumbre blanca, en los cultivos de ajo de Cruz del Eje y Jesús María.

En la modelación de los modelos mixtos, por una razón de procedimiento del programa de análisis estadísticos, los valores de los efectos aleatorios se suponen por definición, normalmente distribuidos con medias cero y varianzas determinadas por las características del modelo en particular (Casanoves *et al.*, 2005; Balzarini, 2006; Davidian y Giltinan, 2003). En la presente investigación, las varianzas de los efectos aleatorios podían depender del “ambiente” y de si la densidad inicial era mayor o menor-igual a 15 esclerocios/100 g de suelo. Pero en el modelo que mejor ajustó a los datos de incidencia de la podredumbre blanca del ajo en Córdoba, las varianzas de los efectos aleatorios dependieron solamente de la categoría de la densidad inicial de inóculo y fueron iguales para los distintos “ambientes”. Además los efectos aleatorios de intercepto y pendiente estuvieron correlacionados y la covarianza entre ambos efectos aleatorios también fue homogénea para los “ambientes” y diferentes para las categorías de densidad inicial de inóculo. Respecto a la correlación entre ambos efectos aleatorios, de acuerdo con Balzarini (2006) y Macchiavelli (com. pers.), no fue de interés para interpretarla en términos de la epidemiología de esta enfermedad, fue parte del procedimiento de la modelación.

Con respecto a la varianza de los efectos aleatorios, se observó menor variabilidad en los “interceptos” para las densidades iniciales de inóculo altas que para las densidades bajas. Esto expresó el hecho de que con densidades de inóculo altas la enfermedad apareció de manera más concentrada en el tiempo y no más allá de la mitad del ciclo del cultivo. En cambio, con densidades de inóculo bajas fue apareciendo progresivamente hasta la cosecha, como se explica en la descripción grafica de las curvas de progreso de la enfermedad en el capítulo 3. En cambio, en las pendientes se observa el efecto opuesto, la variabilidad fue mayor para las densidades iniciales de inóculo altas que para las densidades bajas. Esto expresó el hecho de que con densidades de esclerocios altas en el suelo, la enfermedad progresó con tasas más diferentes que con densidades bajas, donde las tasas de progreso fueron más parecidas. No obstante, a simple vista las curvas epidémicas de las densidades de inóculo bajas parecen tener mayor variabilidad, como puede observarse en las figuras de las curvas epidémicas de la enfermedad en el capítulo 3. Contribuye a esta impresión el hecho de que alcanzan incidencias finales muy variables, entre 2 y 100%. Esta aparente mayor variabilidad, se debió a que las curvas comenzaron en

momentos muy diferentes y también a que muchas comenzaron tarde. Las que comenzaron tarde se encontraban en su parte exponencial cuando el cultivo se cosechó y esta es la parte de una curva logística que muestra mayor variabilidad, de acuerdo con Campbell y Madden (1990). En cambio, las curvas epidémicas correspondientes a las densidades iniciales de inóculo altas, al comenzar más temprano tuvieron tiempo para terminar y alcanzar la forma sigmoidea típica del modelo logístico. Consecuentemente, estos resultados muestran que la variabilidad de los efectos aleatorios de “intercepto” y pendiente, depende exclusivamente de la categoría de densidad inicial de esclerocios en los suelos de la provincia de Córdoba, en el modelo que mejor ajusta a los datos de incidencia de la podredumbre blanca en cultivos de ajo. Cuando la densidad inicial es alta, mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo, la variabilidad de los “interceptos” es menor que cuando la densidad es baja, menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo y en las pendientes, la variabilidad es mayor para la densidad inicial de inóculo alta y menor para la densidad baja.

Por otra parte, como resultado de la adición de los efectos aleatorios, los “interceptos” y las pendientes de las curvas epidémicas de la podredumbre blanca en Cruz del Eje y Jesús María, resultaron aleatorios y diferentes para cada combinación de “ambiente” y categoría de densidad inicial de inóculo. Al ser los “interceptos” y las pendientes aleatorios, la función no lineal que se modeló y sobre cuyos coeficientes interesó hacer inferencias, expresó la esperanza (media) condicional de la variable respuesta dados los efectos aleatorios (Casanoves *et al.*, 2005; Balzarini, 2006; Davidian y Giltinan, 2003; Machiavelli *et al.*, 2004). Es decir que se modelaron relaciones condicionales, o sea para determinados valores de los efectos aleatorios, obteniéndose curvas específicas de sujeto (o sujeto – específicas). Las curvas que correspondieron a los efectos aleatorios promedio ($u=0$, $v=0$) o curvas “típicas”, fueron las mismas para todos los sujetos dentro de cada “ambiente” y categoría de densidad inicial de inóculo y expresaron las formas generales del modelo. Las otras curvas específicas de sujeto, es decir aquellas que correspondieron a determinados valores de los efectos aleatorios, fueron específicas para cada sujeto dentro de cada “ambiente” y categoría de densidad inicial de inóculo, y expresaron las formas de las curvas para esos determinados valores de los efectos aleatorios y por lo tanto la variabilidad existente, en coincidencia con lo manifestado por

distintos autores (Casanoves *et al.*, 2005; Balzarini, 2006; Davidian y Giltinan, 2003; Machiavelli *et al.*, 2004). En este aspecto, Torres y Macchiavelli (2007) propusieron el concepto de “curvas percentiles” para las curvas específicas de sujeto generadas con los efectos aleatorios, y una metodología de análisis estadísticos para estimar estas curvas en un modelo logístico con “interceptos” y pendientes aleatorios. Estos autores también propusieron interpretar las curvas de progreso de la enfermedad usando una curva promedio poblacional, que es la curva media de la distribución marginal inducida por los efectos aleatorios y un grupo importante de curvas específicas de sujeto, que son la curva mediana (“típica”) y las curvas asociadas a los primeros (Q_1) y terceros (Q_3) cuartiles de las distribuciones marginales inducidas de ambos efectos aleatorios. Sin embargo, en el trabajo propuesto por Torres y Macchiavelli (2007), puede observarse que las curvas medias tienen pendientes diferentes a las curvas medianas (“típicas”) y también que las curvas medianas copian más exactamente la forma de las curvas percentiles Q_1 y Q_3 . Las curvas Q_1 y Q_3 expresan la variabilidad existente y representan las formas entre las cuales estarían el 50% de la población de curvas. Debido a esto, para representar a las curvas de progreso de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Córdoba de cada “ambiente” y categoría de densidad de inóculo, se sugiere utilizar las curvas medianas (“típicas”) y las curvas percentiles Q_1 y Q_3 . Se destaca que las curvas percentiles Q_1 y Q_3 no tienen que faltar, a los fines de expresar el comportamiento de la población de curvas, por que las curvas mediana y/o media solas no expresan la variabilidad existente.

Por otra parte, los parámetros estimados para las curvas “típicas” se pueden utilizar para realizar comparaciones entre localidades, años, tratamientos fungicidas y técnicas de manejo de la enfermedad, similarmente a los parámetros estimados con los modelos y métodos clásicos (Berger, 1977; Campbell y Madden, 1990; Macchiavelli *et al.*, 2004; March *et al.*, 2004). También se pueden hacer inferencias acerca de la dinámica de la enfermedad, por ejemplo cual sería la incidencia para un “ambiente” dado en un momento específico, tanto para un sitio típico, es decir aquél cuyos efectos aleatorios son igual a cero, como para un sitio específico, es decir especificando los valores de los efectos aleatorios del sitio (u) y de la pendiente (v), de acuerdo con Casanoves *et al.* (2005), Balzarini (2006) y Machiavelli *et al.* (2004). En consecuencia, los resultados obtenidos indican que el modelo logístico, generalizado, mixto de coeficientes aleatorios con efecto

específico de sujeto, describe adecuadamente las curvas de progreso de la podredumbre blanca del ajo en Cruz del Eje y Jesús María. Este modelo confirma que la forma general de la curva de progreso de la enfermedad depende del “ambiente” y de la densidad inicial de inóculo en el suelo, pero la variabilidad de los “interceptos” y pendientes, depende solamente de la densidad inicial de inóculo.

Cuando se compararon los “interceptos” y las pendientes de las curvas “típicas” para las densidades de inóculo altas y bajas, pudo determinarse que en Cruz del Eje con densidades iniciales de esclerocios altas, las curvas tuvieron “interceptos” entre -7,8876 y -5,8952 y tasas de progreso estimadas entre 0,0622 y 0,1017. En cambio, con densidades de inóculo bajas, tuvieron “interceptos” más altos, entre -3,0122 y -3,9562 y tasas de progreso más bajas, entre 0,0288 y 0,0500. Esto significa que con altas densidades iniciales de esclerocios en el suelo, las curvas de progreso de la enfermedad comenzaron a subir antes y progresaron más rápido que con bajas densidades de inóculo. Esto coincide con lo señalado por Campbell (1986) y Campbell y Madden (1990) para otras enfermedades de raíces con reservorio de inóculo en el suelo, y con las conclusiones obtenidas para la podredumbre blanca en la descripción gráfica de las curvas epidémicas realizada en el capítulo 3. A diferencia, en Jesús María en el año 2002, si bien la curva “típica” para la densidad de inóculo alta comenzó a subir antes (“intercepto” -1,8618) que para la densidad baja (“intercepto” -2,6818) y la tasa de progreso (0,0499) fue más rápida que para la densidad baja (0,0413), estos parámetros estimados no llegaron a diferenciarse estadísticamente. Las causas de esto pudieron deberse a que el terreno había sido infectado artificialmente el año anterior, distribuyéndose los esclerocios de manera regular en el terreno y también a que en los dos años de ensayos hubo mayor densidad de plantas que en Cruz del Eje, como se explica en el capítulo 2. Para el año 2002 la densidad de esclerocios y la agregación habían aumentado notablemente y los sitios con densidades bajas siempre estuvieron rodeados de otros sitios con densidades de esclerocios altas (Capítulo 2). Estas condiciones favorecieron la infección, tal como se expone en el capítulo 3 y contribuyeron a que las diferencias entre la curva “típica” para las densidades alta y baja no fueran significativas. En cambio en Cruz del Eje, hubo grandes zonas de los lotes donde todos los sitios tenían bajas densidades de esclerocios (Capítulo 2) y esto determinó que hubiera muchas curvas que comenzaran tarde y/o progresaran lento (Capítulo 3) y también que las

diferencias entre las curvas “típicas” correspondientes a los sitios de alta y baja densidad de esclerocios fueran significativas.

Por otra parte, cuando se compararon los “interceptos” y las pendientes de las curvas “típicas” entre los distintos años, dentro de cada localidad y separando las dos categorías de densidad de inóculo, pudo determinarse que entre los años estudiados hubo diferencias en los “interceptos” y en las tasas epidémicas. Por ejemplo, en el año 2002 la tasa de progreso epidémica de la curva “típica” para las densidades de inóculo bajas fue menor que en los otros años, debido a que se incorporó al ensayo una amplia zona en el fondo del lote en la cual todos los sitios tenían baja densidad de esclerocios (Capítulo 2). Sin embargo, en Cruz del Eje las diferencias entre los “interceptos” y las tasas en los distintos años, no fueron tan marcadas como las diferencias que hubo para las densidades de inóculos altas y bajas. Esto significa que en esta localidad, el hecho que la densidad de inóculo sea alta o baja tuvo mayor influencia en el comportamiento de las curvas epidémicas “típicas”, que el año al cual pertenecieron. En consecuencia, estos resultados indican que la densidad inicial de esclerocios en el suelo, es el factor más importante que determina el momento de comienzo y la tasa de progreso de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Cruz del Eje. Con altas densidades iniciales de esclerocios en el suelo, las curvas de progreso de la enfermedad comienzan antes y progresan más rápido que con bajas densidades de esclerocios, en todos los años.

CONCLUSIONES

Los modelos monomolecular, logístico y Gompertz, ajustados mediante la técnica de regresión lineal simple y de regresión no lineal, no describen de manera adecuada las curvas de progreso de la podredumbre blanca en cultivos de ajo en Córdoba. La ineficacia de estos modelos y métodos clásicos para describir adecuadamente estas curvas epidémicas, se debe a la falta de cumplimiento de los supuestos sobre los que fueron desarrollados, a la no consideración de la influencia del inóculo en los modelos y a la incapacidad para capturar la variabilidad existente en estas curvas.

Realizar los análisis estadísticos dentro del marco teórico de los modelos no lineales generalizados mixtos, permite superar adecuadamente la falta de cumplimiento de los supuestos de los modelos y métodos clásicos, incorporar el efecto de la densidad inicial de esclerocios en las curvas epidémicas y expresar la variabilidad existente en las curvas de progreso de la podredumbre blanca de los cultivos de ajo de Córdoba.

El modelo logístico, generalizado, mixto de coeficientes aleatorios con efecto específico de sujeto, describe adecuadamente las curvas de progreso de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Córdoba.

La representación de las curvas de progreso de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Córdoba, en cada “ambiente” y categoría de densidad de inóculo se hace mediante las curvas específicas de sujeto medianas (“típicas”) y percentiles Q_1 y Q_3 .

El 50% de las curvas de progreso de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Córdoba muestran tasas de progreso estimadas entre $r \pm 0,67\sigma_r$.

La variabilidad de los “interceptos” estimados por el modelo es menor cuando la densidad inicial de inóculo en los suelos de Córdoba es mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo, que cuando la densidad es menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo. En cambio, en las pendientes estimadas por el modelo la variabilidad es mayor para la densidad inicial de inóculo alta y menor para la densidad baja.

La forma general de las curvas de progreso de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Córdoba, depende del “ambiente” y de la densidad inicial de esclerocios en el suelo, pero la variabilidad de los “interceptos” y pendientes depende solamente de la densidad inicial de inóculo.

En Cruz del Eje en todos los años, con altas densidades iniciales de esclerocios en el suelo, las curvas de progreso de la enfermedad comienzan a subir antes, con

“interceptos” entre -7,8876 y -5,8952 y progresan más rápido, con tasas estimadas entre 0,0622 y 0,1017, que con bajas densidades de esclerocios en el suelo, donde tienen “interceptos entre -3,0122 y -3,9562 y progresan a tasas entre 0,0288 y 0,0500.

EFICACIA DE FUNGICIDAS *IN VITRO* PARA EL CONTROL DE *Sclerotium cepivorum*

INTRODUCCIÓN

La podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*S. cepivorum*) es una enfermedad de manejo complejo; principalmente a causa de la elevada viabilidad de los esclerocios, la distribución heterogénea de éstos en el perfil del suelo y que el patógeno infecta las raíces y bulbos (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a; Mc Lean y Stewart, 2000; Stewart y Fullerton, 1999). Así, en las regiones del mundo donde el patógeno ya se encuentra diseminado, el manejo integrado de esta enfermedad se plantea como la única solución para disminuir las pérdidas eficazmente, (Clarkson *et al.*, 2006; Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Lane y Bowen, 2005; Stewart y Fullerton, 1999). En este aspecto, los fungicidas bien utilizados son una técnica valiosa y son esenciales para la convivencia con *S. cepivorum* en las áreas infestadas (Fry, 1977; Lopes y Kimati, 1999; Tyson *et al.*, 1999; Zewide *et al.*, 2007). Hay fungicidas de distintos modos de acción que han sido citados para el manejo de la podredumbre blanca en cultivos de Alliáceas, con distintos grados de éxito en el control (Clarkson *et al.*, 2006; Crowe, 1996; Entwistle y Munasinghe, 1980; Entwistle y Munasinghe, 1981; Fullerton *et al.*, 1995; Lane y Bowen, 2005; Lopes y Kimati, 1999; Tyson *et al.*, 1999; Utkhede y Rahe, 1983; Zewide *et al.*, 2007). Pero también han sido documentados distintos problemas derivados del uso de fungicidas para el control de esta enfermedad, que es necesario superar para lograr un control eficaz (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Delp, 1980; Fullerton *et al.*, 1995; Littlely y Rahe, 1984; Slade *et al.*, 1992; Tyson *et al.*, 1999).

En Córdoba, *S. cepivorum* se encuentra diseminado en las principales zonas productoras de ajo, pero a pesar de las grandes pérdidas que ocasiona no se realizan

estrategias efectivas de manejo de la podredumbre blanca (Orecchia *et al.*, 2003; Orecchia, 2005). De acuerdo a encuestas realizadas a productores y agentes de extensión de las EER – INTA de Cruz del Eje y Jesús María, en el momento de la plantación se aplican fungicidas, principalmente bencimidazoles y en ocasiones iprodione. Esto se hace con el objetivo de proteger a los bulbillos de otros patógenos que son transportados por éstos y/o están en el suelo, como *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. y *Helminthosporium* sp. Sin embargo, a pesar de que estos fungicidas también están citados en la bibliografía para controlar *S. cepivorum*, los tratamientos que se realizan a los bulbillos no muestran ningún efecto de control de la podredumbre blanca, cuando las plantaciones son realizadas en terrenos infestados (CASAFE, 2007; The Royal Society of Chemistry, 1991; Thomson, 1991; Ware, 1989). También se han realizado ensayos con fungicidas para controlar ésta enfermedad, pero no se han logrado reducciones económicamente significativas de la incidencia. No obstante, no se conoce la eficiencia de control de fungicidas de distintos grupos químicos y modos de acción sobre el patógeno. Tampoco si hay algún tipo de degradación de los fungicidas una vez que estos se han aplicado al suelo; ni si existe resistencia a los productos utilizados por parte de la población del patógeno presente en Córdoba.

Entre los principales grupos químicos de fungicidas que se han estudiado para el control de *S. cepivorum*, en ensayos *in vitro*, en cámara de crecimiento y a campo con cultivos de Alliáceas, se citan los benzimidazoles (Coley-Smith, 1990; Entwistle y Munasinghe, 1980; Entwistle y Munasinghe, 1981; Utkhede y Rahe, 1983; Zewide *et al.*, 2007), los dicarboximidias (Coley-Smith, 1990; Entwistle y Munasinghe, 1981; Fullerton *et al.*, 1995; Utkhede y Rahe, 1983; Lane y Bowen, 2005; Lopes y Kimati, 1999), los triazoles (Clarkson, 2006; Delgadillo *et al.*, 2002; Fullerton *et al.*, 1995; Lopes y Kimati, 1999; Melero Vara *et al.*, 2000; Zewide *et al.*, 2007) y el fenil piridinamina (Lopes y Kimati, 1999). El control de la podredumbre blanca con estos grupos de fungicidas ha sido logrado con distintos grados de éxito, mediante aplicaciones al suelo antes de la plantación, a los bulbillos durante la plantación, a la base de las plantas en dos o más pulverizaciones durante el ciclo del cultivo, o mediante una combinación de estas técnicas. También se han probado las aplicaciones de fungicidas *in vitro* y en el suelo, con la finalidad de reducir la densidad de esclerocios, pero sin resultados favorables; a causa que los esclerocios de *S.*

cepivorum poseen elevada persistencia, una gruesa corteza de protección y no germinan sino ante el estímulo de exudados de las raíces de plantas de Alliáceas (Coley-Smith y Cooke, 1971; Crowe, 1996; Crowe, *et al.*, 1980; Hovius y Mc Donald, 2002; Punja y Rahe, 1993; Resende *et al.*, 1984; Resende y Zambolin, 1987).

Los fungicidas bencimidazoles, triazoles, dicarboximidas y fenilpirimidina, que controlan *S. cepivorum*, también son efectivos contra otros patógenos (CASAFE, 2007; The Royal Society of Chemistry, 1991; Thomson, 1991 y Ware, 1989). Además, existen fungicidas de grupos químicos diferentes a estos, que controlan a otros patógenos formadores de esclerocios como *Sclerotinia* spp., *Rhizoctonia* spp., *Botrytis* spp. y otras especies del género *Sclerotium*. Entre estos se encuentran tolclorós metil, pencycuron y azoxistrobina (CASAFE, 2007; The Royal Society of Chemistry, 1991; Thomson, 1991 y Ware, 1989). En nuestro país, los únicos fungicidas registrados para el control de *S. cepivorum* en ajo son dicloram en tratamientos al suelo, carbendazim en tratamientos a los dientes de ajo o semillas de cebolla, y tiabendazol en aplicaciones a los bulbillos o semillas y en la base de plantas desde que estas tienen 20 cm (CASAFE, 2007).

Por otra parte, se han documentado diversos inconvenientes en la utilización de los fungicidas para controlar la podredumbre blanca. Como la aceleración de la degradación microbiana cuando los fungicidas son aplicados repetidamente al suelo (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Slade *et al.*, 1992). La inconsistencia de la eficiencia de control (Tyson *et al.*, 1999; Utkhede y Rahe, 1983). La capacidad de *S. cepivorum* para desarrollar resistencia a los fungicidas y la resistencia cruzada entre fungicidas de distintos grupos químicos (Coley-Smith, 1990; Little y Rahe, 1984). La manifestación de fitotoxicidad en plántulas de género *Allium* (Delgadillo *et al.*, 2002; Fullerton *et al.*, 1995; Lopes y Kimati, 1999; Zewide *et al.*, 2007). La necesidad de altas dosis para lograr un control efectivo y proporcionar un prolongado período de protección al cultivo cuando es destinado a cosecha de bulbos (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Delgadillo *et al.*, 2002; Entwistle y Munasinghe, 1981; Zewide *et al.*, 2007). Finalmente, entre los problemas operativos se han destacado las dificultades para distribuir homogéneamente el fungicida en el perfil del

suelo y para lograr un contacto apropiado entre el fungicida y los esclerocios (Coley-Smith y Cooke, 1971; Crowe, 1996).

Los inconvenientes citados pueden ser superados mediante la integración de técnicas de manejo culturales, físicas, biológicas y químicas (Clarkson *et al.*, 2006; Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Lane y Bowen, 2005; Stewart y Fullerton, 1999; Tyson *et al.*, 1999; Zewide *et al.*, 2007). Particularmente, con la finalidad de prevenir la aparición de resistencia en el patógeno y la aceleración de la degradación microbiana cuando los productos son aplicados repetidamente al suelo, distintos autores han enfatizado la necesidad de elaborar programas de control que contemplen la utilización de mezclas y/o alternancia de fungicidas de grupos químicos no relacionados y de distinto modo de acción (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Delp, 1980; Littlely y Rahe, 1984). Además, a fin de optimizar la utilización de fungicidas y otras técnicas de manejo, es necesario conocer las características epidemiológicas de la enfermedad en la región (Campbell, 1989; Campbell y Madden, 1990; Fry, 1977). Por estos motivos, para poder realizar un programa de fungicidas que forme parte de una futura estrategia integrada de manejo de la enfermedad en Córdoba, es necesario en primer lugar conocer el efecto de fungicidas de distintos modos de acción y grupos químicos no relacionados, sobre los aislamientos del *S. cepivorum* presentes en la región.

Objetivo General

Evaluar la eficacia de fungicidas *in vitro* para el control de *Sclerotium cepivorum* originario de la provincia de Córdoba.

Objetivos específicos

a) Evaluar la eficacia de control de fungicidas sobre los esclerocios de *S. cepivorum*.

b) Evaluar la eficacia de control de fungicidas sobre el micelio de *S. cepivorum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se probaron los fungicidas sistémicos tebuconazole, carbendazim, azoxistrobina y procimidone y los fungicidas de contacto pencycurón, tolclófós metil, fluazinam e iprodione. Los fungicidas se seleccionaron sobre la base de recomendaciones de la bibliografía para controlar esta enfermedad u otras enfermedades de raíces causadas por hongos que producen esclerocios. Además, se tuvo en cuenta que fueran de variados grupos químicos y modos de acción, la información toxicológica y los riesgos ambientales (CASAFE, 2007; Delp, 1980; The Royal Society of Chemistry, 1991; Thomson, 1991; Ware, 1989). Los fungicidas se evaluaron en tres dosis, la dosis recomendada para su uso, la mitad y el doble. En la tabla 5. 1 se detalla el ingrediente activo de cada fungicida evaluado, con su correspondiente nombre químico, clasificación química, denominación comercial, tipo de formulación, concentración del ingrediente activo y dosis ensayadas (CASAFE, 2007).

Se utilizaron dos aislamientos de *S. cepivorum* procedentes de las localidades de Jesús María y Cruz del Eje, identificados como JM1 (1996) y CE1 (2000). Los aislamientos fueron obtenidos a partir de un esclerocio que se formó sobre una planta de ajo enferma, que había crecido en el suelo contaminado de cada localidad. Los esclerocios se separaron de las plantas procedentes de cada localidad y se colocaron 10 minutos en agua destilada esterilizada para que su hidratación, luego se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio comercial (50 g/l de Cl activo) al 10%, durante 1 a 3 minutos. Al cabo de ese tiempo se extrajeron, se presionaron con una pinza de punta fina y se sembraron en cajas de Petri con agar papa dextrosa (APD) al 2%, a razón de uno por caja. Las cajas se incubaron en una cámara a $19,5 \pm 0,5$ °C hasta que se observaron los esclerocios formados. Luego se dejaron a temperatura ambiente, hasta que la película de agar se secó y al cabo de ese tiempo se seleccionó una caja con esclerocios de cada localidad, que fue la que se identificó como el aislamiento a utilizar (Crowe *et al.*, 1980; Punja y Rahe, 1993). Los esclerocios obtenidos fueron enterrados durante 4 meses antes de

su uso, encerrados en bolsas de tela de poliéster para romper la dormancia constitutiva (Coley- Smith, 1959; Coley-Smith *et al.* 1987; Crowe *et al.*, 1980; Punja y Rahe, 1993).

Tabla 5. 1. Fungicidas evaluados para el control de *Sclerotium cepivorum*. Ingrediente activo (i.a), clasificación química y nombre químico, nombre comercial de la formulación del i.a. (NC) y empresa fabricante, tipo de formulación utilizada (F), concentración del i.a. en porcentaje (C) y dosis evaluadas en partes por millón (ppm).

Ingrediente activo (i.a)	Clasificación química del i.a. y nombre químico (*)	NC (*)	F(*)	C(*)	Dosis (ppm)		
					D1	D2	D3
Tebuconazole	Triazol Alfa-[2-(4 clorofenil)etil]- alfa-(1-1 dimetiletil)-1 H-1,2,4 triazol -1 etanol	Folicur (Bayer)	EC	20	0,20	0,40	0,80
Carbendazim	Bencimidazol 2-metoxicarbamoil-bencimidazol	Chemcarb (Chemiplant)	SC	50	1,60	3,20	6,40
Azoxistrobina	Estrobilurina Metil (E)-2-{2-[6-(2-cianofenoxi) pirimidin-4-iloxi] fenil}-3-metoxiacrilato	Amistar (Syngenta Agro)	SC	25	0,75	1,50	3,00
Procimidone	Dicarboximida N-(3,5-diclorofenil)-1,2-dimetilciclo propano-1,2-dicarboximida	Sumilex (Summit Agro)	SC	50	0,50	1,00	2,00
Fluazinam	Fenil piridinamina 3-cloro-N-(3-cloro-5-trifluorometil -2-piridil)-2,2,2-trifluoro-2,6-dinitro-p-tuolidina	Frowncide (ISK Branch)	SC	50	0,30	0,60	1,20
Tolclofós metil	Clorofenilo O-2,6 dicloro-4-metilfenil O,O demetil fosforotiolato	Rizolex (Summit Agro)	SC	50	4,00	8,00	16,0
Iprodione	Dicarboximida 1-isopropil carbamoil-3-(3,5-diclorofenil)-hidantoina	Rovral (Bayer)	WP	50	1,00	2,00	4,00
Pencycuron	Fenilurea N-[(4-clorofenil-metil]-N-ciclopentil-N'- fenilurea	Monceren (Bayer)	SC	25	0,50	1,00	2,00

(*) Fuente: CASAFE (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes – República Argentina). 2007. Guía de Productos Fitosanitarios para la República Argentina. Tomo 2, 13° ed. Argentina.

Evaluación de la eficacia de control de fungicidas sobre los esclerocios de *S. cepivorum*

El patógeno se cultivó en un medio con arena de granulometría 0,5 - 1 mm más harina de maíz de igual granulometría, en proporción 20:1 p/p. El medio se colocó dentro de frascos de vidrio de 1 litro de capacidad y se humedeció con agua destilada. Los frascos se esterilizaron en autoclave durante 30 minutos a 120 °C. El medio de cada frasco se inoculó con 5 discos de micelio de *S. cepivorum* de 1 cm de diámetro de una colonia en activo crecimiento, cultivada sobre APD al 2%. Los frascos se mantuvieron en cámara a $19,5\pm 0,5$ °C durante 50 días hasta la formación de los esclerocios. Transcurrido ese tiempo, los esclerocios junto a la arena en que se formaron se colocaron en bandejas plásticas abiertas y se secaron durante 5 días, al cabo de los cuales se les evaluó la viabilidad en agar-agua al 2%, en una muestra de esclerocios (Coley-Smith, 1959; Conles *et al.*, 2001; Crowe *et al.*, 1980; Punja y Rahe, 1993). Posteriormente, los esclerocios obtenidos fueron encerrados en bolsas de tela de poliéster y enterrados durante 4 meses, para romper la dormancia constitutiva (Coley-Smith, 1959; Coley-Smith *et al.* 1987; Crowe *et al.*, 1980; Punja y Rahe, 1993). En el momento de utilizarlos en los ensayos se recuperaron por tamizado húmedo (Adams, 1979). Antes de la implementación del ensayo se les comprobó nuevamente la viabilidad en agar-agua al 2%, en una muestra de esclerocios (Crowe *et al.*, 1980; Punja y Rahe, 1993).

Para evaluar la eficacia de control de los fungicidas se mezclaron esclerocios de cada aislamiento con suelo sano y se colocaron en potes plásticos de 120 cm³ de capacidad con tapa hermética, a razón de 25 esclerocios con 50 gramos de suelo por pote. En cada pote se aplicó el fungicida a evaluar en su correspondiente dosis (Tabla 5. 1). Los fungicidas se disolvieron en agua destilada y el volumen de aplicación fue de 15 ml por pote. En el tratamiento control se aplicó agua destilada en igual cantidad. Los envases se sellaron con film plástico y se incubaron a $19,5\pm 0,5$ °C en oscuridad durante 120 horas. La recuperación de los esclerocios se realizó por tamizado húmedo y la viabilidad de los esclerocios recuperados se evaluó en agar papa dextrosa (APD) al 2% (Adams, 1979; Crowe *et al.*, 1980; Punja y Rahe, 1993). A los cinco días desde la siembra se contabilizó

el número de esclerocios viables/100 g de suelo y con ese valor se calculó el porcentaje de esclerocios viables /100 g de suelo. La variable porcentaje de esclerocios/100 g de suelo, que fueron recuperados vivos en cada tratamiento una vez transcurrido el tiempo establecido para la finalización del ensayo, fue sometida a transformación arco seno \sqrt{x} , para su análisis (Gumpertz, 1995). Los experimentos se condujeron de manera que cada aislamiento del patógeno (CE1 y JM1) con un fungicida en cada una de sus tres dosis y un tratamiento control constituyó un ensayo. Cada ensayo se condujo en un diseño totalmente aleatorizado con cinco repeticiones por tratamiento. Los datos se analizaron mediante un ANAVA y se determinaron las diferencias entre medias de tratamientos por la prueba de LSD Fisher ($p < 0,05$) (InfoStat, 2006).

Evaluación de la eficacia de control de fungicidas sobre el micelio de *S. cepivorum*

Para evaluar el efecto de los fungicidas sobre el crecimiento de *S. cepivorum* se utilizó la técnica del alimento envenenado (Dhingra y Sinclair, 1985). Discos de 6 mm de diámetro de micelio del patógeno, cultivado durante 5 días sobre APD al 2%, se sembraron en el centro de cajas de Petri de 90 mm de diámetro con APD al 2%, al que se le adicionó previamente el fungicida en la dosis a evaluar (Tabla 5. 1). Además, para evitar la contaminación con bacterias se incorporaron al medio de cultivo 25 ppm de de cloranfenicol (Quotal N.F., frasco ampolla 1 g, Bristol-Meyers Squibb) y 20 ppm de estreptomycin (frasco ampolla 1 g, Richet). Las cajas de Petri con los tratamientos se incubaron a $19,5 \pm 0,5$ en oscuridad, hasta que el micelio del hongo en el tratamiento testigo cubrió totalmente la caja, lo que ocurrió entre los 7 y los 9 días. Al cabo de ese tiempo se midieron dos diámetros perpendiculares de las colonias y con estos se obtuvieron los diámetros promedio. La eficacia de control de los fungicidas se evaluó como el porcentaje de inhibición del crecimiento de la colonia para cada fungicida, con respecto al diámetro medio de la colonia control (French y Hebert, 1982; Pandey *et al.*, 1982). El Porcentaje de Inhibición de Crecimiento del Micelio (PICM) se calculó según la siguiente fórmula (Pandey *et al.*, 1982).

$$\text{PICM} = \frac{\text{Diámetro Promedio Control} - \text{Diámetro Promedio Tratamiento}}{\text{Diámetro Promedio Control}} \times 100 \quad (5.1)$$

La variable PICM fue sometida a transformación arco seno \sqrt{x} para su análisis (Gumpertz, 1995). Los ensayos se condujeron en un diseño anidado totalmente aleatorizado con cinco repeticiones por tratamiento, con el factor “dosis” anidado dentro del factor “fungicida”, debido a que las dosis que se seleccionaron para el ensayo fueron diferentes para cada fungicida en particular (InfoStat, 2006). Los datos se analizaron mediante un ANAVA (InfoStat, 2006), se incluyó el término de interacción “aislamiento por fungicida” en el modelo y se determinaron las diferencias entre medias de tratamientos por la prueba de LSD Fisher ($p < 0.05$).

RESULTADOS

Evaluación de la eficacia de control de fungicidas sobre los esclerocios de *S. cepivorum*

Para todos los fungicidas y para ambos aislamientos, el porcentaje de esclerocios viables recuperados no difirió del control sin fungicida ($p > 0.05$), en ninguna de las dosis evaluadas (Tabla 5. 2). Si bien en algunos tratamientos puede observarse una disminución en el porcentaje de esclerocios viables recuperados con respecto al tratamiento control y en otros un aumento, las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Una disminución del número de esclerocios viables/100 g de suelo en el tratamiento con fungicida ocurrió con tebuconazole e iprodione y con las dosis más altas de carbendazim, azoxistrobina y tolclofós metil. Un aumento del número de esclerocios viables/100 g de suelo en el tratamiento con fungicida con respecto al control sin fungicida, ocurrió con procimidone, fluazinam y pencycuron y con las dosis más bajas de carbendazim, azoxistrobina, tolclofós metil (Tabla 5. 2). En las cajas de Petri con ADP al 2%, en las cuales se evaluó la viabilidad de los esclerocios recuperados del suelo después los

tratamientos con los fungicidas, en ocasiones crecieron distintos hongos a partir de la corteza de los esclerocios, tanto de los viables como de los no viables. Entre éstos se encontraron *Penicillium* spp. y *Fusarium* spp. en mayor cantidad y *Drechslera* sp., *Cladosporium* spp., *Trichoderma* sp. y *Alternaria* sp. en menor cantidad, pero no fueron cuantificados.

Tabla 5. 2. Esclerocios de *Sclerotium cepivorum* viables (%), recuperados del suelo tratado con distintos fungicidas y dosis, después de las 120 horas de tratamiento para dos aislamientos de Córdoba.

Fungicida	Aislamiento CE1				Aislamiento JM1			
	D1	D2	D3	Control	D1	D2	D3	Control
Tebuconazole	83,38 ^(*) (1,16)	83,20 (1,16)	81,37 (1,13)	85,43 (1,19)	84,70 (1,17)	84,80 (1,18)	83,77 (1,17)	88,00 (1,24)
Carbendazim	77,75 (1,09)	76,80 (1,07)	75,71 (1,06)	78,40 (1,10)	82,83 (1,16)	83,20 (1,15)	81,10 (1,12)	82,4 (1,14)
Azoxistrobina	77,26 (1,08)	76,04 (1,06)	76,19 (1,07)	77,14 (1,08)	86,10 (1,20)	85,02 (1,18)	84,09 (1,16)	84,98 (1,18)
Procimidone	84,60 (1,18)	83,20 (1,16)	83,03 (1,15)	80,59 (1,12)	91,07 (1,30)	88,00 (1,23)	87,20 (1,21)	86,33 (1,20)
Fluazinam	84,22 (1,18)	83,83 (1,16)	84,00 (1,17)	83,20 (1,15)	85,60 (1,19)	84,73 (1,18)	82,46 (1,15)	82,40 (1,14)
Tolclofós metil	85,60 (1,19)	84,00 (1,17)	83,38 (1,16)	84,53 (1,19)	90,57 (1,27)	88,80 (1,24)	88,00 (1,22)	89,40 (1,29)
Iprodione	72,12 (1,08)	76,67 (1,07)	76,31 (1,07)	77,43 (1,08)	81,43 (1,13)	82,30 (1,15)	81,82 (1,14)	82,40 (1,15)
Pencycuron	84,79 (1,18)	83,10 (1,15)	83,83 (1,16)	82,45 (1,14)	87,23 (1,21)	88,05 (1,22)	86,62 (1,20)	86,40 (1,20)

D1, D2 y D3: dosis de fungicida aplicadas. Los valores de las dosis de cada fungicida se detallan en la tabla 5. 1.

(*) Los valores (%) corresponden a la media de cinco repeticiones. Entre paréntesis los valores transformados a arco seno \sqrt{x} .

Evaluación de la eficacia de control de fungicidas sobre el micelio de *S. cepivorum*

El porcentaje medio de inhibición del crecimiento (PICM) de la colonia de *S. cepivorum* para cada fungicida, con respecto al diámetro medio de la colonia control, puede observarse en la tabla 5. 3. El término de la interacción “aislamiento por fungicida” resultó no significativo ($p=0,4507$), por lo tanto el efecto de los fungicidas fue independiente de los aislamientos estudiados. Por ese motivo, en la tabla 5. 3 se muestran los resultados promedios de los dos aislamientos para cada fungicida y dosis.

Tabla 5. 3. Inhibición del crecimiento del micelio de *Sclerotium cepivorum* con respecto al crecimiento del micelio de la colonia control (%), para cada fungicida agregado al medio de cultivo (ADP 2%), en tres dosis .

Fungicida	Dosis ⁽¹⁾		
	D1	D2	D3
Tebuconazole	94,76 ⁽²⁾ (1,36) ghi ^(*)	96,66 (1,41) hij	99,05 (1,51) lm
Carbendazim	57,26 (0,86) a	86,25 (1,20) de	93,22 (1,34) fgh
Azoxistrobina	81,73 (1,14) cd	90,72 (1,27) ef	94,52 (1,38) hij
Procimidone	75,60 (1,05) b	95,36 (1,37) hi	100,00 (1,57) m
Fluazinam	97,80 (1,44) jkl	97,62 (1,42) ijk	98,99 (1,49) kl
Tolclofós metil	91,79 (1,28) fg	96,79 (1,41) hijk	100,00 (1,57) m
Iprodione	78,63 (1,1) bc	94,64 (1,38) hij	100,00 (1,57) m

⁽¹⁾ D1, D2 y D3: dosis de fungicida aplicadas en partes por millón. Los valores de las dosis de cada fungicida se detallan en la tabla 5. 1.

⁽²⁾ Los valores (%) corresponden a la media de cinco repeticiones. Entre paréntesis los valores transformados a arco seno \sqrt{x} .

^(*) Valores con letras distintas indican diferencias significativas por el test de LSD Fisher ($\alpha < 0.05$)

Como se observa en la tabla 5. 3 hubo diferencias significativas ($p < 0,0001$) en el porcentaje de inhibición del crecimiento de la colonia de *S. cepivorum* obtenido con las distintas dosis de cada fungicida. Como el fungicida pencycuron no tuvo ningún efecto de reducción sobre el crecimiento del micelio del patógeno fue excluido del análisis (Gumpertz, 1995). En todos los casos, para los restantes fungicidas la dosis más alta (D3)

produjo el mayor PICM del patógeno y la dosis más baja (D1) el menor. En la dosis más alta, procimidone, tolclofós metil e iprodione lograron inhibir totalmente el crecimiento del micelio de *S. cepivorum* y los restantes fungicidas lo hicieron en un porcentaje superior al 90%, alcanzando fluazinam y tebuconazole los PICM más altos, seguidos por azoxistrobina y carbendazim, en ese orden. Fluazinam, tebuconazole, y tolclofós metil, inhibieron el crecimiento del micelio en un porcentaje mayor al 90% en todas sus dosis. En las dosis más bajas estos fungicidas fueron seguidos por azoxistrobina, iprodione, procimidone y carbendazim. El menor PICM de todo el ensayo, fue producido por carbendazim en su dosis más baja. Este fungicida fue el de menor eficacia de control en todas las dosis.

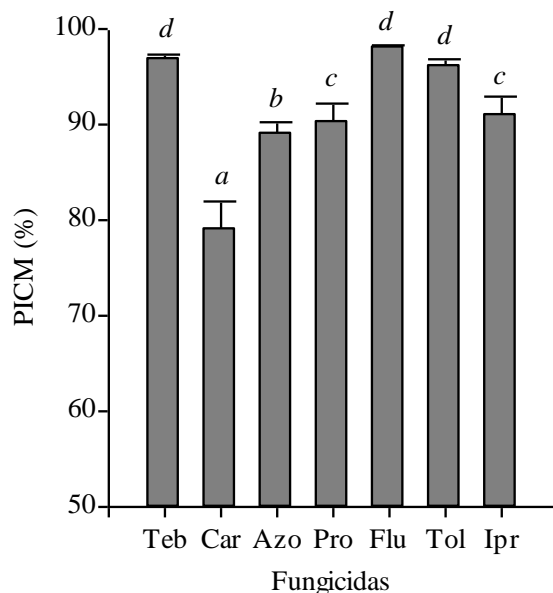


Figura 5. 1. Eficacia de control de los fungicidas sobre el micelio de *Sclerotium cepivorum*, independientemente de la dosis evaluada.

PICM (%): porcentaje medio de inhibición del crecimiento del micelio de *S. cepivorum* para cada fungicida, con respecto al crecimiento del micelio de la colonia control. Los valores corresponden a las medias de dos aislamientos y tres dosis con cinco repeticiones cada una.

Teb: tebuconazole; Car: carbendazim; Azo: azoxistrobina; Pro: procymidone; Flu: fluazinan; Tol: tolclofós metil; Ipr: iprodione

Valores con letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher ($\alpha < 0.05$)).

En la figura 5. 1 puede observarse la eficacia de control de cada fungicida adicionado al medio de cultivo, sobre el micelio del patógeno, independientemente de la dosis. Excepto pencycuron, todos los fungicidas ensayados redujeron el crecimiento del

micelio de *S. cepivorum* ($p < 0,0001$) cuando fueron adicionados al medio de cultivo. Los fungicidas tebuconazole, fluazinam y tolclofós metil, mostraron un comportamiento superior para reducir el crecimiento del micelio, seguidos por los fungicidas iprodione y procymidone. Azoxistrobina mostró una eficacia de control ligeramente inferior a los dos fungicidas anteriores pero con valores que superaron el 80 % de inhibición y carbendazim fue el fungicida que tuvo la menor eficacia de control con respecto a los otros fungicidas.

DISCUSIÓN

Los fungicidas aplicados al suelo no disminuyeron la viabilidad de los esclerocios, en ninguna de las dosis evaluadas y en ambos aislamientos de Córdoba. Estos resultados confirman los reportes de Resende *et al.* (1984), quienes en pruebas de laboratorio comprobaron que los fungicidas iprodione, procymidone, vinclozolin y PCNB y el compuesto formaldehído, no tuvieron efecto letal sobre los esclerocios de *S. cepivorum*. También Resende y Zambolin (1987), en ensayos realizados en condiciones de campo, confirmaron que los fungicidas protectores iprodione y PCNB aplicados al suelo, no disminuyeron el número de esclerocios viables, sin embargo controlaron eficientemente la enfermedad, debido a su modo de acción típicamente fungistático. La ineficacia de los fungicidas para controlar los esclerocios de *S. cepivorum* de los aislamientos de Córdoba, pudo deberse a que actúan impidiendo el crecimiento del micelio y/o la formación de esporas de los hongos, de acuerdo a lo documentado por CASAFE (2007), The Royal Society of Chemistry (1991), Thomson (1991), y Ware (1989). Pero los fungicidas no pudieron eliminar el micelio del patógeno, porque en los esclerocios el micelio está protegido dentro de una corteza compuesta de células fuertemente engrosadas y entra en actividad exclusivamente cuando estos son estimulados a germinar por los exudados de las raíces de las plantas de género *Allium* (Coley-Smith y Cooke, 1971; Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Hovius y Mc Donald, 2002). En consecuencia, a partir de los resultados obtenidos puede afirmarse que ninguno de los fungicidas del ensayo en las dosis evaluadas, es eficaz para controlar los esclerocios de *S. cepivorum* de los aislamientos de Córdoba, cuando son aplicados al suelo en condiciones de laboratorio.

Por otra parte, en algunos de los tratamientos con fungicidas el número de esclerocios viables/100 g de suelo fue mayor que en el tratamiento control. Esto ocurrió con procimidone, fluazinam y pencycuron en todas sus dosis y con carbendazim, azoxistrobina y tolclofós metil en sus dosis más bajas. Este efecto pudo deberse a que los fungicidas probados en estos ensayos controlan un espectro de hongos diferentes (CASAFE, 2007; The Royal Society of Chemistry, 1991; Thomson, 1991; Ware, 1989). De este modo, si bien no ejercieron ningún efecto letal sobre los esclerocios del patógeno, eliminaron la competencia de otros hongos que éstos transportaban en su corteza y que no fueron eliminados durante la desinfección con hipoclorito de sodio (Crowe *et al.*, 1980; Punja y Rahe, 1993). Así, los esclerocios de *S. cepivorum* que son relativamente lentos para iniciar el crecimiento en medios de cultivo y malos competidores con otros hongos y bacterias que crecen rápidamente en APD, tuvieron mayor oportunidad para germinar en esos tratamientos con fungicidas que en el tratamiento control (Punja y Rahe, 1993). Entre los hongos que se encontraron creciendo a partir de la corteza de los esclerocios recuperados del suelo en el tratamiento control, cuando se les evaluó la viabilidad en APD 2%, estuvieron *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Drechslera* sp., *Cladosporium* spp., *Trichoderma* sp. y *Alternaria* sp. Coincidentemente, Crowe *et al.* (1980), al evaluar la viabilidad de esclerocios de *S. cepivorum*, encontraron que *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., *Streptomyces* spp. y *Trichoderma viride* Pers. crecían a partir de la corteza de esclerocios esterilizados e impedían el crecimiento del patógeno en el medio de cultivo.

Por otra parte, las condiciones de laboratorio en las que se condujo el ensayo permitieron un contacto óptimo entre los esclerocios y el fungicida, así como también una mínima degradación y pérdida de los productos aplicados. Pero estas condiciones ideales para la acción de los fungicidas son difíciles de lograr en el cultivo, debido tanto a factores ambientales como operativos (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996). Entre los primeros, están distintos factores físicos, químicos y biológicos que conducen a la degradación y pérdida de los fungicidas, una vez que son aplicados al suelo con el objetivo de controlar la podredumbre blanca (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Tyson *et al.*, 1999; Slade *et al.*, 1992; Utkhede y Rahe, 1983). Entre los segundos, están las dificultades para obtener una distribución homogénea de los productos en el suelo y asegurar un contacto óptimo con los

esclerocios, debido a la distribución heterogénea de estos en el perfil del suelo (Adams, 1981; Coley-Smith, 1990; Coley-Smith y Cooke, 1971; Crowe, 1996; Crowe *et al.*, 1980; Crowe y Hall, 1980a; Mc Lean y Stewart, 2000). Por estos motivos, debido a que la aplicación de fungicidas en el suelo no fue efectiva para reducir la viabilidad de los esclerocios en condiciones de laboratorio, es de esperar que tampoco lo sea en condiciones de campo.

Con respecto al efecto de los fungicidas sobre el micelio, los dos aislamientos de *S. cepivorum* de Córdoba (CE1 y JM1) se mostraron susceptibles y respondieron de la misma manera a los tratamientos aplicados. Excepto pencycuron, todos los fungicidas evaluados en los ensayos inhibieron el crecimiento del micelio y en todos los casos, las dosis más altas produjeron los mayores porcentajes de inhibición y las dosis más bajas los menores. Coincidentemente, distintos autores han determinados que las dosis más altas fueron más eficientes que las dosis más bajas, para controlar la podredumbre blanca en los ensayos realizados (Entwistle y Munasinghe, 1981; Delgadillo *et al.*, 2002; Utkhede y Rahe, 1983; Zewide *et al.*, 2007). Asimismo, las dosis documentadas para controlar *S. cepivorum* son notablemente más altas que las utilizadas para controlar otros patógenos foliares en los cultivos de Alliáceas (CASAFE, 2007). Con respecto al fungicida pencycurón, este había sido elegido para evaluar su efecto de control sobre *S. cepivorum*, debido a su efectividad para controlar el Basidiomycete de género *Rhizoctonia*, que también forma esclerocios que permanecen en el suelo (CASAFE, 2007; The Royal Society of Chemistry, 1991; Thomson, 1991). Los resultados obtenidos en los presentes ensayos demuestran que pencycurón no es efectivo para reducir el crecimiento del micelio de *S. cepivorum*.

En sus dosis más altas, los fungicidas procimidone e iprodione, inhibieron totalmente el crecimiento del micelio de *S. cepivorum*. Estos resultados confirman lo expuesto por distintos autores, acerca de la alta efectividad de los fungicidas dicarboximidadas procimidone e iprodione para controlar este patógeno, tanto en ensayos de laboratorio (Lopes y Kimati, 1999; Lane y Bowen, 2005) como de campo en distintos cultivos de Alliáceas (Entwistle y Munasinghe, 1981; Fullerton *et al.*, 1995; Utkhede y Rahe, 1983). Sin embargo, hay que tener en cuenta que en sus dosis más bajas tuvieron una eficiencia de control mucho menor con respecto a los otros fungicidas del ensayo. Por otra

parte, se ha documentado la degradación microbiana cuando iprodione es aplicado repetidamente al suelo. Pero no para procimidone, que tiene mayor persistencia (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Slade *et al.*, 1992). Además, la eficacia de estos fungicidas para controlar la podredumbre blanca puede variar grandemente de un año al siguiente, debido a cambios en las condiciones del suelo como temperatura, humedad, precipitaciones y sus interacciones, que afectan la persistencia o actividad de estos fungicidas (Tyson *et al.*, 1999). También, Utkhede y Rahe (1983) encontraron que iprodione perdió efectividad de un año al siguiente, seguramente por haber sido lixiviado del perfil del suelo debido a su elevada solubilidad en agua. Por otra parte, Littley y Rahe (1984) comprobaron la capacidad de *S. cepivorum* para desarrollar resistencia a los fungicidas dicarboximidas. En estos aspectos, hay que tener en cuenta que iprodione ha sido utilizado ocasionalmente sobre los bulbillos de ajo durante la plantación, con el objetivo de controlar la podredumbre blanca. Debido a esto, las poblaciones de *S. cepivorum* de las regiones productoras de ajo de Córdoba y los microorganismos del suelo, ya han tenido contacto con este fungicida. De acuerdo a lo expresado por diversos autores (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Entwistle y Munasinghe, 1981; Fullerton *et al.*, 1995; Littley y Rahe, 1984; Slade *et al.*, 1992; Tyson *et al.*, 1999; Utkhede y Rahe, 1983), estos antecedentes conducen a la necesidad de contar con productos alternativos a los dicarboximidas para controlar la podredumbre blanca en Córdoba.

Con respecto a tolclofós metil, con la dosis más alta inhibió totalmente el crecimiento del micelio de *S. cepivorum* de los aislamientos de Córdoba. Con las dosis intermedia y baja inhibió el crecimiento del micelio en más del 90% con respecto al tratamiento control. No obstante su excelente desempeño *in vitro* este fungicida no ha sido utilizado para controlar la podredumbre blanca. Actualmente se lo utiliza para controlar otros patógenos de raíces productores de esclerocios y no posee antecedentes de fototoxicidad en las plantas (CASAFE, 2007; The Royal Society of Chemistry, 1991; Thomson, 1991; Ware, 1989). De este modo, es una alternativa importante para ser evaluada en futuros ensayos sobre plantas de *Allium* en suelo, debido a que es factible esperar que su acción sea eficaz en el cultivo, si es aplicado oportunamente y con las técnicas de aplicación adecuadas.

Con la dosis más alta tebuconazole alcanzó valores de PICM cercanos al 100% y con las dosis intermedia y baja, inhibió el crecimiento del micelio en un porcentaje superior al 90%. Resultados semejantes obtuvieron Lopes y Kimati (1999), quienes en ensayos *in vitro* con dosis de 0,50 ppm de tebuconazole lograron inhibir el crecimiento del micelio de *S. cepivorum* en más del 90%. Además, en coincidencia con lo manifestado diferentes autores, tebuconazole cuenta numerosos éxitos en el control de la podredumbre blanca y por ese motivo es uno de los fungicidas más estudiado actualmente para controlar esta enfermedad en cultivos de Alliáceas (Clarkson, 2006; Delgadillo *et al.*, 2002; Fullerton *et al.*, 1995; Lopes y Kimati, 1999; Melero Vara *et al.*, 2000; Zewide *et al.*, 2007). Sin embargo, entre los inconvenientes para su uso se han citado efectos de fototoxicidad en plántulas de *Allium*, tanto para tebuconazole como para otros fungicidas triazoles como diniconazole y triadimefon (Delgadillo *et al.*, 2002; Fullerton *et al.*, 1995; Lopes y Kimati, 1999; Zewide *et al.*, 2007). Esto conduce a la necesidad de contar con productos alternativos para aplicar cuando las plantas son aún pequeñas (Fullerton *et al.*, 1995). Por otra parte, Tyson *et al.* (1999) manifestaron que igualmente que con los fungicidas dicarboximidas, la eficacia de los fungicidas triazoles tebuconazole y triadimenol puede variar grandemente de un año al siguiente, debido a cambios en las condiciones del suelo que afectan la persistencia o la actividad de estos fungicidas. Pero, a diferencia de los dicarboximidas, los triazoles no poseen el inconveniente del aumento de la degradación microbiana cuando son aplicados repetidamente en el suelo (Tyson *et al.*, 1999). Los antecedentes citados y la gran eficiencia *in vitro* para inhibir el crecimiento del micelio de los aislamientos de *S. cepivorum* de Córdoba, convierten al tebuconazole en una alternativa interesante para ser evaluada en futuros ensayos sobre plantas de *Allium* en suelo, a fin de determinar los momentos y técnicas de aplicación mas apropiados que minimicen sus efectos adversos sobre plántulas.

El fungicida fluazinam alcanzó valores de PICM cercanos al 100% en todas sus dosis. Resultados semejantes obtuvieron Lopez y Kimati (1999), quienes en ensayos *in vitro* con dosis de 0,50 ppm lograron inhibir el crecimiento del micelio de *S. cepivorum* en más del 90%. Además, de acuerdo a lo manifestado por Lopes y Kimati (1999), este fungicida cuenta con antecedentes de ofrecer un excelente control de la podredumbre blanca en condiciones de suelo. También se utiliza para controlar otros patógenos de raíces

que producen esclerocios en el suelo y no se han documentado inconvenientes para su utilización en cultivos de *Allium* (CASAFE, 2007; Lopes y Kimati, 1999; The Royal Society of Chemistry, 1991; Thomson, 1991; Ware, 1989). Estos antecedentes, sumados a su capacidad *in vitro* para inhibir el crecimiento del micelio de los aislamientos de Córdoba en una proporción mayor al 90% en todas sus dosis, lo convierten en una alternativa de gran importancia para considerar dentro de un programa de control de la podredumbre blanca que incluya fungicidas de distintos grupos químicos y modos de acción.

Respecto al fungicida azoxistrobina, tuvo menor eficiencia que los anteriores para inhibir el crecimiento del micelio. No obstante, en su dosis más alta su PICM fue superior al 90% y en su dosis más baja superior al 80%. Este fungicida derivado de las estrobilurinas, es uno de los productos de desarrollo más reciente y está recomendado para otros patógenos de raíces con esclerocios en el suelo (CASAFE, 2007). Además no posee antecedentes de fototoxicidad, tiene un amplio espectro de acción, se puede aplicar al suelo, semillas y foliar y tiene efectos fisiológicos favorables para el crecimiento de las plantas (CASAFE, 2007). Estos antecedentes, junto a buena capacidad para inhibir el crecimiento del micelio de *S. cepivorum* de los aislamientos de Córdoba en los ensayos *in vitro*, lo convierten en una alternativa importante para ser evaluada en futuros ensayos sobre plantas de *Allium* en suelo.

El fungicida que menor eficiencia tuvo fue el bencimidazol carbendazim. En su dosis más alta el PICM superó el 90%, al igual que los restantes fungicidas, pero cuando la dosis se bajó su eficiencia para controlar el patógeno fue de 57,26%, la más baja de todo el ensayo. La menor efectividad de los bencimidazoles, con respecto a fungicidas de otros grupos químicos ha sido anteriormente documentada (Entwistle y Munasinghe, 1980; Utkhede y Rahe, 1983). A diferencia, Littley y Rahe (1984) mencionan que el bencimidazol benomil parece ser una buena opción para usar en mezcla o en forma alternada con otros productos, a causa que todos los aislamientos de *S. cepivorum* fueron sensibles a bajas concentraciones del producto. Asimismo, Zewide *et al.* (2007) obtuvieron con benomil una reducción significativa de la incidencia de podredumbre blanca en cultivos de ajo. Por otra parte, los bencimidazoles carbendazim y tiabendazol, son dos de los tres únicos fungicidas registrados en nuestro país para el control de la podredumbre

blanca en ajo y cebolla (CASAFE, 2007). Como en Córdoba se han utilizado tradicionalmente los bencimidazoles carbendazim y benomil en aplicaciones a los bulbillos de ajo durante la plantación, con el objetivo de controlar principalmente *Penicillium* y *Fusarium*; las poblaciones de *S. cepivorum* de las regiones productoras han tenido contacto recurrente con estos productos. De acuerdo a lo expresado por diversos autores (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Delp, 1980; Entwistle y Munasinghe, 1980; Fullerton *et al.*, 1995; Slade *et al.*, 1992; Utkhede y Rahe, 1983), a fin de evitar la aparición de los inconvenientes que ocurren por el uso repetido de los mismos productos, dentro de un programa de control de la podredumbre blanca es necesario contar con fungicidas diferentes a los bencimidazoles.

Considerando el efecto general de los fungicidas sobre el micelio de *S. cepivorum*, independientemente de la dosis estudiada, las mayores reducciones de crecimiento del micelio se obtuvieron con fluazinam, tebuconazole y tolclofós metil, seguidos por los dos fungicidas dicarboximidas, azoxistrobina y finalmente carbendazim. Por lo tanto, se cuenta con un amplio espectro de fungicidas diferentes que son eficaces para inhibir el crecimiento del micelio de *S. cepivorum* de los aislamientos presentes en la región. Esto es de primordial importancia para poder desarrollar estrategias efectivas de manejo de la podredumbre blanca que incluyan a los fungicidas. Debido a que diversos autores han coincidido en señalar que existe la necesidad de contar con productos que sean de distintos grupos químicos y modos de acción sobre el patógeno, a causa de los inconvenientes que han surgido en la utilización de fungicidas para controlar esta enfermedad (Coley-Smith, 1990; Crowe, 1996; Entwistle y Munasinghe, 1980; Fullerton *et al.*, 1995; Littlely y Rahe, 1984; Slade *et al.*, 1992; Tyson *et al.*, 1999; Utkhede y Rahe, 1983). En este aspecto es importante que si los fungicidas son de diferentes grupos químicos no tengan el mismo modo de acción, a fin de evitar la aparición de resistencia cruzada (Delp, 1980; Littlely y Rahe, 1984). En base a los resultados obtenidos en estos ensayos, se puede concluir finalmente que los fungicidas tebuconazole, carbendazim, azoxistrobina procimidone, fluazinam, tolclofós metil e iprodione en las dosis estudiadas, reducen el crecimiento del micelio de *S. cepivorum*. Además la eficacia de control de los fungicidas depende de la dosis utilizada y es independiente del aislamiento del patógeno.

Se plantea ahora la necesidad de continuar con las investigaciones de los fungicidas que resultaron eficaces *in vitro*, sobre el cultivo en ensayos en suelo. A causa de que en estos ensayos *in vitro*, los fungicidas tuvieron acción de inhibición sobre el micelio del patógeno pero no disminuyeron la viabilidad de los esclerocios, en Córdoba no podrían ser efectivos si se aplicaran a los bulbillos o al suelo durante la plantación en febrero – abril. Porque de acuerdo a lo determinado en el capítulo 3 de esta tesis, los esclerocios de *S. cepivorum* de los suelos de Cruz del Eje y Jesús María están capacitados para germinar e infectar a las plantas de ajo a partir de los primeros días de mayo. Además, el poder residual de estos fungicidas en el suelo no es mayor a cuatro semanas (CASAFE, 2007; The Royal Society of Chemistry, 1991; Thomson, 1991; Ware, 1989). De este modo, de acuerdo al comportamiento epidemiológico de la podredumbre blanca en Córdoba (Capítulo 3), para lograr una reducción efectiva de esta enfermedad habría que evitar las infecciones en las raíces, protegiéndolas mediante pulverizaciones de fungicidas en la base de las plantas a partir de los primeros días de mayo (Capítulo 3). Además, habría que mantener las raíces protegidas hasta la cosecha, debido a que las infecciones pueden iniciarse hasta ese momento en los distintos puntos del lote (Capítulo 3). El momento de aplicación inadecuado y no la falta de efectividad de los fungicidas podría ser una de las causas del fracaso de anteriores ensayos con fungicidas para controlar la podredumbre blanca en Córdoba. También podría explicar la falta de acción sobre esta enfermedad, de los fungicidas como iprodione, cuando es aplicado a los bulbillos durante la plantación con el objetivo de controlar *S. cepivorum*.

CONCLUSIONES

Los fungicidas tebuconazole, carbendazim, azoxistrobina, procimidone, fluazinam, tolclofós metil, iprodione y pencycurón en las dosis evaluadas, no son eficaces para controlar los esclerocios de *S. cepivorum* de los aislamientos de Córdoba, aplicados *in vitro* al suelo.

La eficacia de los fungicidas tebuconazole, carbendazim, azoxistrobina, procimidone, fluazinam, tolclofós metil e iprodione, para inhibir el crecimiento del micelio de *S. cepivorum in vitro*, es independiente del aislamiento.

Los fungicidas tebuconazole, carbendazim, procimidone, azoxistrobina, fluazinam, tolclofós metil e iprodione en las dosis evaluadas, reducen el crecimiento del micelio de *S. cepivorum* originario de Córdoba, aplicados al medio de cultivo, *in vitro*.

Los fungicidas procimidone, iprodione y tolclofós metil en sus dosis más altas, 2, 4 y 16 ppm respectivamente, inhiben totalmente el crecimiento del micelio de *S. cepivorum* originario de Córdoba, aplicados al medio de cultivo, *in vitro*.

Los fungicidas fluazinam, tebuconazole y tolclofós metil son los de mayor eficacia para reducir el crecimiento del micelio de *S. cepivorum* originario de Córdoba, aplicados al medio de cultivo, *in vitro*. Les siguen los dos fungicidas dicarboximidas, azoxistrobina y finalmente carbendazim, que es el fungicida de menor eficacia de control sobre el micelio.

CONCLUSIONES GENERALES

La identificación y cuantificación de características epidemiológicas de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla en la provincia de Córdoba, permite fundamentar la elaboración de estrategias de manejo de la enfermedad apropiadas para la región. El análisis de características epidemiológicas espaciales de los esclerocios de *S. cepivorum*, muestra que los esclerocios tienden naturalmente a tener un patrón de distribución agregado en los suelos de Córdoba y que al cultivar ajo en forma continuada la cantidad de esclerocios aumenta cada año, principalmente en las zonas con menor contaminación. En Cruz del Eje el principal vehículo de dispersión del inóculo es el agua de riego proveniente de zonas vecinas contaminadas y el inóculo disminuye su densidad exponencialmente con el aumento de la distancia al canal de riego. La densidad de esclerocios se determina con precisión y confiabilidad mediante un muestreo sistemático del terreno, la toma de una muestra de suelo cada 50 m² y el procesamiento de 100 gramos de suelo por muestra. Además, la determinación y cuantificación de las características epidemiológicas espaciales de los esclerocios en los suelos de Córdoba, permite seleccionar los métodos más apropiados para los análisis epidemiológicos temporales de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo y para el ajuste de modelos a las curvas epidémicas. También, permite interpretar la relación entre la densidad de inóculo y la incidencia de la enfermedad y determinar la factibilidad de uso de los suelos para el cultivo.

El análisis de las características epidemiológicas temporales de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de la provincia de Córdoba, demuestra que la enfermedad aparece por primera vez (t_0) en los lotes entre el 18 y el 30 de mayo y continúa apareciendo progresivamente en los distintos sitios de los lotes, hasta la cosecha. Las curvas de progreso y la incidencia final de la enfermedad poseen una marcada variabilidad. El momento de inicio, la variabilidad de las curvas progreso y la incidencia final de la enfermedad en Córdoba, dependen de la densidad de esclerocios que hay en el suelo

previamente a la plantación del cultivo. Cuando la densidad inicial es alta (mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo) la enfermedad comienza temprano, las curvas epidémicas progresan rápido y con formas sigmoideas y la incidencia final es alta, entre 64% y 100%. Cuando la densidad es baja (igual o menor a 15 esclerocios/100 g de suelo), la enfermedad comienza en distintos momentos hasta la cosecha del cultivo, las curvas epidémicas progresan a velocidades variables y con formas sigmoideas o exponenciales y la incidencia final varía entre 2% y 100%. En Cruz del Eje, cuando la densidad inicial es menor o igual a 12 esclerocios/100 g de suelo y todos los sitios del lote tienen densidad de inóculo baja, la incidencia final de la enfermedad responde a una función exponencial de la densidad inicial de esclerocios y no es mayor a 34,16%. Además, si no se detecta ningún esclerocio con la técnica de muestreo y procesamiento del suelo utilizada, la incidencia final es menor a 3,94%. Por otra parte, la determinación y cuantificación de las características epidemiológicas temporales de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Córdoba, permite establecer el momento oportuno para la aplicación de técnicas de control y el tiempo durante el cual será necesario proteger el cultivo. Además permite seleccionar los métodos más apropiados para el ajuste de modelos a las curvas epidémicas, interpretar la relación entre la densidad inicial de inóculo y la incidencia de la enfermedad y predecir dentro de valores aproximados la incidencia final de la enfermedad.

El modelo logístico, generalizado, mixto de coeficientes aleatorios con efecto específico de sujeto, describe adecuadamente las curvas de progreso de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Córdoba. Las curvas de progreso de la enfermedad en cada ambiente (localidad y año) y categoría de inóculo inicial (menor/igual a 15 y mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo) están representadas por las curvas medianas (típicas) y percentiles Q_1 y Q_3 . El 50% de las curvas de progreso de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Córdoba muestran tasas de progreso estimadas entre $\pm 0,67\sigma_v$. La forma general de las curvas epidémicas depende del “ambiente” y de la densidad inicial de esclerocios en el suelo, pero la variabilidad de los “interceptos” y pendientes estimados por el modelo, depende solamente de la densidad inicial de esclerocios. La variabilidad de los “interceptos” cuando la densidad inicial de esclerocios es alta (mayor a 15 esclerocios/100 g de suelo) es menor que cuando la densidad de esclerocios es baja (menor o igual a 15 esclerocios/100 g de suelo). En cambio, en las pendientes estimadas por el modelo la

variabilidad es mayor cuando la densidad inicial del inóculo es alta y menor cuando la densidad es baja. En Cruz del Eje, con altas densidades iniciales de esclerocios en el suelo, las curvas de progreso de la enfermedad comienzan a subir antes y progresan más rápido, que con bajas densidades de esclerocios en el suelo.

Los fungicidas fluazinam, tebuconazole, tolclofós metil, iprodione, procimidone, azoxistrobina y carbendazim, aplicados *in vitro* reducen el crecimiento del micelio de *S. cepivorum* originario de Córdoba pero no son eficaces para controlar los esclerocios. Disponer de fungicidas de distintos modos de acción y grupos químicos no relacionados, que sean eficaces para controlar este patógeno, permite superar los inconvenientes derivados de su uso y posibilita la aplicación de una futura estrategia de manejo integrado de la podredumbre blanca, que contemple la utilización de un programa de fungicidas.

CONSIDERACIONES SOBRE FUTURAS LÍNEAS DE TRABAJO

Las características epidemiológicas determinadas en estos estudios podrán ser perfeccionadas y validadas con años de datos adicionales. Mientras tanto, pueden servir de guía a los productores de ajo para aplicar medidas de manejo de la podredumbre blanca, fundamentadas en conocimientos epidemiológicos. También pueden utilizarse para evaluar futuros ensayos de estrategias de manejo. Por ejemplo, realizar combinaciones de técnicas para reducir la densidad inicial de inóculo en el suelo y posteriores aplicaciones de fungicidas. Además, esta investigación sienta las bases para la realización de estudios epidemiológicos en otras zonas de producción.

La técnica utilizada en esta investigación para la determinación de la densidad de esclerocios y los estudios de la relación entre la densidad de inóculo y la incidencia final de la enfermedad, también podrá ser perfeccionada y validada con años de datos adicionales. Particularmente la separación de la densidad inicial de esclerocios de los suelos en dos categorías (menor/igual a 15 y mayor de 15 esclerocios/100 g de suelo), en una etapa de perfeccionamiento deberá tratar de determinarse mediante el ajuste de modelos que

permitan establecer una posible diferencia de pendientes y esto podría ser motivo de futuras investigaciones en análisis estadísticos. Otras categorías de densidad inicial de esclerocios podrían surgir de las situaciones observadas en otras zonas de producción. Mientras tanto, los estudios realizados en esta investigación pueden servir de guía a los productores para conocer la factibilidad de usar los suelos para realizar cultivos de ajo y para predecir dentro de valores aproximados la incidencia final de la enfermedad. Además, esta clase de determinaciones podrán realizarse en otras zonas de producción.

Por otra parte, el modelo logístico mixto con interceptos y pendientes aleatorios, que mejor ajustó a los datos de las curvas de progreso de la podredumbre blanca en los cultivos de ajo de Córdoba, podrá ser validado con años de datos adicionales y también de otras zonas de producción. Esto resultaría particularmente interesante, debido a que con esta novedosa metodología de análisis el modelo captura y expresa la variabilidad de las curvas de progreso de la enfermedad.

La eficacia de los fungicidas que inhibieron el crecimiento de *S. cepivorum in vitro* deberá ser confirmada en ensayos con el cultivo en suelo. Además, se deberán comprobar los momentos de aplicación más adecuados de fungicidas y de técnicas para reducir la densidad inicial de inóculo en el suelo, de acuerdo a las características epidemiológicas determinadas para la enfermedad en la región. Igualmente comprobar el tiempo durante el cual hay que proteger al cultivo con fungicidas para reducir la incidencia. Asimismo, debido a que la eficiencia de control de los fungicidas *in vitro* dependió de la dosis aplicadas, estas deberán ajustarse con el cultivo a campo. A causa del efecto de la densidad de inóculo en la incidencia de la enfermedad, se deberá evaluar el efecto de los fungicidas en distintas situaciones de densidad de inóculo.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, P. B. 1979. A rapid method for quantitative isolation of sclerotia of *Sclerotinia minor* and *Sclerotium cepivorum* from soil. *Plant Disease Reporter* 63: 349-351.
- Adams, P. B. 1981. Forecasting onion white rot disease. *Phytopathology* 71 (11):1178-1181.
- Agrios, G. N. 2004. *Fitopatología*. Ed. Limusa, México, pp.838.
- Alonso, A. 2005. Argentina, el segundo exportador mundial. En: *Suplemento Verde de Diario de Cuyo*, San Juan, Argentina. Abril 8, 2005, p. 5.
- Balzarini, M. 2006. *Curso Taller aplicaciones de modelos mixtos en agricultura*. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, en CD.
- Bassanezi, R. B.; Filho, A. B.; Amorim, L.; Fernández, N. G.; Gottwald, T. R. y Bové, J. M. 2003. Spatial and temporal analyses of citrus sudden death as a tool to generate hypotheses concerning its etiology. *Phytopathology*, 93 (4): 502-512.
- Berger, R. D. 1977. Application of epidemiological principles of achieve plant disease control. *Annual Review of Phytopathology* 15:165-183.
- Campbell, C. L. 1986. Interpretation and uses of disease progress curves for root diseases. In: *Plant Diseases Epidemiology. Population Dynamics and Management*. Volume 1, Kurt J. L. y Fry, W. E., (eds.). Collier Macmillan Canada, Inc., New York, pp. 38 – 54.
- Campbell, C. L. y Madden, L. V. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley & Sons, Inc., New York, 532 pp.
- CASAFE (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes). 2007. *Guía de Productos Fitosanitarios para la República Argentina*. 13° ed. Tomo 2. CASAFE, (ed.), Argentina, pp. 1069 – 2252.

- Casanoves, F.; Balzarini, M. y R. Macchiavelli. 2005. Curso-Taller Aplicación de modelos mixtos en agricultura y forestería, CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza), Turrialba, Costa Rica, en CD.
- Clarkson, J. P. Scruby, A., Mead, A., Wriht, C., Smith, B. y Wnipps, M. 2006. Integrated control of *Allium* white rot with *Trichoderma viride*, tebuconazole and composted onion waste. *Plant Pathology*. 55: 375-386.
- Coley-Smith, J. R. 1959. Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. III. Host range; persistence and viability of sclerotia. *Annals of Applied Biology* 47(3):511-518.
- Coley-Smith, J. R. 1960. Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. IV. Germination of sclerotia. *Annals of Applied Biology* 48 (I):8-18.
- Coley-Smith, J. R. 1990. White rot disease of *Allium*: problems of soil-borne diseases in microcosm. *Plant Pathology* 39:214-222.
- Coley-Smith, J. R. and Cooke, C. R. 1971. Survival and germination of fungal sclerotia. *Annual Review of Phytopathology* 9: 65 – 92.
- Coley-Smith, J. R.; Parfitt, D. and Taylor, I. M. 1987. Studies of dormancia in sclerotia of *Sclerotium cepivorum*. *Plant Pathology* 36:594-599.
- Conles, M. Y., Yossen, V. E., Cragolini, C. I. y G. Mas. 2001. “Optimización de la producción de esclerotos de *Sclerotium cepivorum* Berk, en Córdoba, Argentina”. En *Fitopatologia Brasileira* 26 (suplemento): 475.
- Conles, M.; Yossen, V.; Cragolini, C. y Más, G. 2002. “Técnicas de recuperación de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* Berk. en suelos de dos localidades de la provincia de Córdoba” . XI° Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Rio Cuarto. Rio Cuarto, Córdoba, p. 16.
- Crowe, F. J. 1996. White rot. En: *Compendium of Onion and Garlic Diseases*, (eds.). Schwartz, H. F. and Mohan, S. K., APS Press, USA, pp. 14-16.

- Crowe, F. J. 2002. Defining the risk period for white rot development. The 7th International workshop on Allium white rot, junio 4 – 8, Harris Ranch, California. Publicado en internet, disponible en <http://www.isppweb.org/nljun2002.asp> . Activo marzo 2008.
- Crowe, F. J. and Hall, D. H. 1980a. Vertical distribution of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and host root systems relative to white rot of onion and garlic. *Phytopathology* 70 (1):70-73.
- Crowe, F. J. and Hall, D. H. 1980b. Soil temperature and moisture effects on sclerotium germination and infection of onion seedling by *Sclerotium cepivorum* *Phytopathology* 70 (1):74-78.
- Crowe, F. J.; Hall, D. H.; Greathead, A. S. and Baghott, K. G. 1980. Inoculum density of *Sclerotium cepivorum* and the incidence of white rot of onion and garlic. *Phytopathology* 70 (1):64-69.
- Davidian, M and Giltinan, D. 2003. Nonlinear models for repeated measurement data: An overview and update. *Journal of agricultural, biological and environmental statistics* 8 4):387-419.
- Delgadillo Sánchez, F.; Zavaleta Mejía, E.; Osada Kawasoe, S.; Arévalo Valenzuela, A.; González Hernández, V. A.; Nieto Angel, D. y Torres Pacheco, I. 2002. Densidad de inóculo de *Sclerotium cepivorum* Berk. y su control mediante tebuconazole en ajo (*Allium sativum* L.). *Revista Fitotecnia Mexicana*. 25 (4): 349 – 354.
- Delp, C. 1980. Coping with resistance to plant disease. *Plant Disease* 64 (7): 652-657.
- Dhingra, O. D. and Sinclair, J. B. 1985. *Basic Plant Pathology Methods*. CRC Press, Inc. Florida, 355 pp.
- Entwistle, A. R. 1990. *Allium* white rot and its control. *Soil Use Management* 6:201-209.
- Entwistle, A. R. and Munasinghe, H. L. 1980. The effect of seed and stem-base treatments with thiophanato-methyl of the control of white rot disease (*Sclerotium cepivorum*) of autumn-sown salad onions. *Plant Pathology* 29:153-158.

- Entwistle, A. R. and Munasinghe, H. L. 1981. The effect of seed and stem base spray treatment with iprodione on white rot disease (*Sclerotium cepivorum*) in autumn-sown salad onions. *Annals of Applied Biology* 97:269-276.
- Fray, W. E. 1977. Management with chemicals. En: *Plant Disease an Advanced Treatise, How Disease is Managed*. Vol. Horsfall, J. G. y Cowling, E. B. (eds.). Academic Press, Inc. New York, pp: 213-238.
- French, E. R. y Hebert, T. T. 1982. *Métodos de Investigación Fitopatológica*. 1° ed. 1° reimpresión. Instituto Interamericano de Coperación para la Agricultura. San José, Costa Rica, p. 37.
- Fullerton, R. A.; Stewart, A and Slade, E. A. 1995. Use of demethylation inhibiting fungicides (DMIs) for the control of onion white rot (*Sclerotium cepivorum* Berk.). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 23 (2):121-125.
- Gumpertz, M. 1995. Data Transformation in Biological and Cultural Test. *American Phytopathological Society*. pp: 1-5.
- Hartman, G. and Datnoff, L. 1997. Vegetable crops. En: *Soilborne diseases of tropical crops*. Hillocks, R. J. y Waller, J. M. (eds.) CABINT. Cambridge University, pp. 161 – 162.
- Hovius, M. H. Y. and McDonald, M. R. 2002. Management of *Allium* white rot (*Sclerotium cepivorum*) in onions on organic soil with soil-applied diallyl disulphide and di-N-propyl disulphide. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 24: 281-286.
- InfoStat. 2006. InfoStat versión 2006. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Johnston, S. A. 1986. Field evaluation of fungicides for control of *Allium* white rot. In: *Methods for Evaluating Pesticides for Control Plant Pathogens*, (ed.). APS Press, USA, pp. 194-196.
- Lane, S. D. y Bowen, N. J. 2005. Revisiting the use of iprodione and *Trichoderma* in the integrated management of onion white rot. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 38 (2): 133 – 138.

- Littley, E.R. and Rahe, J. E. 1984. Specific tolerance of *Sclerotium cepivorum* to dicarboximide fungicides. *Plant Disease* 68 (5):371-374.
- Lopes, D. B. y Kimati, H. 1999. Avaliação de fungicidas *in vitro* e em câmara de crescimento para o controle da podridão branca da cebola causada por *Scelrotium cepivorum*. *Summa Phytopathologica*. 25 (2):151-155.
- Macchiavelli, R., Robles, W., Abreu, E. y Pantoja, A. 2004. Nonlinears models with repeated measures for analyzing disese progress. *Applied statistics in agriculture conference proceedings*. 16: 255 – 269.
- Mann, L. K. 1952. Anatomy of the garlic bulb and factors affecting bulb development. *Hilgardia* 21: 195 – 251.
- March, G., Marinelli A. y Oddino C. 2004. Epidemiología aplicada al manejo de las enfermedades de los cultivos. Especialización en Protección Vegetal. Escuela de Postgrado. Universidad Católica de Córdoba, Córdoba, Argentina, 95 pp.
- March, G., Marinelli A., Rago, A. y Giuggia, J. 1998. Curvas de desarrollo del “marchitamiento” del maní (*Arachis hypogaea* L.) causado por *Sclerotium rolsfii* Sacc. en Argentina. *Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas* 24: 511- 518.
- Marinelli, A. March, G. J., Rago, A., Giuggia, J. y Kearney, M. 2001. Epidemiología del tizón del maní (*Arachys hypogaea* L.) causado por *Sclerotinia minor* Jagger en Argentina. *Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas* 27: 75- 84.
- McCollum, G. D. 1976. Onion and allies; *Allium* (*Liliaceae*). En: *Evolution of crop plants* (ed.) Simonds, N. W. London, pp. 186 - 190.
- McLean, K. L. and Stewart, A. 2000. Infection sites of *Sclerotium cepivorum* on onion roots. *New Zealand Plant Protection*, 53: 118 – 121.
- McLean, K. L.; Harper, G. E.; Frampton, C. M. and Stewart, A. 2005. Dormancy of *Sclerotium cepivorum* sclerotia in New Zealand soils. *New Zealand Plant Protection*, 58: 245 – 250.

- Melero Vara, J. M., Prados Ligeró, A. M., Basallote Ureba, M. J. 2000. Comparison of physical, chemical and biological methods of controlling garlic white rot. *European Journal of Plant Pathology*. 106 (6): 581-588.
- Merriman, P. R.; Isaacs, S.; McGregor, R. R. and Towers, G.B.1980. Control of white rot dry bulb onions with artificial onion oil. *Annals of Applied Biology* 96:163-168.
- Metcalf, D. A and Wilson, C. R. 1999. Histology of *Sclerotium cepivorum* infection on onion roots and the spatial relationships of pectinases in the infection process. *Plant Pathology*, 48: 445 – 452.
- Minogue, K. P. 1986. Disease gradients and the spread of disease. En: Leonard, K. J. and Fry, W. E. (eds.) *Plant disease epidemiology*. Mc Millan, New York, pp. 285 – 310.
- Orecchia, E.; Yossen, V.; Cragolini, C.; Conles, M.; Ruosi, G. y Daghero, A. 2003. “Estudio de epidemias producidas por la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum* Berk.) en la provincia de Córdoba”. *Boletín n° 5*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), (eds.), Córdoba, pp. 3 – 5.
- Orechia, E. R. 2005. Situación actual y perspectivas de la producción regional de ajo, en la Argentina. En: *Curso/Taller sobre producción, comercialización e industrialización de ajo*. Mendoza, INTA -EEA La Consulta, pp. 11-16.
- Pandey, D. K.; Tripatti, N. N.; Tripatti, R. D. y Dixit, S. N. 1982. Fungitoxic and phytotoxic properties of essential oils of *Hypitis suaveolens* Z. *Pflkrankh PflSchutz* 94: 585 – 588.
- Pinto, C. M. F; Maffia, L. A.; Berger, R. D.; Mizubuti, E. S. G. and Casali, V. W. D. 1998. Progress of white rot on garlic cultivars planted at different times. *Plant Disease* 82(10):1142-1146.
- Portela, J. A. y Cavagnaro, J. B. 2003. Precisiones acerca del inicio de la bulbificación en ajo. En: *Curso/Taller sobre Producción, Comercialización e Industrialización de Ajo*, (ed.). INTA EEA La Consulta, Mendoza, pp. 81-83.
- Punja, Z. K. and Rahe, J. E. 1993. *Sclerotium*. In: *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*, (ed.). Singleton, J.D. Mihail, J.D. and Rush, C.M, APS Press, pp. 166-170.

- Resende, M. L. V. y Zambolim, L. 1987. Flutuação populacional de escleródios de *Sclerotium cepivorum* no solo, em função do tratamento com diferentes fungicidas no plantio do alho. *Fitopatologia Brasileira* (12):65-70.
- Resende, M. L. V., Zambolim, L. y Chaves, G. M. 1984. Efeito de fungicidas sobre escleródios de *Sclerotium cepivorum* Berk. em solo artificialmente infestado. *Fitopatologia Brasileira* 9 (2):370.
- Sánchez-Pale, J. R., Zavaleta Mejía, E., Mora Aguilera, G. y Pérez Moreno, L. 2002. Pathogenicity of four mexican isolates of *Sclerotium cepivorum* Berk. in three cultivars of garlic (*Allium sativum* L.). *Agrociencia* 36: 103 – 113.
- SAS Institute. 2006. SAS/STAT release 8.2. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Slade, E. A., Fullerton, R. A., Stewart, A. and Young, H. 1992. Degradation of the dicarboximide fungicides iprodione, vinclozolin and procymidone in Patumahoe clay loam, New Zealand. *Pesticide Science* 35: 95 – 100.
- Stewart, A. and Fullerton, B. 1999. Status of onion white rot and management strategies. *Commercial Grower* 54(3):23-26.
- The Royal Society of Chemistry. Information Services. 1991. The Agrochemicals Handbook Third edition. Chemicals handbooks. Kidd, H. y James, D. R. (eds.). Unwin Brothers Limited, Surrey, U.K.
- Thomson, W. T. 1991. Agricultural Chemicals: Book IV, Fungicides. Thomson Publications, Fresno, California. 198 pp.
- Torres, P. A. y Macchiavelli, R. E. 2007. Marginal Interpretation of subject-specific curves: logistic-normal regression. Paper 182-2007. SAS Global forum 2007. Statistics and data analysis. Publicado en Internet, disponible en <http://www2.sas.com/proceedings/forum2007182-2007.pdf> . Activo marzo 2008.
- Tyson, J. L.; Fullerton, R. A. and Stewart, A. 1999. Changes in the efficacy of fungicidal control of onion white rot . Proc. 52nd, N. Z. Plant Protection Conf.: 171-175. Publicado en internet, disponible en http://nzpps.org/journal/52/nzpp52_171.pdf. Activo marzo 2008.

- Tyson, J. L.; Fullerton, R. A.; Elliott, G. S. and Reynolds, P. J. 2000. Use of diallyl disulphide for the commercial control of *Sclerotium cepivorum*. New Zealand Plant Protection 53: 393-397.
- Utkhede, R. S. and Rahe, J.E. 1983. Chemical and biological control of onion white rot in muck and mineral soils. Plant Disease 67 (2):153-155.
- Waggoner, P. E. 1986. Progress curves of foliar diseases: Their interpretation and uses. En: Plant Diseases Epidemiology. Population Dynamics and Management. Volumen 1. Kurt, L. J. y Fry, W. E., (eds.). Macmillan, New York, pp. 3-37.
- Ware, G. W. 1989. The Pesticide Book. 3^a ed. Thompson Publications, Fresno California. 336 pp.
- Zewide, T; Fininsa, C. and Sakhuja, P. K. 2007. Management of white rot (*Sclerotium cepivorum*) of garlic using fungicides in Ethiopia. Crop protection 26 (6): 856 – 866.