

**FACTORES EDAFOLÓGICOS QUE DETERMINAN LA PRESENCIA
Y DISEMINACIÓN DEL HONGO *Sclerotium cepivorum* EN EL
CULTIVO DE CEBOLLA DE BULBO (*Allium cepa*) EN
TIBASOSA, BOYACÁ**

NELSON VIRGILIO PIRANEQUE GAMBASICA



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE PALMIRA
ESCUELA DE POSGRADOS
POSGRADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
2008**

**FACTORES EDAFOLÓGICOS QUE DETERMINAN LA
PRESENCIA Y DISEMINACIÓN DEL HONGO *Sclerotium
cepivorum* EN EL CULTIVO DE CEBOLLA DE BULBO (*Allium
cepa*) EN TIBASOSA, BOYACÁ**

NELSON VIRGILIO PIRANEQUE GAMBASICA



**Tesis de grado No. ____ presentado como requisito parcial
para optar al título de DOCTOR EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS**

Director: JUAN CARLOS MENJIVAR FLORES I.A. Ph.D

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE PALMIRA
ESCUELA DE POSGRADOS
POSGRADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
2008**

“La facultad y los jurados de tesis no serán responsables de las ideas emitidas por el o los autores de la misma”.

(Artículo 24, resolución 04 de 1974 del Consejo Directivo)

DEDICATORIA

A **DIOS** por todo lo que me ha concedido y concederá.

A mi esposa, **SONIA ESPERANZA**, quien ha llenado mi vida de amor, cariño y tenacidad;

A mis hijas **HEIDY ESPERANZA** y **LAURA SOFÍA**, símbolos de la inocencia, por quienes me siento muy orgulloso y con ganas de trabajar más y mejor cada día;

A mis Padres **VIRGILIO** y **ROSA ELVIRA**, mis primeros Maestros, símbolo de fuerza, honestidad, humildad y bondad;

A mis hermanos, **GERMAN, LEO, ELSA, ROSA, NANCY, DORIS, YANETH, NELLY, NUBIA Y JOHN**, por que nunca han faltado en mi vida, aún en la distancia. Su apoyo y fuerza me han ayudado a salir adelante;

A mis suegros, **JOSE** y **ANITA**, por apoyar todas nuestras decisiones y estar ahí cuando los hemos necesitado.

A mis cuñados, **AMANDA, CARLOS, JULIAN, ENRIQUE, DIEGO, ZULMA, MIREYA Y CAMILO**; por su amistad y apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

El camino no ha sido siempre fácil, sin embargo, la esperanza, sueños e ilusiones no han dejado nunca de estar presentes. Sueños de los cuales ustedes han sido cómplices incondicionales.

No es fácil escribir esta parte sin olvidar a alguien y aburrir al lector. Espero por tanto, que estos agradecimientos no sean un mero listado de nombres, sino que todos y cada uno de los que se enumeran han significado algo para mí durante los últimos cuatro años.

En primer lugar quiero agradecer a **Dios** por darme la fuerza necesaria para salir adelante frente a todos los obstáculos y por concederme lo más valioso de la vida: **Mi FAMILIA**.

A **Sonia Esperanza, Heidi y Laura**, el mayor de mis orgullos y quienes siempre me han brindado su apoyo y cariño a pesar de los momentos en los que la distancia que nos ha separado. ¡Las amo y las amaré por siempre!

A mis Padres, por infundirme a lo largo de mi vida la bondad, la honradez, la constancia y la dedicación, valores de los cuales estaré siempre orgulloso.

A mis hermanos, Suegros y cuñados que siempre me han apoyado y animado incondicionalmente.

Al Profesor Dr. Juan Carlos Menjivar Flores por los incentivos, confianza, orientación y sobre todo por su amistad.

Al Ingeniero M.Sc. Jaime Eduardo Dávila por su amistad y colaboración en el análisis de la información.

A la Profesora Magnolia del Pilar Cano y a Omar Lizarazo, por todo su apoyo, quienes en la distancia extendieron su mano amable y con sus consejos ayudaron con mi formación.

A COLCIENCIAS, por el apoyo brindado durante los dos últimos años.

A Yolanda Rubiano, por darme la mano cuando más lo necesitaba.

Al Dr. Miguel Rodríguez por su amistad, apoyo y comprensión.

A la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira por concederme la oportunidad de realizar este trabajo.

Al Profesor Dr. Marcio Rodríguez Lambais por el apoyo y cooperación recibido durante mi estancia en la Escuela Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ-USP.

A mis compañeros y amigos del grupo de trabajo en Biología Molecular de suelos ESALQ: Rafael, Adriano, Giselle (*uai*), Gissele, Chrystie, Marcela, Winston, Simone y Lucas, quienes en la distancia se preocuparon por hacerme sentir como en casa y regalarme todos sus conocimientos.

Al Grupo de trabajo Biología molecular de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, y en especial al Profesor Jaime Eduardo Muñoz, por su colaboración.

A Fabio Avella y Fabian Montaña, productores quienes permitieron la realización de este trabajo en sus predios.

*“Nada agrada tanto à alma como uma amizade fiel e doce.
Que felicidade a de encontrar corações aos quais se possa sem temor
confiar quaisquer segredos; consciências, que nos temem menos do que
a nossa; companheiros cuja palavra acalma nossas inquietações, cujos
conselhos guiam nossas decisões, cuja alegria dissipa nossa tristeza e
cuja visita seja para nós um prazer!”*

Sêneca

**Muchas Gracias!!!.....Thank you!!!.....Muito
obrigado!!!**

CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	4
2.1 General	
2.2 Específicos	
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
3.1. JUSTIFICACIÓN DE LA PROPUESTA	
4. MARCO DE REFERENCIA	7
4.1 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA APARICIÓN DE ENFERMEDADES.	
4.1.1 Factores ambientales.	8
4.1.2. Factores edáficos.	11
4.2. DIVERSIDAD MICROBIANA DEL SUELO	20
4.2.1 Factores determinantes de la diversidad y estructura microbiana.	25
5. MATERIAL Y MÉTODOS	28
5.1 DESCRIPCIÓN GENERAL DEL AREA DE ESTUDIO.	
5.1.1. Localización	
5.1.2. Clima.	29
5.2 MATERIAL EQUIPOS Y PROGRAMAS	30
5.2.1. Materiales.	
5.2.2. Equipos.	
5.2.3. Programas y software.	31
5.3. PROCESO METODOLÓGICO	
5.3.1. Conceptualización.	
5.3.2. Identificación de la zona de estudio.	
5.3.3. Muestreo preliminar para determinar la presencia de <i>S. cepivorum</i> .	
5.3.4. Identificación de lotes.	
5.3.5. Establecimiento de parcelas.	32
5.3.6. Estudio de absorción.	38
5.4. DISEÑO EXPERIMENTAL	39
5.5. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN.	42
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	44
6.1. RESULTADOS PRELIMINARES	
6.1.1.. Análisis mineralógico	
6.1.2. Resultados de los análisis físicos y químicos antes del trasplante	48
6.2 ANÁLISIS DE PERFIL	53

6.2.1.	Variación de algunas propiedades físicas de los suelos	62
6.2.2.	Variación del contenido de elementos nutrientes en la fase intercambiable del suelo	83
6.2.3.	Variación del contenido de nutrientes en la solución del suelo	92
6.2.4.	Variación de la riqueza bacteriana del suelo	94
6.3.	ESTUDIO DE ABSORCIÓN	95
6.3.1.	Acumulación de materia seca	97
6.3.2.	Absorción y acumulación de nutrientes	98
6.3.2.1	Macronutrientes	110
6.3.2.2	Micronutrientes y elementos benéficos	118
6.3.2.3	Extracción total de nutrientes	121
6.4.	PARÁMETROS EDÁFICOS ASOCIADOS AL DAÑO PRODUCIDO POR <i>S. cepivorum</i>	127
6.4.1.	Diversidad microbiana	129
6.4.2.	Variación del daño producido por <i>S. cepivorum</i>	138
6.4.2.1.	Atributos edáficos y vegetales relacionados con el daño producido por <i>S. cepivorum</i>	144
6.5.	FACTORES EDÁFICOS QUE CONDICIONAN LA PRESENCIA Y SEVERIDAD DE DAÑO POR <i>S. cepivorum</i>	146
6.6.	EVALUACION DE RENDIMIENTO	149
7	CONCLUSIONES.	167
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
	ANEXOS	

LISTA DE TABLAS

		Pág
Tabla 1.	Descripción de Tratamientos por lote experimental.	39
Tabla 2.	Listado de fertilizantes y fecha de aplicación del Tratamiento 2.	41
Tabla 3.	Fertilizantes y época de aplicación del Tratamiento 3.	41
Tabla 4	Composición y Patrón Textural por descripción microscópica.	45
Tabla 5	Compendio de las propiedades Físicas.	48
Tabla 6	Atributos Químicos de los suelos previos al trasplante	52
Tabla 7	Valores promedio de las características químicas obtenidas por Tratamiento 3.	82
Tabla 8	Comparación del contenido de nutrientes en la solución de suelo obtenidas por el tratamiento de mayor (T3) y menor (T1) rendimiento	91
Tabla 9	Análisis de medias repetidas de la varianza. Variable: Amplicons	92
Tabla 10	Prueba del rango estudentizado de Tukey. Variable: Amplicons	93
Tabla 11	Contenido de macronutrientes en tejidos en diferentes épocas	98
Tabla 12	Correlación de Spearman para contenido de nutrientes en tejidos y solución	108
Tabla 13	Concentración de micronutrientes en tejidos en diferentes épocas	111
Tabla 14	Extracción total de nutrientes por el cultivo de cebolla (<i>A. cepa</i>).	118
Tabla 15	Análisis de correlación de Spearman para la variable Riqueza bacteriana	126
Tabla 16	Análisis de medias repetidas de la varianza. Variable: % Daño.	128
Tabla 17	Variables medidas en los tratamientos con mayor (T1) y menor (T3) daño por <i>S. cepivorum</i>	129
Tabla 18	Atributos seleccionados mediante análisis gráfico exploratorio	131
Tabla 19	Coefficiente de correlación de Spearman variables medidas Vs. Daño	133
Tabla 20	Análisis de varianza de la regresión. Variable dependiente: % de daño	139
Tabla 21	Variables que influyen sobre el % de daño producido por <i>S. cepivorum</i>	139
Tabla 22	Valores propios de la matriz de correlación (ACP)	140
Tabla 23.	Componentes principales	140
Tabla 24.	Relación entre cobre y enfermedades	143
Tabla 25.	Análisis de varianza del rendimiento obtenido	145

LISTA DE FIGURAS

		Pág
Figura 1	Localización del Distrito de riego del Alto Chicamocha.	28
Figura 2	Balance hídrico climático para el Distrito de Riego del Alto Chicamocha.	30
Figura 3	Diagrama del esquema metodológico.	32
Figura 4	Distribución de tratamientos en campo.	40
Figura 5	Diagrama de la presentación de resultados y discusión	44
Figura 6	Composición mineralógica del suelo	47
Figura 7	Precipitados de óxido de hierro y jarisota	47
Figura 8	Variación de la Da del suelo	54
Figura 9	Variación de la Pt del suelo	55
Figura 10	Variación de los macroporos del suelo	56
Figura 11	Variación de los mesoporos del suelo	57
Figura 12	Variación de los microporos del suelo	58
Figura 13	Distribución del tamaño de poros	59
Figura 14	Variación de la HV% del suelo	61
Figura 15	Variación del pH del suelo	64
Figura 16	Variación de la MO del suelo	66
Figura 17	Variación del N en el suelo	67
Figura 18	Variación del P en el suelo	69
Figura 19	Variación del K en el suelo	71
Figura 20	Variación del Ca en el suelo	73
Figura 21	Variación del Mg en el suelo	74
Figura 22	Variación del Na en el suelo	75
Figura 23	Variación del S en el suelo	76
Figura 24	Variación del B en el suelo	77
Figura 25	Variación del Fe en el suelo	78
Figura 26	Variación del Cu en el suelo	79
Figura 27	Variación Zn en el suelo	80
Figura 28	Variación del Mn en el suelo	81
Figura 29	Variación del pH en la solución del suelo	84
Figura 30	Variación del P en la solución del suelo	85
Figura 31	Variación del K en la solución del suelo	86
Figura 32	Variación del Ca en la solución del suelo	87
Figura 33	Variación del Mg en la solución del suelo	88
Figura 34	Variación del Na en la solución del suelo	89
Figura 35	Variación del S en la solución del suelo	90
Figura 36	Distribución porcentual del contenido de nutrientes en la solución del suelo	91
Figura 37	Variación de la riqueza bacteriana del suelo	93
Figura 38.	Curvas de crecimiento de <i>Allium cepa</i>	96

Figura 39	Acumulación de materia seca en los lotes E y F en cada época y tratamiento	97
Figura 40	Variación del contenido de N en tejidos	99
Figura 41	Variación del contenido de P en tejidos	101
Figura 42	Variación del contenido de K en tejidos	102
Figura 43	Variación del contenido de Ca en tejidos	103
Figura 44	Variación del contenido de Mg en tejidos	105
Figura 45	Variación del contenido de S en tejidos	106
Figura 46	Concentración promedio de macronutrientes en tejidos de <i>A. cepa</i> para los tratamientos 1 y 3 en los lotes estudiados	107
Figura 47	Variación del contenido de B en tejidos	112
Figura 48	Variación del contenido de Fe en tejidos	113
Figura 49	Variación del contenido de Mn en tejidos	114
Figura 50	Variación del contenido de Cu en tejidos	114
Figura 51	Variación del contenido de Zn en tejidos	115
Figura 52	Variación del contenido de Na en tejidos	116
Figura 53	Concentración promedio de micronutrientes en tejidos de <i>A. cepa</i> para los tratamientos 1 y 3 en los lotes estudiados	118
Figura 54	Ecuaciones de consumo total de nutrientes por el cultivo de cebolla	121
Figura 55	Riqueza de amplicons (Ra) de rDNA 16S Bacteria separadas por DGGE	122
Figura 56	Amplicons de la región V3 del rDNA 16S de bacteria	123
Figura 57	Porcentaje promedio de amplicons (Ra) obtenidos por época de muestreo	124
Figura 58	Agrupamiento jerárquico con base en la separación de amplicons de rDNA 16S de bacteria por DGGE	125
Figura 59	Variación del daño producido por <i>S. cepivorum</i>	128
Figura 60	% de daño (Y) promedio obtenido entre lotes y tratamientos	130
Figura 61	Ejemplo de análisis gráfico exploratorio	132
Figura 62	Modelos que explican el % de daño en función de los contenidos de S	134
Figura 63	Comportamiento del % de daño y el número de esclerocios en los lotes estudiados.	135
Figura 64	Variación del % de daño en función de la microporosidad del suelo	136
Figura 65	Efecto de la aplicación de los tratamientos sobre la evolución del daño producido por <i>S. cepivorum</i>	137
Figura 66	Rendimiento obtenido por cada tratamiento evaluado	145

LISTA DE ANEXOS

	Pág	
Anexo 1	Protocolo para extracción de ADN total del suelo	167
Anexo 2	Reacción en cadena de la Polimerasa PCR	168
Anexo 3	Electroforesis en Gel con Gradiente Desnaturalante DGGE	177
Anexo 4	Escala de Barrat y Horsfall	179
Anexo 5	Análisis de medias repetidas de la varianza y prueba del rango estudentizado de Tukey de las variables físicas medidas	180
Anexo 6	Análisis de medias repetidas de la varianza y prueba del rango estudentizado de Tukey de las variables químicas intercambiables	182
Anexo 7	Análisis de medias repetidas de la varianza y prueba del rango estudentizado de Tukey de las variables químicas en solución	186
Anexo 8	Análisis de medias repetidas de la varianza y prueba del rango estudentizado de Tukey de las variables químicas en los tejidos de <i>A. cepa</i>	189

RESUMEN

La cebolla es una de las hortalizas más importantes en Colombia, tanto por volumen comercializado como por el valor económico agregado. El mal blanco (*Sclerotium cepivorum*), es a nivel mundial la enfermedad más limitante del género *Allium*. En Boyacá, principal departamento productor de cebolla de bulbo, causa pérdidas en cultivo, cosecha y postcosecha. A pesar del manejo fitosanitario, el problema persiste y tiende a aumentar con la consecuente reducción de rendimientos. Pretendiendo resolver este problema se evaluaron las "Propiedades edafológicas que determinan la presencia y diseminación del hongo *S. cepivorum* en el cultivo de la cebolla (*Allium cepa*)".

Se determinaron las características edáficas que pueden favorecer la presencia y diseminación del hongo *S. cepivorum* Berk. en cultivos comerciales de cebolla (*A. cepa*) en Tibasosa, Boyacá. Se establecieron los ensayos en dos fincas con suelos contrastantes (*sulfic endoaquept* y *typic dystrodept*) y con diferente nivel de infestación, utilizando un diseño en tres vías: por lotes, por bloques y por tratamientos al azar, con muestreos de suelo y de tejido durante el año 2007.

Se evaluó la evolución de algunos parámetros físicos, químicos (nutrientes en el suelo, solución y en tejidos) y biológicos (riqueza bacteriana) asociados al cultivo, se cuantificó la extracción de nutrientes y elaboraron las curvas de absorción de los mismos en las diferentes etapas fenológicas, se relacionaron dichos parámetros con el porcentaje de daño y el estado fisiológico con mayor incidencia y se determinaron aquéllos de mayor efecto sobre la severidad de afección del patógeno.

Se evidenció la existencia de factores físicos (% de microporos y % de humedad volumétrica), químicos (Cu y S en el suelo, Na y Cu en la solución y N, K, Mg y S en tejidos) y biológicos (número de esclerocios y riqueza bacteriana) del suelo, que favorecen el desarrollo del patógeno en el cultivo. Es posible reducir la severidad de daño mediante el manejo adecuado de los suelos, pero dadas las diferencias encontradas en los mismos, la toma de decisiones en campo, exige ceñimiento a los requerimientos vegetales y

condiciones edafoclimáticas específicas para evitar la degradación de los factores de producción.

ABSTRACT

Onion is among the most important Colombian horticultural crops, by commercial quantity as well as by aggregated economical value. White rot, *Sclerotium cepivorum*, is worldwide the most *Allium* genus limiting disease. In Boyacá, Colombia's major onion producing department, it causes losses during crop, harvest and post-harvest. Despite phytosanitary management, the problem persists and tends to increase resulting in yield reduction. Aiming to solve this problem, the "Soil factors that determine the presence and dissemination of *S. cepivorum* in onion (*Allium cepa*) cropping" were evaluated.

The soil properties favoring the *S. cepivorum* presence and dissemination on commercial onion crops in Tibasosa, Boyacá, were evaluated. Experimental sites on two farms with contrasting soils (sulfic endoaquept and typic dystrodept) with different infestation levels were established, through a three way design: by plot, by blocks and by randomized treatments, with soil and tissue sampling along the year 2007.

The evolution of some physical, chemical (i.e. soil, solution and tissue nutrients) as well as biological (i.e. bacterial richness) crop specific parameters was evaluated. Nutrient extraction was quantified, and absorption curves were plotted for different phenological stages. The mentioned parameters were related to the damage percentage and the most incidence affected physiological stages; the pathogen severity most affecting ones were determined.

The existence of edaphic physical (micropore percentage and volumetric moisture), chemical (soil Cu and S, soil solution Na and Cu, and tissue N, K, Mg and S) and biological (sclerotia number and bacterial richness) factors favoring the pathogen development was evidenced. It is feasible to reduce the damage severity by means of an adequate soil management, although the different soil properties claim for specific field decisions responding to plant requirements as well as edaphic and climatic conditions in order to avoid degradation of production factors.

1. INTRODUCCIÓN

"Todo lo que hacemos, decimos o cantamos, esta en contacto con el suelo"
William Butler Yeats (1865–1939).

*En la Biblia, el nombre asignado al primer ser humano era Adám, derivado del hebreo Adama, que significa "suelo". El nombre dado a su compañera era Hava (Eva), que significa "viviendo" o "que da vida" Por consiguiente, juntos, Adán y Eva, significan literalmente **suelo y vida**"(Hillel, 2003).*

Considerado la altura de la atmósfera, el espesor del manto terrestre, y la profundidad del océano, notamos que el suelo es un cuerpo increíblemente delgado - típicamente no más un metro de espesor y a menudo menos que eso-. El suelo es la fuente de la vida terrestre en el cual se genera y se sostiene la productividad biológica. Actúa como una entidad viviente compuesta, siendo hábitat para una comunidad innumerable de plantas macro y microscópicas y animales. Sólo un puñado de suelo contiene millones de microorganismos que realizan las más importantes funciones vitales. Otro atributo asombroso del suelo es su porosidad y su enorme área superficial. Ese mismo puñado de suelo consiste en varios acres de superficie activa en el que continuamente los procesos físico – químicos tienen lugar (Hillel, 2003).

La vida está ligada a los recursos naturales, especialmente al suelo. Con aumento de la población se incrementa esta dependencia. La agricultura convencional, la erosión, la salinización y en general, la degradación de los ecosistemas, atentan contra la biodiversidad y son procesos que afectan directamente el recurso edáfico.

Este recurso es el principal medio de purificación terrestre, en donde las basuras se descomponen y la productividad natural se renueva continuamente. En el que materia y energía están en flujo constante para formar los compuestos primarios de la vida: hidratos de carbono, grasas, proteínas, y muchos otros (con valor medicinal y nutritivo). El oxígeno emitido por las hojas de las plantas que crecen en el suelo, permite que el aire sea respirable para hombres y animales, los cuales se alimentan de sus productos y a la vez las fertilizan. Esto hace del suelo una fábrica biofísica amortiguadora formidable donde se infiltra y guarda la humedad que luego será utilizada por la humanidad y actúa como filtro natural de patógenos y sus toxinas.

Toda persona o animal que muere por causa patogénica es enterrado y así el mal es "aislado" gracias a la presencia en él de

un gran "ejercito biológico", que descompone los materiales y produce diferentes sustancias (como los antibióticos), interrumpiendo el ciclo de las enfermedades y su propagación y, a través de su gran capacidad de intercambio de iones, purifica el agua de la cual todo ser vivo depende. Por estas razones es racional y aceptable pensar que la solución a algunas enfermedades, se encuentren en el suelo.

El cultivo de la cebolla de bulbo (*Allium cepa*) ocupa un renglón importante en la economía agrícola Boyacense (mayor productor nacional: 67%). En el 2003, se reportaron 2791 hectáreas sembradas con una producción de 100680 toneladas, mientras que para el año 2004 el área creció 8.1% y la producción 9%, destacándose en las provincias de Tundama, Sugamuxi (zona de influencia del Distrito de riego del alto Chicamocha) Ricaurte y Centro. (URPA, 2004).

El hongo *Sclerotium cepivorum*, agente causal de la pudrición blanca del cultivo de cebolla de bulbo causa pérdidas económicas considerables durante el cultivo, embarque y almacenamiento (en ocasiones llegando a 100%), a pesar de los tratamientos fitosanitarios que el cultivo recibe, el problema persiste y tiende a aumentar reduciendo los rendimientos (Smith *et al.*, 1992; Aguirre, 2006). Se desconocen los factores edáficos que favorecen la presencia, multiplicación y diseminación del patógeno. Este fitopatógeno, habitante del suelo, produce estructuras de resistencia denominadas esclerocios, que en ausencia de hospederos y/o en condiciones climáticas desfavorables, le permite sobrevivir por largos periodos de tiempo, por lo que su presencia hace inviable su control tradicional (Bueno *et al.*, 2006; Castillo, 2000; Ávila, 1991).

Como una posible solución a este problema se consideró oportuno determinar los "Tensores edafológicos que determinan la presencia y diseminación del hongo *S. cepivorum* en el cultivo de la cebolla (*A. cepa*) en el Municipio de Tibasosa Boyacá." Donde, a través de la evaluación de parámetros edáficos (físicos, químicos y biológicos), se identifique la influencia sobre la severidad del patógeno. Con los resultados de esta investigación, se pretende identificar las características edáficas que favorecen la presencia y diseminación del patógeno, su relación con la severidad y, de esta

forma, contribuir con un manejo más eficiente de la enfermedad y de la nutrición del cultivo.

2. OBJETIVOS.

GENERAL.

Determinar las características edáficas que pueden favorecer la presencia y diseminación del hongo *Sclerotium cepivorum* Berk en cultivos comerciales de cebolla de bulbo (*Allium cepa*) en Tibasosa Boyacá.

2.2. ESPECÍFICOS.

- Evaluar la influencia de la nutrición y absorción diferencial de nutrientes sobre la severidad de *S. cepivorum* en el cultivo de cebolla de bulbo (*A. cepa*).
- Determinar los factores físicos que favorecen la presencia de *S. cepivorum*.
- Establecer por métodos moleculares, la diversidad biológica asociada a la rizósfera de *A. cepa* y su relación con diferentes niveles de severidad de la enfermedad.
- Determinar la relación existente entre los factores edáficos y la presencia y severidad de daño de *S. cepivorum*.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El hongo *S. cepivorum*, causante de la pudrición blanca de la cebolla de bulbo, afecta el 40% del área sembrada en el Departamento de Boyacá. Produce pérdidas considerables durante el cultivo, embarque y almacenamiento. A pesar de los tratamientos fitosanitarios que el cultivo recibe, el problema persiste y tiende a aumentar con la consecuente reducción de rendimientos. Se desconoce que propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo contribuyen a la presencia y diseminación del patógeno, bases necesarias para generar un plan de manejo del cultivo y disminuir la presencia y severidad del hongo.

3.1. JUSTIFICACIÓN DE LA PROPUESTA.

➤ **Socio-Económica.** Dentro del grupo de hortalizas, los alliums comestibles son importantes a nivel mundial, siendo la cebolla un cultivo predominante en volumen y comercialización con 52 millones de toneladas anuales. El suministro del producto es constante en la mayoría de los países a lo largo de todo el año por su consumo (FAO 2001). En Colombia, el cultivo es importante a nivel agrícola, económico y social por la generación de ingresos a los productores y empleo en las zonas productivas.

La cebolla de bulbo en Colombia, se cultiva a nivel comercial en los departamentos de Boyacá, Santander y Tolima, generando a su alrededor, toda una economía agrícola. La superficie cosechada es de 91.000 ha.año⁻¹ con la utilización de 15.000 jornales. En Boyacá 18.800 ha corresponden a Cebolla de bulbo (67% del total nacional –CORPOICA, 2002).

➤ **Técnica.** Las características edáficas pueden determinar la tasa de multiplicación y el grado de severidad con que los patógenos afectan los cultivos (Marschner, 2003; Agrios, 1997), por lo que la nutrición y absorción diferencial de nutrientes, las propiedades físicas y las poblaciones de organismos del suelo pueden contribuir a que *A. cepa* adquiera cierta tolerancia al mal blanco o por el

contrario hacerla más susceptible, por lo que un inadecuado manejo del suelo, podría afectar la reproducción, diseminación y patogenicidad de *S. cepivorum*.

➤ **Científica y Ambiental.** La prioridad de los institutos de investigación y desarrollo agrícola en las cadenas productivas es la competitividad y sostenibilidad, lo que sugiere el conocimiento de un manejo adecuado del suelo, selección de prácticas agronómicas y cumplimiento de las exigencias del mercado, involucrando calidad, sanidad e inocuidad del producto.

En el plan estratégico de hortalizas de CORPOICA, 2002 se afirma: *"El uso indiscriminado de agroquímicos y la contaminación generada por los mismos, es uno de los principales problemas de esta cadena y originan altos costos de producción"* (>30%). Por lo que se han priorizado investigaciones en torno a alternativas de manejo que tiendan a atenuar el problema.

Con la ejecución de este proyecto se:

- Genera Avance científico y tecnológico. Se determinan los requerimientos nutricionales para un cultivo con alto impacto social, se establece la relación existente entre las propiedades físicas, químicas y biológicas con la presencia, diseminación y multiplicación del patógeno en suelos dedicados al cultivo de cebolla.
- Indirectamente, mejora la competitividad y reduce costos. Al construir conocimiento para el manejo y estructura de la cadena; con manejo racional de insumos, minimizando riesgos y costos de producción.

4. MARCO DE REFERENCIA.

4.1 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA APARICIÓN DE ENFERMEDADES EN PLANTAS.

El potencial de rendimiento de un cultivo depende de la selección de factores determinantes (genotipo, tipo de suelo), del manejo de factores limitantes (agua y nutrientes) y de la capacidad para atenuar los efectos de los factores reductores (enfermedades y plagas). La acción de éstos sobre el crecimiento y producción no es independiente, siendo las interacciones entre los mismos quienes definen el potencial agronómico en condiciones edafo-climáticas particulares. La nutrición vegetal es fundamental en la sostenibilidad y desafío de la producción agrícola. Los elementos nutrientes influyen en el crecimiento y producción, pero también en la predisposición, tolerancia o resistencia de las plantas a plagas (Aguirre y Piraneque, 2007).

La agricultura convencional utiliza al suelo como soporte físico de la planta, desconociendo su potencial y funciones. El equilibrio biológico natural entre predadores, parásitos, resistencia y susceptibilidad, se constituye en reto fundamental cuando se introducen agentes externos (agroquímicos) en el sistema de producción.

La resistencia o sensibilidad de la planta a plagas esta íntimamente relacionada con la nutrición y el manejo cultural del sistema. Las plagas sólo afectan a plantas que han sido mal tratadas (desequilibradas) lo que causa una alteración en su metabolismo atrayendo o convirtiéndolas en sustrato alimenticio y/o hábitat adecuado para la reproducción de patógenos.

Las enfermedades de plantas son de gran interés puesto que los vegetales son sustento de la alimentación a nivel mundial. Las pérdidas causadas por las enfermedades varían según el tipo de vegetal, el patógeno, el lugar, el ambiente, prácticas agronómicas y la combinación de dichos factores (Piraneque y Aguirre, 2007). Así, una planta puede enfermar cuando es atacada por un agente biótico denominado patógeno o es afectada por algún agente

abiótico (déficit o exceso de nutrientes, temperatura, alta humedad, sequía, cambios en el pH), entre otros.

La interacción ambiente, patógeno y hospedero determina la severidad con que la planta puede ser afectada. Este desorden fisiológico o anomalía estructural perjudicial es común en los trópicos (alta humedad relativa, alta temperatura, baja fertilidad de los suelos) para la mayoría de las especies sembradas (Díaz-Zorita, 2006).

Los factores ambientales que más inciden en la presencia y establecimiento de un patógeno son la temperatura, la humedad superficial de las plantas, los nutrientes del suelo que juegan un papel importante en algunas enfermedades, afectando directamente el crecimiento, la susceptibilidad del hospedero, la multiplicación y actividad del patógeno (Huber, 1997, 1991). Por tanto, para que una enfermedad se desarrolle se debe presentar la interacción entre ambiente adecuado, planta susceptible y el patógeno con capacidad de producir infección (Agrios, 1997).

Desde el concepto sistémico, las plagas son indicador de inadecuado manejo, donde la alteración de cualquier factor está íntimamente asociada al ciclo productivo. En la actualidad, la producción de alimentos es un reto, pero también la sostenibilidad de los recursos. La identificación de los factores ambientales y del suelo que influyen sobre el desarrollo y diseminación de enfermedades vegetales puede permitir el establecimiento de criterios para el manejo técnico y uso racional de los insumos de producción.

4.1.1 Factores ambientales.

- **Temperatura.** Las plantas y los microorganismos, requieren de una temperatura adecuada para desarrollar sus actividades. Ejemplo de ello lo constituye la gota de la papa (*Solanum tuberosum*), ocasionado por *Phytophthora infestans*, que requiere para desarrollarse temperaturas medias entre 15 y 20°C.

Se puede encontrar microorganismos con preferencia por altas o bajas temperaturas, afectando el número de esporas por unidad de área del vegetal y el número de estas liberadas por unidad de tiempo. p.e. *Phytophthora*, se desarrolla mejor a bajas

temperaturas y otras como antracnosis (*Colletotrichum sp*) y la pudrición bacterial (*Pseudomonas solanacearum*) son favorecidas por las temperaturas elevadas predominantes en zonas tropicales y subtropicales (Agrios, 1997). Clarkson *et al.* (2002), estudiando el efecto de la temperatura y el agua sobre la producción de conidias por los esclerocios de *Botrytis squamosa*, encontraron que la germinación de conidias es alta a 16°C, el mayor número de éstas se producen a temperaturas entre 5 y 10°C. y por encima de 20°C el porcentaje de esclerocios que producen conidias declina rápidamente.

- **Humedad.** Junto con la temperatura, inicia el proceso infeccioso; es indispensable para la germinación de las esporas y para la penetración del patógeno.

Juega papel importante en la multiplicación y distribución de las estructuras reproductivas y de los organismos causantes de enfermedad. Incrementa la succulencia de las plantas, haciéndolas susceptibles a patógenos. Se ha encontrado estrecha correlación entre enfermedades vegetales con el contenido de humedad y con la presencia y distribución de eventos lluviosos. *P. infestans*, requiere humedad relativa mayor a 80% y una fina película de agua sobre la superficie foliar para que sus esporas germinen e infecten el hospedero. Esta característica puede afectar la formación de estructuras reproductivas, longevidad y la germinación (Hoeft *et al.*, 2000).

- **Viento.** Su influencia se observa en la dispersión y diseminación de los patógenos y en menor grado, sobre los cambios de humedad en la superficie del vegetal (Agrios, 1997).

Las uredosporas y varios tipos de conidias pueden ser transportadas varios kilómetros, sin perder su capacidad para producir infección. Este factor puede ser más importante cuando esta acompañado por lluvias, que colaboran en la liberación de las esporas de los tejidos donde están depositadas y llevadas a sitios dentro del hospedero o a otras plantas susceptibles (Agrios, 1997; Pérez, 1994). El viento puede dañar la superficie de los vegetales cuando éstos son movidos, ocasionando roce entre ellos o a través de heridas por el choque de partículas de arena facilitando la entrada de los patógenos al vegetal. Pese a todo lo enunciado, este

factor puede contrarrestar la infección de las plantas, mediante desecación de las superficies foliares (Pérez, 1994, Manners, 1986).

- **Luz.** Su efecto en el desarrollo de enfermedades, bajo condiciones naturales, es mucho menor que los producidos por la humedad y la temperatura. Se conoce de patógenos que pueden aumentar o decrecer su acción, dependiendo de la intensidad y la duración lumínica (Agrios, 1997). Cuando la luz es limitada, se producen plantas con mayor susceptibilidad a patógenos no obligados como es el caso de *Botrytis* en lechuga (*Lactuca sp*) o *Fusarium* en tomate (*L. esculentum*), pero decrece su susceptibilidad a parásitos obligados como *Puccinia* en trigo (*Triticum sp.*). (Agrios, 1997).

Existen además reportes de otros factores del suelo con impacto sobre el daño potencial de patógenos. Monfort *et al.* (2005), demostró la influencia de la textura sobre la severidad de *Meloidogyne incognita* en algodón. Harikrishnan *et al.* (2004), encontraron que existe una estrecha relación entre las condiciones de humedad y la presencia, diseminación y ataque del moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*).

- **Ambiente nutrimental.** La nutrición de las plantas puede ser drásticamente alterada por patógenos y frecuentemente es difícil diferenciar entre factores bióticos (Balachandran *et al.*, 1997) y abióticos que interactúan para ocasionar una deficiencia o exceso nutrimental (Bergman y Boyle, 1962).

Un cambio en cualquier factor ambiental puede favorecer al huésped, al patógeno o a ambos, e incluso más a uno que al otro, por lo que se afecta el curso de una enfermedad (Agrios, 1997). El ambiente nutrimental dado por el huésped es especialmente crítico para los parásitos obligados. Los excesos y deficiencias minerales afectan el crecimiento vegetativo y pueden reducir la concentración de virus en los tejidos, por lo tanto, los períodos más intensos para la síntesis de virus corresponden a la máxima deficiencia de proteínas en tejidos de las plantas, debido a que éstos se apropian de los nutrimentos preferenciales del huésped (Huber, 1978; 1980). La suma de interacciones entre patógeno, huésped, ambiente y tiempo, determina cómo una enfermedad se afecta por la nutrición.

4.1.2 Factores edáficos.

A nivel edáfico existen factores que afectan de diversas maneras la aparición de eventos infecciosos en los vegetales:

- **pH.** La reacción del suelo influye en la ocurrencia y severidad de las enfermedades de las plantas causadas por patógenos del suelo. Ejemplo de ello lo constituye la pudrición radical de las crucíferas (*Plasmodiophora brassicae*) que es más severa a pH cercano a 5.7, la formación de cuerpos fructíferos se lleva a cabo a valores de 5.7 a 6.2 y su acción se interrumpe a pH de 7.8; la roña de la papa (*Streptomyces scabies*), puede ser severo en pH que va desde 5.2 hasta 8.0, pero la formación de cuerpos fructíferos sólo se da en pH de 5.2 (Agrios, 1997). Este factor puede perturbar en gran medida la nutrición de las plantas contrarrestando los patógenos o colaborando en su aparición y/o severidad.
- **Disponibilidad de nutrientes en el suelo.** El análisis de suelos indica la capacidad de éstos para suministrar nutrientes a las plantas, pero no caracteriza la movilidad de los mismos en el sistema. La disponibilidad de nutrientes esta afectada por el ambiente del suelo (pH, humedad, temperatura), por el íntimo contacto con las raíces de las plantas y por los organismos que en él se encuentran (Sánchez, 2005; Sánchez de P. y Prager, 2001).

La adquisición de los nutrientes se ve afectada o favorecida por diversos factores entre los que se encuentran la alta heterogeneidad espacial de los suelos, la solución química en relación a la distancia y el área de absorción: sistema de raíces y área ectomicorrícica, existiendo varios procesos químicos que ocurren en la vecindad de las raíces influenciando el movimiento, dinámica y por tanto la absorción de nutrimentos por parte de las plantas. (Hinsinger and Jailard, 1993).

Desde el punto de vista de la dinámica de nutrientes, la absorción de agua y de iones conlleva a periodos de suficiencia e insuficiencia, los que generan procesos específicos de movilización hacia las raíces, conocidos como intercepción (Ca^{+2} y Mg^{+2} , principalmente) difusión (K^{+} y en menor proporción N y P) y flujo de masa (Ca^{+2} , Mg^{+2} , N, S,). La disponibilidad de los nutrientes puede incidir sobre

la predisposición a la infección (Gilbert *et al.*, 2001) afectando el vigor, las características anatómicas, histológicas, fisiología y eficiencia en el uso de agua (Díaz-Zorita, 2006).

Cuando el flujo es mayor al consumo por parte de la planta, se produce acumulación de nutrientes en la zona rizosférica, como es el caso del CaCO_3 (que frena el crecimiento de la planta y/o produce clorosis), del Na^+ y el Cl^- (que presentes en grandes concentraciones producen sales como el NaCl) que conllevan a incremento del potencial osmótico, afectando directamente la absorción de agua, deteniendo el crecimiento vegetal y en casos extremos, produciendo la muerte del mismo (Sánchez, 2005, Sánchez *et al.*, 2001).

- **Nutrición y tolerancia a enfermedades de las plantas.** La nutrición mineral de las plantas, considerada como un factor exógeno, puede manejarse y constituye punto fundamental complementario para enfrentar las enfermedades (Velasco, 1999).

Los nutrimentos influyen en el crecimiento y la supervivencia de los patógenos, en la predisposición, tolerancia y resistencia de las plantas dependiendo del nutriente, del estado nutricional de las mismas, la especie hospedera y el tipo de patógeno. De igual forma, las enfermedades alteran la absorción, translocación y concentración de nutrimentos en los tejidos vegetales. Sin embargo, las plantas enfermas acompañadas de una nutrición balanceada pueden resistir más el efecto de los patógenos, lo que se traduce en mejor desarrollo y rendimiento (Marschner, 2003; Agrios, 1997; Chaboussou, 1987; Huber, 1981; Huber y Arny, 1985).

El manejo nutrimental a través de la fertilización constituye un control cultural poco estudiado de enfermedades vegetales (Sánchez de P., 2001, Fageria *et al.* 1997 y Huber, 1989).

Las plantas que reciben nutrición mineral balanceada son más tolerantes a enfermedades, es decir, tienen mayor capacidad para protegerse de nuevas infecciones y de limitar las ya existentes, que cuando uno o más nutrimentos son abastecidos en cantidades excesivas o deficientes (Huber, 1989; Aguirre y Piraneque, 2006). Aunque la resistencia o tolerancia son genéticamente controladas, están influenciadas por diferentes factores. Desde este punto de

vista, la nutrición mineral de plantas puede ser manipulada con relativa facilidad, aunque con frecuencia se desconoce su aporte como parte fundamental del manejo de enfermedades (Marschner, 2003).

Los nutrimentos pueden, incrementar o disminuir la resistencia (habilidad del huésped para limitar la penetración, el desarrollo y/o reproducción del patógeno invasor, así como limitar la alimentación de las plagas) o tolerancia (capacidad del huésped para mantener su crecimiento, no obstante la presencia de infección o ataque de plagas) de los cultivos a los patógenos. (Marschner, 2003; Ceballos, 2002).

La resistencia puede mejorarse por cambios en la anatomía (por ejemplo, células epidermales gruesas con alto grado de lignificación y/o silificación) y en las propiedades fisiológicas y bioquímicas (por ejemplo, alta producción de inhibidores o sustancias repelentes).

La resistencia puede particularmente incrementarse cuando la planta responde al ataque de parásitos a través de la formación de barreras mecánicas (lignificación) y la síntesis de toxinas (fitoalexinas). Adicional a lo enunciado, como regla, la influencia de la nutrición mineral sobre la resistencia del vegetal, es muy baja en cultivares altamente susceptibles o altamente tolerantes, pero muy substancial en aquellos moderadamente susceptibles o parcialmente tolerantes (Marschner, 2003).

La Nutrición Mineral influye en el crecimiento y supervivencia del patógeno, predisposición del hospedero al ataque, tolerancia y resistencia de la planta (Huber 1981; Agrios, 1997). Muchos de los elementos minerales, requeridos por la planta para su crecimiento, incrementan o disminuyen la severidad de algunas enfermedades. Los efectos de N, P y K en las enfermedades son los más reportados, debido a su limitada disponibilidad en muchos suelos y a la gran cantidad requerida por las plantas (Huber, 1980; 1981).

Varias de las funciones de los micronutrimentos en las reacciones metabólicas relacionadas con la resistencia de las enfermedades, sobre todo virales, aún no están determinadas (Marschner, 2003).

- **Nitrógeno.** El N ha sido estudiado en relación a la nutrición del huésped y a la severidad de las enfermedades, debido a que es

esencial para el crecimiento de las plantas, a su limitada disponibilidad en el suelo y a su efecto en el tamaño y grosor de la pared celular.

La forma disponible más que la cantidad de N determina la severidad de la enfermedad (Huber y Watson, 1974). El N aumenta la tasa de crecimiento y la proporción de tejido joven que es más susceptible al ataque de patógenos. El incremento en la concentración de aminoácidos en el apoplasto y en la superficie foliar tiene mayor influencia del aumento de la concentración de azúcar que influye en la germinación y desarrollo de conidias.

Plantas sometidas a altas concentraciones de N reducen la producción de materia seca (Salazar – Arias, 1977), las actividades de algunas enzimas específicas para el contenido y metabolismo de los fenoles al igual que el de lignina se deprime, debido a que los primeros son precursores para la formación del compuesto carbonado (Aguirre, 2006; Aguirre *et al.*, 2006). Altos suministros de N, incrementan la severidad de infección por parásitos obligados, contrario a lo que ocurre con parásitos facultativos como *Alternaria* y *Fusarium* (Marschner, 2003 citando a Kiraly, 1976 y Perrenoud, 1977).

- **Fósforo.** El fósforo y el potasio en general, incrementan la resistencia a las enfermedades y son importantes para lograr un mejor manejo de las mismas como pústula y tizón bacteriano (*Pseudomonas syringae* y *Xanthomonas campestris*), podredumbre carbonosa del tallo (*Macrophomina phaseolina*), fusariosis (*F. oxysporum*), cancro del tallo (*Diaporthe*), podredumbre violeta de la raíz y la base del tallo (*Rhizoctonia solani*) y nemátodos (Hartman *et al.*, 1999).

Las aplicaciones de P reducen enfermedades en semillas y raíz, al estimular un desarrollo vigoroso que permite a las plantas evadir las enfermedades (Huber, 1981). Es esencial para la multiplicación de los virus por lo que su exceso incrementa la susceptibilidad de las plantas a enfermedades virosas (Huber, 1980; 1981).

Con bajo nivel de concentración de P en la solución nutritiva hay menor expresión de síntomas del Virus Mancha Anillada del Tabaco en calabacita (*Cucurbita pepo* L.) y cuando el nivel es normal, se incrementa la expresión de síntomas (Thomas y Mclean, 1967).

En estudios sobre el efecto de la fertilización N P K en plantas de papa infestadas con el virus del enrollamiento de la hoja de la papa (PLRV); se encontró que en ausencia de P el rendimiento disminuyó entre un 40 % y 70 %. En presencia de PLRV el rendimiento disminuyó más de 50 % en comparación con plantas sanas (Campillo *et al.*, 1981). En papaya, el exceso de fertilización fosforada predispone al ataque de virus (Sánchez de P. y Prager, 2001).

Los resultados del efecto del P sobre la resistencia a enfermedades son contradictorios. Por un lado, baja disponibilidad del nutriente provocaría una alta susceptibilidad a enfermedades y por el otro, se esperaría mayor colonización de las raíces por hongos micorrícicos, mejorando su sanidad (Yamada, 2005).

- **Potasio.** La compleja relación de la nutrición del K con las funciones metabólicas y el crecimiento, así como su interrelación con otros nutrimentos en la planta y el suelo, permiten al K modificar la resistencia o susceptibilidad a las enfermedades. Ejerce un gran efecto sobre la enfermedad, a través de una función metabólica específica que altera la compatibilidad de la relación ambiental parásito-huésped (Huber y Arny, 1985).

La alta susceptibilidad a la deficiencia de K en plantas enfermas se relaciona con las funciones metabólicas del elemento. En plantas deficientes, se deprime la síntesis de compuestos de alto peso molecular (proteínas, almidón- y celulosa) y se acumulan compuestos orgánicos de bajo peso molecular (Yamada, 2005). Su deficiencia trae como consecuencia descenso inespecífico en el contenido de otros elementos minerales (disolución por crecimiento) más allá del máximo crecimiento; ellos pueden continuar y descender a niveles bajos de otros cationes como el Ca^{+2} y el Mg^{+2} debido a la competencia por los sitios de absorción de las raíces (Marschner, 2003).

El potasio, tiene papel claro y bien definido en la resistencia de las plantas a patógenos, influyendo en factores como la dureza y espesor de la cutícula, permeabilidad de la membrana y funcionamiento de estomas, entre otras funciones. La severidad de la podredumbre marrón del tallo (*Sclerotinia sclerotiorum*) se

reduce cuando existen altas concentraciones del elemento (Vallone, 2003).

- **Calcio.** Su contenido en los tejidos vegetales incide sobre las enfermedades parásitas siendo esencial en la estabilidad de la biomembrana - cuando el contenido de Ca^{+2} es bajo se incrementa el eflujo en los compuestos de bajo peso molecular (azúcar) desde el citoplasma al aploplasma- siendo el polygalacturonato de calcio requerido en el micelio de la lamella de la pared celular para darle estabilidad a la membrana (Marschner, 2003).

Este elemento reduce la severidad de varias enfermedades causadas por patógenos de la raíz y tallo como *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Botrytis* (Elad y Kirshner, 1992), *F. oxysporum* y el nematodo *Ditylenchus dipsaci*, pero incrementa la gota del tabaco (*P. parasitica* var *nicotianae*) y la roña común de la papa (*S. scabies*). (Agrios, 1997).

- **Micronutrientes.** Los efectos del B, Mn y Cu han sido identificados y juegan un papel importante en la síntesis y en el metabolismo de fenoles y lignina en la planta para tolerar parásitos y enfermedades. Su deficiencia afecta los mecanismos de defensa y hace de la planta un mejor sustrato alimenticio para patógenos (Graham, 1983).

Mayor cantidad de microelementos puede estar asociada a inducción de resistencia sistémica (Bélanger & Menzies, 2003) y contribuye a mantener nutrición más balanceada en la planta (Pozza *et al.*, 2004).

El Mn es uno de los micronutrientes más importantes en cuanto a funciones directas sobre el desarrollo de enfermedades (Graham y Webb, 1991). Juega papel fundamental en fotosíntesis, metabolismo del C y del N, interacciones hormonales y resistencia a enfermedades (Yamada, 2005).

Varios procesos vinculados con el comportamiento sanitario de las plantas han sido vinculados con la disponibilidad del elemento, entre los que se encuentran: lignificación (barrera física), formación de fenoles solubles (aporte a la lignificación), inhibición de la aminopeptidasa (menor producción de aminoácidos para el

crecimiento de hongos), inhibición de la metilestearasa de la pectina (interviene en la degradación de la pared celular), actividad de la fotosintetasa e inhibición directa del crecimiento de hongos por toxicidad en presencia de concentraciones relativamente altas (Malavolta y col. 1997).

Zn y B actúan directamente sobre la estabilidad de la pared celular e indirectamente, reducen la presencia de exudados atractivos para patógenos (Yamada, 2005). En deficiencia de Zn se filtra azúcar en la superficie de la hoja e incrementa la severidad de la infección de *Oidium* en plantas de trigo. Igualmente, una deficiencia en B incrementa el porcentaje de infección con mildew polvoso y el hongo se disemina rápidamente.

El Cu aplicado sobre el suelo es más efectivo y suprime la presencia del mildew (Agrios, 1997), sin embargo, Aguirre (2006) trabajando en suelos de Boyacá observó que altas cantidades de Cu en el suelo, pueden favorecer la presencia de hongos que producen estructuras de resistencia como *Sclerotium cepivorum*.

- **Enfermedades causadas por deficiencias minerales.** La deficiencia o exceso de nutrimentos esenciales causa enfermedades, las que se corrigen mediante el suministro o reducción de su concentración.

Los tipos de síntomas dependen principalmente de las funciones que desempeñe cada nutrimento en la planta. La deficiencia de potasio, por ejemplo, causa acumulación de compuestos solubles nitrogenados resultando manchas necróticas en las hojas, similares a los síntomas producidos por patógenos foliares. El achaparramiento, enrosetamiento y el efecto del bronceado son síntomas comunes de infección de virus y pueden ser corregidos por adición de zinc (Huber, 1978; 1981).

Una deficiencia de calcio tiende a incrementar la susceptibilidad de la planta a patógenos invasores de tejidos mediante la producción de enzimas pectinolíticas como la poligalacturonasa, que ataca los poligalacturonatos de calcio, requeridos en la lamella media para dar estabilidad a la pared celular (Marschner, 2003). De la misma manera, la deficiencia de este elemento resulta en la invasión por patógenos como *Fusarium sp.* que coloniza e invade los vasos

conductores impidiendo la circulación de agua y nutrientes, mostrando síntomas característicos de marchites.

El silicio es un elemento que se acumula en plantas, principalmente en monocotiledoneas. Su deficiencia causa la aparición de enfermedades como la roya; de aquí que se considere al silicio como nutriente que aumenta la resistencia principalmente de hojas jóvenes a los diferentes patógenos.

En trigo (*Triticum aestivum* L) se han encontrado evidencias del papel del elemento como mediador de tolerancia vegetal frente a la infección y colonización del hongo (*Blumeria graminis* DCf. Sp. *Tritici* Em. Marchal), confirmando así numerosas observaciones del papel benéfico del silicio en monocotiledóneas (Bélanger *et al*, 2002); sin embargo, su modo de acción no está completamente entendido (Nanayakara *et al*, 2004).

En arroz y pepino (*Cucumis sativus* L.) se ha determinado la producción de sustancias de resistencia (fitoalexinas y compuestos fenólicos) cuando son tratadas con silicio (Fawe *et al.*, 1998; Seebold *et al.*, 2000). Otro efecto del silicio es la activación de defensas químicas y bioquímicas incrementando el contenido de fenoles, la actividad de quitinasas, β -1,3-glucanasa, peroxidasas, β -glicocidos, fenilamonioliasa y polifenoloxidasas (Fawe *et al.*, 1998; Bélanger y Menzies, 2003).

- **Los patógenos y deficiencias minerales.** Los Factores fisiológicos y patológicos que ocasionan disturbios en la nutrición mineral, pueden tener un mecanismo común de acción.

El problema patogénico de alterar la nutrición mineral reside en la imposibilidad de satisfacer una necesidad específica adecuada (Sánchez de P., 1999). Resulta evidente que la interferencia que ocasionan los patógenos sobre el movimiento ascendente del agua y los nutrimentos inorgánicos o sobre el movimiento descendente de las sustancias orgánicas, ocasionará la enfermedad (por deficiencia) de la planta reflejándose en disponibilidad alterada de nutrimentos para la utilización de la célula, con graves consecuencias en su metabolismo (Huber, 1978; Agrios, 1997).

Los hongos ocasionan inmovilización de nutrimentos; los nematodos alteran la solubilización, absorción y distribución de

ellos; las bacterias alteran la translocación, distribución, la demanda y la eficiencia metabólica; y los virus afectan la absorción, translocación y concentración de ellos en la planta (Velasco, 1999; Huber, 1985).

Como ejemplo de lo anterior, en climas cálidos deficientes en potasio, plantas de las familias crucífera, solanácea y leguminosa son altamente susceptibles a la marchitez causada por *Fusarium oxysporum f. sp.*, invasor de vasos conductores, ocasionando bloqueo o taponamiento de los mismos impidiendo el normal abastecimiento de agua y nutrientes en el vegetal, quien finalmente muere (Pérez, 1994).

- **Nutrición y enfermedades edáficas.** La nutrición mineral afecta las poblaciones de patógenos del suelo.

El suministro de altas cantidades de Mn y bajas de N a las plantas, incrementa el contenido de nutrientes y la actividad fungistática de la corteza interna.

La incidencia de la roña de la papa se reduce a pH bajo o por la aplicación de Mn que aumenta la resistencia del tejido del tubérculo al hongo y también inhibe el crecimiento vegetativo de *S. scabiei* antes que se produzca la infección. (Mortvedt et al 1963; Agrios, 1997).

En trigo la deficiencia de Zn potencia la severidad de *Rhizoctonia* y su suministro reduce la enfermedad (Thongbai *et al.*, 1993). La producción de sustancias tóxicas como cianuro, en particular por *P. fluorescences* puede estar involucrada a la supresión de contenidos de Mn.

En suelos con alto pH, la supresión de *G. graminis* por la aplicación de fertilizantes amoniacales no está únicamente relacionado a la acidificación de la rizósfera sino también a cambios cualitativos y cuantitativos de *P. fluorescences* y de sus poblaciones a favor de aquel del cual es antagónico (*G. graminis*) (Sarniguet *et al.*, 1992).

La capacidad de *P. fluorescences* para producir sideróforos ha sido considerada como factor importante en la supresión de patógenos del suelo mediante la privación de Fe para los mismos y la producción de toxinas como cianuro.

La colonización radical con micorrizas arbusculares es otro factor que puede suprimir patógenos del suelo como el *F. oxysporium* en tomate (Sánchez, 2005) o la enfermedad de la marchites de casuarina.

En plantas con deficiencia de Cu se altera la biosíntesis de lignina lo que predispone la planta al efecto nocivo de patógenos. Sin embargo, el uso indiscriminado de este elemento altera las interacciones entre los organismos del suelo (Sánchez de P. y Prager, 2001) incrementando los patógenos y reduciendo las poblaciones de microorganismos de acción antagónica (Aguirre, 2006; Aguirre *et al.*, 2006).

4.2 DIVERSIDAD MICROBIANA DE SUELOS

Los microorganismos representan las formas de vida más abundantes en el planeta y así, la mayor proporción de diversidad genética. Se encuentran en todas las regiones y rincones del planeta (ubicuidad).

Su presencia es fundamental para la salud y funcionamiento de todos los ecosistemas. Son responsables de las transformaciones fundamentales en los ciclos biogeoquímicos, reciclan materia orgánica (de ahí que el planeta no sea un basurero), degradan xenobióticos, fijan nitrógeno atmosférico (labor indispensable para considerar las rotaciones de cultivos), producen gases relacionados con el efecto invernadero, otros viven en estrecha relación con el hombre, participando en las labores agrícolas, en la elaboración de alimentos y medicinas, intervienen en la aparición y manejo de enfermedades de los animales y las plantas.

Esta capacidad de los microorganismos se debe a su gran versatilidad bioquímica basada en el desarrollo de reacciones de oxidación, reducción, inmovilización, precipitación sobre los elementos componentes o metabolismo y de manera directa o indirecta gobiernan todos y cada uno de los procesos del planeta (Aguirre y Piraneque, 2007; Sánchez de P. y Prager, 2001).

Los procesos bioquímicos se definen en función de las comunidades microbianas, clave del funcionamiento de la tierra como hábitat

para las plantas, animales y el hombre. Sin embargo, todas las relaciones de las comunidades y las actividades bioquímicas desarrolladas por los microorganismos son aún poco conocidas dificultando la comprensión de los mecanismos que regulan dichas comunidades.

La *diversidad microbiana*¹ (organizada en diferentes condiciones ambientales) juega un papel fundamental en el mantenimiento de un ambiente sano y equilibrado para que plantas y otros organismos (incluyendo al hombre) puedan llevar a cabo sus actividades de crecimiento y desarrollo. Así, las comunidades microbianas pueden ser utilizadas como indicadoras de calidad ambiental.

Sin embargo, como la gran mayoría de los microorganismos no pueden ser cultivados en condiciones de laboratorio, su identificación y función en los ecosistemas puede ser posible gracias a la utilización de técnicas avanzadas de biología molecular asociada a técnicas de bioinformática y ecoinformática para análisis de grandes bancos de datos. Siendo específicos para el caso del suelo, se ha estimado que hacia la década de los 80s se conocía el 1% de la diversidad microbiana, sin embargo hoy se cree que se conoce tan solo el 0.1% de ésta.

Según Tótolá y Chaer (2002), diversidad biológica es la variedad de especies en un ecosistema, así como la variedad de genotipos dentro da misma especie. La diversidad biológica de los suelos puede ser explicada por la riqueza de especies y sus uniones con los procesos bioquímicos del suelo (Kennedy y Smith, 1995).

La real dimensión de la diversidad microbiana de los suelos esta sin explorar. Se ha estimado que el número global de células procarióticas en el suelo es de $4.5 - 6.6 \times 10^{30}$ y que aproximadamente 2-3% de los organismos procarióticos se encuentran en las aguas de los océanos, 4.5-6.5% en los suelos, y la basta mayoría en la superficie.

¹ Variedad y variabilidad de todas las formas de vida microbiana, el complejo ecológico en el que están presentes y los procesos de los que forman parte (Atlas, 1984; Olembo, 1991; Olalde y Aguilera, 1998; Aguilar, 1998). Número de diferentes especies en una comunidad en un ambiente específico (Lambais, 2006).

Estudios relacionados con diversidad microbiana de suelo auxilian en la identificación de alteraciones que ocurren en el ambiente (Øvreås, 2000; Kennedy, 1995, Muyzer *et al.*, 1993).

Los procesos bioquímicos prevalecientes en los suelos son definidos en función de la organización de las comunidades microbianas las cuales son clave para el funcionamiento del sistema suelo-planta. No obstante, las relaciones entre estructuras de las comunidades microbianas y las actividades bioquímicas que ocurren en los suelos son muy poco conocidas, dificultando el entendimiento de los mecanismos que regulan el funcionamiento de esas comunidades (Lambais *et al.*, 2005).

Según Lambais *et al.* (2005), la diversidad microbiana puede tener un papel importante en la manutención de la calidad de los suelos. Organizándose de forma previsible en diferentes condiciones edáficas o en respuesta a diferentes tipos de disturbios, las comunidades microbianas pueden ser utilizadas como indicadores de calidad de los suelos.

Estudios sobre el impacto de alteraciones ambientales en comunidades microbianas y sus actividades han sido ampliamente reportados, aunque muchas veces son restringidos a evaluaciones de parámetros genéricos como recuento de microorganismos, biomasa microbiana, tasa respiratoria total y actividades enzimáticas involucradas en la mineralización del C y N. Esos parámetros son lo suficientemente sensibles para detectar determinados impactos ambientales (Øvreås *et al.*, 1997; Tótola, 2002; Lambais *et al.*, 2005; Noguez *et al.*, 2005;).

Un gran avance en los estudios de ecología microbiana fue dado con la aplicación de técnicas moleculares, basadas en el análisis del DNA total extraídos directamente de ambientes naturales sin necesidad de cultivar microorganismos (Muyzer y Smalla, 1998; Armann y Ludwig, 2000; Pace *et al.*, 1986; Øvreås, 2000; Øvreås, *et al.*, 1997; Muyzer *et al.*, 1993; Zhou *et al.*, 2004; Kemp, 2004).

Los estudios moleculares se tornaron posibles a partir de Pace *et al.* (1986), pioneros en análisis de las comunidades microbianas utilizando informaciones de secuencias de nucleótidos del gene que codifica el RNA ribosomal 16S (rDNA), un gene muy conservado encontrado en todas las células procarióticas.

Una de las técnicas utilizadas para determinar las estructuras de las comunidades microbianas, a través de la variabilidad de las secuencias de rDNA 16S, es la electroforesis en gel de poliacrilamida con gradiente desnaturante (DGGE), método desarrollado por Muyzer, Wall y Uitterlinden en 1993 (Muyzer, 1993).

El DGGE consiste en la separación de fragmentos de DNA de mismo tamaño, obtenidos por amplificación de una región específica de un gene por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), en un gel de poliacrilamida conteniendo un gradiente denaturante de urea y formamida (Muyzer, *et al.*, 1993).

El patrón de migración de esos fragmentos (amplicons) en el gel es resultado de la composición de nucleótidos de los mismos y su tenor G+C. La técnica de DGGE no es suficiente para determinar e identificar directamente las especies o grupos taxonómicos en una muestra, por tanto es necesario hacer la extracción del amplicon del gel y secuenciarlo (Lambais *et al.*, 2005).

El secuenciamiento del rDNA 16S a partir de muestras ambientales han contribuido al conocimiento de la diversidad y de la estructura de las comunidades de procariotos en ambientes totalmente diferentes (Singleton, 2001; Lambais *et al.*, 2005; Kenp, 2004), revelando que la diversidad microbiana es mucho mayor de lo que se imaginaba (Lozupone, 2005; Pace *et al.*, 1986; Zhou *et al.*, 2004; Kenp, 2004).

El análisis de comunidades microbianas, se realiza a través del secuenciamiento de clones de rDNA 16S que se basa en la amplificación de un fragmento específico de rDNA 16S, a partir de DNA metagenómico, utilizándose iniciadores específicos, clonación de esos amplicons en vectores apropiados y secuenciamiento de los insertos (Armann, 2000).

Una de las limitaciones de la utilización de PCR para obtención de clones representativos de una comunidad es la amplificación preferencial de algunas de las sub-poblaciones más abundantes, en detrimento de las menos abundantes. Esta técnica que posibilita el estimativo de la diversidad microbiana de un ambiente, ha

permitido la identificación de parámetros ambientales (polución, manejo agrícola, etc.) que afectan esa diversidad (Lambais, 2006).

Las introducciones generadas a partir del secuenciamiento de rDNA 16S representan una gran cantidad de datos que es necesario procesar con ayuda de algoritmos específicos (Lambais *et al.*, 2005), que pueden ser utilizados para diferentes tipos de análisis.

La evaluación de la diversidad y la comparación de comunidades de procariotas son basadas en el grado de similaridad entre secuencias de rDNA 16S, las cuales serán agrupadas en unidades taxonómicas operacionales (UTOs) o filotipos (Nübel *et al.*, 1999; Stach *et al.*, 2003). Normalmente secuencias de rDNA 16S con similaridad mayores de 97% son consideradas dentro de la misma especie, sin embargo, hoy no existe consenso sobre dicho nivel de similaridad en la literatura (Lozupone, 2005; Kenp, 2004; Nübel *et al.*, 1999; Stach *et al.*, 2003).

La estimación de la diversidad basada en OTUs debe ser cautelosamente interpretada, ya que los niveles de similaridad entre las secuencias de rDNA 16S para definición de OTUs no son consensuales. No obstante, el uso de UTOs es apropiado para comparar riqueza relativa cuando se evalúan secuencias de rDNA 16S de una misma región o del mismo tamaño (Stach *et al.*, 2003).

Informaciones generadas a partir del secuenciamiento de genes de rDNA 16S, pueden ser comparadas con secuencias depositadas en bancos de datos públicos (GeneBank), para determinación del organismo con secuencia más similar y sus posibles funciones en el suelo (Lambais *et al.*, 2005; Cury, 2006) y el Ribosomal Database Project II, el cual permite la determinación de las relaciones filogenéticas de las secuencias de rDNA 16S obtenidas con secuencias depositadas.

Por medio de esas secuencias, también es posible comparar comunidades microbianas de ambientes diferentes. Para eso fue creado el programa S-LibShuff (<http://www.plantpath.wisc.edu/fac/joh/S-LibShuff.html>), el cual fue utilizado para determinar las disimilaridades entre dos o mas bibliotecas de rDNA 16S (Schloss *et al.*, 2004).

Métodos paramétricos y no-paramétricos vienen siendo utilizados para estimar la riqueza de especies microbianas en muestras ambientales (Chao *et al.*, 2006; Shen *et al.*, 2003).

Los modelos paramétricos son muy eficientes para evaluar la abundancia relativa de UTOs en muestras relativamente grandes. Por tanto, este método es recomendado para estimar diversidad de microorganismos que son dominantes necesitando de grandes cantidades de datos para soportar los modelos de abundancia.

En contraste, los métodos no-paramétricos fueron desarrollados para estimar diversidad a partir de pequeñas muestras de la comunidad considerando las especies raras, presentes una o dos veces por muestra y no depende del conocimiento previo del tipo de distribución de frecuencia de ocurrencia de los microorganismos (Kenp, 2004; Chao *et al.*, 2006; Chao y Lee, 1992).

Los estimadores no-paramétricos más utilizados para evaluar la diversidad de especies microbianas son el Chao1 y ACE (Abundance-Based Coverage Estimator). El primero utiliza el número de especies raras para estimar la riqueza de UTOs (Bohannan y Hughes, 2003, Chao *et al.*, 2006), considerando los filotipos que aparecen una o dos veces dentro de una biblioteca determinada.

El segundo separa las especies en grupos raros y abundantes y solamente los grupos raros son utilizados para estimar la diversidad desconocida (Chao y Lee, 1992), estimando el número total de filotipos en un ambiente. Este estimador es recomendado para muestras que contengan una mayor abundancia de individuos de la misma especie (Kenp, 2004).

La riqueza de especies es uno de los componentes de los índices de diversidad que es utilizado para comprensión del funcionamiento de una comunidad compleja. Los índices de diversidad consisten en las relaciones entre el número de especies que componen la comunidad y el número de individuos de cada población (Margalef, 1958).

4.2.1 Factores determinantes de la diversidad y estructura microbiana. El Suelo es un sistema complejo con gran cantidad de micro-hábitat caracterizados por propiedades físicas, químicas y biológicas propias y únicas. Dichas propiedades presentan gran

variabilidad espacial y temporal que dificultan la definición de muestreos representativos para el estudio del sistema.

➤ **La estructura** del suelo parece jugar papel fundamental en la organización de las comunidades microbianas. Se ha determinado que más de 80% de las bacterias se localizan en microporos de micro-agregados estables. Esta estructura puede variar también en función de la **fracción granulométrica** a la que los microorganismos se asocian, siendo las fracciones limo y arcilla las fracciones a las que en mayor proporción se asocian las bacterias. (Lambais *et al.*, 2005). Por otro lado, se ha comprobado que suelos con iguales características, presentan similitud en las comunidades microbianas, por lo que el **tipo de suelo** puede determinar la actividad y funciones ecológicas de los microorganismos.

➤ **La cantidad y calidad de materia orgánica** afectan considerablemente la diversidad microbiana y la estructura de sus comunidades.

➤ **El estado nutricional del suelo** puede alterar tanto la diversidad como la estructura, siendo las *proteobacterias* habitantes habituales en suelos con alta disponibilidad de nutrientes por lo que son indicadoras de altos contenidos de materia orgánica y las *acidobacterias* en suelos con bajas concentraciones de nutrientes y altas de moléculas recalcitrantes, indicando suelos distróficos (Lambais *et al.*, 2005; McCaig *et al.*, 2002; Smit *et al.*, 2001).

➤ **La humedad** del suelo y la profundidad del perfil influyen significativamente en la distribución de los microorganismos, siendo la sub-superficie con alto grado de saturación, donde se presenta alto grado de dominancia de comunidad bacteriana.

➤ **El contenido de C**, igualmente determina la distribución y estructura de la comunidad. Las comunidades microbianas responden en forma diferencial a factores como difusión de gases, temperatura, pH, textura, mineralogía, concentración de nutrientes, cantidad y calidad de materia orgánica, vegetación y las interferencias antrópicas entre otras.

La combinación de todos estos factores resulta en infinitas condiciones ambientales que direccionan el proceso de selección y sucesión de poblaciones contribuyendo a la definición de la diversidad genética y funcional.

Las diferentes actividades humanas afectan el funcionamiento de los ecosistemas al reducir la biodiversidad, resultando en desequilibrios ecológicos con efectos imprevisibles y la extinción de especies esenciales para la sostenibilidad ecosistémica.

5. MATERIALES Y MÉTODOS.

5.1. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ÁREA DE ESTUDIO.

5.1.1. Localización. El trabajo de campo de la investigación se desarrolló en el Municipio de Tibasosa, localizado en zona central agrícola del departamento de Boyacá a $0.5^{\circ}45'$ de latitud Norte y $73^{\circ}00'$ longitud Oeste, tiene una extensión de 48 Km^2 de los cuales 36 Km^2 pertenecen al distrito de la cuenca alta del río Chicamocha (figura 1).

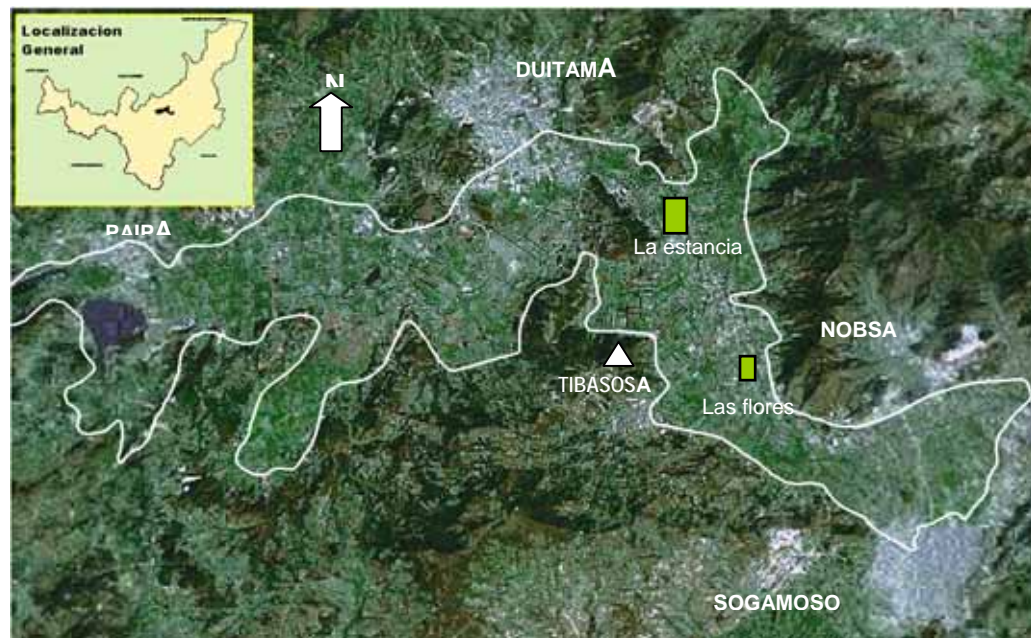


Figura 1. Localización del Distrito de riego del Alto Chicamocha

Fuente: adaptado de www.GoogleEarth.com.

En el Distrito se encuentran suelos con características sulfatadas ácidas, distribuidos en las 8 unidades de riego que lo conforman: Vargas, Duitama, Ayalas, San Rafael, Cucho, Las Vueltas, Estación y Monquirá. Gran parte del territorio del municipio de Tibasosa pertenece a estas dos últimas unidades.

La geomorfología del municipio está dominada por laderas o vertientes, abanicos y la planicie fluvio-lacustre donde se

encuentran las terrazas, los valles y los basines. Esta variedad de ambientes dan origen a diversos suelos que se distribuyen en las formas de terreno mencionadas (IGAC, 1984)

Los suelos del valle de Tibasosa, son ricos en sedimentos minerales y orgánicos que contienen sulfuros de hierro, especialmente pirita, los cuales al ser aireados por prácticas de drenaje, laboreo u obras de ingeniería, son oxidados y producen horizontes extremadamente ácidos, con la liberación de ácido sulfúrico y precipitados de Jarosita (Zhang y Luo, 2002).

La investigación se desarrollo en dos lotes pertenecientes a las fincas "la Estancia" localizada en el valle, vereda Peña Negra, ubicada en el kilómetro dos de la vía que de Duitama conduce a Tibasosa, con suelos de origen lacustre mal drenados (drenados artificialmente), alta susceptibilidad a la inundación, ricos en materia orgánica y con textura fina y "Las flores", localizada en el valle, vereda Suescún, con suelos con influencia fluvial, mal drenados, moderada susceptibilidad a la inundación, pobres en materia orgánica y textura fina. Los dos lotes presentan alto grado de intervención antrópica.

5.1.2. Clima. El distrito de riego del Alto Chicamocha posee clima frío seco, de régimen bimodal. Presenta precipitación media anual de 776.8 mm, con épocas de lluvia que van de Abril a Mayo y de septiembre a Octubre; los periodos secos se encuentran entre los meses de Julio a Septiembre y de Diciembre a Marzo. La evaporación media anual de 1256.6 mm, temperatura media anual de 14.1°C y humedad relativa media anual de 77% (figura 2) (Rincón, 2005).

Las series cronológicas de datos fueron obtenidas de las tres estaciones meteorológicas más cercanas: Surbata localizada en el municipio de Duitama, la estación Tinguavita del municipio de Paipa y la estación de San Rafael del municipio de Tibasosa con un coeficiente de variación de 0.02 por lo que se obtuvieron registros de los últimos 5 años.

5.2. MATERIAL, EQUIPOS Y PROGRAMAS

5.2.1. Material

Durante el desarrollo del proyecto se utilizaron documentos de diferentes formatos y escala como:

Cartografía básica de la zona e Imágenes satelitales.

Análisis químico y físico de suelos.

Análisis petrográfico (mineralógico).

Análisis foliar.

Análisis del número de esclerocios.

Tablas y registros de estaciones meteorológicas.

Muestreadores de solución de suelo "Rhhizon sampler"

Barrenos, cilindros para muestras sin disturbar, bolsas de polietileno, papel aluminio...

Para el establecimiento de parcelas se utilizo: plántulas de cebolla de bulbo *Allium cepa* variedad Yellow granex[®], palas trasplantadoras, fertilizantes y herramientas e insumos de campo implícitos en la labores agrícolas.

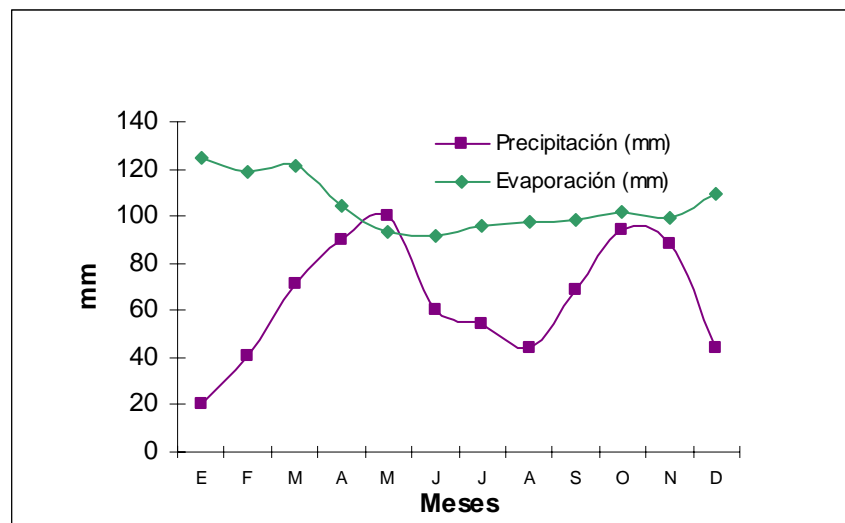


Figura 2. Balance hídrico climático para el Distrito de Riego del Alto Chicamocha.

5.2.2. Equipos.

Equipo de cómputo.

Equipo de Laboratorio.

Maquina de fotografía

Equipo para Muestreo de suelos.

5.2.3. Programas – software.

Word, Hoja de calculo Excel, Power point, SAS V9, Canoco for Windows, Systat 11, Diversity Database y Primer 5

5.3. PROCESO METODOLÓGICO

El modelo metodológico empleado para realizar este trabajo se representa en la figura 3 y consta de las siguientes etapas.

5.3.1. Conceptualización. A partir de la revisión de literatura, se elaboró el proyecto base del marco de referencia citado. Lo anterior unido a las recomendaciones del director, jurados y a los conocimientos adquiridos, permitió identificar herramientas y elementos que orientaron el diseño, desarrollo y discusión de resultados de la investigación.

5.3.2. Identificación de la zona de estudio. En oficina, se efectuó la revisión de la cartografía de la zona, a nivel de campo se realizaron salidas de observación y verificación, estableciendo las características del paisaje, para priorizar posteriormente los predios para el montaje de parcelas.

5.3.3. Muestreo preliminar para determinar la presencia de *S. cepivorum* Berk. En salidas de campo se identificaron posibles focos de infección del hongo. En estos sitios se colectaron muestras de suelo para determinar la presencia y número de esclerocios por gramo de suelo.

5.3.4. Identificación de lotes. Teniendo en cuenta la revisión cartográfica de la zona y el trabajo realizado por Aguirre (2006), se localizaron dos sitios para la implementación de las parcelas. El primero, en la finca la Estancia (denominado en este estudio Lote **E**) el segundo, en la finca Las Flores (denominado Lote **F**). El objetivo de esta fase fue el de ubicar lotes con características edáficas contrastantes que presentaran diferentes niveles de severidad de daño causado por *S. cepivorum*. De estos lotes se recolectaron muestras de suelo para ser analizadas.

5.3.5. Establecimiento de parcelas. Las parcelas se establecieron en los lotes E y F. El lote E de la Estancia, paso hace

12 años de la ganadería a la producción intensiva de cebolla. En éste se realizó un trabajo preliminar donde se relacionan los factores químicos con el nivel de daño por *S. cepivorum* (Aguirre *et al.*, 2006; Piraneque y Aguirre, 2007), predio que ha presentado diferentes niveles de daño por *S. cepivorum* que ha variado de 30% a 20% en 2004 y 2006, respectivamente. El segundo lote, pertenece a la finca Las Flores, ubicado en el kilómetro 8 de la vía que de Duitama conduce a Nobsa, con intervención intensiva para el cultivo de cebolla por más de 10 años, el cual, según información suministrada por el dueño del predio, registró durante las dos últimas cosechas pérdidas cercanas a 25% por el mal blanco (*S. cepivorum*).

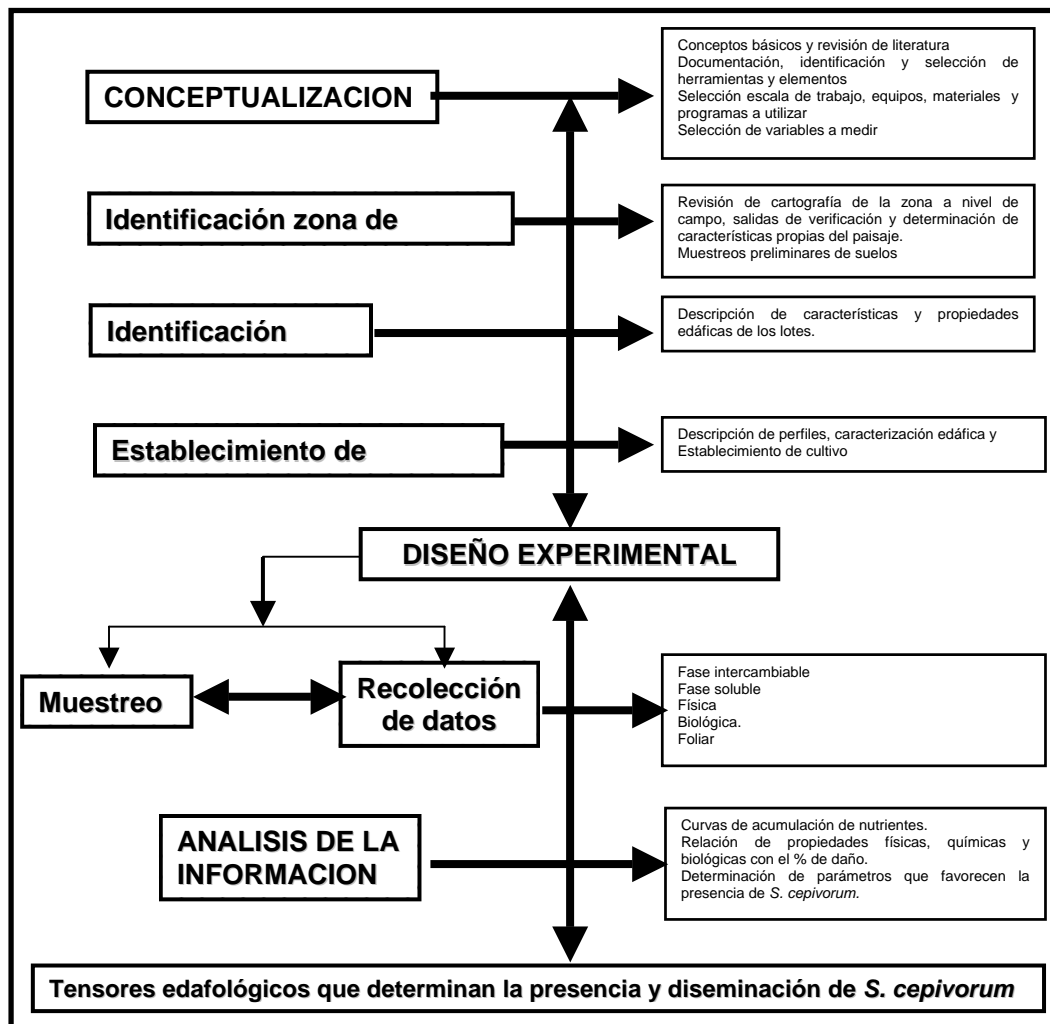


Figura 3. Diagrama del esquema metodológico empleado.

En estos lotes luego de una inspección con barreno, se determinó un área representativa para realizar la descripción detallada del perfil del suelo.

El suelo del lote E fue clasificado como ***Sulfic endoaquepts***, con altos contenidos de materia orgánica, pH ácido, colores pardo oscuros en superficie y gris verdoso en profundidad, como consecuencia de condiciones redoximórficas, con presencia de n-jarosita a partir de los 80 cm. de profundidad y nivel freático fluctuante y salino.

El suelo del lote F fue clasificado como ***Typic dystrodepts***, con bajos contenidos de materia orgánica, originado a partir de materiales aluviales, relieve plano, medianamente profundo, textura fina, colores pardos y con moteados rojizos a amarillentos en profundidad, presencia de carbonatos (reacción fuerte al HCl) y pH alcalino.

- **Establecimiento del cultivo.**

Los semilleros se establecieron en el mes de Diciembre de 2006, se sembraron en hileras y fueron recubiertos con tamo. Después de 15 días germinaron uniformemente. La preparación del suelo se realizó de manera convencional, mediante dos pases de arado de disco y dos de rastra, luego, con azadón se elaboraron camas de 2m*9m. las que conformaron los bloques del ensayo; se incorporó gallinaza a todas las camas, desmenuzando terrones dejados por la rastra hasta obtenerse un suelo aparentemente suelto y nivelado.



El sistema de siembra utilizado fue el trasplante manual, las plántulas se llevaron al campo a los 50 días de haberse establecido en el semillero y se despuntaron con el fin de evitar deshidratación excesiva. La labor se realizó durante todo el día y se aplicó riego continuamente. Se sembraron en hileras separadas a 15 cm. y entre plantas a 10 cm. para una densidad de 1200 plantas por cama ($660.000 \text{ plantas.ha}^{-1}$).

Se realizaron cuatro deshierbas con objeto de interrumpir la capilaridad y eliminar arvenses. La primera se efectuó una vez las plantas alcanzaron 10 cm. de altura después del trasplante y las demás cuando fue necesario. De acuerdo a las condiciones climáticas se aplicó riego por aspersion con intervalos de 4 a 7 días.

Muestreo de suelos.

En los dos lotes donde se establecieron las parcelas, se efectuaron cuatro (4) muestreos a los 30, 60, 90 y 120 días después del trasplante (DDS). Las muestras se colectaron a profundidad de 0-10 cm con el fin de establecer características físicas, químicas, biológicas y número de esclerocios por tratamiento. En cada uno de los lotes se establecieron los tratamientos dentro de los cuales se ubicó al azar puntos específicos para realizar el muestreo.



Los procedimientos analíticos se realizaron en los laboratorios del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) Palmira y los laboratorios de Control Biológico y suelos de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.



Análisis Físico: Se colectaron muestras disturbadas y sin disturbar, para determinar Textura (Pipeta de Robinson), Densidad real (Picnómetro), densidad aparente por el método del cilindro de volumen conocido (Forsythe, 1980), humedades gravimétrica y volumétrica, Porosidad Total, distribución del tamaño de poros (macro, meso y microporos) obteniendo así el agua drenable, la

aprovechable o agua útil y la residual o fuertemente adherida al suelo.

Análisis Químico: Se colectaron muestras de 500 g. de suelo fresco en bolsas de polietileno por tratamiento, a las que se determinó: pH (potenciometría), CIC (absorción atómica), Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ , Na^+ y Al^{+++} (Espectrofotometría de absorción atómica), P (Bray u Olsen, según pH), Menores (Espectrofotometría de absorción atómica), B y S (extracto del suelo, espectrofotometría manual), N (Digestión ácida, Espectrofotometría automatizada) y Materia Orgánica (Walkley _ Black).

Análisis de la solución del suelo. En cada lote y tratamiento se instaló un muestreador de solución de suelo tipo rizoma "Rhizon sampler" en el área radical activa con el fin de extraer la solución del suelo in situ. Las muestras fueron colectadas en frascos estériles y enviados al laboratorio para determinación de pH, Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ , Na^+ , SO_4^{2-} y P.

Análisis Mineralógico: Es importante para entender los procesos implicados en la formación del suelo, ya sean producidos por las fuerzas normales de la naturaleza o bien, inducidos por efecto del hombre (Bullock et al., 1983). Mediante este se describe, interpreta y se mide los componentes, rasgos y fábricas en el suelo a nivel microscópico. La herramienta utilizada fue el microscopio petrográfico y la sección delgada de suelo donde se observó en forma directa los minerales con sus características y residuos orgánicos. Análisis que se realizó en el laboratorio de petrografía de la facultad de geología de la UPTC.

Análisis de tejidos: Cada 30 días por tratamiento, se colectó en los lotes E y F una muestra correspondiente a 1 m² de cebolla, lavada con agua destilada deionizada, seca al sol y colocada en una bolsa de papel kraft con orificios para su adecuada conservación. En las instalaciones del Centro de Atención al Sector Agropecuario (CAISA) del sena, se obtuvo peso fresco del material y se colocó a secar en estufa a 70°C, para luego establecer el peso seco. Con la utilización de un molino de martillos, se trituro el material pasándolo por tamiz de 2mm, empacado en bolsas de polietileno y enviado al laboratorio para las determinaciones posteriores de: Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ , Na^+ (Espectrofotometría de

absorción atómica), P (Digestión ácida, Espectrofotometría automatizada), Menores (Espectrofotometría de absorción atómica), B y S (extracto del suelo, espectrofotometría manual), N (Digestión ácida, Espectrofotometría automatizada).

Análisis biológico.

➤ **Determinación de diversidad microbiana.**

a. extracción del ADN total del suelo. Utilizando una grilla de 10 x 15 cm., por lote y tratamiento se colectaron muestras de suelo rizosférico de plantas sanas y enfermas. Fueron colocadas en frascos con tapa de rosca, introducidas en un termo y sometidas a un choque térmico con nitrógeno líquido para preservar el material genético de los organismos presentes. Luego se procedió a realizar la extracción total del ADN del suelo (anexo 1) en las instalaciones del laboratorio de biología molecular de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira.

b. Determinación de la integridad del ADN total extraído. Las muestras de ADN total fueron liofilizadas para su transporte hasta el laboratorio de biología molecular de suelos de la Escuela Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" U.S.P – Brasil (ESALQ), donde con la utilización de técnicas de biología molecular se determinó la integridad del ADN mediante electroforesis en gel de agarosa 0,5X – TBE 0,8% luego de una tinción con "Sybr green" y la utilización de "Low ADN Mass Ladder" como patrón.

c. Amplificación del rDNA bacteriano. Con el método estandarizado por el laboratorio de biología molecular de la ESALQ, se realizó la amplificación de la región V3 del rDNA 16S de *Bacteria* en una solución conteniendo: 2,5 µL de tampón para PCR 10X, 0,2 mM dNTP, 3 mM de MgCl₂, 1U de Taq DNA polimerasa recombinante (Gibco), 10 ng de DNA total, 5 pmol dos oligonucleótidos iniciadores BA338fgc (5' GCC CGC CGC GCG CGG CGG GCG GGG CGG GGG CAC GGA CTC CTA CGG GAG GCA GCA 3') y UN518r (ATT ACC GCG GCT GCT GG), agua Milli-Q esterilizada para un volumen final de 25 µL.

La amplificación se efectuó en un termociclador Mastercycler Gradient (Eppendorf) en las siguientes condiciones: 95° C por 5

min, 30 ciclos de 92° por 1 min, 55° C por 1 min y 72° C por 1 min, 72° C por 10 minutos.

d. Electroforesis en gel de agarosa. Los productos de la reacción de amplificación (amplicons) fueron separados a través de electroforesis en gel de agarosa 1% - TBE 0,5X. El DNA fue visualizado por coloración con SYBR- Green1 (Molecular Probes) utilizándose un densitómetro laser 'FluorImager SI' (Amersham Biosciences). Como patrón de tamaño y cantidad de DNA se utilizó el marcador Low DNA Mass Ladder (Invitrogen).

e. Electroforesis en gel de poliacrilamida con gradiente desnaturante (DGGE). Para determinar la riqueza microbiana presente en el producto de amplificación, los amplicons de rDNA 16S fueron separados por DGGE con métodos estandarizados en el laboratorio de biología molecular de la ESALQ. Los geles de acrilamida (37,5: 1; m:m) 8%, fueron preparados con gradiente desnaturante 15% a 55%, usando una solución desnaturante 100% (7M urea e 40% formamida) y una solución 0% (sin urea y formamida) (ØVREÅS *et al.*, 1997).

La electroforesis fue realizada a 60 °C y 200V constantes por 3 horas, en un sistema DCode (BioRad), utilizándose solución tampón 0,5X TAE.

Luego de la electroforesis, el gel fue inmerso en solución de ácido acético 10% por 10 min, metanol 50% por 10 min y SYBR-Green I (Molecular Probes) 1:10.000 (v:v) por 30 min, utilizándose un agitador horizontal. Entre cada solución, el gel fue lavado 3 veces con agua por 5 min.

La imagen del gel fue capturada por barrido, utilizándose un densitómetro laser FluorImager y el programa Fragment Análisis (Amersham Biosciences).

La riqueza de amplicons (Sa) fue determinada con base al número de bandas con diferentes valores de migración relativa (Rf), detectadas luego del barrido.

➤ **Conteo de *S. cepivorum*.** Para contar el número de esclerocios presentes en una muestra de suelo se utilizó el método de gradientes de sacarosa descrito por Ávila (1991). 100 g de suelo

por lote y tratamiento se secaron al sol, fueron homogenizados y pasados por tamices de calibres número 35 y 20 con el fin de separar los esclerocios de las impurezas del suelo. Del último tamizado se tomaron tres muestras de 5 g. Se preparó una solución de azúcar 2.5 molar, se colocaron 5 g de la muestra en tubos de ensayo de base plana de 50 ml de capacidad a la que se adicionó la solución de azúcar, se agitó vigorosamente y se dejó en reposo por dos horas, tiempo en el cual los esclerocios y el material liviano flotaron. Se filtró utilizando embudo con papel de filtro. El resultado final son los esclerocios, los cuales se dejan secar al ambiente para luego determinar el número total de esclerocios con ayuda de un estereoscopio (Ramírez y Ávila, 2002).

➤ **Evaluación de sanidad.** Para medir la presencia y la severidad de la enfermedad se utilizó la escala de Barrat y Horsfall (Anexo 4) la que permite evaluar el porcentaje de tejido foliar infectado. El día del trasplante se marcaron 10 plantas al azar por tratamiento y repetición, la evaluación se realizó cada 30 días en las horas de la mañana para un total de 4 evaluaciones.

5.3.6. Estudio de absorción. La cantidad de nutrientes absorbida por una planta se obtiene de la relación entre el peso seco de los tejidos y la concentración de nutrientes en los mismos. Este dato se obtuvo con cada muestreo durante el ciclo del cultivo con el fin de elaborar las respectivas curvas de absorción. Los datos se determinaron para la planta completa de todos los tratamientos. Igualmente se colectaron muestras de plantas sanas y con síntomas de daño por *S. cepivorum* para ser analizadas.

Se calculó el peso seco por cada punto de muestreo y por cada repetición, extrapolando el valor obtenido en el área muestreada a una hectárea. Se graficó la curva de acumulación de materia seca y de absorción colocando el tiempo en el eje de las X y el peso seco para tejido muestreado y el total de cada punto en el eje de las Y.

Con los resultados reportados por el laboratorio de servicios analíticos del CIAT se calculó la cantidad de nutrientes absorbidos por el cultivo multiplicando el contenido de nutriente por el peso del tejido luego de la extrapolación correspondiente. Con los datos obtenidos se dibujó la curva de absorción por nutriente de la misma forma como se elaboró la curva de acumulación de materia seca.

(Bertsch, 2003). El rendimiento comercial del cultivo fue obtenido y comparado con el tradicional de la zona (URPA 2003).

La curva de crecimiento del cultivo se generó en términos de peso seco, en el eje de las X el tiempo y el peso seco en el eje de las Y. Esta información permite establecer las principales etapas fenológicas del cultivo, el manejo y en particular de la nutrición. (Ramírez y Bertsch, 2000).

5.4. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Se utilizó un diseño a tres (3) vías de clasificación: una por lotes, otra por bloques y una por tratamiento, con tres repeticiones. Unidad experimental de 2 m. * 3 m. con población de 400 plantas de cebolla de bulbo.

Tratamientos: Se establecieron tres tratamientos, denominados de la siguiente manera: Sin fertilización (T1), Convencional (T2) y Recomendado (T3), (Tabla 1).

Tabla 1. Descripción de Tratamientos por lote experimental

Tratamiento	Descripción
T1	Sin fertilización
T2	Fertilización convencional de la zona
T3	Fertilización técnica con base a análisis de suelos

Material vegetal. Plántulas de cebolla de bulbo variedad Yellow Granex[®], la más utilizada en la región.

Distribución de tratamientos. Los tratamientos se distribuyeron en forma aleatoria en el campo en una superficie de 54m² por lote y área efectiva total de 108m². Distancia de siembra de 15 cm. x 10 cm. Unidades experimentales de 2 x 3 m. En la Figura 4. Se observa la distribución de tratamientos en campo por lote experimental.

Manejo Fitosanitario. El manejo fitosanitario se realizó de la misma forma en los tres tratamientos y en los dos lotes. Días después del trasplante se presentó daño por caracoles y comedores de follaje, con el fin de controlarlos se empleó Carbofuran producto que se aplicó periódicamente. El ataque de

Thrips tabaci insecto ampliamente distribuido en la zona, se controló con Malatión y dimetoato.

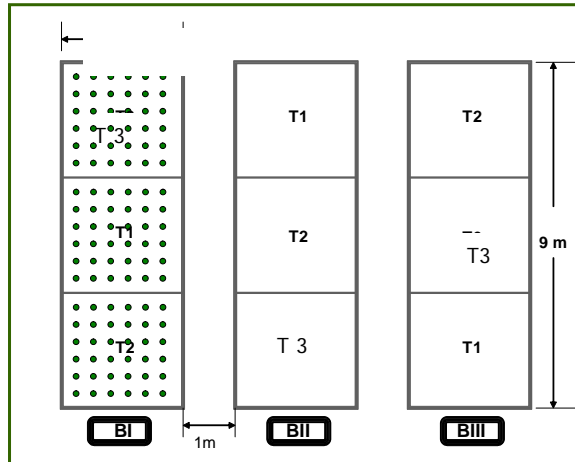


Figura 4. Distribución de tratamientos en el campo.

La presencia del complejo amarillero producido por (*Peronospora destructor*, *Alternaria porri*, *Cladosporium allí* y *Stemphylium sp.*) se maneja con atomizaciones preventivas de fungicidas (Difolatan, mancozeb, cimoxanil, cobre, benomyl) con los primeros síntomas y con intervalos de 8 a 15 días de acuerdo a las condiciones climáticas. La pudrición blanca inducida por *S. cepivorum* causó parches o focos donde se observó la sintomatología y el potencial de daño de la enfermedad.

Fertilización. Esta se realizó de acuerdo a los tratamientos:

- El tratamiento T1. No se fertilizó.
- En el tratamiento T2. El manejo de fertilizantes se realizó teniendo en cuenta las consideraciones e indicaciones del agricultor en la tabla 2 se observa listado de productos empleados.

Tabla 2. Fertilizantes aplicados en el Tratamiento 2.

	<i>Producto</i>	<i>Nombre comercial</i>	<i>Dosis * Ha * aplicación</i>	<i>No. Aplicaciones</i>	<i>Época de Aplicación (dds)</i>
1	15 – 15 - 15	Triple 15	150 Kg	2	0 y 75
2	Nitrato de Magnesio	Nitromag	100 Kg	2	0 y 45
3	Urea	Urea	200 Kg	1	100
4	Fósforo	SPT	200 Kg	1	0
5	Potasio	KCl	200 Kg	2	0 y 45
6	Menores	Microcoljap	1 Lt	3	45 y 75
7	13-26-6		50 Kg	1	45

Fuente: El agricultor.

dds= días después de la siembra en que se hizo la aplicación. 0= transplante

- El Tratamiento T3 se fertilizó teniendo en cuenta los resultados de los análisis de laboratorio y se suministraron los siguientes productos. (tabla 3)

Tabla 3. Fertilizantes y época de aplicación del tratamiento 3.

	<i>Producto</i>	<i>Nombre comercial</i>	<i>Dosis * Ha * aplicación</i>	<i>No. Aplicaciones</i>	<i>LOTE</i>	<i>Época de aplicación (dds)</i>
1	Materia orgánica	Avingra	400 kg	1	F	0
2	Nitrato de Magnesio	Nitromag	150 kg 200 kg	2	E F	45 y 75
3	Hierro	Granum	20 kg	2	E, F	0 y 45
4	Cobre	Zincobor	20 kg	2	E,F	0 y 45
5	Fósforo	SPT	150 kg	1	E,F	0

F: Lote las Flores; E: Lote la Estancia

dds= días después de la siembra en que se hizo la aplicación. 0= transplante

Cosecha.

Se llevó a cabo a los 120 días después de la siembra. Se arrancaron las plantas a mano y posteriormente, se sacudieron y se colocaron sobre el terreno, donde se despataron (se cortan los bulbos y se separan de las hojas) y se dejaron sobre el terreno 2 días con el objeto de secar al sol. Se clasifica por tamaño y se formaron montículos de dimensiones similares a distancias regulares que luego fueron recogidos en costales para ser transportados y comercializados.



Mediciones.

Nutrientes en fase intercambiable*
Nutrientes en fase soluble*
Nutrientes en la planta*
Diversidad microbiana*
Parámetros físicos (textura, densidad, humedad, porosidad)
Número de esclerocios por 100 gramos de suelo
Nivel de daño causado por *S. cepivorum***
Peso de bulbo**

*mediciones por muestreo **mediciones a cosecha

Variables respuesta

- Absorción de nutrientes
- Sanidad: Severidad de daño, porcentaje de infección.

5.5. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN.

Con la información obtenida se realizó:

- **Análisis de perfiles** de las variables físicas, químicas y biológicas medidas.
- **Análisis del diseño experimental:** Análisis longitudinal o de medias repetidas con el fin de determinar el efecto de las variables medidas a través del tiempo. Análisis de varianza y prueba de amplitudes múltiples de Tukey, (con el ánimo de determinar diferencias y similitudes entre los tratamientos y lotes).
- **Análisis del modelo estadístico:** Análisis de regresión por Stepwise, a fin de estimar la variación del porcentaje de daño como efecto de las variables medidas y análisis de componentes principales a fin de reducir la multicolinealidad.
- La similaridad entre las estructuras de comunidades *Bacterianas* fue determinada con base a la presencia o ausencia de amplicons detectados después de la DGGE.

Los geles fueron analizados utilizando el programa Diversity Database para determinación de la riqueza de amplicons (Sa), con base al número total de bandas detectables, en función de los tres

tratamientos aplicados. El agrupamiento jerárquico fue realizado a través del programa Systat 12.0, con base en matrices de similaridad generadas por el método de concordancia simple ("simple matching"), utilizándose el algoritmo de Ward y la distancia euclidiana como unidad de medida.

- Análisis de correlación. Su objetivo es determinar el grado de asociación entre las variables medidas y el porcentaje de daño producido por *S. cepivorum*.

6. RESULTADOS Y DISCUSION.

Con el fin de orientar la presentación del capítulo, en la figura 5 se plantea el orden metodológico abordado para la exposición y discusión de los principales resultados obtenidos en desarrollo de ésta investigación, una vez colectados en campo (lotes E y F) y laboratorio.

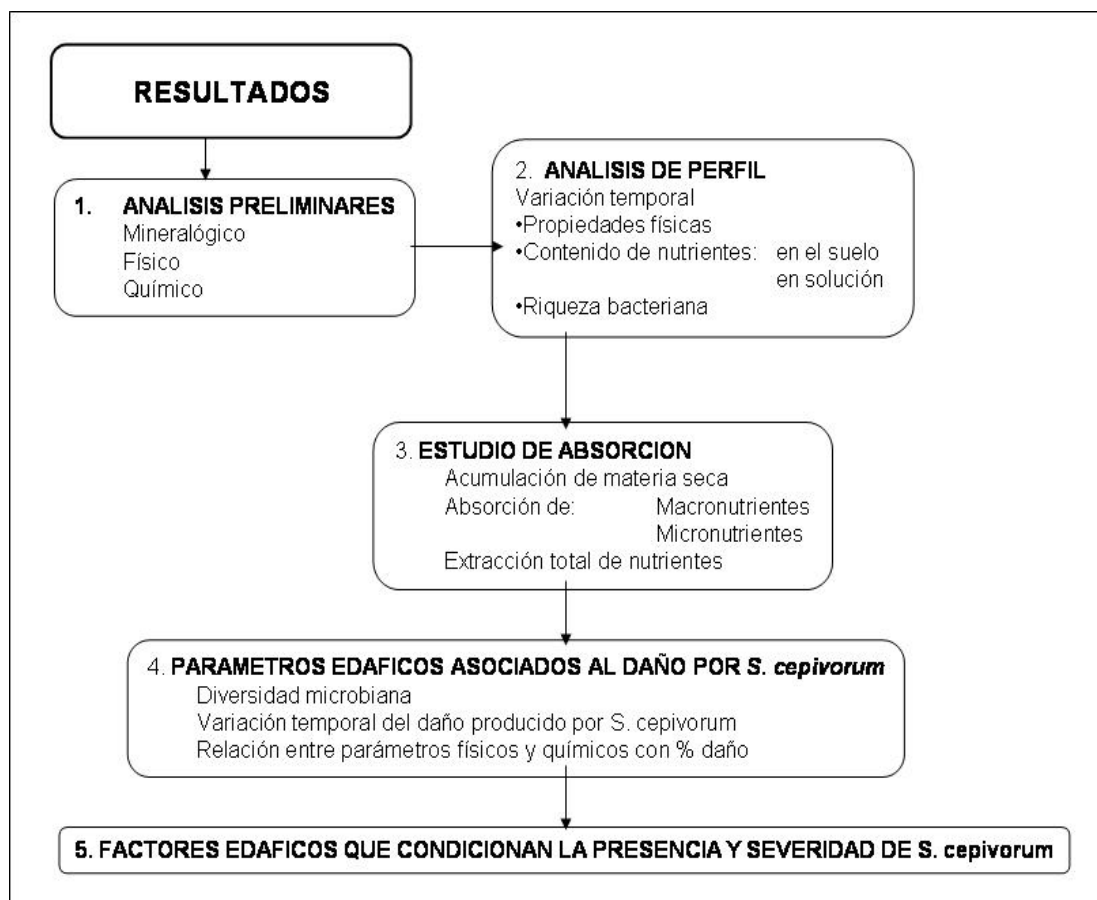


Figura 5. Diagrama de presentación de los resultados y discusión.

6.1 ANÁLISIS PRELIMINARES

6.1.1. Análisis Mineralógico. La interpretación de los rasgos micromorfológicos del suelo permite su aplicación al conocimiento de génesis, evolución y fertilidad potencial además constituye una herramienta para el estudio de las propiedades edáficas.

Los resultados del análisis mineralógico (tabla 4) practicado a suelos provenientes de los lotes E y F donde se implementaron las parcelas, muestran que el cuarzo, es el mineral grueso predominante en los dos lotes. La cantidad de cuarzo en el lote F (37,2%), hace suponer que su origen y evolución esta relacionado a rocas de naturaleza arenisca.

Tabla 4. Composición y Patrón Textural por descripción microscópica de los suelos del lote estancia (E) y Las Flores (F).

COMPOSICION MINERALOGICA	%		FORMA	TAMAÑO
	E	F		
Cuarzo	6.4	37.2	Subanguloso	Predominan tamaño menor de 200 micras, ocasionalmente granos hasta 700 micras.
Caolinita	13.0		Agregados en bloque, laminas empaquetadas	Agregados menores a 30 micras individual menores a 8 micras.
Illita	23.5		Acicular	Promedio 10 y máximo 25 micras
Arcilla con Goethita - Limonita	14.5	5.2	Irregular	1.0-2.0 mm.
Calcita	Trazas	2.8	Euhedral	Alrededor de 70 micras
Fragmentos líticos metamórficos.	2.4		Angulosos	500 - 700 micras.
Material carbonoso	40.2			
Arcilla en mezcla (caolinita, illita, smectita)		48.8	Agregados en bloques, laminas empaquetadas	Agregados < a 30 micras Individual < 8 micras
Feldespato (ortoclasa, plagioclasa)		1.6	Subhedral	Alrededor de 200 micras
Minerales pesados (circon, turmalina)		1.6	anhedrales	Menor a 50 micras
Moscovita		2.8	Tabular	Alrededor de 100 micras

Entre los minerales finos del plasma se destaca la presencia de arcillas tipo caolinita e illita. La primera, con alto grado de estabilidad y se encuentra en suelos altamente meteorizados, con baja actividad iónica (poca capacidad para retener iones CIC = 3-10 cmol(+).kg⁻¹) calificada como una arcilla pobre o desaturada. La segunda, es una arcilla no expandible, derivada a partir de micas hidratadas, con un espacio intralaminar de 10 Ångstrom y una CIC de 10-50 cmol(+).kg⁻¹ que por sus características, tiene la propiedad de fijar potasio en sus espacios interlaminares (Castro 1998).

La Goethita es una arcilla presente en suelos de clima templado y tropical, con altos contenidos de Fe - FeO(OH). La Limonita, denominada el hierro de los pantanos, pertenece al grupo de los Óxidos ($\text{Fe}_2\text{O}_3 - n \text{H}_2\text{O}$) de color pardo amarillento o rojizo no presenta cristales en abundancia en forma de concreciones puede considerarse como hematita alterada con agua, casi siempre contiene SiO_2 y Al_2O_3 .

La Calcita pertenece al grupo de los Carbonatos con una densidad de 2.6-2.8, fórmula (CaCO_3) incolora o blanca lechosa al agregarle HCl desprende abundante CO_2 . También se denomina Lublinita es común en grano detríticos de origen metamórfico con relieve bajo negativo o mas o menos moderado uniaxial negativo de extensión paralela, se puede presentar en suelos bajo presiones cerradas (CENICAFE, 1975).

En el lote E se encontró numerosos componentes orgánicos de gran variedad y diversas formas, residuos vegetales (parénquima, tejidos lignificados y tejidos varios, el grupo incluye: Carbón vegetal, buen contenido de residuos orgánicos (pigmentos orgánicos y residuos de microorganismos) lo cual hace suponer un posible origen lacustre siendo suelos con condiciones de acidez que contribuyen a la dilución de óxidos e hidróxidos de hierro. El suelo perteneciente al lote F, solo presenta trazas de tejidos vegetales y material carbonoso.

La presencia de altas cantidades de arcillas y de microporos, permite establecer que la intensidad de labranza en estos suelos esta interfiriendo con la normal redistribución del agua y el aire dentro del perfil.

El suelo del lote E presenta variada composición de minerales en pequeñas cantidades (trazas) como Sericita, Moscovita, Circón, formas aciculares de rutilo, illita y plagioclasa (feldespato) (figura 6a). El lote F, igualmente presenta trazas de minerales como ópalo, epidota, carbón, glaucofana y tejidos vegetales (figura 6b).

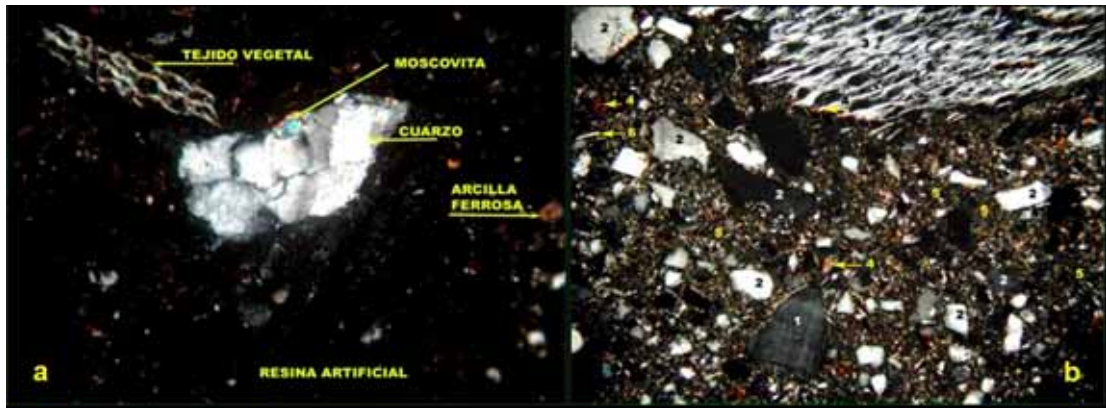


Figura 6. Composición mineralógica del suelo en los lotes en estudio.

a. Rasgos micromorfológicos del suelo del Lote E, rico en materiales orgánicos y en arcillas tipo illita. b. Rasgos micromorfológicos del suelo del lote F donde se observa tejido vegetal (3) acompañado de cuarzo subredondeado en tamaños variados (2), con ortoclasa (1), goethita (4), moscovita fina (6) inmersos en arcilla mixta (5).

En los análisis de sección delgada obtenidos por el GISSAT (2005), se observa la forma en que los óxidos de hierro precipitan y taponan poros (figura 7) afectando las características físicas del suelo, reduciendo porosidad, capacidad de infiltración, y conductividad hidráulica.

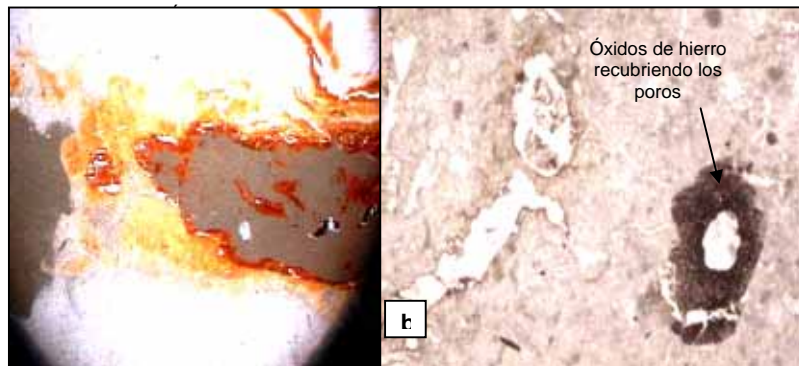


Figura 7. Precipitados de óxidos de hierro y jarosita en los poros de *Typic Sulfaquepts* y *Sulfic Endoaquepts*.

Microfotografías de sección delgada a) Horizonte Bgj₂ en *Sulfic Endoaquepts* b) Horizonte Bwg₁ en *Typic Sulfaquepts*.

Fuente: GISSAT, 2005

6.1.2. Resultados de los análisis físicos y químicos antes del trasplante.

➤ **Atributos físicos de los suelos.** Antes del trasplante del material vegetal, se colectaron muestras a profundidad de 0 a 10 cm. provenientes de los lotes E y F, para ser analizadas en sus propiedades físicas (tabla 5).

Tabla 5. Compendio de las propiedades Físicas.

Propiedad	Método	E	F
Color	Tabla Munsell	pardo oscuro (10 YR 3/2),	pardo oscuro (10 YR 3/2),
Textura	Pipeta	Arcillosa	Arcillosa
Humedad Gravimétrica.	Horno	51.11%	48,72 %
Humedad Volumétrica.	Membrana Richard	46.56%	62,3 %
Capacidad de campo	Ollas a presión Base Humedad. Gravimétrica.	39.39	41.35
Punto Marchitez		34.18	35,15
Lámina agua aprovechable.		5.21	6,2
Conductividad hidráulica saturada.	Cabeza constante	1.84 cm.h ⁻¹	1.28 cm.h ⁻¹
Densidad	Aparente	0.88g.cm ⁻³	1,14 g.cm ⁻³
	Real	2.49 g.cm ⁻³	2.60 g.cm ⁻³
Porosidad Total		64.51%	61,8 %
Susceptibilidad a la compactación		83.8%	88.2%

Fuente: Laboratorio de servicios Analíticos – CIAT

Los resultados permitieron determinar que los suelos en estudio presentan texturas arcillosas, con bajos tenores de agua aprovechable por las plantas, conductividad hidráulica moderadamente lenta, alta porosidad (>50%) pero dominada por microporos (donde se almacena el agua no aprovechable para las plantas) y baja susceptibilidad a la compactación.

Amézquita (1994) y Castro (1998), afirman que suelos con textura Arcillosa poseen pobres condiciones de labranza, baja permeabilidad, alta retención de humedad y con susceptibilidad a la erosión hídrica. Esta condición le confiere al suelo tendencia a la compactación características que Higueta y Jaramillo (1993), no recomiendan para el cultivo de cebolla, al impedir el normal

crecimiento del bulbo. El alto porcentaje de arcilla en los suelos puede afectar significativamente las propiedades hidrológicas, la susceptibilidad a la compactación, la tendencia al encostramiento y el efecto sobre la raíz de la planta (Pla, 1993).

La densidad aparente esta relacionada con la posibilidad de crecimiento, expansión de raíces y contenido de materia orgánica (Amézquita y Londoño, 1997). Suelos con alta materia orgánica presentan valores bajos en la densidad aparente ($0,88\text{g.cm}^{-3}$), como se presentó en el lote E (con contenidos de materia orgánica $> 8\%$), mientras que en el lote F, mostró mayor valor de densidad ($1,14\text{g.cm}^{-3}$) junto a menor contenido de materia orgánica ($<4\%$).

Se determinó que con las características descritas, estos suelos pueden almacenar laminas de agua $> 5\text{mm.cm}^{-1}$, valor que según Castro (1998), es muy alto, afectando la circulación del aire y el metabolismo de las plantas. Ávila (1991) y Agrios (1997), enuncian que contenidos elevados de humedad en el suelo, pueden favorecer la incidencia de patógenos entre los que se encuentra *Sclerotium cepivorum*.

Los valores de densidad aparente en orden de 1g.cm^{-3} o menores con porosidad superior a 60% están asociados a suelos orgánicos o con altos contenidos de arcilla en los cuales el manejo debe estar acompañado de un estado óptimo de humedad, de lo contrario se corre el riesgo de perder la condición estructural. Estos suelos tienden a ser masivos cuando secos y cuando húmedos se presentan como una masa, afectando la penetración y circulación de agua y aire. Al no ser correctamente distribuida, el agua causa encharcamiento y el suelo se adhiere a las herramientas de trabajo, características que podrían limitar la disponibilidad y absorción de nutrientes (Montenegro y Malagón, 1990).

La conductividad hidráulica saturada indica la capacidad del suelo de transmitir agua una vez que todos los poros se llenan (Forsythe, 1985), por lo que se puede deducir que depende de la porosidad y en especial del porcentaje de poros con un radio mayor a $15\mu\text{m}$ que son los que se mantienen abiertos en estas condiciones. Para los dos lotes, a la profundidad estudiada, los valores obtenidos permitieron catalogar la conductividad hidráulica como moderadamente lenta (Castro, 1998), lo que indica la probabilidad de capas con mayores contenidos de arcilla o impermeables que

producen encharcamiento, afectando la circulación de agua y aire en el suelo, trastornando el metabolismo de las plantas.

La porosidad refleja las condiciones del suelo para retener, transmitir agua y permitir el movimiento de aire dentro de este. En los lotes estudiados, los valores encontrados están por encima del 50%, siendo dominada por microporos, principalmente en profundidad rompiendo la continuidad porosa del perfil.

Esta discontinuidad afecta el movimiento del agua y del aire, la capacidad productiva del suelo desde el punto de vista agrícola y las posibilidades de mejor servicio ambiental, porque impide que el agua se redistribuya adecuadamente dentro del perfil (Amézquita, 1998). En otras palabras, no hay continuidad porosa en el suelo y este se satura superficialmente. Cuando llueve se producen encharcamientos y condiciones reductoras, con efectos nocivos para el cultivo por falta de aire y posiblemente, se incrementa la disponibilidad de nutrientes como Fe^{++} y Mn^{++} , que pueden llegar a niveles perjudiciales para las plantas.

En suelos minerales productivos, la humedad aceptable a capacidad de campo ($Hv\%CC$) está alrededor de 35%. En los suelos analizados los valores son mayores indicando alta porosidad (microporosidad). Los contenidos de humedad a punto de marchitez ($Hv\%PMP$), reportados en la tabla 5 son altos y por las razones descritas anteriormente, existe dificultad cuando se calcula el agua aprovechable, (valores bajos 5 - 7%) por la diferencia entre humedad a capacidad de campo y aquella a punto de marchitez.

Este comportamiento indica que para aumentar la capacidad productiva de estos suelos, el manejo debe ser adecuado, de tal manera que se logre incrementar el volumen de almacenamiento de agua entre los dos puntos descritos ($Hv\%CC$ y $Hv\%PMP$). La estrechez entre estos dos parámetros afecta la circulación de aire y el metabolismo microbiano (Castro, 1998; Sánchez de P. y Prager, 2001).

En términos generales se trata de suelos de textura finas, que han sido sometidos a labranza intensiva con media a alta susceptibilidad a la compactación, predominio de microporos, lenta permeabilidad y alta capacidad de retención de humedad, con un inadecuado manejo en la producción y uso indiscriminado de agroquímicos.

Unidas estas características a las condiciones naturales de la zona, se podría afectar el desarrollo normal del cultivo por el incremento de condiciones reductoras – adversas para *Allium cepa*- y, cuando el agua aprovechable se encuentra por debajo de 25%, se debe adicionar riego. Es recomendable efectuar labranza vertical (cincales) y suministrar residuos orgánicos en superficie que regulen la evaporación y temperatura del suelo. “Las limitantes físicas afectan las propiedades químicas y biológicas del suelo” (Castro, 1998; Sánchez, 2005).

Atributos químicos. Igual que para la parte física, se colectaron muestras de suelo para ser analizadas en laboratorio. Los resultados obtenidos (tabla 6), permitieron determinar la disponibilidad de nutrientes y realizar el plan de fertilización (materiales y métodos). Este proceso permitió caracterizar el suelo, conocer sus atributos e interpretarlos en función de propiedades intrínsecas, las del medio, y de su posible uso, proveer un índice de la disponibilidad de nutrientes en el suelo y predecir la probabilidad de obtener una respuesta favorable a la fertilización.

Para la interpretación del análisis se utilizaron las escalas presentadas por Aguirre y Piraneque (2007) y los apuntes de la cátedra de fertilidad de suelos de Menjivar (2004). El lote E presentó valores de pH moderadamente ácido, altos contenidos de nutrientes, a excepción del Fe y Cu (bajos niveles) y altos valores en las relaciones de nutrientes, especialmente en Ca/Mg y K/Mg, sugiriendo que en el transcurso del cultivo, se podría presentar deficiencias en la disponibilidad y absorción de Mg por parte de las plantas afectando el potencial de rendimiento de la especie en la zona.

Estos suelos por su naturaleza (sulfato ácida potencial), una vez preparados, tienden a reducir su pH en el tiempo, como efecto de la reacción del azufre con el agua y el oxígeno del medio, produciendo ácido sulfúrico (GISSAT, 2005; Cabrales, 2004; Rincón, 2005, Aguirre, 2006), con efectos negativos en la disponibilidad de nutrientes.

Debido al pH reportado por este lote (6,5), se puede presentar baja solubilidad de P y regular disponibilidad de Ca y Mg, aún estando ellos en altas cantidades. Cabe recordar que suelos con reacción ácida desfavorecen el desarrollo del sistema de raíces, reducen la

actividad microbiana y por consiguiente la nitrificación. La asimilación del fósforo puede disminuir debido a la formación de combinaciones insolubles de este elemento con hierro. Por el contrario los microelementos, a excepción del molibdeno, son más asimilables en medio ácido (Tisdale *et al.*, 2005; Marschner, 2003; Guerrero, 1998; Castro, 1998a).

Tabla 6. Análisis Químico de los suelos previos al transplante.

Propiedad	Método	Lote			
		E		F	
		Valor	Nivel	Valor	Nivel
pH	Potenciometría	6.5	Mod. Acid	7.6	Alc.
Materia Orgánica	Walkley Black	9.01	Medio	3.55	Bajo
P (mg.kg⁻¹)	Bray(E) - Olsen(F)	128	Alto	220	Alto
K (cmol(+).kg⁻¹)	Espectrofotometría de absorción atómica	3.0	Alto	1.02	Alto
Ca (cmol(+).kg⁻¹)		25.40	Alto	26.30	Alto
Mg (cmol(+).kg⁻¹)		2.58	Alto	0.87	Bajo
Na (cmol(+).kg⁻¹)		0.80	Normal	1.76	Alto
CIC (cmol(+).kg⁻¹)	absorción atómica	31.78	Alto	31.66	Alto
B (mg.kg⁻¹)	extracto del suelo, espectrofotometría manual	3,87	Alto	1.23	Alto
S (mg.kg⁻¹)		110.5	Alto	91,4	Alto
Fe (mg.kg⁻¹)	Espectrofotometría de absorción atómica	1.45	Bajo	9,45	Bajo
Cu (mg.kg⁻¹)		0.03	Bajo	0.10	Bajo
Zn (mgkg⁻¹)		2.43	Medio	8.32	Alto
Mn (mg*Kg)		23.54	Alto	34.16	Alto

Fuente: Adaptado de Laboratorio de servicios Analíticos - CIAT.

El suelo del lote F, reportó pH alcalino (7,6), en el que posiblemente se presente exceso de carbonatos, baja solubilidad del P por reacción con Calcio, baja disponibilidad de micronutrientes a excepción del Mo, lo que puede inhibir el crecimiento de la especie. A estos valores de pH, es común encontrar carbonatos de calcio como lo confirmó el análisis mineralógico, presentando problemas de asimilación de fósforo. El alto contenido de sodio (1,76 cmol(+).kg⁻¹), podría desencadenar problemas de tipo físico (impermeabilidad, compactación, etc.) lo que desfavorece la asimilación de los nutrientes.

Las relaciones entre las bases cambiables en este lote son altas (Ca:Mg>6; K:Mg>0,5), con posible deficiencia inducida de Mg⁺².

Por otro lado, al igual que en el lote E el hierro y cobre se encuentran en niveles deficitarios.

El análisis de suelo permitió establecer la Necesidad Efectiva de Fertilizante (NEF) a suministrar. Para este caso, se aplicó Nitrógeno en dosis aproximadas a los 167 y 204 kg.ha⁻¹ para E y F, respectivamente. La aplicación de magnesio, esta supeditada a mejorar la relación que existe con calcio y potasio, con fin de suplir las necesidades del cultivo (dosis de 104 y 309 kg.ha⁻¹ para E y F, respectivamente). El cobre e hierro, son elementos esenciales para el metabolismo de las plantas por lo que fueron suministrados por vía foliar.

6.2 ANÁLISIS DE PERFIL.

El análisis de perfil tiene como fin, determinar el cambio que presenta una variable medida a través del tiempo de estudio como efecto de los tratamientos aplicados a las unidades experimentales.

Para evaluar la absorción de nutrimentos por parte de *Allium cepa*, es necesario en primera instancia, conocer lo que sucede a nivel edáfico, ya que su comportamiento se traducirá en mayor o menor disponibilidad de elementos para la planta.

6.2.1 Variación de algunas propiedades físicas de los suelos estudiados.

Al analizar los factores que inciden en la expresión del potencial de rendimiento de un cultivo, se prioriza el aporte de nutrientes para la planta, pero es necesario recordar que el aporte de éstos sólo tiene éxito, cuando el balance hídrico es adecuado. Sin plantas correctamente hidratadas y agua disponible en el área de influencia del sistema de raíces, las plantas no son capaces de absorber los nutrientes desde el suelo (Heinrich y Ellies, 1999).

El crecimiento óptimo de las plantas se logra cuando las condiciones de temperatura, luz, aire, agua y nutrientes son aportadas en forma satisfactoria. Se sabe que el aporte de agua y nutrientes es irregular y se lleva a cabo casi exclusivamente por la raíz, sistema que requiere condiciones físicas apropiadas para que se lleve a cabo el proceso de nutrición vegetal.

A continuación se analizará la evolución de algunas propiedades físicas que determinan la aireación y movimiento del agua en el suelo e influyen en el proceso de nutrición de plantas (para el caso, en el cultivo de cebolla de bulbo en los lotes E y F).

Densidad aparente (Da). La densidad aparente esta relacionada con la posibilidad de crecimiento y expansión de raíces; Cuando la Da es alta ($\geq 1,5 \text{ Mg.m}^{-3}$), hay dificultad para su crecimiento; por el contrario, con valores bajos, las raíces pueden crecer libremente (Amézquita, 1994; 2000).

El análisis de varianza (anexo 5a) mostró que la Da varía entre lotes a través del tiempo ($\text{Pr}>F=0.0001$) con valores promedio de $0,93 \text{ g.cm}^{-3}$ y $1,13 \text{ g.cm}^{-3}$ para el lote E y F, respectivamente.

El lote F presentó los mayores valores promedio en la variable estudiada en todas las épocas de muestreo, lo cual puede asociarse a los contenidos de arcilla y que, por causa de la mecanización intensiva, se ha perdido la estructura del suelo.

En la figura 8 se aprecia el comportamiento de la variable (Da), siendo diferente entre lotes, pero estable en el tiempo dentro de cada lote. Los menores valores (alrededor de 1 g.cm^{-3}), fueron reportados por el lote E y pueden deberse al mayor contenido de materia orgánica, sin embargo, esta condición pudiese estar restringiendo el crecimiento de raíces.

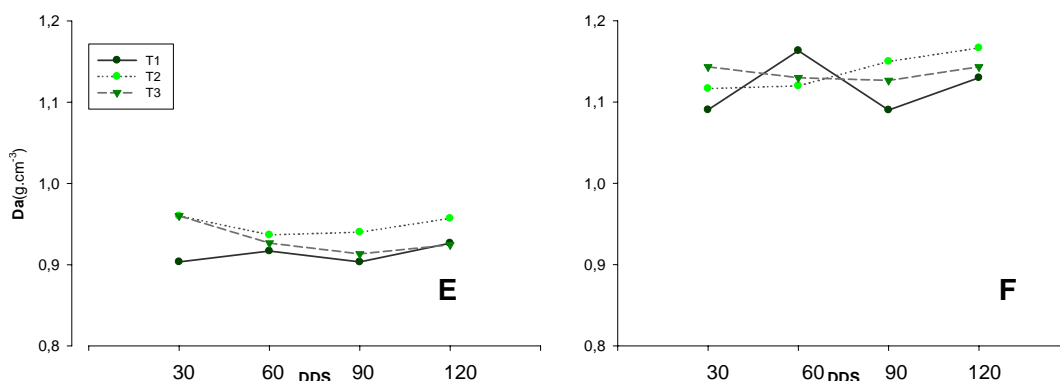


Figura 8. Variación de la Da del suelo.

Entre tratamientos no se presentaron diferencias significativas, lo cual conlleva a determinar que los materiales que dieron origen a estos suelos y las condiciones de labranza intensiva (que hace que las partículas removidas y sueltas se reempaquen y ocupen en el espacio que corresponden al agua y el aire), pueden estar determinando los valores de densidad.

Porosidad Total (Pt). Las condiciones del suelo para retener y transmitir agua y para permitir el movimiento de aire dentro del suelo, dependen de la porosidad.

El análisis de varianza (anexo 5b), mostró que la porosidad varía entre lotes a través del tiempo ($Pr > F < 0.0001$) con valores de 62,33 y 55,5% para E y F, respectivamente.

El lote E presentó mayor porosidad en todo el experimento con tendencia al descenso a medida transcurre el tiempo (figura 9).

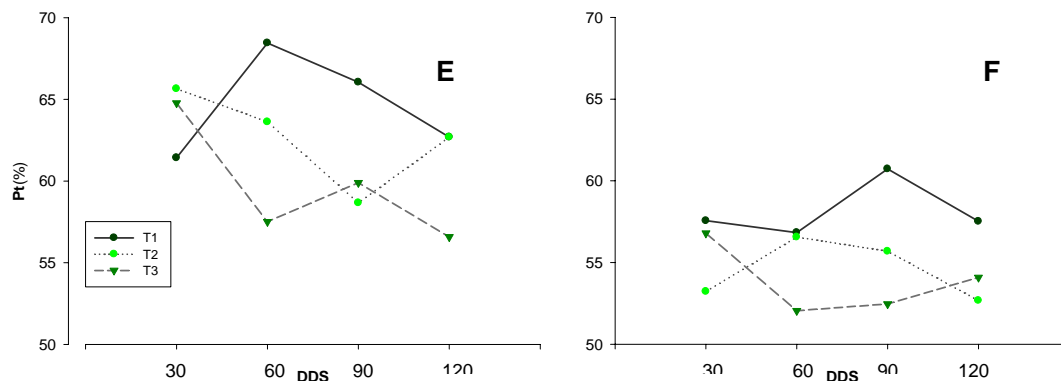


Figura 9. Variación de la Pt del suelo.

Amézquita *et al* (2003), afirma que en suelos minerales una Pt de 50% es adecuada para el buen funcionamiento del suelo, mientras que una porosidad mayor puede presentarse en suelos con altos contenidos en materia orgánica. En los suelos estudiados, los valores encontrados exceden este valor crítico, siendo dominada por microporos, con influencia negativa en la distribución de agua y aire.

60 días después de la siembra, se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados, lo cual puede deberse a las mejores condiciones de expansión de raíces que presentó el tratamiento 3, lo que permitió la reducción en el

porcentaje de microporos e incremento en la mesoporosidad, como se describirá en los siguientes apartados.

Macroporos. Sin diferencias significativas entre lotes ($Pr>F=0.5825$) ni tratamientos ($Pr>F=0.31$), los valores más bajos de macroporosidad se encontraron en E (30,87%) y los mayores en F (32,74%) (anexo 5c).

Amézquita (2000), afirma que una proporción de macroporos superior a 18% son adecuados para el ingreso y redistribución del agua y aire, siempre y cuando el suelo sea estructuralmente estable. En la presente investigación, se encontraron valores de macroporosidad mayores a las descritas (>24%), sin embargo, el cambio en la estructura durante la preparación del suelo, puede aumentar la microporosidad en detrimento de macro y mesoporos, con reducción de agua aprovechable para el cultivo.

En el lote E La variable muestra tendencia al descenso en sus valores a través del tiempo (34,563 y 24,746% a los 30 y 120dds, respectivamente), mientras que F, presenta un comportamiento contrario (26,55 y 37,44% a los 30 y 120dds, respectivamente) (figura 10). Situación que puede ser influida por los contenidos diferenciales en materia orgánica, el reempaquetamiento y/o reacomodación de las partículas del suelo y la precipitación de óxidos e hidróxidos de hierro, que posiblemente taponan los macroporos en el lote E, a favor de la microporosidad.

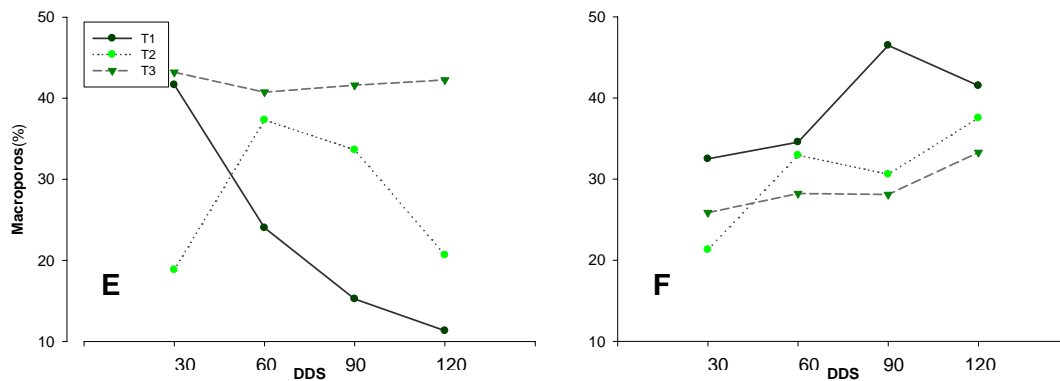


Figura 10. Variación de los macroporos del suelo.

Volverás (2006) afirma que la disminución del porcentaje de macroporos afecta negativamente las posibilidades de crecimiento

de raíces y con ello los procesos de contacto ión-raíz en el fenómeno de interceptación de iones por las raíces, afectando además, el ingreso de agua al suelo.

Mesoporos. En los mesoporos se almacena el agua aprovechable o agua útil para las plantas. Los valores para los dos lotes evaluados (E y F) y para todos los tratamientos aplicados son bajos, lo que puede tener implicaciones en el flujo de masa, con menor posibilidad de absorción de nutrientes.

La variable presentó diferencias significativas entre lotes ($Pr > F < 0.0001$) y tratamientos ($Pr > F = 0.01$) a través de las épocas de muestreo (anexo 5d).

El lote F reportó los mayores valores en todas las épocas de muestreo, con un promedio de 8,1% 60dds.

La mesoporosidad, parámetro importante en la producción agrícola, se comportó de manera diferente en cada lote evaluado, influida posiblemente por los contenidos de materia orgánica y arcilla, mientras que a nivel de tratamientos, sólo se presentaron diferencias a los 30 dds, donde el T2 mostró el más alto porcentaje (8,8%), para luego disminuir su valor y obtener promedios similares con los demás tratamientos (figura 11).

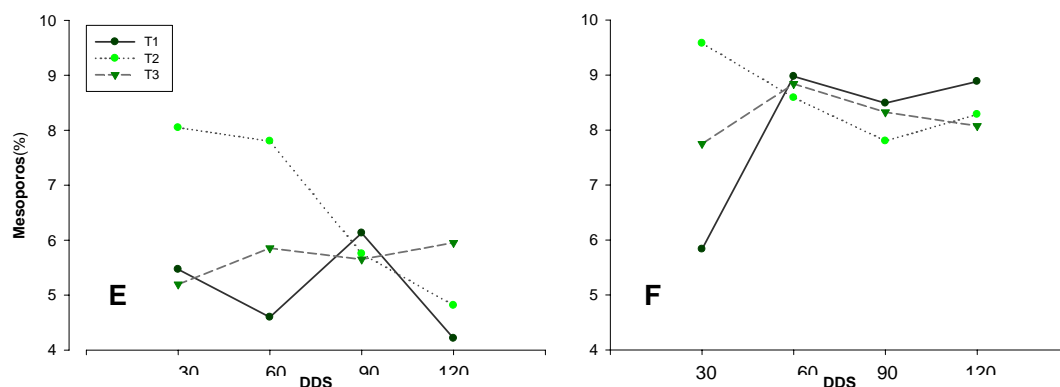


Figura 11. Variación de los mesoporos del suelo.

Amézquita (1998; 2000) reporta valores ideales en mesoporos entre 20 y 25%; según este criterio, los valores obtenidos para la variable medida son bajos ($< 8\%$), lo que repercute directamente en el suministro de agua y nutrientes para el cultivo.

Microporos. En los microporos se encuentra el agua no aprovechable para las plantas. El análisis de varianza (anexo 5e), mostró diferencias significativas entre lotes ($Pr > F = 0.02$). 120 dds se presentaron los mayores promedios (70,044% y 59,25% en E y F, respectivamente), lo cual indica que con el transcurso del tiempo, se incrementa la microporosidad, en detrimento de la macro y mesoporosidad, con condiciones hídricas cada vez más limitantes para el cultivo.

Para todos los tratamientos y épocas, los valores fueron elevados, lo que pone de manifiesto que la presencia de éstos, puede estar sacrificando la capacidad de almacenamiento de agua en el suelo (figura 12).

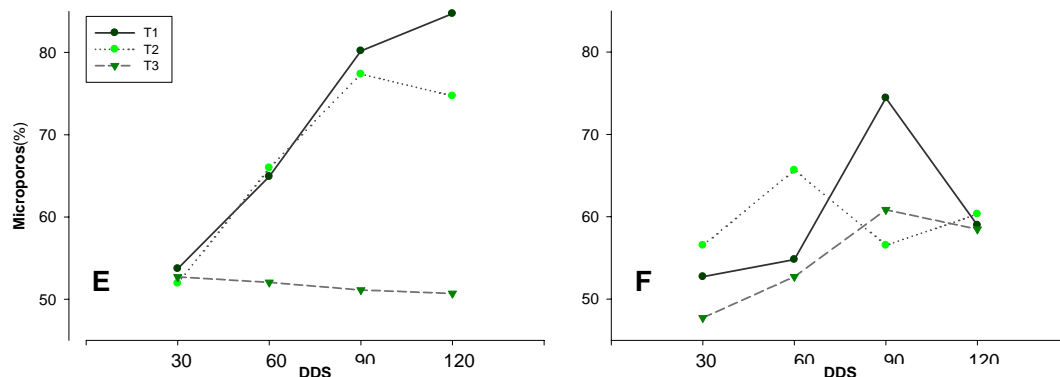


Figura 12. Variación de los microporos del suelo.

Teniendo en cuenta el desarrollo incipiente de las raíces de *A. cepa*, y la distribución de poros, se puede establecer que buena parte del agua lluvia y de riego se pierde rápidamente de la cama de cultivo, presentándose deficiencias en el suministro durante el crecimiento de la especie.

El movimiento y comportamiento de fluidos como agua y aire en el suelo está en función de la distribución del tamaño de poros. Se reporta que una representación óptima para el desarrollo normal de las plantas en un suelo con una porosidad total de 50%, debe presentar 15% de macroporos o agua drenable, 30 % de mesoporos o agua aprovechable y 5% de microporos o agua residual (Amézquita, 1994). De acuerdo a esta interpretación, en la figura 13 se observa que los mesoporos con 7% en promedio, están por debajo de los parámetros ideales, lo cual explica la baja

capacidad de estos para almacenar agua aprovechable para las plantas.

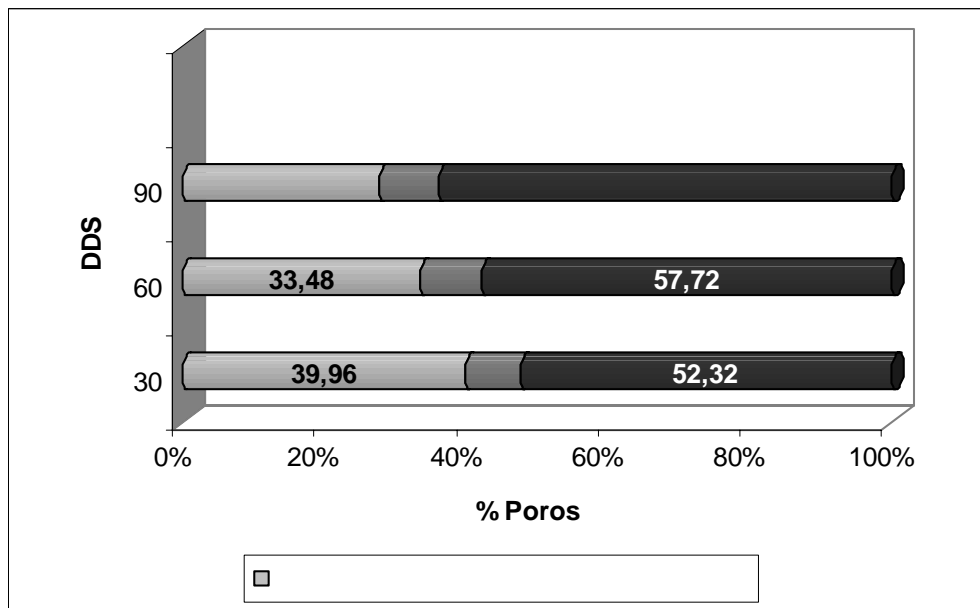
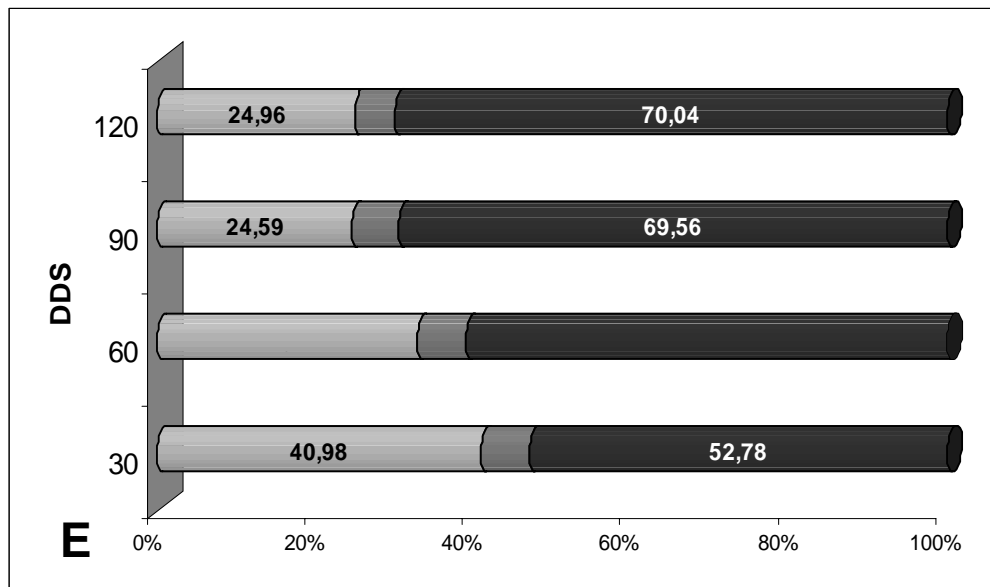


Figura 13. Distribución del tamaño de poros en los lotes en estudio.

Los microporos presentan altos porcentajes (>50%), convirtiéndose en una propiedad limitante a nivel edáfico ya que el agua contenida

esta fuertemente adherida al suelo y las plantas no la pueden tomar.

Se debe implementar acciones que permitan incrementar los mesoporos y reduzcan el valor de microporos, como la labranza vertical, abonos verdes y la cobertura del suelo, aumentar el contenido de materia orgánica en superficie, regular la temperatura del suelo, la evaporación, almacenamiento y suministro de agua y nutrientes.

Como resultado del comportamiento de los macro y mesoporos, la tendencia del porcentaje de microporos, es a incrementarse, al aumentar el uso del suelo. Resultados similares a los encontrados por Herrera (1989), quien reporta aumento de microporos a medida que aumenta la intensidad del uso del suelo. Este alto porcentaje de microporos, además de generar problemas de disponibilidad de agua, evidencia el efecto drástico de la continua y excesiva remoción del suelo por largos periodos de tiempo en los lotes en estudio.

Humedad volumétrica (HV%). El análisis de varianza (anexo 5f) mostró que la HV% cambia entre lotes y tratamientos a través del tiempo. Presentó diferencias altamente significativas entre lotes ($Pr > F < 0.0001$) con valores de 38,16 y 42,66% en E y F, respectivamente y diferencias significativas por efecto de los tratamientos ($Pr > F = 0.0392$) a los 30, 90 y 120 dds, con valores entre 34 y 47%, indicando alta porosidad en el suelo (figura 14).

La estrechez entre capacidad de campo y marchitez permanente (ver resultados del análisis preliminar), los bajos valores en mesoporos y elevados en microporosidad sugieren que el agua aprovechable para las plantas puede verse seriamente restringida.

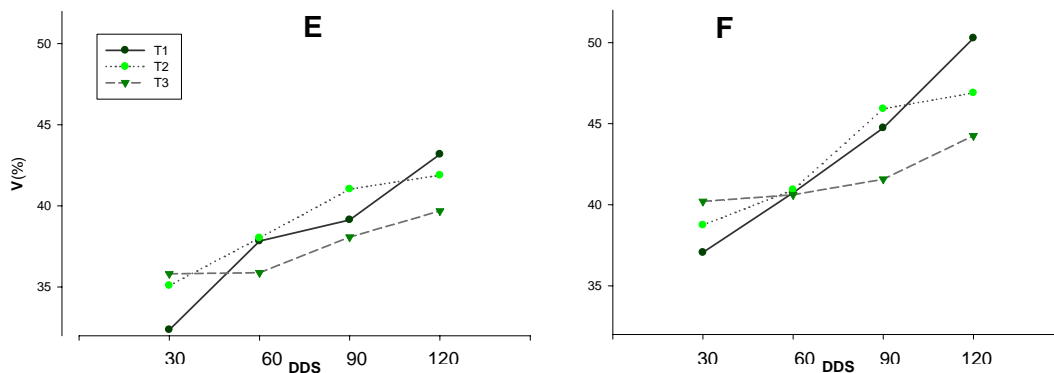


Figura 14. Variación de la HV% del suelo.

Por lo anterior se deduce que si se quiere incrementar la capacidad productiva de estos suelos, es necesario aumentar el volumen de almacenamiento de agua.

En términos generales, los suelos en estudio (lote E y F) presentan dificultades en el suministro de agua para las plantas y con ello en el suministro de nutrientes, por el bajo porcentaje de mesoporos, unido a la estrechez entre capacidad de campo y punto de marchitez permanente, dicho de otra manera, se debe optimizar el suministro de agua a fin de obtener mayor efecto de la fertilización sobre la producción.

El análisis de correlación de Spearman permitió verificar que altos contenidos de arcilla presentan relación inversa con la humedad volumétrica y por tanto, al incrementarse los contenidos de arcilla en los lotes, la disponibilidad de agua para las plantas se ve restringida ($r=-0,51$; $Pr>F=0.0001$).

Contenidos altos de arcilla se relacionan con valores bajos de densidad aparente ($r=-0,7$; $Pr>F=0.0001$) y de arenas ($r=-0,92$; $Pr>F=0.0001$) y la disminución en la densidad conlleva a incremento en los valores de la porosidad total ($r=-0,52$; $Pr>F=0.0001$). Esto significa que al incrementarse el contenido de arcilla, se disminuye la densidad aparente y a la vez se incrementa la porosidad total, sin embargo, se encuentra representada en su mayor proporción por microporos, lo que conlleva a un inadecuado movimiento de agua y aire dentro del suelo.

Por otro lado, el incremento en la densidad aparente se relaciona en forma directa con el contenido de mesoporos ($r=0,64$; $Pr>F=0.0001$) y arenas ($r=0,55$; $Pr>F=0.0001$) e inversamente con el contenido de arcilla ($r=-0,7$; $Pr>F=0.0001$), lo cual permitió establecer que si se quiere mejorar el almacenamiento y suministro de agua, hay que incrementar el porcentaje de mesoporos en estos suelos.

Propiedades físicas y su relación con el daño producido por *Sclerotium cepivorum*. A nivel físico, el porcentaje de microporos, ($r=0,98$; $Pr>F<0.0001$) y la humedad volumétrica ($r=0,46$; $Pr>F<0.0001$) presentaron relación directa con el daño producido por *S. cepivorum*. Situación que permite determinar que la labranza intensiva, puede favorecer el establecimiento y severidad de patógenos. Esta aseveración concuerda con lo reportado por Agrios (1997), Mummey & Stahl (2004) y Lambais *et al* (2006), quienes afirman que los microorganismos se localizan en los microporos de microagregados del suelo, donde siempre existe agua y nutrientes disponibles a los cuales tienen acceso, asociándose de preferencia a las fracciones limo y arcilla.

6.2.2. Variación temporal del contenido de elementos nutrientes en la fase intercambiable del suelo. La obtención del máximo potencial productivo de un cultivo, depende de la especie, capacidad genética de la misma, del ambiente (suelo y clima) y de la capacidad del productor para identificar, eliminar o minimizar los factores que reducen dicho potencial (Espinosa, 2007; Aguirre y Piraneque, 2007).

El proceso mediante el cual las plantas adquieren los elementos necesarios para su producción, se denomina *nutrición* y los elementos involucrados en el mismo, se denominan *nutrientes*, los cuales son exclusivamente de naturaleza *inorgánica*. Estos minerales nutritivos que toma la planta del suelo, son determinantes en las funciones de crecimiento y desarrollo vegetal (Aguirre y Piraneque, 2007), siendo necesario conocer la evolución de su contenido en el suelo y con ello mejorar la toma de decisiones para evitar deficiencias, ya que una vez se manifiesten visualmente, ya se ha perdido un porcentaje en la producción potencial del cultivo.

pH. El análisis de varianza (anexo 6a) mostró que el pH varía entre lotes y tratamientos a través del tiempo. El pH presentó diferencias altamente significativas entre lotes ($Pr > F = 0.0001$) con valores de 6,16 y 5,58 y de 7,70 y 7,33 a los 30 y 120 días después de la siembra (dds) para el lote E y F, respectivamente y diferencias altamente significativas por efecto de los tratamientos ($Pr > F = 0.0025$), siendo el T3 el que presentó mejor comportamiento en sus valores, situándose alrededor de la neutralidad durante todo el tiempo evaluado (figura 15).

La variable presentó tendencia al descenso a medida que transcurrió el tiempo, siendo el T1 el que mayor fluctuación presentó entre el primer muestreo (6,7) y el último (6,09).

Este descenso de los valores de pH ejerce influencia directa sobre la disponibilidad de nutrientes, en especial de los micronutrientes (Fe, B, Zn, Mn y Cu), la cual aumenta a pH ácido. Zapata (2004) y Brady and Weil (1999), afirman que la acidez incide directamente en la fertilidad del suelo, ocasionando un mayor o menor grado de solubilidad de los elementos nutrientes. Además, la acidez incide en otros fenómenos físicos y químicos, como la capacidad de intercambio catiónico, la adsorción de elementos y la presencia de aluminio en forma tóxica para las plantas.

Los resultados obtenidos determinan la importancia del pH sobre la disponibilidad de elementos nutrientes. Se observa como a pH < 6.1 y > 7.3 disminuye la disponibilidad de P y K y se incrementa la de Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ y S.

En la figura 15 se observa el descenso del valor del pH a medida que transcurre el tiempo, siendo este comportamiento más marcado en el lote E, lo cual se tradujo en mayor contenido de N, P, S, Fe, Cu y Zn al final del periodo evaluado. Para el mismo lote, se presentó a la par con el comportamiento del pH, menor disponibilidad de P y K^+ y mayor de Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ y S. Lo anterior significa que además del uso intensivo del suelo, se genera un proceso de disminución del pH como consecuencia del consumo selectivo del cultivo y del uso de fertilizantes de reacción ácida.

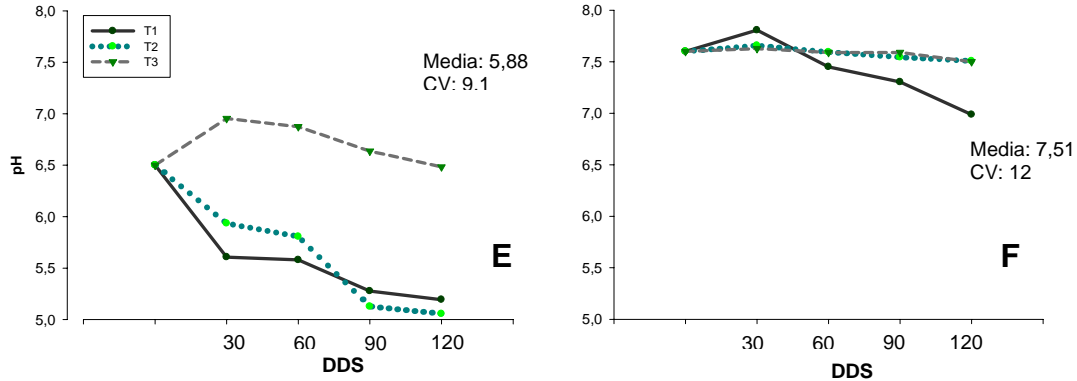


Figura 15. Variación del pH del suelo.

La acidez del suelo, se podría atribuir a los contenidos de hierro y azufre, propios de estos suelos (sulfatoácido potencial), al alto contenido de materia orgánica, al metabolismo propio de la cebolla y a la falta de planificación de la fertilización (Aguirre, 2006).

Cabrales (2004), afirma que los suelos sulfato ácidos se han formado por la oxidación de compuestos ricos en azufre; el ácido reduce la capacidad de adsorción de bases, por lo tanto, fácilmente el pH del suelo llega alrededor de 4. Ararat (1995) encontró en el Sinú suelos con valores de pH muy ácidos y lo atribuye a las altas concentraciones de sales sulfatadas de reacción ácida, como efecto residual a la aplicación de fertilizantes con rango ácido (utilizados en la zona) y a la disminución de los contenidos de calcio en el suelo, lo que concuerda con el comportamiento descrito con anterioridad.

En el lote F, el descenso en el valor del pH trajo consigo mayor contenido de Mg^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} , con el mismo comportamiento en disponibilidad del lote E.

Se determinó mejor comportamiento de esta variable en el T3, como efecto de la aplicación de las fuentes de fertilizantes y del mejoramiento en las relaciones de nutrientes obtenidos. Por otro lado, en todos los tratamientos evaluados, se observa la tendencia al descenso, siendo una de las posibles causas, la descomposición de la materia orgánica, la que trae consigo la formación de ácidos y como resultado de diferentes reacciones químicas, se originan iones H^+ , que bajan el valor del pH (Brady and Weil, 1999).

Igualmente, la planta genera compuestos vía rizósfera hacia el suelo, estimulando el crecimiento de microorganismos, algunos de ellos benéficos como los hongos micorrícicos y las bacterias fijadoras de N₂. Estos exudados o productos de la rizodeposición pueden generar cambios en el pH y el potencial redox del suelo, a través de diversos mecanismos, afectando la absorción de nutrientes (Hinsinger and Jailard, 1993; Hinsinger, 1998; Marschner, 2003). Es de esperarse que el pH alrededor de la neutralidad aporte mejores condiciones para el establecimiento de microorganismos en la rizósfera y así se genere protección a la planta por acción de las diferentes relaciones que se dan entre ellos.

Tisdale *et al* (2005), afirman que los suelos con pH>7 pueden presentar deficiencias en contenido y disponibilidad de micronutrientes, convirtiéndose en el principal limitante para alcanzar el máximo potencial de rendimiento, lo cual concuerda con lo encontrado para el caso de Mn, Cu y Zn en el lote F.

Materia orgánica (M.O). Los contenidos de materia orgánica presentaron diferencias significativas entre lotes (P<0.01), pero no así entre tratamientos a través del tiempo (anexo 6b). Los promedios obtenidos se ubicaron entre 10.1 y 13,17% y 3,80 y 3,60 a los 30 y 120 dds en E y F, respectivamente.

Lo descrito se debe entre otras razones al material a partir del cual han evolucionado estos suelos. Los suelos sulfatoácidos, como el descrito para el caso del lote E, tiene origen lacustre, de ahí sus altos contenidos en materiales orgánicos (figura 16), pero que debido al nivel freático, a las condiciones reductoras y al clima de la región, la mineralización de la misma es extremadamente lenta (Zapata, 2004).

Siendo la fracción húmica la que ayuda a reducir la plasticidad, cohesión y adhesión de los suelos arcillosos (Brady and Weil, 1999), se podría deducir que ésta fracción es muy pequeña en los lotes en estudio y de ahí que se dificulten las condiciones de laboreo de estos suelos.

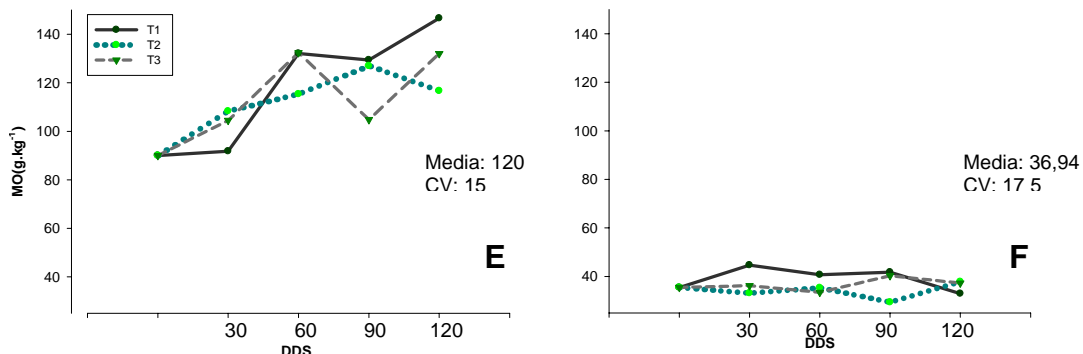


Figura 16. Variación de la Materia orgánica en el suelo.

Entre el primer y último muestreo, el lote E presentó una diferencia de 3% en el contenido de M.O, mientras que en el lote F fue de 1,97%, lo que pone de manifiesto que aún en el mismo orden de suelo y en el mismo lote existe alta variabilidad en sus contenidos, con implicaciones en las propiedades físicas, químicas y biológicas de los mismos.

Por otro lado, las diferencias en los contenidos en materia orgánica podrían ayudar a explicar las condiciones físicas presentes en estos suelos. Los suelos con altos contenidos en M.O, generalmente presentan texturas finas, con alto porcentaje de microporos que pueden restringir la aireación y disminuir la oxidación de la M.O (Brady and Weil, 1999), como fue descrito en la sección anterior.

Nitrógeno (N). El análisis de varianza (anexo 6c) mostró que el N varía entre lotes a través del tiempo, con diferencias altamente significativas ($Pr > F = 0.0001$) y valores entre 5,08 y 6,59 $g.kg^{-1}$ y de 1,90 y 1,80 $g.kg^{-1}$ a los 30 y 120 días después de la siembra (dds) para el lote E y F, respectivamente. Por otro lado y como se observa en la figura 17, se determinó que el tiempo no incide sobre la respuesta a la aplicación de los tratamientos.

Se estableció que el comportamiento de este elemento en el tiempo, es contrario al del pH en el lote E (Mientras el pH baja, los contenidos de N se incrementan y viceversa) ($r = 0,75$; $Pr > F < 0,0001$) y en el lote F, los valores disminuyen con la reducción de los valores del pH. Lo que puede deberse a la diferencia existente en el tipo de suelo, los tenores de materia orgánica, pH (ácido en E y alcalino en F) y en la dinámica de cada uno de los suelos en estudio.

A través del tiempo, los contenidos del elemento en todos los tratamientos del lote E presentaron valores superiores a 0.30%, catalogados como altos, mientras que en F, la media obtenida fue de 1,85 g.kg⁻¹ (0,185%), valor catalogado como normal sin embargo, Castro (1999) reporta valores de mineralización de nitrógeno en clima frío de 0.15%, lo que afecta enormemente su disponibilidad para las plantas.

Brady and Weil (1999), afirman que la mayor parte del N en la superficie del suelo, se presenta en forma orgánica y de esta manera, la distribución del elemento va de la mano con contenidos de materia orgánica. Los mismos autores aseveran que el contenido de N en suelos minerales varía de 0,02 a 0,05%. Así, en los lotes en estudio, el N puede estar como moléculas orgánicas y cerca del 99% del mismo no podría estar disponible para las plantas por lo que es imprescindible el suministro de N a fin de evitar deficiencias en el periodo vegetativo del cultivo.

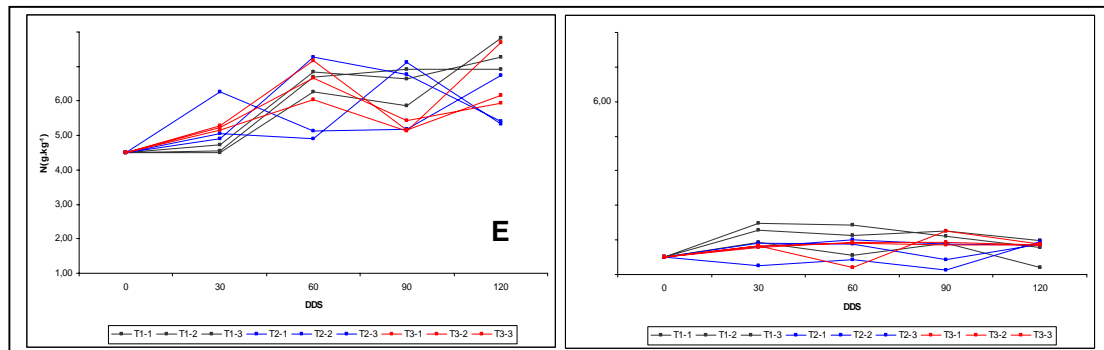


Figura 17. Variación del contenido de nitrógeno en el suelo.

Es recomendable tener en cuenta las características físicas enunciadas anteriormente (textura arcillosa, lenta conductividad hidráulica, estructura masiva cuando seco, predominio de microporos y alta susceptibilidad a la compactación), es de suponer que la presencia de oxígeno (no evaluada), en las condiciones en las que se desarrolló el experimento es limitada, lo que incrementaría la desnitrificación a tasas superiores a la mineralización de formas inorgánicas disponibles para las plantas (NH₄⁺, NO₃⁻).

El análisis de correlación de Spearman, mostró con diferencias altamente significativas (Pr>F<0.0001), que incrementos en los contenidos de P(r=-0,61), Ca(r=-0,5), Na(r=-0,75), Mn(r=-0,62),

%arcilla($r=-0,63$) y porosidad total($r=-0,50$), conllevan a la disminución en los tenores de N en el suelo. Por otro lado reveló que existe relaciones directas del N con los contenidos de K($r=0,71$), azufre($r=0,56$), densidad aparente ($r=0,61$) y % arena($r=0,62$).

Los procesos que llevan al N a estar disponible para la planta, requieren de buenas condiciones de humedad. En suelos con problemas de drenaje (alto contenido de arcilla y baja continuidad de poros), el suministro de este elemento para las plantas presenta restricciones. Además, buen contenido en bases intercambiables colabora a que el N se encuentre en mayor disponibilidad.

Posiblemente esto puede deberse a la sensibilidad al pH bajo de los organismos responsables de las diferentes transformaciones del N en el suelo. Brady and Weil (1999) afirman que en suelos con condiciones de pH ácido y buenos contenidos de bases (Ca^{++} y Mg^{++}), se presenta una considerable acumulación de nitratos.

El balance de agua y oxígeno en los suelos, conllevan a incrementar o disminuir las transformaciones del N en el suelo. Así, si hay muchos poros llenos de agua, las tasas de nitrificación, amonificación y denitrificación pueden verse alteradas. Los altos contenidos de arcilla, unidos a la elevada microporosidad y de humedad reportados en esta investigación, permiten deducir que puede encontrarse mayor cantidad de NH_4^+ en el suelo, el cual puede ser fijado, absorbido o perdido del sistema.

El manejo del Nitrógeno como nutriente, debido a los procesos a los cuales está sometido, es el más difícil en todo sistema de cultivo. Por tanto, es necesario incrementar la eficiencia de dicho manejo, aplicándolo de forma fraccionada en épocas críticas para el cultivo (Espinosa, 2007).

Fósforo (P). El análisis de varianza (anexo 6d) mostró que el tiempo incide significativamente sobre el contenido de P en los lotes en estudio ($\text{Pr}>F=0.0001$).

En la figura 18 se aprecia la variación temporal del P en el suelo, observándose que en el lote E (con pH de 6.1 30dds a 5.58 120dds), se comporta de manera contraria al pH (mientras el pH baja, los contenidos de P se incrementan) y en el lote F (con pH de

7.70 30dds a 7.33 120dds), es similar al comportamiento del pH (la reducción en los valores del pH conllevan a la reducción en los valores del P en el suelo). Comportamiento que puede deberse a que la mayor disponibilidad del elemento se encuentra a pH alrededor de 6,0.

Los contenidos del elemento en todos los tratamientos, lotes y épocas fueron superiores a 21 mg.kg^{-1} catalogado como muy altos, los que pueden provenir de complejos hierro-fosfato o fosfatos de calcio que en condiciones de acidez en el primero de los casos (lote E) o de alcalinidad en el segundo (lote F), precipitan afectando su disponibilidad para las plantas por la insolubilidad del elemento.

GISSAT (2004) enuncia que los suelos sulfatoácidos como los *Sulfic endoaquepts*, presentan condiciones de acidez que contribuyen a la disolución de óxidos e hidróxidos de hierro, los cuales al precipitar (junto con el fósforo), taponan los poros del suelo afectando sus características.

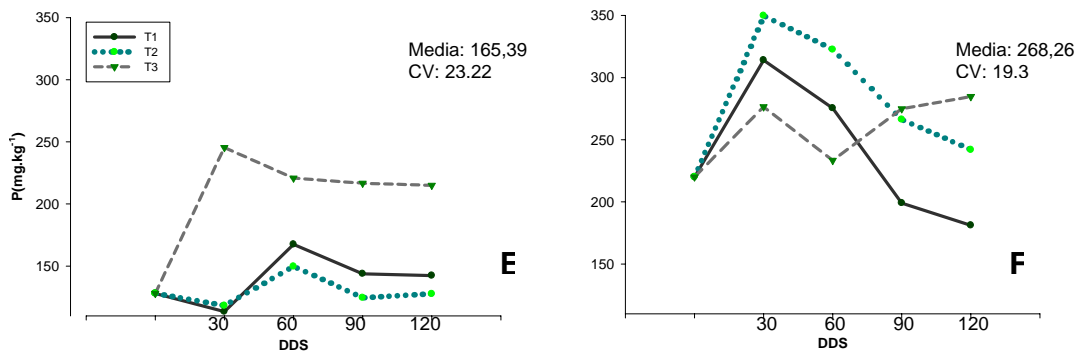


Figura 18. Variación del contenido de fósforo en el suelo.

En los suelos con características sulfato-ácidas, la presencia de arcillas entre ellas la caolinita puede contribuir a la fijación de iones fosfato en su superficie por sustitución de grupos OH^- . Brady and Weil (1999) resaltan que la mayor proporción de fósforo fijado en suelos ácidos probablemente se presenta cuando los iones H_2PO_4^- reaccionan o son adsorbidos a las superficies de óxidos insolubles de hierro, aluminio y manganeso, tales como gibsita ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) y goethita ($\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), los cuales se presentan como partículas cristalinas, no cristalinas y como cutanes sobre la inter lámina y superficie externa de las arcillas.

En suelos con $\text{pH} > 7$ el P puede ser adsorbido por el reemplazo de CO_3^{-2} del CaCO_3 . Sin embargo, debido a las altas cantidades del elemento puede precipitar en la superficie del CaCO_3 (Tisdale *et al.*, 2005).

De acuerdo a lo anterior y si se tienen en cuenta los resultados del análisis petrográfico, (El cual reportó caolinita, goethita y limonita), se puede afectar la disponibilidad de fósforo para las plantas, por fijación y precipitación del elemento. Así mismo, las altas concentraciones del elemento en el lote E, pueden estar asociadas a formas orgánicas (predominantes en este tipo de suelos por su origen lacustre), mientras que en el lote F, pueden estar relacionadas con fosfatos cálcicos insolubles.

El análisis de correlación de Spearman mostró que el P en los lotes en estudio va de la mano con el pH, aumentando sus contenidos a medida que se incrementa el pH ($r = 0,88$; $\text{Pr} > \text{F} < 0,0001$), lo que puede explicar las correlaciones directas con Ca^{++} y Na^+ ($r = 0,85$ y $r = 0,87$, respectivamente). También mostró como el P presenta relación directa con los contenidos de Mn ($r = 0,50$ $\text{Pr} > \text{F} < 0,0001$).

Por otro lado, se presentaron relaciones inversas con S ($r = -0,86$; $\text{Pr} > \text{F} < 0,0001$). La reducción en el valor del pH en presencia de azufre en el suelo es un factor que afecta la disponibilidad del P. Cuando el azufre reacciona en el suelo para formar SO_4^{2-} , libera altas cantidades de iones H^+ que conllevan una disminución drástica del pH. En estas condiciones, el P reacciona con el Fe y Mn precipitando en formas de baja solubilidad.

Potasio (K). De los elementos esenciales, es el tercer elemento (después del N y el P) que con mayor frecuencia limita el crecimiento vegetal. El análisis de varianza (anexo 6e) mostró que a través del tiempo se presentaron diferencias altamente significativas sobre el contenido de K en los lotes en estudio ($\text{Pr} > \text{F} = 0,0001$), con valores extremos de $3,38 \text{ cmol}(+). \text{kg}^{-1}$ y $0,49 \text{ cmol}(+). \text{kg}^{-1}$ en E 30dds y F 120dds, respectivamente (figura 19).

El potasio se encuentra en niveles elevados ($> 0,40 \text{ cmol}(+). \text{kg}^{-1}$), sin presentar diferencias entre tratamientos (tabla 6) y su presencia en estos suelos puede estar asociada a la presencia de arcillas tipo illita, según el análisis mineralógico realizado. Castro (1998), Brady and Weil (1999) y Marschner (2003) indican que el suministro del

potasio por parte del suelo depende en mayor proporción del tipo de mineral arcilloso, en este caso de illita identificada como una de las arcillas que fija grandes cantidades de potasio en los espacios intralaminares, esto concuerda con lo encontrado en este trabajo, debido a la relación positiva ($r= 0,74$; $Pr>F<0.0001$) entre K y el contenido de arcilla.

Cuando se reduce el pH, los contenidos de potasio aumentan, esto se puede explicar desde el punto de vista de mayor cantidad de iones H^+ y/o de hidroxialuminio, los cuales restringe que los iones K^+ se asocien a las superficies coloidales, reduciendo la fijación. Cuando el pH se incrementa, los iones H^+ e hidroxialuminio son removidos o neutralizados y, así, es más fácil que el K^+ se movilice hacia las superficies coloidales, siendo más susceptible a la fijación, por parte de la arcilla - Illita.

Los valores reportados de K^+ exceden los límites superiores en todos los tratamientos y, aunque se presentó fijación del elemento, existe suficientes cantidades de este en solución, disponible para las plantas.

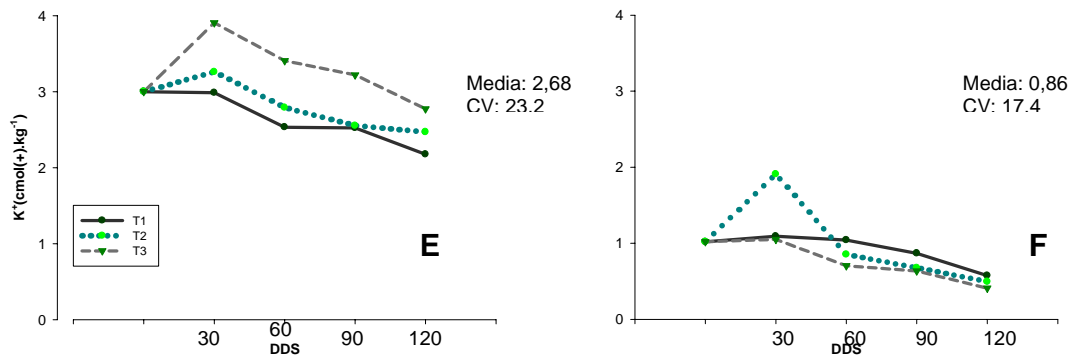


Figura 19. Variación del contenido de potasio en el suelo.

Brady and Weil (1999) afirman que contrario al P, el K se encuentra en mayores niveles en la mayoría de los suelos, siendo generalmente, más altos que cualquier otro elemento.

El análisis de correlación de Spearman mostró que el K relaciona en forma directa con B ($r=0,54$ $Pr>F<0,0001$) e inversa con pH, Na y Mn ($r= -0,59$, $r= -0,63$ y $r=-0,61$, respectivamente). Las condiciones de pH que favorecen al K, pueden desfavorecer al Mn. La disminución de las formas disponibles del Mn (Mn^{+2}), reduce la

competencia con K^+ . Por otro lado, parece ser que altas cantidades de Na en el suelo, puede competir con el K por sitios de intercambio y así estar en mayor disponibilidad para ser aprovechado por las plantas y/o ser adsorbido o fijado a las superficies coloidales o perdido a través del perfil.

CALCIO (Ca). El análisis de varianza (anexo 6f) mostró que a través del tiempo se presentan diferencias altamente significativas en el contenido de Ca en los lotes en estudio ($Pr > F = 0.0001$), con valores extremos de $23,18 \text{ cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}$ y $13,66 \text{ cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}$ en F 30dds y E 120dds, respectivamente (figura 20).

Se presentaron diferencias significativas entre tratamientos a los 60 y 90 dds, siendo el T3 el que presentó mayor promedio en los contenidos del elemento, sin embargo, estos elevados valores tienen poco efecto en el proceso de absorción vegetal, toda vez que ésta es controlada genéticamente y su absorción esta limitada a los ápices radicales donde las paredes celulares de la endodermis no se encuentran suberizadas.

Este catión domina en el complejo de cambio del suelo, (promedio de 72,5% y 82,5% de la CIC en E y F, respectivamente), lo que sugiere que esta ocupando la mayoría de los sitios de intercambio. Los valores reportados superan los niveles óptimos del elemento ($6 \text{ cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}$), por lo que las cantidades existentes en el suelo son suficientes para aportar Ca^{2+} a la planta, e incluso puede interferir en la disponibilidad de K^+ y Mg^{2+} para las mismas.

El Ca^{2+} obedece a unas relaciones directas con el pH. En este suelo, mayores cantidades del elemento, se traducen en valores elevados de pH y viceversa ($r=0,89$; $Pr > F < 0,0001$). De igual forma, se observa como la adición de fertilizantes con magnesio puede estar desplazando iones Ca^{2+} a la solución, que por un lado son tomados por la planta, pero también, puede presentarse salida del catión del sistema. El aumento en la humedad del suelo, puede generar H^+ , que desplazan cationes de los sitios de intercambio. Tisdale *et al* (2005), mencionan que mayores volúmenes de agua en el perfil pueden traducirse en cantidades mayores de iones H^+ y por lo tanto el suelo tiende a acidificarse.

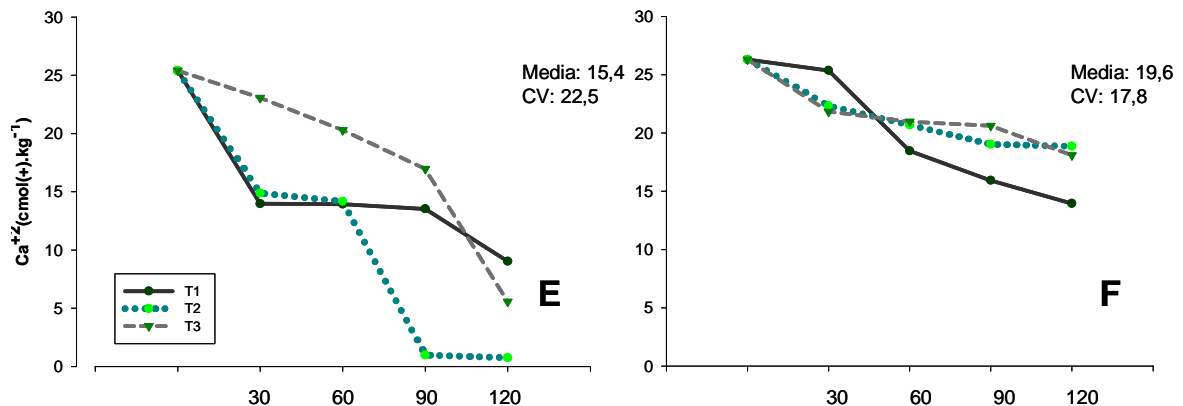


Figura 20. Variación del contenido de Calcio en el suelo.

El Ca presentó relaciones directas con Na ($r= 0,85$; $Pr>F<0,0001$) e inversas con S y microporos ($r=-0,98$, $r=-0,56$). Las condiciones de pH que rigen la cantidad y disponibilidad de Ca en el suelo son similares a aquellas que requieren otros cationes como el Na. Sin embargo, las altas cantidades de Ca encontradas en los suelos en estudio, pueden hacer que el Na aún en altas concentraciones, no se encuentre en condiciones de intercambio. Por otro lado, la reducción en los contenidos de Ca, conllevan a una reducción en el pH del suelo, favoreciendo la disponibilidad de otros elementos como el N y el S.

MAGNESIO (Mg). El análisis de varianza (anexo 6g) mostró que el tiempo incide de manera significativa sobre el contenido de Mg en los lotes en estudio ($Pr>F=0.0050$), con valores extremos de $3,22 \text{ cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}$ y $1,74 \text{ cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}$ en E 30dds y F 30dds, respectivamente.

De la misma forma se determinó diferencias significativas en los contenidos del elemento para los tratamientos aplicados ($Pr>F=0.0313$), presentándose estas diferencias en el primer muestreo (30 dds), donde se encontraron contenidos de 2.96, 2.68 y $1.8 \text{ cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}$ en T3, T2 y T1, respectivamente.

Los valores reportados para este elemento, son altos, sin embargo, las cantidades presentes de otros iones como el Ca^{2+} y el K^{+} , pueden afectar su disponibilidad. La aplicación de fertilizantes que contienen Mg mejoran las relaciones existentes con Ca^{2+} y K^{+} , lo que supone mayor disponibilidad, como se aprecia para los

tratamientos 2 y 3 (figura 21) en el lote E. Tisdale *et al* (2005) afirman que la absorción de este elemento por parte de las plantas depende de la cantidad en solución, pH del suelo, % dentro de la CIC, cantidad de otros iones cambiables y el tipo de arcilla.

Durante el ensayo el porcentaje de saturación de Mg^{+2} es menor del 15%, sugiriendo limitación para la planta. Los mismos autores anotan que este elemento se encuentra presente en minerales arcillosos tipo Illita, material presente en estos suelos.

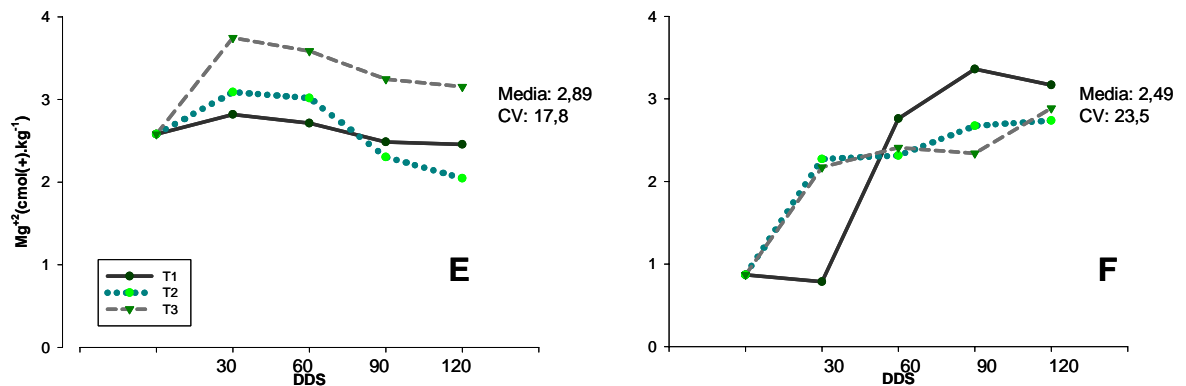


Figura 21. Variación del contenido de magnesio en el suelo.

SODIO (Na). El análisis de varianza (anexo 6h) mostró que el tiempo incide de manera significativa sobre el contenido de Na en los lotes en estudio ($Pr>F<0.0001$), con valores extremos de $1,67 \text{ cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}$ y $0,00 \text{ cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}$ en F 30dds y E 120dds, respectivamente (figura 22).

De la misma forma se determinó diferencias significativas en los contenidos del elemento para los tratamientos aplicados ($Pr>F=0.0075$) a través del tiempo (tabla 6).

Al avanzar el periodo evaluado, los contenidos del elemento se reducen. Sin embargo, los valores $>1 \text{ cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}$ en el lote F, hacen suponer que el manejo de la fertilización en este lote no es el adecuado y se están creando condiciones propicias para el incremento del sodio, con los efectos adversos que tiene en la parte física y química del suelo.

Los altos contenidos de sodio en el suelo son comunes en regiones áridas y semiáridas, donde la evaporación excede en gran medida

la precipitación presentándose como NaCl, Na₂SO₄, NaCO₃ (Tisdale *et al.*, 2005) y sales de Na que se acumulan en suelos pobremente drenados contribuyendo a la salinidad o sodicidad del suelo. Situación que puede explicar el pH y los contenidos de este elemento en el suelo del lote F.

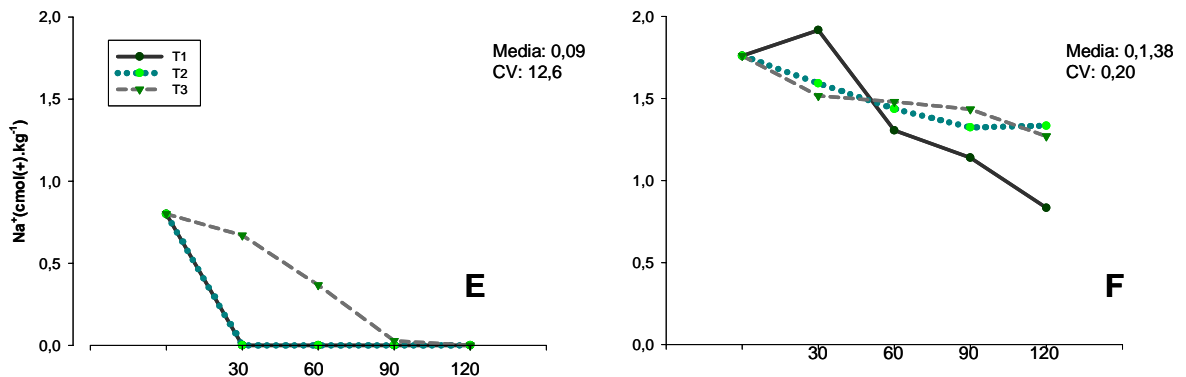


Figura 22. Variación del contenido de sodio en el suelo.

AZUFRE (S). El análisis de varianza (anexo 6i) mostró que el tiempo incide de manera significativa sobre el contenido de S en los lotes en estudio ($Pr > F = 0.0005$), con valores extremos de 287,85 mg.kg⁻¹ y 39.03 mg.kg⁻¹ en E 120dds y F 30dds, respectivamente.

De la misma forma se determinó diferencias significativas en los contenidos del elemento para los tratamientos aplicados ($Pr > F = 0.0139$), donde, los mayores contenidos del elemento se presentaron a los 90dds con 219.87, 231.83, y 69.37 mg.kg⁻¹ de suelo para T1, T2 y T3, respectivamente (figura 23).

En el lote E, el comportamiento del elemento presenta relación inversa al del pH. pH bajos coinciden con altas concentraciones de S, condición que para este tipo de suelos es normal por su naturaleza sulfatoácida. Tisdale *et al.* (1991) y Brady and Weil (1999), indican que la adsorción del ión sulfato depende del pH; a mayor pH menor azufre adsorbido y aumenta en la medida en que dominan las arcillas 1:1 e hidróxidos de hierro y aluminio (presentes en este suelo según la mineralogía descrita). Dependiendo del tipo de arcilla, cuando se saturan con ión H⁺, la adsorción sigue el siguiente orden: Caolinita > Illita > Bentonita.

La oxidación del S y del H₂S, así como la oxidación del nitrógeno, es un proceso de acidificación. Por varios átomos de azufre oxidado, se forman dos iones H⁺

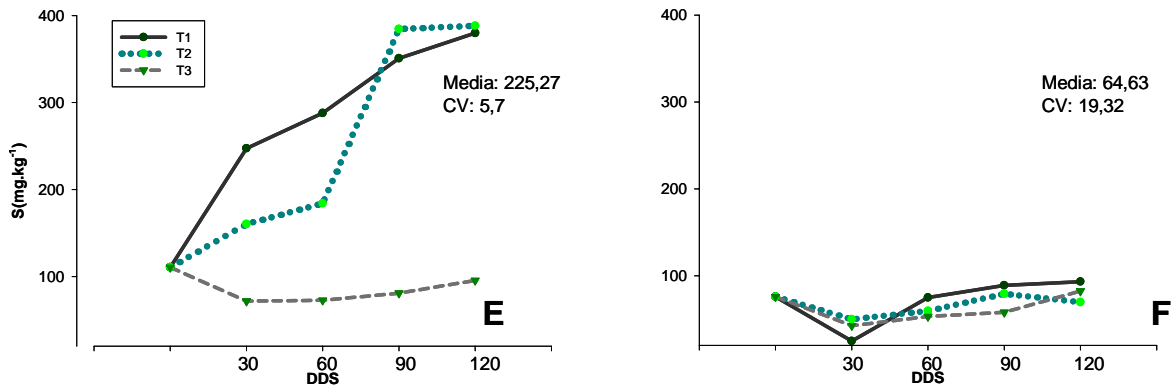


Figura 23. Variación del contenido de azufre en el suelo.

Los contenidos de S en estos suelos se encuentran por encima de los 200 mg.kg⁻¹, concentraciones provenientes posiblemente de los materiales parentales que les dieron origen, a la topografía (plano-cóncavo) y al deficiente drenaje, lo que contribuye a la formación de compuestos de baja solubilidad y a la oxidación de compuestos ricos en azufre, como la pirita en las épocas secas, lo que se manifiesta a los 90 dds, donde se encuentran las mayores concentraciones del elemento.

Cabrales (2004) y Tisdale *et al.* (2005), registran que el drenaje eficiente de suelos con altos contenidos de azufre, pueden traducirse en mayor disponibilidad de este elemento para los cultivos especialmente para los requerimientos de las especies tipo *Allium* en las que, según Block (1991), el azufre es la base del olor del ajo y la cebolla. Coley-Smith(1987), afirman que los compuestos azufrados tipo tiols y sulfóxidos, (Disulfuro de dialil y di-n disulfuro propil entre otros) estimulan la germinación de *S. cepivorum*.

El origen del azufre en este tipo de suelos puede atribuirse a los contenidos de materia orgánica, con mineralización en condiciones anaeróbicas y aerobias bien sea por un proceso oxidativo (con producción de sulfatos) o reductivo (con producción de sulfuros) y da como resultado la liberación de grandes cantidades del elemento. Brady and Weil (1999) y Malavolta (2006), afirman que

el azufre se encuentra presente en el suelo en formas orgánicas (95%), pero las formas exactas del azufre en la materia orgánica aun no se conocen.

En suelos con contenidos $\geq 5\text{mg.kg}^{-1}$ de SO_4^{-2} , el requerimiento de la mayoría de los cultivos puede ser suministrado sin problemas por flujo de masa (Tisdale *et al.*, 2005).

En el lote F, los contenidos de azufre en el suelo no superan los 82mg.kg^{-1} , situación que puede ser adecuado para el suministro a las plantas, debido entre otras razones a que la adsorción del SO_4^{-2} decrece con el incremento del pH. Pero la presencia de calcita puede hacer que el S precipite en la forma de $\text{CaCO}_3\text{-CaSO}_4$, lo que puede ser revertido con descenso en el pH o el incremento del contenido de humedad del suelo (Aguirre y Piraneque, 2007; Tisdale *et al.*, 2005).

BORO (B). El análisis de varianza (anexo 6j) mostró que a través del tiempo se presentan diferencias significativas sobre el contenido de B en los lotes en estudio ($\text{Pr}>\text{F}<0.0001$), con valores extremos de 4.422mg.kg^{-1} y $1,37\text{mg.kg}^{-1}$ en E 60dds y F 120dds, respectivamente.

En términos generales, los contenidos del boro en todas las épocas es elevado ($>0.40\text{mg.kg}^{-1}$) (figura 24). Tisdale *et al.*(2005), afirman que las plantas pueden tolerar altas cantidades de B en el suelo cuando se presentan elevados contenidos de calcio debido a que este último cumple un papel de protección contra el exceso de B en la planta. Características que coinciden con las de los suelos donde se desarrolló el ensayo.

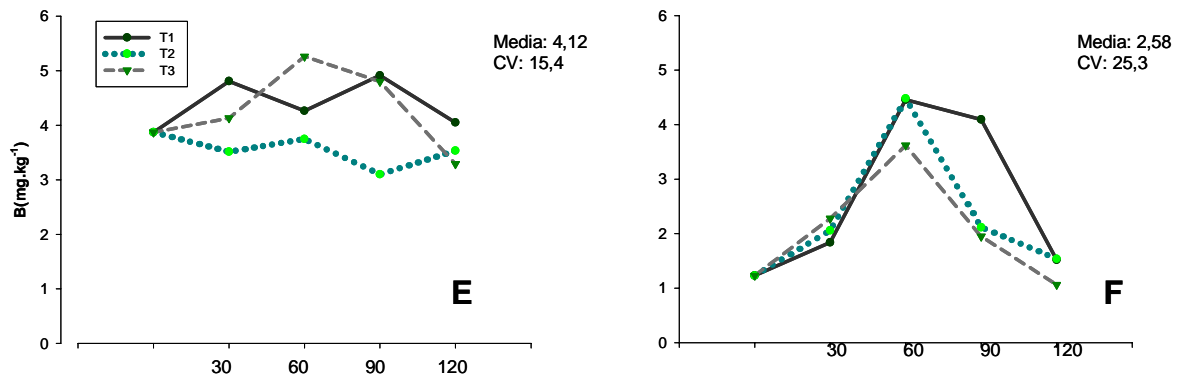


Figura 24. Variación del contenido de boro en el suelo.

La fuente principal de B en el suelo es la turmalina, borosilicato relativamente insoluble encontrado en el lote F, suelos que por naturaleza presentan altos contenidos del elemento (Aguirre y Piraneque, 2007; Tisdale *et al.*, 2005), mientras que los contenidos en E, pueden explicarse por las cantidades de materia orgánica y la aplicación de la fuente de cobre, la cual aportó además B y Zn.

HIERRO (Fe). El análisis de varianza (anexo 6k) mostró diferencias significativas sobre el contenido de Fe en los lotes en estudio ($Pr > F = 0.0087$), con valores extremos de $33,72 \text{ mg.kg}^{-1}$ y $6,58 \text{ mg.kg}^{-1}$ en E 30 y 120dds, respectivamente.

Igualmente, se establecieron diferencias significativas entre tratamientos $Pr > F = 0,0002$), donde el T1 presentó el mayor promedio ($22,405 \text{ mg.kg}^{-1}$) y el T3 el menor ($8,93 \text{ mg.kg}^{-1}$).

En promedio, los niveles de Fe en los lotes evaluados son bajos (figura 25), donde minerales como goethita y limonita (ricos en hierro), puede explicar los contenidos en el suelo. La reducción gradual del pH y las condiciones físicas, mencionadas anteriormente, hacen posible la solubilidad de este elemento y por consiguiente, la disponibilidad del mismo para las plantas, lo cual es favorable en condiciones ácidas, mientras que en condiciones alcalinas con bajos contenidos en materia orgánica, pueden presentarse deficiencias.

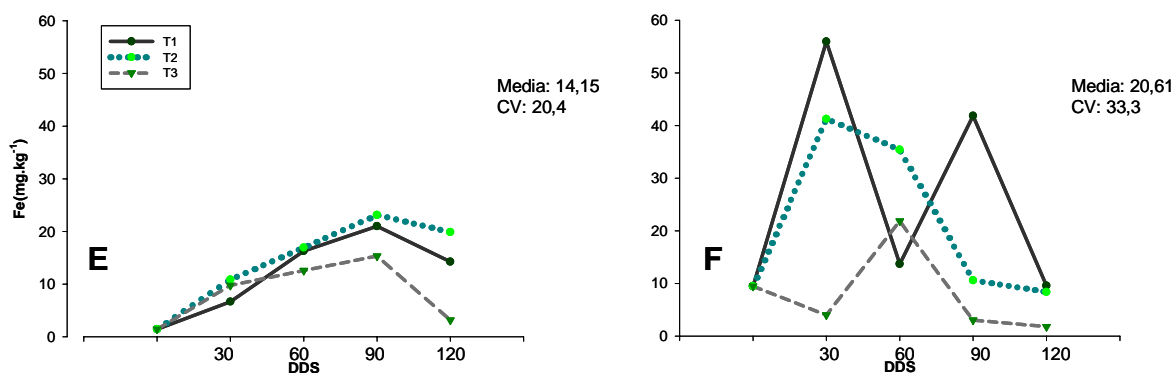


Figura 25. Variación del contenido de hierro en el suelo.

COBRE (Cu). El análisis de varianza (anexo 6l) mostró diferencias significativas sobre el contenido de Cu en los lotes en estudio

($Pr > F = 0.0034$), con valores extremos de $2,03 \text{ mg.kg}^{-1}$ y $0,37 \text{ mg.kg}^{-1}$ en E 120 y 30dds, respectivamente.

Los contenidos promedio de Cu en el suelo son bajos en el periodo de crecimiento vegetativo, Sin embargo, las mayores concentraciones del elemento se presentaron a 90 y 120 dds (figura 26). La aplicación de productos fitosanitarios entre ellos los que contienen Cu, puede explicar las altas concentraciones del elemento principalmente en la formación y maduración del bulbo.

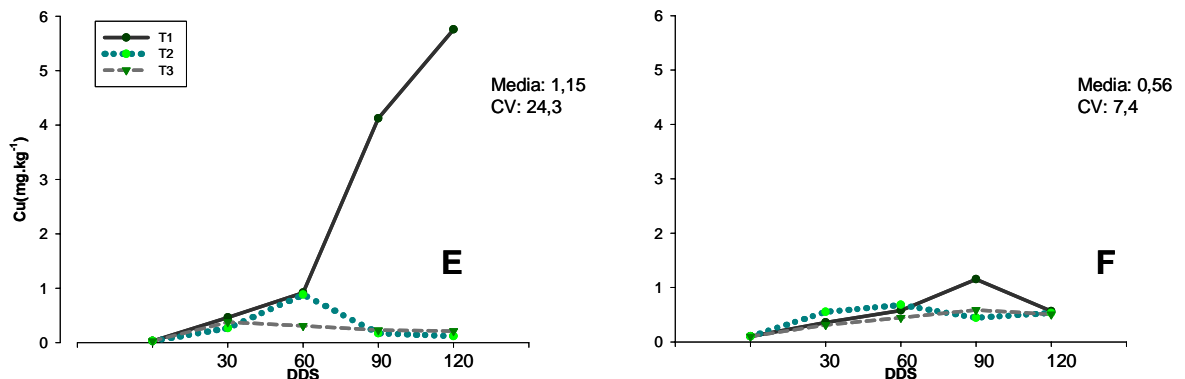


Figura 26. Variación del contenido de cobre en el suelo.

Las mayores concentraciones de Cu coinciden con la reducción en el valor del pH. Tisdale *et al* (2005) mencionan que la concentración de Cu decrece con el incremento del pH debido a que se disminuye su solubilidad y se incrementa la adsorción en la superficie de las arcillas, materia orgánica y/o óxidos de hierro, aluminio o manganeso.

En E (lote con mayor contenido de materia orgánica), el Cu puede encontrarse formando complejos con moléculas orgánicas o unido a grupos funcionales del tipo carboxil o fenol. Malavolta (2006), afirma que el Cu presenta adsorción específica, fijación muy energética (alta estabilidad) lo que resulta en poco movimiento en el suelo y que la mayor parte está retenido en la materia orgánica.

ZINC (Zn). El análisis de varianza (anexo 6m) no mostró diferencias significativas sobre el contenido de Zn en los lotes en estudio. Los valores extremos promedio se encontraron en el lote E con $6,62$ y $19,97 \text{ mg.kg}^{-1}$, 30dds y 90dds, respectivamente.

El análisis mostró diferencias significativas en los contenidos del elemento a los 90dds, época donde se alcanzaron los máximos contenidos el en suelo con 11.387, 13.140 y 27.133 mg.kg⁻¹ de suelo.

En términos generales, los niveles de Zn son altos en todos los tratamientos y lotes (figura 27). Tisdale *et al* (2005) mencionan el alto contenido de humedad como uno de los factores que afectan la disponibilidad del elemento. En suelos ácidos el descenso de la concentración de Zinc coincide con el aumento en el pH, cuando estos se encuentran en condiciones reductoras.

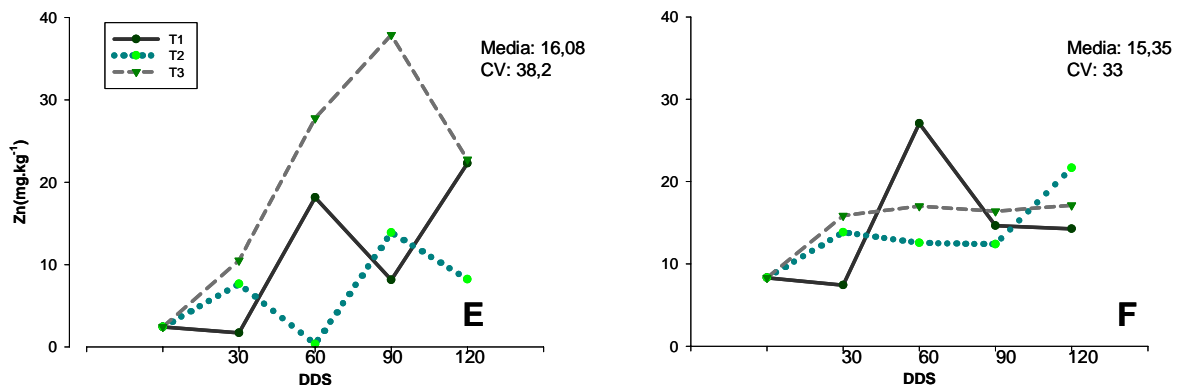


Figura 27. Variación del contenido de zinc en el suelo.

En el lote F, el comportamiento del zinc es inversamente proporcional al del fósforo, situación que se evidencia con claridad al final del ensayo, en donde menor cantidad de fósforo, coinciden con las mayores concentraciones de Zinc. Tisdale *et al.*, 2005 afirman que la disponibilidad del Zn decrece con el incremento en el pH, presentándose deficiencias en suelos con pH neutro a alcalino.

MANGANESO (Mn). El análisis de varianza (anexo 6n) diferencias significativas ($Pr > F < 0.0001$) sobre el contenido de Mn en los lotes en estudio, con valores extremos promedio entre 24,87 y 58,62 mg.kg⁻¹ 120dds, en E y F, respectivamente.

Los contenidos en todos los casos (tratamientos, lotes y épocas) exceden los límites superiores (>10 mg.kg⁻¹) (figura 28), pero los altos contenidos de elementos como hierro y Zn pueden estar restringiendo toxicidad por Mn, debido a que se reduce su absorción por parte de las plantas.

De manera similar que el hierro y el cobre, el Mn es pH dependiente y, consecuente a lo enunciado por varios autores, en la época de mayor humedad (30 - 60dds), se presenta descenso en su concentración, posiblemente debido a la absorción por la planta o porque parte de éste sale del sistema. Al elevarse el contenido de humedad en el suelo y descender el potencial redox, los óxidos de manganeso se transforman en iones de manganeso aumentando su contenido en la solución del suelo.

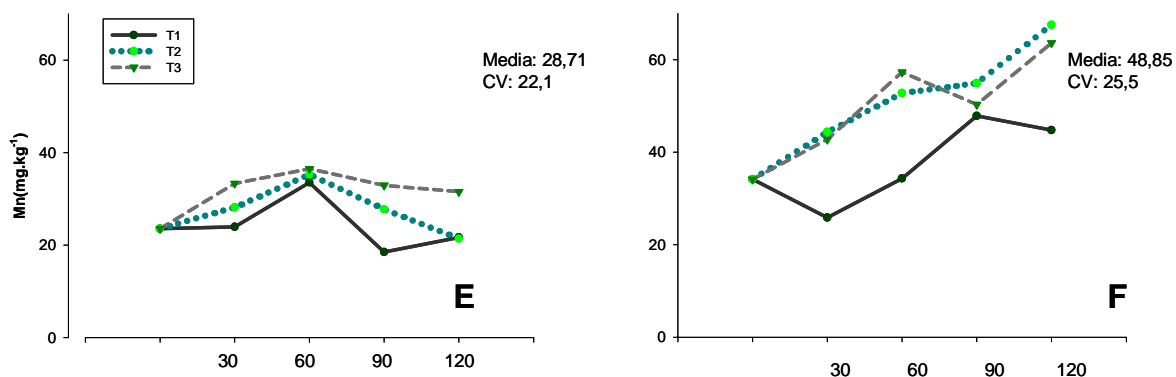


Figura 28. Variación del contenido de manganeso en el suelo.

Los altos contenidos de Ca^{2+} , pueden hacer que el Mn precipite como MnO_2 y, así, decrecer su concentración en la solución del suelo. El comportamiento del Mn en el lote E, puede sugerir contenidos importantes en la materia orgánica (en la que puede encontrarse en forma de compuestos quelatados no disponibles) y en los óxidos de hierro.

En resumen, a nivel edáfico los contenidos de macro nutrientes se presentaron en el orden: $\text{N} > \text{Ca} > \text{Mg} > \text{K} > \text{P} > \text{S}$ y los de micro nutrientes: $\text{Mn} > \text{Fe} > \text{Zn} > \text{B} > \text{Cu}$. Resultados que coinciden parcialmente con los encontrados por Aguirre (2006), quien trabajando en un *Sulfic endoaquepts*, encontró que los macronutrientes presentaron el orden: $\text{N} > \text{Ca} > \text{K} > \text{Mg} > \text{S} > \text{P}$ y los micronutrientes: $\text{Mn} > \text{Fe} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{B}$.

Siendo el T3, el que mayor rendimiento alcanzó, en la tabla 7 se reporta los valores promedio del contenido de nutrientes en suelo obtenidos por este tratamiento en los dos lotes donde se realizó el experimento.

Como se puede apreciar, el manejo dado a los suelos afecta notoriamente, la cantidad y disponibilidad de nutrientes. Así, el T3 descrito anteriormente, cuenta con un pH apropiado para la mayoría de los cultivos, muy altos contenidos de nitrógeno, altos contenidos de bases de cambio, fósforo, Boro, Manganeseo y zinc, normales para Sodio y bajos contenidos de Hierro y Cobre.

Tabla 7. Valores promedio de las características químicas obtenidas por el tratamiento 3.

Parámetro y/o elemento	Valor	Unidad	kg.ha
pH	7.16	Un	
M.O	77,62		77620
Nitrógeno	3,88	g.kg ⁻¹	3380
Fósforo	245,88	mg.kg ⁻¹	245,88
Potasio	2,01		241,2
Calcio	19,71	cmol(+).kg ⁻¹	3942
Magnesio	2.94		1146,6
Sodio	0,85		195,5
Azufre	69,53		252
Boro	3,30		3,3
Hierro	8,93	mg.kg ⁻¹	8,93
Manganeseo	43,52		43,52
Cobre	0,37		0,37
Zinc	20,66		20,66

Los valores obtenidos son superiores y cercanos a los obtenidos por Aguirre (2006), pero diferentes a los reportados por Guerrero (1998) y Castro (1998).

Propiedades químicas del suelo y su relación con el daño producido por *Sclerotium cepivorum*.

El análisis de correlación de Spearman mostró que el pH ($r = -0,41$; $Pr > F = 0,0004$), el P ($r = -0,32$; $Pr > F = 0,0053$) y el Ca ($r = -0,56$; $Pr > F < 0,0001$) presentan relación inversa con el daño producido por *S. cepivorum*. Lo anterior indica que las condiciones generadas por la disminución del pH, como sucedió en el lote E, también favorecen al patógeno, lo cual puede explicarse por la relación directa del S

($r= 0,54$; $Pr>F<0,0001$) y del Cu ($r= 0,58$; $Pr>F<0,0001$) con el porcentaje de daño.

Como se menciona en la sección 6.4.2.1, altas concentraciones de S y Cu en el suelo pueden favorecer al patógeno, toda vez que sus esclerocios germinan en presencia de productos azufrados y son favorecidos por la disminución de la fauna benéfica en la superficie del suelo como resultado de altas aplicaciones de Cu como anticriptogámico, ampliamente utilizado en la zona de estudio.

Según lo descrito, la cantidad y disponibilidad de nutrientes (la cual se encuentra afectada por diferentes factores ambientales) pueden incidir sobre la predisposición y/o tolerancia de *A. cepa* a *S. cepivorum*.

6.2.3 Variación temporal del contenido de nutrientes en la solución del suelo (obtenida en forma directa con los muestreadores de solución de suelo). La solución del suelo puede ser definida como una fina película acuosa que rodea las partículas del suelo, conteniendo diversidad de materiales orgánicos, inorgánicos y órgano-minerales en suspensión (Menjivar, 2004; Lavelle y Spain, 2001).

Los constituyentes orgánicos presentes en la solución del suelo corresponden a cationes como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Al^+ , e H^+ y aniones como NO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- , HCO_3^- y CO_3^- en menores cantidades que los anteriores (Wolt, 1994 citado por Cadena, 2004) y la variación en su concentración depende del pH, capacidad de intercambio catiónico, potencial redox, porcentaje de materia orgánica, los microorganismos presentes en el suelo, la vegetación establecida y la aplicación de fertilizantes.

De lo anterior y partiendo de la premisa que el proceso de nutrición vegetal se da a partir de los nutrientes presentes en la solución del suelo, es necesario verificar su evolución con el fin de maximizar el potencial productivo de la especie.

pH. El análisis de varianza (anexo 7a), mostró que el pH en la solución del suelo no varía entre lotes ni tratamientos a través del tiempo. 120 dds (correspondiente al último muestreo), el pH presentó los máximos valores con 8,1 y 7,97 en E y F respectivamente (figura 29).

Se observó para los dos lotes y los tres tratamientos, tendencia al incremento en la variable a medida transcurre el tiempo. A pesar que los suelos son sistemas sin equilibrio, puede observarse que la disminución del pH en la fase sólida del suelo, conlleva al incremento en los valores del mismo en la fase soluble, lo que puede explicarse posiblemente por una absorción preferencial de aniones sobre cationes.

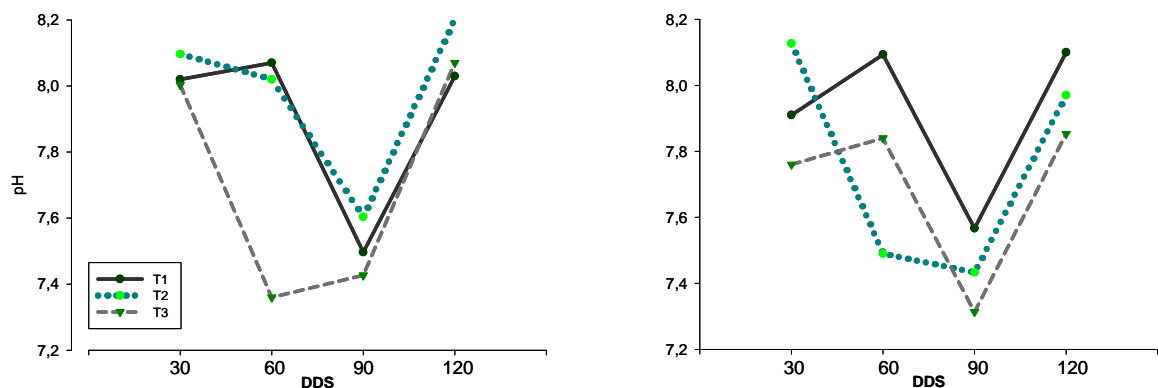


Figura 29. Variación del pH en la solución del suelo.

Con el incremento en el valor del pH en solución, se incrementa la concentración de Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ y SO_4^- , y baja la de P (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}) y K^+ como se verá en los siguientes apartados.

Fósforo (H_2PO_4^- y HPO_4^{2-}). El análisis de varianza (anexo 7b) mostró que el P en solución no presenta variación significativa entre lotes ni tratamientos a través del tiempo con promedios de 0,98 y 0,88 mg.L^{-1} en E y F, respectivamente.

El análisis permitió determinar la tendencia al descenso hasta los 60dds, correspondiente a la época de bulbificación, alcanzando los máximos valores hacia los 90 dds (inicio de la maduración del bulbo) con 1,59 y 1,44 mg.L^{-1} en E y F, respectivamente (figura 30).

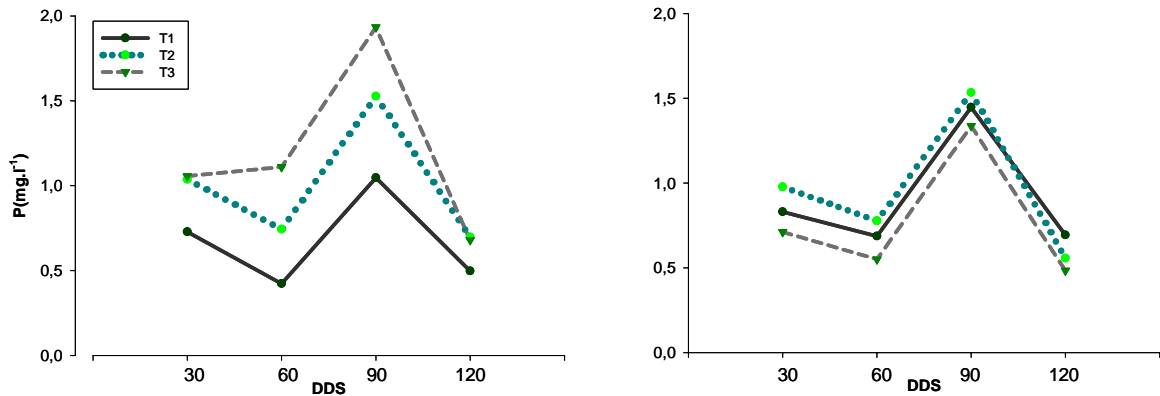


Figura 30. Variación del P (H_2PO_4^- y HPO_4^{2-}) en la solución del suelo.

Respecto a los demás macronutrientes estudiados, el P es el que se encuentra en menor cantidad en la solución del suelo ($0,93 \text{ mg.L}^{-1}$), situación que puede deberse a la fijación en complejos hierro-fosfato (en el caso de pH ácido) o fosfatos de calcio (en pH alcalino), los que precipitan y se tornan insolubles corroborando lo enunciado en su momento para la fase intercambiable (ver sección 5.2.2)

La cantidad de H_2PO_4^- y HPO_4^{2-} presente en la solución, depende del pH del suelo. A pH de 7,2, $\text{H}_2\text{PO}_4^- \approx \text{HPO}_4^{2-}$. Por debajo de este valor de pH, $\text{H}_2\text{PO}_4^- > \text{HPO}_4^{2-}$, mientras que por encima, $\text{H}_2\text{PO}_4^- < \text{HPO}_4^{2-}$ (Tisdale *et al.*, 2005) lo que indica que en el lote E, la forma preferencial de absorción sería H_2PO_4^- , mientras que en F, lo es en forma HPO_4^{2-} .

El P en solución requerido por la mayoría de las plantas varía de 0,03 a 0,3 ppm, lo que permite deducir que posiblemente la cantidad existente en la solución del suelo de los lotes estudiados, es suficiente para maximizar la producción (Aguirre y Piraneque, 2007).

Potasio (K^+). El análisis de varianza (anexo 7c) mostró diferencias altamente significativas entre tratamientos ($\text{Pr} > \text{F} = 0.0001$) a través del tiempo con valores promedio de 0,98 y $0,88 \text{ mg.L}^{-1}$ en los lotes E y F, respectivamente.

La mayor solubilidad del elemento se presentó hacia los 60dds con valores de 128,39 y $119,77 \text{ mg.L}^{-1}$ en E y F, respectivamente

(figura 31). El T3 presentó los mayores valores de K^+ en solución (145,62 y 150,62 $mg.L^{-1}$ en E y F, respectivamente) y T1, los menores (33,69 y 25,45 $mg.L^{-1}$ en E y F, respectivamente).

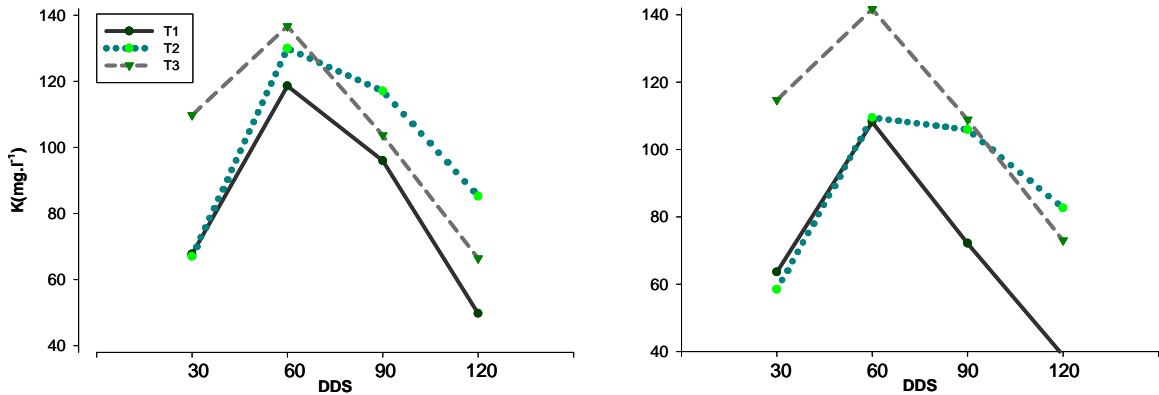


Figura 31. Variación del K^+ en la solución del suelo.

Según Tisdale *et al.*, (2005) la cantidad de K^+ en solución necesario para optimizar el crecimiento vegetal depende del cultivo y del nivel productivo deseado, variando entre 1 y 10 ppm K^+ . Sin embargo es común encontrar valores superiores en suelos de zonas donde la evaporación supera la precipitación o afectadas por sales, como sucede donde se desarrolló el experimento.

En el caso particular y contrario a lo que sucede con el P, el K^+ es el elemento que se presenta en mayor cantidad en la solución del suelo, siendo influenciado por la presencia de otros cationes como el Ca^{2+} y Mg^{2+} . Situación que confirma lo enunciado por Brady and Weil (1999), quienes afirman que de todos los elementos nutrientes, éste es el que generalmente se encuentra en mayor cantidad en la solución del suelo.

Calcio (Ca^{2+}). El análisis de varianza (anexo 7d) mostró que el Ca^{2+} varía entre lotes y tratamientos a través del tiempo. Presentó diferencias altamente significativas entre lotes ($Pr>F=0.0005$) con valores promedio de 80,59 y 91,20 $mg.L^{-1}$ en el lote E y F, respectivamente y diferencias altamente significativas por efecto de los tratamientos ($Pr>F=0.0001$), con valores extremos de 184,33 $mg.L^{-1}$ y 29,31 $mg.L^{-1}$ en el T1 lote E 120dds y T3 lote F 90dds, respectivamente.

La mayor solubilidad del elemento se presentó hacia los 120dds con valores de 116,94 y 82,02 mg.L⁻¹ en E y F, respectivamente (figura 32). El T3 presentó los menores valores de Ca²⁺ en solución (66,33 y 55,17 mg.L⁻¹ en E y F, respectivamente) y T1, los mayores (108,14 y 67,84 mg.L⁻¹ en E y F, respectivamente).

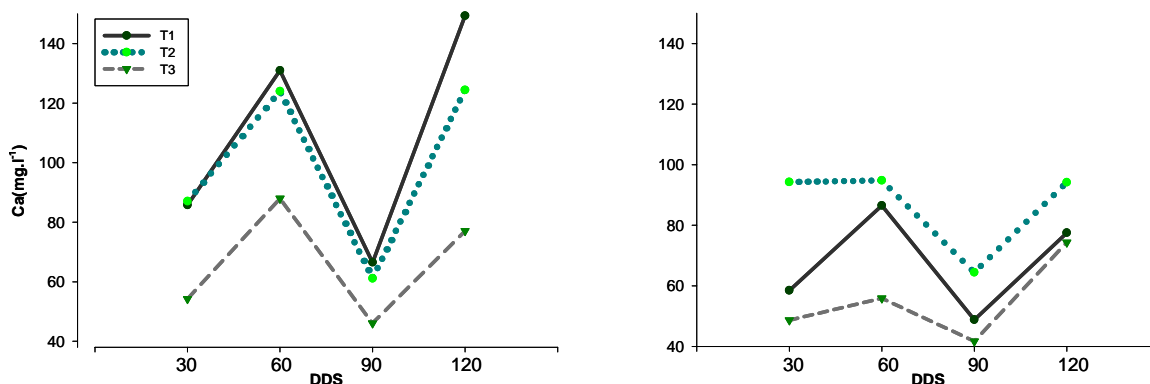


Figura 32. Variación del Ca²⁺ en la solución del suelo.

Alrededor de 15 ppm de Ca²⁺ en solución es adecuado para la mayoría de cultivos. Mayor concentración del elemento tiene efecto insignificante en la absorción, debido a que este proceso es controlado genéticamente (Tisdale *et al.*, 2005). Lo anterior implica que aun en los menores contenidos presentes en la fase soluble, las cantidades son suficientes para suplir las necesidades del cultivo.

Magnesio (Mg²⁺). El análisis de varianza (anexo 7e) mostró que el Mg²⁺ varía entre lotes y tratamientos a través del tiempo. Presentó diferencias significativas entre lotes (Pr>F=0.0049) con promedio de 12,63 y 13,26 mg.L⁻¹ en el lote E y F, respectivamente y diferencias altamente significativas por efecto de los tratamientos (Pr>F<0.0001), con valores extremos de 21,03 y 6,54 mg.L⁻¹ en el T3 lote E 60 dds y T1 lote F 120dds, respectivamente.

La mayor solubilidad del elemento se presentó hacia los 60 dds con valores de 16,37 y 14,59 mg.L⁻¹ en E y F, respectivamente (figura 33). El T3 presentó los mayores valores de Mg²⁺ en solución (21,03 y 19,36 mg.L⁻¹ en E y F, respectivamente) y el T1 los menores (7,03 y 6,54 mg.L⁻¹ en E y F 120dds, respectivamente).

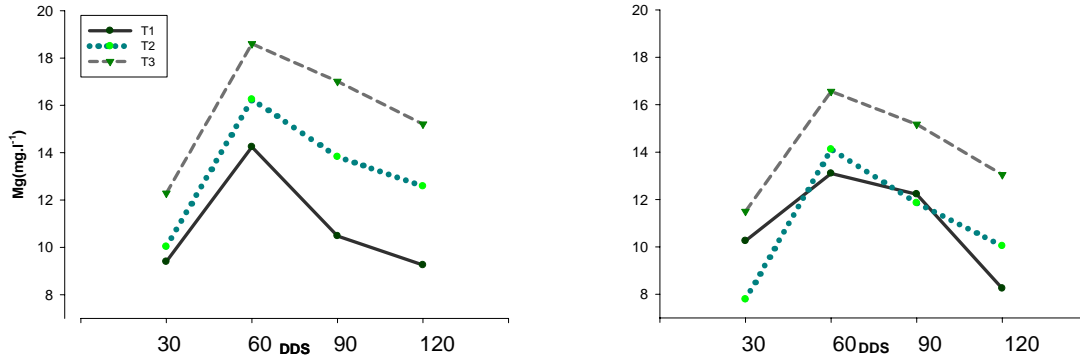


Figura 33. Variación del Mg^{2+} en la solución del suelo.

Las diferencias presentadas entre tratamientos, con las mayores concentraciones en el T3, demuestran que la aplicación de la fuente magnésica permite el paso de mayor cantidad de Mg^{2+} hacia la solución del suelo y con ello estaría en mayor disposición para ser absorbido por parte de las plantas.

Los valores óptimos de Mg^{2+} en solución varían entre 5 y 50 ppm, aunque se han encontrado valores entre 120 y 2400 ppm, siendo estos valores dependientes de las interacciones con otros cationes como el K^+ y Ca^{2+} , donde altos valores principalmente del primero, puede interferir con la absorción del Mg^{2+} (Tisdale *et al.*, 2005). Pese a esto, se observó una relación positiva entre el Mg^{2+} y el K^+ en solución ($r=0,63$; $Pr>F<0,0001$), sugiriendo que los aportes y el mejoramiento en las relaciones entre éstos elementos esenciales favorece su disponibilidad.

Sodio (Na^+). El análisis de varianza (anexo 7f) mostró que el Na^+ varía entre lotes y tratamientos a través del tiempo. Presentó diferencias significativas entre lotes ($Pr>F=0.0008$) con promedio de 83,34 y 30,80 $mg.L^{-1}$ en el lote E y F, respectivamente y diferencias significativas por efecto de los tratamientos ($Pr>F=0.0048$), con valores extremos de 163,21 $mg.L^{-1}$ y 25,14 $mg.L^{-1}$ en el T2 lote E 120 dds y T3 lote F 30dds, respectivamente.

La mayor solubilidad del elemento se presentó hacia los 120 dds con valores de 119,73 y 100,71 $mg.L^{-1}$ en E y F, respectivamente (figura 34). El T2 mostró los mayores valores de Na^+ en solución (163,21 y 142,84 $mg.L^{-1}$ en E y F, respectivamente) y el T3 los menores (45,17 y 25,14 $mg.L^{-1}$ en E y F 120dds, respectivamente).

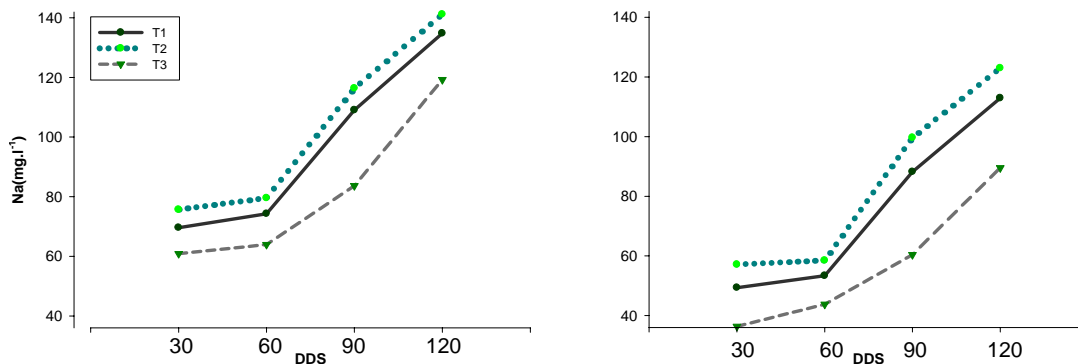


Figura 34. Variación del Na^+ en la solución del suelo.

Como se puede observar en la figura 20, el descenso en el contenido de Na en la fase cambiante, conlleva a un incremento en su concentración en la fase líquida del suelo y por tanto mayor disponibilidad para la planta.

Malavolta (2006), reporta una concentración de Na^+ en solución entre 0,5 y 5 mg.L^{-1} . Los valores obtenidos en la presente investigación son muy superiores y pueden intervenir en la adecuada absorción de las otras bases cambiables, especialmente la del K^+ .

Azufre (SO_4^{-2}). El análisis de varianza (anexo 7g) mostró que el SO_4^{-2} varía con diferencias significativas ($\text{Pr}>\text{F}=0.0004$) entre tratamientos a los 90 y 120 dds, con valores extremos de 0,00 mg.L^{-1} y 0,95 mg.L^{-1} en el T3 lote E 120 dds y T1 lote F 90dds, respectivamente.

La mayor solubilidad del elemento se presentó hacia los 90 dds con valores de 0,48 y 0,45 mg.L^{-1} en E y F, respectivamente (figura 35). El T2 presentó los mayores valores de SO_4^{-2} en solución (0,87 y 0,95 mg.L^{-1} en E y F, respectivamente) y el T3 los menores (0,00 mg.L^{-1} en E y F120dds).

La mayoría de los cultivos requiere que en solución exista una cantidad de SO_4^{-2} cercana a 5ppm (Tisdale *et al.*, 2005). El S llega a las raíces por procesos de difusión y flujo en masa. Si $\text{SO}_4^{-2} > 5\text{ppm}$, el requerimiento total del cultivo puede ser suplido por flujo en masa; si $\text{SO}_4^{-2} < 5\text{ppm}$, el proceso dominante será la difusión, el cual puede ser la forma en que es suministrado a la cebolla.

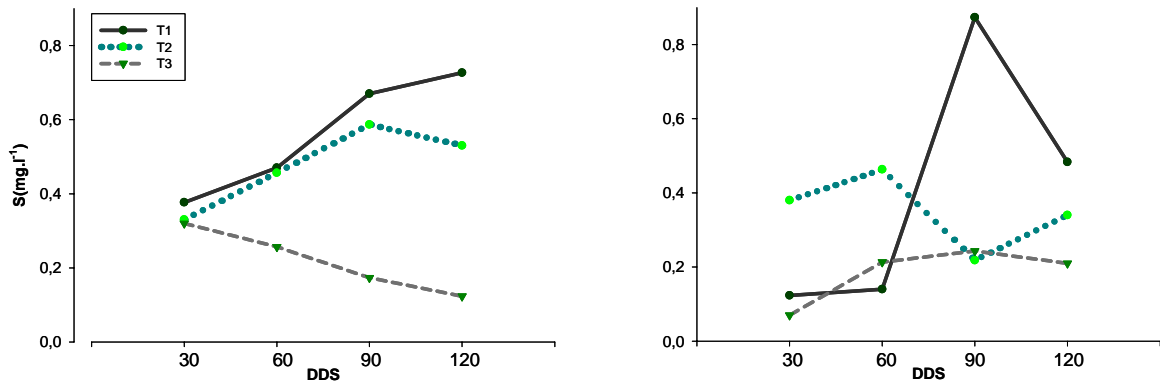


Figura 35. Variación del SO_4^{-2} en la solución del suelo.

Pese a los contenidos de S en el suelo (145 mg.kg^{-1}), se observa que sólo una pequeña fracción de éste pasa a estar disponible para las plantas ($<1\%$), situación que puede deberse a la misma absorción por parte del cultivo, baja mineralización a partir de la materia orgánica y óxidos e hidróxidos de hierro o por la formación y acumulación de sales. Por otro lado, el SO_4^{-2} puede ser lavado a través del perfil del suelo o producirse mayores pérdidas cuando la solución esta siendo dominada por cationes monovalentes, como se presenta en los dos lotes en estudio.

En Resumen, en la solución del suelo las concentraciones de los nutrientes estudiados (figura 36), se presentaron en el orden: $\text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{P} (\text{H}_2\text{PO}_4^- - \text{HPO}_4^{2-}) > \text{SO}_4^{2-}$, con las relaciones entre las bases: $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+} = 6,38$; $\text{Mg}^{2+}/\text{K}^+ = 0,136$ y $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}/\text{K}^+ = 1,01$.

Siendo el T3, el que mayor rendimiento alcanzó ($50,54 \text{ Mg.ha}^{-1}$), en la tabla 8 se reportan los valores promedio del contenido de nutrientes en solución obtenidos por este tratamiento comparado con el T1, que reportó los menores rendimientos durante el ensayo en los lotes donde se realizó el experimento.

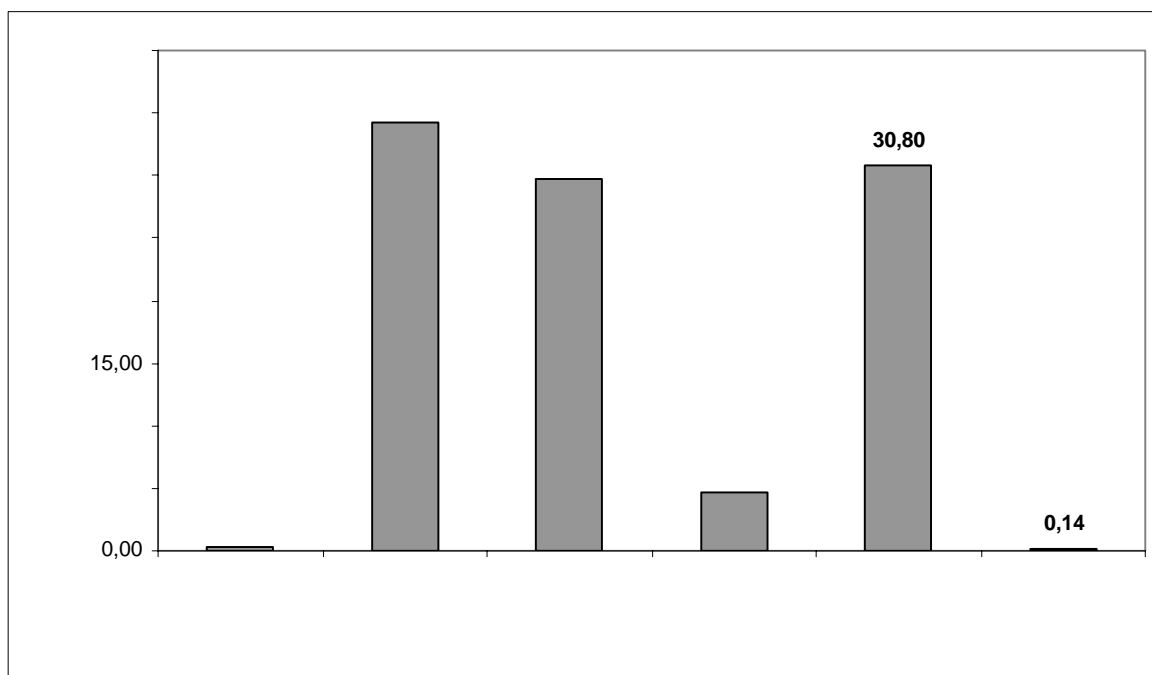


Figura 36. Distribución porcentual del contenido promedio de nutrientes en la solución del suelo.

Tabla 8. Comparación del contenido de nutrientes en la solución de suelo obtenidas por el tratamiento de mayor (T3) y menor (T1) rendimiento.

Parámetro y/o elemento	Unidad	T1	T3
	Un	7,91	7,76
Fósforo		0,83	0,98
Potasio		76,84	106,85
Calcio	mg.L ⁻¹	87,99	60,75
Magnesio		10,90	14,92
Sodio		86,44	69,72
Azufre		0,48	0,20
Ca:Mg		8,07	4,07
Mg:K		0,14	0,14
Ca+Mg/K		1,29	0,71
Rendimiento	Mg.ha ⁻¹	26,58	50,54

Como se puede apreciar una pequeña alteración en los contenidos de nutrientes en solución y más específicamente en sus relaciones, da como resultado una caída drástica en el rendimiento total del cultivo ($\approx 46,8\%$).

Propiedades químicas en solución y su relación con el daño producido por *Sclerotium cepivorum*.

El análisis de correlación de Spearman mostró que el Na ($r= 0,51$; $Pr>F<0,0001$) y el S ($r= 0,82$; $Pr>F<0,0001$) en solución presentan relación directa con el daño producido por *S. cepivorum*. Lo anterior indica que mayor cantidad de estos elementos en la solución del suelo, incrementa el porcentaje de daño, favoreciendo la germinación de esclerocios.

Siendo la solución extraída directamente del área de influencia radical de la especie, es de suponer que el proceso de rizodeposición incrementa las concentraciones de elementos como el S, del cual la cebolla deriva su sabor y olor característicos, y así patógenos hospedero-específico como es el caso de *S. cepivorum* logren germinar y producir daño.

6.2.4 Variación de la riqueza bacteriana del suelo.

Estructura de las comunidades bacterianas. El análisis de varianza (tabla 9) mostró que la estructura de las comunidades bacterianas varía con diferencias altamente significativas a través del tiempo ($Pr>F=0.0001$) con valores extremos de 15 y 34 amplicons en E 120 dds y F 90dds, respectivamente.

El test de tukey (tabla 10), mostró que la mayor riqueza bacteriana se presentó hacia los 30 y 60 dds con valores de 30 y 34 amplicons en E y F, respectivamente (figura 37) y la menor se presentó hacia los 90 y 120 dds con valores de 15 y 24 amplicons en E y F, respectivamente. Por otro lado, el T1 presentó la mayor riqueza bacteriana con 22,35 y 31 amplicons en E y F, respectivamente y el T3 los menores (19,5 y 27 amplicons en E y F, respectivamente).

Tabla 9. Análisis de medias repetidas de la varianza. Variable: Amplicons.

FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F
LOTE	1	1458,000	1458,000	632,93	<0,0001
TRATAMIENTO	2	141,7500	70,87500	30,77	<0,0001
ERROR	14	32,25000	2,303571		

Tabla 10. Prueba del rango estudentizado de Tukey. Variable: Amplicons.

FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
	E	F	1	2	3
30 dds	23,333 b	27,000 a	28,000 a	25,500 a	22,000 b
60 dds	22,666 b	31,333 a	29,500 a	25,000 b	26,500 b
90 dds	16,666 b	30,000 a	24,500 a	21,500 b	24,000 a
120 dds	18,333 b	28,666 a	24,500 a	25,500 a	20,500 b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Es de resaltar que el T1, con mayor riqueza bacteriana presentó a nivel químico, los mayores valores de materia orgánica, N, P, S, B, Fe y Cu en la fase intercambiable y de SO_4^{2-} en la fase soluble y a nivel físico presenta los mayores valores en contenido de humedad, arcillas y proporción de microporos. Situación que demuestra que el pH, la concentración de materia orgánica, el contenido de nutrientes y las practicas de manejo pueden estar influenciando la actividad y las comunidades bacterianas (Singh *et al.*, 2006).

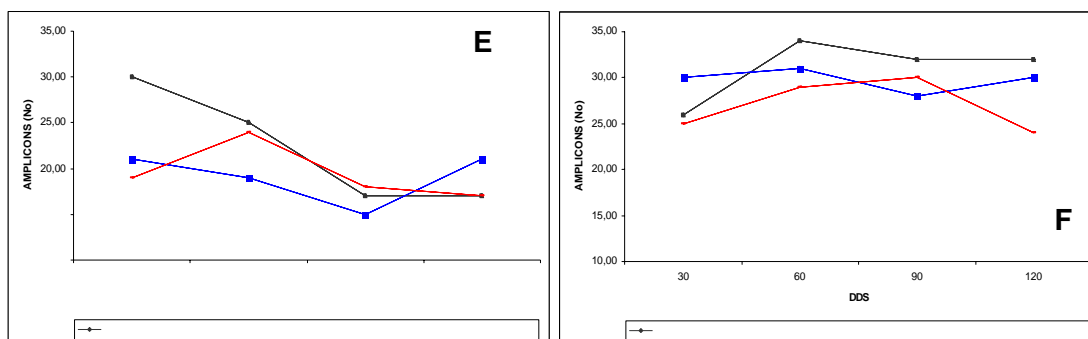


Figura 37. Variación de la riqueza bacteriana del suelo.

De modo general, la mayor actividad biológica del suelo se presenta en superficie como resultado de la acumulación de materia orgánica, disposición de residuos vegetales y animales, además de los mayores efectos del sistema de raíces de las plantas (Moreira y Siquiera, 2006; Siquiera y Franco, 1998). En este trabajo, la concentración de materia orgánica en el T1 fue 7,1% y 5% mayor que en T2 y T3, respectivamente, indicando la presencia de mayor cantidad y actividad bacteriana en éste tratamiento.

El grado de acidez o alcalinidad, constituye una característica fundamental del ambiente, y tiene efecto marcado sobre la manera de cómo vive y sobrevive un microorganismo y lo que es más importante, el pH es uno de los factores ambientales del sistema suelo que suele manipularse en mayor medida para favorecer el crecimiento vegetal (Aguirre y Piraneque, 2007). Durante la investigación, el T1 presentó los mayores valores en el pH, demostrando lo sugerido por Coyne (2000) y Moreira y Siquiera (2006) quienes afirman que los procariotas se asocian en mayor proporción a pH alto.

El agua del suelo presenta un efecto fundamental sobre los factores ambientales (factores extrínsecos) que influyen en la actividad microbiana. Los factores predominantes que controlan la difusión de nutrientes, y la movilidad en el suelo son el espesor de la capa de agua y la continuidad de estas capas. A medida que el suelo se seca, las capas de agua se adelgazan rápidamente, ralentizándose la difusión. Esta reducción del grosor de la capa de agua impide la movilización de las bacterias y los protozoos (Aguirre y Piraneque, 2007; Coyne, 2000).

Por otro lado es de resaltar que el daño presentó relación inversa con la riqueza bacteriana, es decir que el tratamiento que expresó mayor daño (T1), presenta menor diversidad de especies bacterianas, lo que pone de manifiesto la importancia del manejo adecuado de la nutrición vegetal como estrategia para incrementar la diversidad microbiana y con ello brindar una alternativa de protección vegetal.

Lo anterior y, según lo descrito por Lambais *et al.*(2005), la diversidad microbiana puede ser utilizada como indicadora de disturbios en los suelos dedicados a la producción de *A. cepa* debido entre otros aspectos a su participación en la descomposición de la materia orgánica y en las diferentes transformaciones durante los ciclos biogeoquímicos y por tanto, en la disponibilidad de nutrientes para las plantas.

6.3. ESTUDIO DE ABSORCIÓN

Los Estudios de absorción contabilizan la extracción o acumulación de nutrientes de un cultivo para completar su ciclo productivo (Bertsch, 2003). Estos permiten conocer la cantidad de nutriente

que es absorbida por un cultivo para producir un rendimiento dado en un periodo de tiempo definido.

Los datos provenientes de un estudio de absorción permiten obtener la medida más real sobre las necesidades nutritivas que un cultivo tiene desde la siembra hasta la cosecha y por tanto representan las cantidades mínimas que se debe suplir para alcanzar un rendimiento determinado.

6.3.1. Acumulación de Materia Seca (M.S). La acumulación de masa seca de un cultivo en función del tiempo, permite obtener la curva de crecimiento de la especie (figura 38). El conocimiento de los patrones de acumulación de materia seca en un cultivo, posibilita mejor entendimiento de los factores relacionados con la nutrición mineral y consecuentemente con la fertilización, toda vez que la absorción de nutrientes se encuentra influenciada por la tasa de crecimiento de la planta (Glass, 1989; Marschner, 2003; Pôrto *et al.*, 2006).

El análisis de varianza (anexo 8a) mostró diferencias significativas entre lotes ($Pr>F=0,0169$) y altamente significativas entre tratamientos ($Pr>F<0,0001$). Los valores de máxima acumulación de MS fueron $409,5 \text{ g.m}^{-2}$ ($6609,90 \text{ kg.ha}^{-1}$) y de 405 g.m^{-2} ($5362,68 \text{ kg.ha}^{-1}$) en los lotes F y E a los 120dds, respectivamente.

La acumulación de MS presentó tres fases distintas en cuanto a la magnitud de ganancia en masa (figura 38). En la primera, se acumularon cantidades bajas de MS, en relación con la máxima acumulación ($706,37$ y $730,09 \text{ kg.ha}^{-1}$ en E y F, respectivamente), comportamiento que fue marcado en T1 y T2.

La segunda fase marca la mayor acumulación de MS, que ocurrió hasta acercarse el día 90, donde fueron acumulados $1854,21$ y $1935,44 \text{ kg.ha}^{-1}$, que corresponden a $93,08$ y $87,43\%$ del total acumulado por el cultivo en E y F, respectivamente.

La tercera fase se caracterizó por una pequeña acumulación de MS y duró 30 días (90-120dds). En esta fase se suprimió el crecimiento de la parte aérea y se presentó desaceleración en el incremento de la variable en estudio, lo que puede explicarse por la translocación de nutrientes de hojas al bulbo y la maduración de éste.

La cebolla tiene crecimiento lento en la primera mitad del ciclo (Haag *et al.*, 1970; Wiedenfeld, 1994), a partir de allí, se inicia la bulbificación (Gamiely *et al.*, 1991) y con ella, se inicia la translocación de fotoasimilados y otros compuestos para el bulbo, habiendo rápida acumulación de MS en este órgano (Brewster, 1994; Salisbury y Ross, 2000).

Las hojas son las responsables del proceso de fotosíntesis, son importantes en la formación del bulbo, a partir de estas se translocan los nutrientes hacia abajo y tienen una relación directa con la productividad del cultivo, cuanto más tiempo permanezcan sanas y verdes, mayor será la fotosíntesis en la planta.

Al final del periodo evaluado (120 dds), la acumulación de MS del T3 supero en 80% y 66,6% a T1 y T2, respectivamente. Lo cual demuestra que el cultivo responde de manera positiva a la fertilización con base al manejo de relaciones de nutrientes.

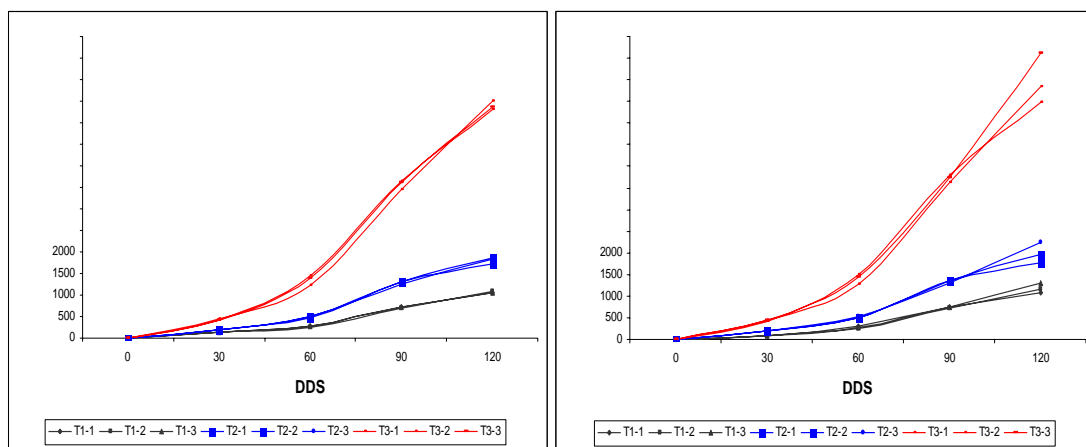


Figura 38. Curvas de crecimiento de *Allium cepa*.

La mayor acumulación de MS se presentó en T3, con valores de $4,73 \text{ g.m}^{-2}\text{día}^{-1}$, en el periodo de 0 - 90 dds, mientras que los menores se obtuvieron en T1 con $0,93 \text{ g.m}^{-2}\text{día}^{-1}$. Valores que coinciden con los obtenidos por Aguirre (2006), quien evaluando el efecto de la fertilización con base a análisis de suelos en un *Sulfic endoaquepts*, encontró valores máximos de acumulación de $3,4 \text{ g.m}^{-2}\text{día}^{-1}$ y mínimos de $0,85 \text{ g.m}^{-2}\text{día}^{-1}$.

La cebolla es un cultivo que responde positivamente a la fertilización, por lo que probablemente repercutió en mayor

disponibilidad de elementos nutrientes en T3, ofreciendo a la planta condiciones adecuadas de crecimiento (figura 39) y mayor tolerancia a plagas y enfermedades (Marschner, 2003).

Se determinó que la MS varía en el tiempo y es acompañada por la absorción y acumulación de nutrientes, esto concuerda con lo reportado por Haag *et al* (1970), estudiando el crecimiento y acumulación de nutrientes del cultivar de cebolla "Bahía Periforme Precoz de Piracicaba", quienes observaron que la acumulación de nutrientes estuvo acompañada por el incremento en la MS.

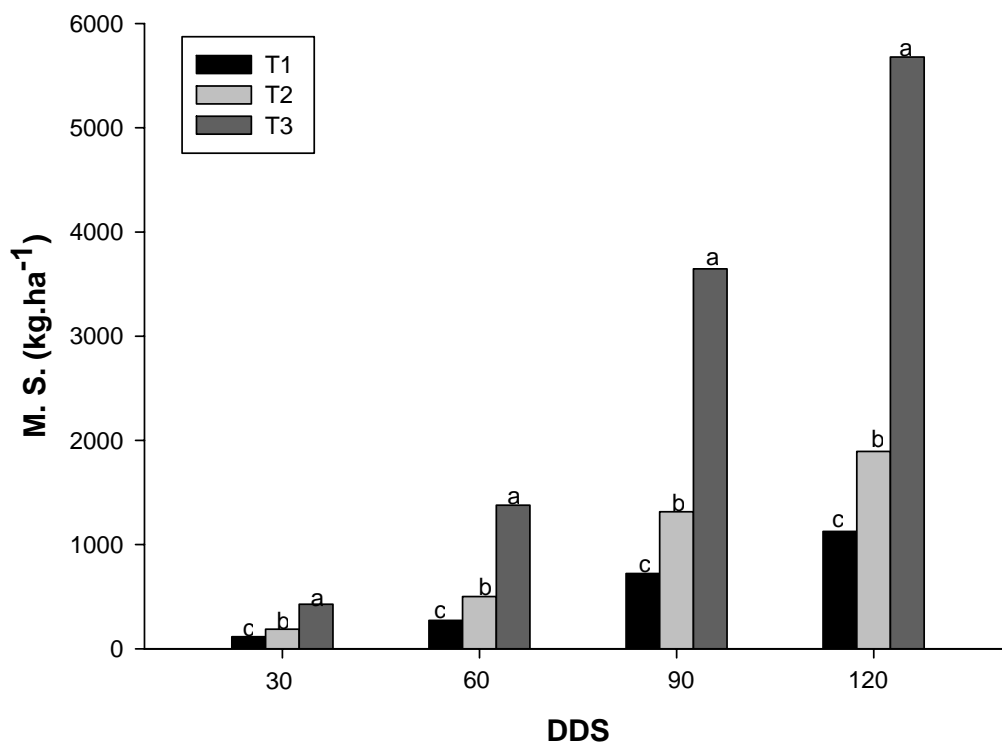


Figura 39. Acumulación de MS en los lotes E y F en cada época y tratamiento.

6.3.2. Absorción y acumulación de nutrientes.

Para determinar qué elementos (macro y micronutrientes) requiere un cultivo y en qué cantidad son absorbidos, se realizó el análisis químico de plantas. Para ello, se tomaron muestras de tejidos a los 30, 60, 90 y 120 dds para luego determinar su contenido y evolución. En el anexo 8 se puede apreciar el análisis de varianza de medias repetidas de cada una de las variables medidas.

6.3.2.1 Macronutrientes. La tabla 11 muestra la evolución de la concentración de macronutrientes a nivel de tejidos expresada en peso seco por época de muestreo y tratamiento.

Tabla 11. Concentración de macronutrientes (g.kg^{-1} de M.S) por el cultivo de cebolla en diferentes épocas.

LOTE	TRAT	dds	N	P	K	Ca	Mg	S
E	1	30	17,15	3,77	22,82	17,38	1,11	2,68
E	2	30	13,97	4,58	17,49	21,31	1,36	3,03
E	3	30	14,33	4,27	20,16	21,58	0,87	3,50
E	1	60	21,25	2,90	30,57	11,54	1,85	3,67
E	2	60	21,54	2,67	30,78	12,31	1,72	2,90
E	3	60	13,84	4,48	18,08	22,25	1,10	2,85
E	1	90	28,09	1,66	38,47	6,31	2,70	4,04
E	2	90	25,12	1,75	37,84	5,92	1,93	4,21
E	3	90	13,02	4,63	16,27	22,76	1,46	2,68
E	1	120	31,32	1,41	44,52	4,45	3,19	5,61
E	2	120	23,12	1,90	35,77	7,34	2,48	4,74
E	3	120	12,29	5,26	14,05	25,68	2,24	2,35
F	1	30	25,18	4,62	30,59	22,55	2,40	3,41
F	2	30	30,40	3,98	39,57	17,34	2,29	4,76
F	3	30	22,94	4,88	34,77	24,87	2,16	3,17
F	1	60	26,14	4,43	37,74	13,09	2,67	3,62
F	2	60	36,35	3,24	50,62	16,35	2,58	5,67
F	3	60	27,78	4,40	41,10	23,84	2,40	3,92
F	1	90	38,47	2,32	55,57	13,71	3,14	6,04
F	2	90	29,78	4,16	45,62	22,02	2,50	4,69
F	3	90	31,73	3,85	51,56	22,47	3,03	4,33
F	1	120	32,05	3,19	42,54	21,35	3,65	4,68
F	2	120	30,40	3,75	46,45	22,25	3,22	4,56
F	3	120	30,55	4,02	51,72	23,64	3,42	4,61

TRAT: Tratamiento; dds = días después de la siembra en que se recolecto la muestra. E: Lote Estancia; F: Lote Flores. La zona resaltada indica el periodo de máxima absorción.

Nitrógeno. A nivel general se observa que la mayor concentración de N se reporta a los 90 dds en los dos lotes (tabla 11), periodo que coincide con inicio de la maduración del bulbo. Fue el segundo macronutriente más acumulado, coincidiendo con Filgueira (2003), quien afirma que éste es normalmente el segundo nutriente más requerido por plantaciones olerícolas. Vidigal *et al* (2002), trabajando con cebolla Alfa Tropical también constato que el N fue el segundo macronutriente más acumulado con $18 \text{ mg.planta}^{-1}$.

Aguirre (2006), en las condiciones descritas en esta investigación para el lote E, también reportó al N como el segundo macronutriente más acumulado por el cultivo de cebolla.

Estadísticamente (anexo 8b), el comportamiento la absorción del nitrógeno presentó diferencias significativas entre lotes ($Pr>F=0,0022$), siendo el lote F el que mostró mayor promedio de acumulación en el periodo evaluado ($88,606 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$), mientras que el lote E acumuló $73,716 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$. Por otro lado, el análisis mostró diferencias altamente significativas entre tratamientos ($Pr>F<0,0001$), con acumulación media de 101,337, 99,188 y $42,957 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, para T2, T3 y T1, 120dds, respectivamente.

Estos resultados difieren de los reportes presentados por Brewster (2001), quien encontró que el cultivo absorbe $25 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$ pero son próximos a los obtenidos por Aguirre (2006) quien reportó una absorción de $57,93 \text{ kg de N}\cdot\text{ha}^{-1}$ en las condiciones descritas para el lote E. Se observó que las plantas donde el N se suministra en forma excesiva y/o inadecuada, retrasan la madurez y reprimen el desarrollo del bulbo (Tisdale *et al.*, 2005).

La absorción de este elemento es influenciada por el estado de desarrollo de la planta, la disponibilidad del mismo y las condiciones ambientales. La mayor tasa de acumulación de N en la planta se presentó en el periodo comprendido entre 60 y 90 días (figura 40), época vegetativa que coincide con la mayor precipitación y disminuye sus contenidos con la maduración del bulbo.

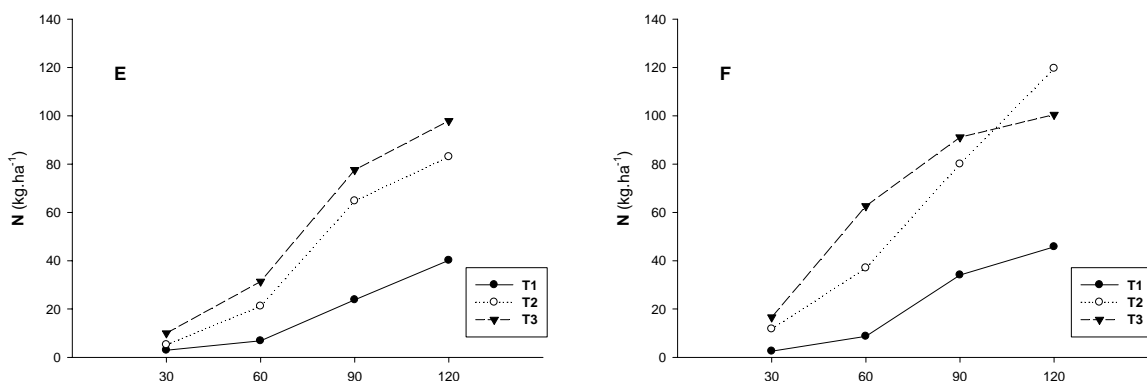


Figura 40. Variación del contenido de N en tejidos.

El T1, con menor rendimiento, presentó las mayores tasas de acumulación de N en el periodo comprendido entre 90 y 120 dds, mientras que en T3 (tratamiento que reportó el mayor rendimiento) fueron menores. A manera comparativa, el T1 extrajo en promedio el 32% del N en el último periodo evaluado (90-120 dds), mientras que para el mismo periodo el T3 acumuló el 14,95% del elemento.

La disminución de los contenidos de N al final del ciclo productivo (madurez) puede estar relacionada con la disminución en el contenido de proteínas al avanzar el tiempo (De Visser, 1994) o por efecto de la sombra de unas plantas sobre otras en la medida que se desarrolla el área foliar (Bosch, 1999)

Los contenidos de N están afectados por las condiciones de humedad del suelo, es decir, a menor condición de disponibilidad hídrica, menores contenidos de N en tejidos (Bosch, 1999). Situación que concuerda con lo encontrado en este trabajo, donde, en la época con mayor disponibilidad hídrica 30-60dds, se presentó la mayor acumulación del elemento y por tanto mayor incremento en área foliar, mientras que hacia madurez (120dds), los contenidos disminuyeron notablemente.

Lemaire y Gastal (1997) trabajando en cereales, indican que a medida que se desarrolla nueva área foliar en la planta esta tiene que invertir una mayor proporción de las ganancias netas de carbono en tejidos estructurales, para mantener esta nueva área foliar en posición adecuada para interceptar más luz. Como los tejidos estructurales poseen menos contenidos de N que la biomasa asociada a la interceptación lumínica, se observaría al avanzar el ciclo una disminución de N en los tejidos de la planta.

Fósforo. Al igual que el N, el P se encuentra involucrado en diversos procesos vitales que repercuten en el rendimiento de un cultivo en particular. Después del Mg y el S, fue el macronutriente que presentó menor absorción.

Las mayores concentraciones de Fósforo en tejidos se registraron en la época de crecimiento vegetativo (0-60dds), indicando que el elemento debe estar disponible con anterioridad a para facilitar la absorción y el correcto metabolismo de la planta.

La acumulación de fósforo presentó diferencias significativas ($Pr > F = 0,0016$) entre tratamientos a través del tiempo (figura 41). El análisis (anexo 8c) permitió determinar que la mayor absorción de P se presentó en el T3 con promedio de 3,265, 10,0283, 19,255 y 27,608 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ a los 30, 60, 90 y 120dds, respectivamente.

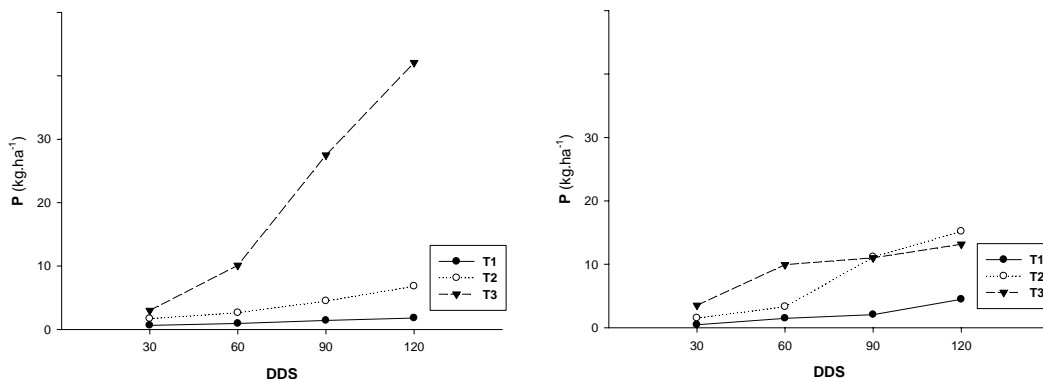


Figura 41. Variación del contenido de P en tejidos

La concentración del elemento a nivel foliar varió en promedio entre el 3 y 5% en E y F, respectivamente. Este nutriente, facilita el manejo del bulbo en postcosecha y esta directamente relacionado con la calidad, resistencia al transporte y conservación. Su absorción es restringida por factores como pH, materia orgánica, presencia de óxidos e hidróxidos de Fe^{3+} y Al^{3+} y de elevadas concentraciones de calcio en el suelo (Brewster, 2001).

Teniendo en cuenta el escaso desarrollo de raíces en la especie y la limitada movilidad y disponibilidad del elemento, así como su importancia en el metabolismo de la planta (principalmente en el almacenamiento y transferencia de energía), es necesario que se encuentre presente en el suelo antes de establecer el cultivo y el manejo del riego con mayor frecuencia en su aplicación.

Potasio. A diferencia del N, P y muchos otros nutrientes, el K^+ no hace parte estructural de compuestos en la planta, existiendo en solución o unido a cargas negativas en la superficie foliar. Fue el nutriente acumulado en mayor cantidad por el cultivo.

Vidigal *et al* (2003), obtuvieron resultado semejante con el cultivar Alfa Tropical, coincidiendo con lo obtenido por Aguirre (2006) y por

Fontes (1998) y Filgueira (2003) quienes afirman que el potasio es el nutriente extraído en mayor cantidad por las especies hortícolas.

El análisis de varianza (anexo 8d) mostró diferencias significativas entre lotes ($Pr > F = 0,0004$). Presentándose el mayor promedio en el lote F 90dds ($137,95 \text{ kg de P.ha}^{-1}$). El comportamiento del elemento en la planta sigue el mismo patrón presentado para el caso de N. Su absorción se intensifica con el desarrollo vegetativo del cultivo hasta máxima bulbificación, para reducir su concentración hacia la madurez del bulbo (figura 42).

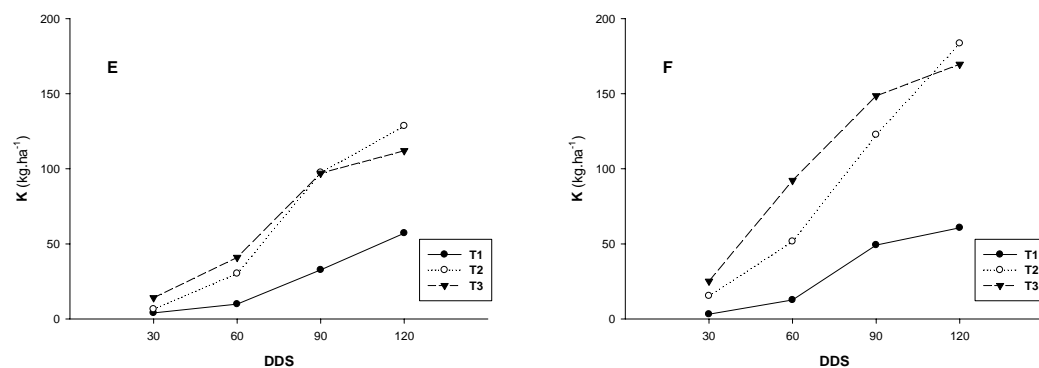


Figura 42. Variación del contenido de K^+ en tejidos.

El K^+ está involucrado en la activación de enzimas importantes en la utilización de energía, síntesis de carbohidratos, respiración y metabolismos del N. De ahí que los dos presenten el mismo comportamiento.

La máxima absorción promedio del elemento se presentó en el periodo 60-90 dds, con acumulación de $29,71$, $69,14$ y $56,21 \text{ kg.ha}^{-1}$ ($50,4$, $44,3$ y $39,92\%$) para T1, T2 y T3, respectivamente.

Los valores más altos en los contenidos de K^+ en solución se presentaron en el periodo 60 a 90dds, situación que pudo haber favorecido su absorción por parte de la planta. En cebolla su adecuado suministro y absorción favorece el tamaño y la calidad del bulbo favoreciendo su almacenamiento.

Por lo anterior, es primordial que este elemento se encuentre disponible desde el establecimiento del cultivo. Marschner (2003) subraya la importancia de absorción de K^+ como catión para la osmoregulación, mecanismo de adaptación a condiciones de estrés

hídrico en la planta y activador enzimático en el metabolismo proteico. Este elemento se encuentra involucrado en la síntesis y transporte de fotosintatos a los órganos de reserva y la subsecuente transformación en carbohidratos, proteínas, aceites, etc (Tisdale *et al.*, 2005; Aguirre y Piraneque, 2007).

Calcio. Es absorbido como Ca^{2+} a partir de la solución del suelo, y el mecanismo de transporte hacia la superficie radical es el flujo de masa (Tisdale *et al.*, 2005). Siendo el elemento que se encuentra saturando la CIC de los suelos en estudio, es posible que se acumule en la vecindad de las raíces (Marschner, 2003). Su concentración en los tejidos fue de 26,3 y 23,35% en E y F, respectivamente, siendo el tercer nutriente más absorbido por la planta, semejante a lo reportado por Aguirre (2006) y Pôrto *et al.*, (2006).

El análisis estadístico (anexo 8e), mostró que la absorción a través de las épocas no presentaron diferencias significativas entre lotes ($\text{Pr}>\text{F}=0.74$), pero exhibieron diferencias altamente significativas entre tratamientos ($\text{Pr}>\text{F}<0.0001$). El lote E presentó el mayor promedios de acumulación ($73,60 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$), mientras que en términos de concentración, sus valores son elevados al inicio del periodo evaluado (tabla 11), los que disminuyen hasta que la planta alcanza la máxima bulbificación, para luego volver a incrementarse con la madurez.

El T3 con $133,29 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ se diferenció estadísticamente de T1 y T2, los cuales acumularon en promedio $17,71$ y $57,16 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, respectivamente (figura 43).

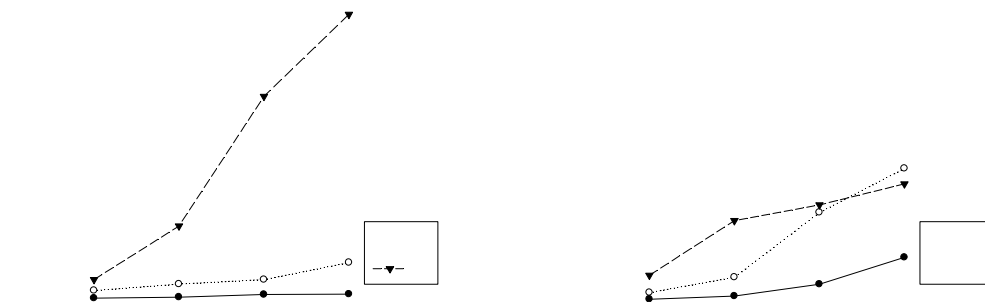


Figura 43. Variación del contenido de Ca^{2+} en tejidos.

Como el Ca^{2+} es un elemento prácticamente inmóvil en la planta, los mayores contenidos del elemento cerca de la madurez se explican por estar los muestreos cerca de este estado fisiológico, en el que se frena aún más su movilidad.

El Ca^{2+} es importante para el metabolismo del N, la formación de proteínas y regula la absorción de otros cationes como el K^+ y Na^+ , la cual es equivalente en ausencia del Ca^{2+} , pero en su presencia, la absorción de K^+ supera la de Na^+ , como se puede apreciar en la tabla 11.

Con lo anterior y, con el precepto de la inmovilidad del elemento en la planta, es imprescindible que se suministre de manera adecuada y continua a fin de soportar el crecimiento y el desarrollo de los bulbos.

Marschner (2003), indica que se pueden observar incrementos en el contenido de este elemento en hojas al aumentar su concentración en la solución externa, este incremento puede pasar desapercibido en otros órganos que son alimentados vía floema ya que la movilidad del calcio por esta vía es baja. Malavolta *et al* (1997) describe que el mayor flujo de K^+ hacia los bulbos, coincide con una reducción en la acumulación de Ca^{++} en estos órganos, atribuyendo este comportamiento a competencia entre los dos nutrientes.

Cerca de la madurez, con los menores contenidos de humedad, se obtienen las concentraciones más altas de calcio, lo que se puede explicar por la pérdida de hojas verdes acompañada de menor disponibilidad de agua en este periodo tal como lo describe Hedge (1988) quien detalla incrementos en la concentración de Ca^{++} en cebolla al disminuir el potencial de agua en el suelo.

Magnesio. La absorción del elemento usualmente es mucho menor que la de Ca^{2+} y K^+ . La concentración de Mg^{2+} promedio en tejidos, se encontró alrededor del 3,5%, lo que difiere a lo descrito por Tisdale *et al* (2005), quienes afirman que la concentración de Mg^{2+} en los cultivos varía entre 0,1 y 0,4%.

El análisis de varianza (anexo 8f), mostró diferencias altamente significativas entre tratamientos ($\text{Pr}>\text{F}<0.0001$). Los valores máximos de absorción promedio fueron alcanzados por el lote E (10,313 kg. de $\text{Mg}^{2+} \cdot \text{ha}^{-1}$) 120dds (figura 44). La concentración del

elemento fue elevada en el periodo de formación y maduración del bulbo (tabla 11), siendo necesario su adecuado suministro debido a que es constituyente primordial de la molécula de clorofila y sin ésta, la fotosíntesis no puede desarrollarse.

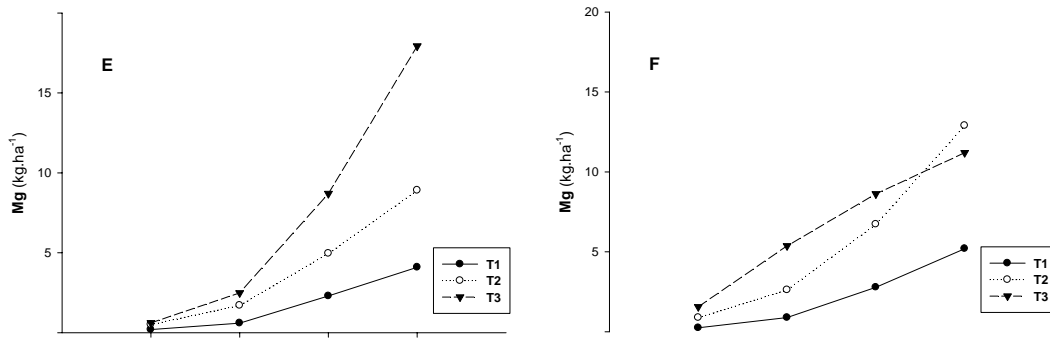


Figura 44. Variación del contenido de Mg^{2+} en tejidos

Las concentraciones de Mg^{2+} obtenidas, coinciden con los reportados por Aguirre (2006) quien estudiando la absorción del elemento en diferentes épocas, encontró valores que oscilaron entre 2,01 y 3,41 g. de $Mg^{2+} \cdot kg^{-1}$ de MS y con los reportados por Figueroa y Torres (2002), quienes afirman que una producción de $35 Mg \cdot ha^{-1}$, presenta un nivel de suficiencia foliar cercano a $3,3 g \cdot kg^{-1}$.

Como se puede apreciar en la figura 44, la disponibilidad hídrica (30 a \pm 90 dds) permite que las tasas de extracción de Mg^{2+} sean constantes. Lo anterior debido a que el flujo de masa contribuye con el transporte de un alto porcentaje del elemento hacia las raíces de las plantas.

Azufre. Requerido en la síntesis de aminoácidos que contienen S (cysteina, Cystina y methionina), componentes esenciales de proteínas que contienen cerca del 90% del S en las plantas (Tisdale *et al.*, 2005). La cebolla es una planta exigente en azufre, afecta el sabor y el aroma del producto debido a su participación como constituyente de los aminoácidos azufrados, los cuales son precursores de compuestos volátiles responsables por el aroma y pungencia característicos de la especie (Malavolta *et al.*, 1997).

El análisis de varianza (anexo 8g), mostró diferencias significativas entre tratamientos ($Pr>F<0,0001$), más no así entre lotes. ($Pr>F=0,78$). La absorción del elemento varía entre 5,12 y 4,7%, siendo el lote E el que exhibió mayor acumulación, con 14,304 kg. de S. ha^{-1} . En términos de concentración del elemento, el T1 presentó los valores más altos con 6,04 y 5,61 g. de S. kg^{-1} MS en F90dds y E120dds, respectivamente.

La figura 45 muestra la variación del S en las diferentes épocas de muestreo, en la que se observa acumulación acelerada del elemento hasta máxima bulbificación (90dds), y luego disminuye con la madurez del cultivo.

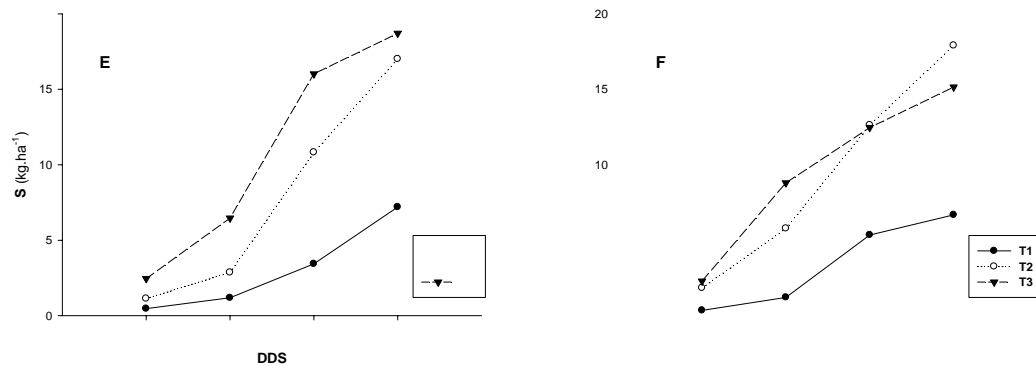


Figura 45. Variación del contenido de S en tejidos

Las extracción y translocación al bulbo del azufre puede deberse a la cualidad de la cebolla de producir productos azufrados que utiliza posteriormente como defensas contra hongos y bacterias ejemplo de ello es la *alicina* responsable del olor característico de la especie. Tisdale *et al.* (2005), enuncian que el S esta presente en compuestos responsables del olor y sabor en cebolla de bulbo.

En términos generales, la absorción y contenido de nutrientes por el cultivo de cebolla (*A. cepa*), sigue los mismos parámetros, estudiados en su momento por Aguirre (2006), presentándose similitudes en el comportamiento a través del tiempo de las variables N - K, P - Ca y Mg - S en el lote E, mientras que en el lote F, se presentaron similitudes en S-N, S-K y Ca-Mg (tabla 11), posiblemente influido por la edad de la planta, las condiciones de pH, cantidad de nutrientes en solución y la aplicación de las fuentes fertilizantes.

Realizando análisis comparativo de los tratamientos aplicados, se determinó que el T3 (tratamiento con mayor rendimiento) presentó menor contenido en N, K, Mg y S y mayor en P y Ca (figura 46).

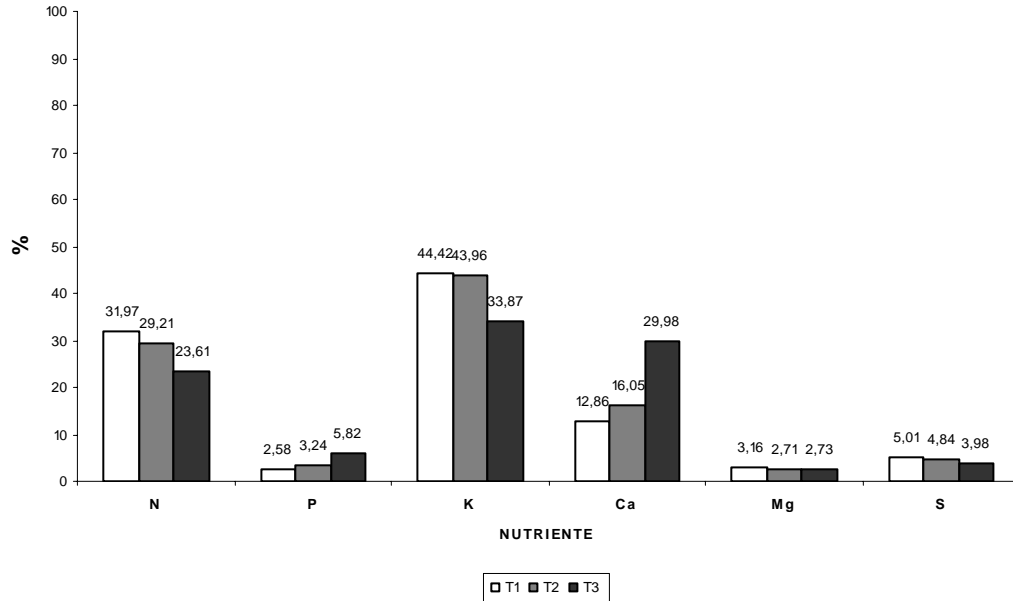


Figura 46. Concentración promedio de nutrientes en tejidos de *A. cepa* para los diferentes tratamientos evaluados.

Por otro lado, teniendo como precepto que los nutrientes en solución son aquellos a los que la planta realmente tiene acceso para suplir sus necesidades de crecimiento y desarrollo (Castro, 1998a), se realizó análisis de correlación de Spearman, el cual mostró cómo las concentraciones de N en tejido presentan relación inversa con Ca^{2+} y directa con Na^{+} en solución; El P en tejidos presentó relaciones directas con los contenidos de Mg^{2+} y SO_4^{2-} en solución; el K en tejidos presentó relaciones directas con Ca^{2+} , Mg^{2+} y SO_4^{2-} en solución y el S en tejidos se relacionó inversamente con los contenidos de K^{+} en solución (tabla 12).

Las relaciones de Ca^{2+} y Mg^{2+} en tejidos con los nutrientes en solución no presentaron relación significativa, lo que posiblemente indica comportamientos independientes de estos nutrientes en su dinámica de absorción en las condiciones en las que se desarrolló esta investigación.

Tabla 12. Correlación Spearman para contenido de nutrientes en tejidos y en Solución.

NUTRIENTE		EN SOLUCION				
		K ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Na ⁺	SO ₄ ²⁻
EN TEJIDOS	N		-0,85		0,9	
	Pr>f		<0,0001		<0,0001	
	P			0,76		0,79
	Pr>f			<0,0001		<0,0001
	K		0,63	0,86	-0,70	0,85
	Pr>f		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	S	-0,55				
	Pr>f	0,0005				

Relación de los macronutrientes absorbidos con el daño producido por *S. cepivorum*. El análisis de correlación de Spearman mostró con diferencias altamente significativas ($Pr>F<0,0001$) que los contenidos de N, K, Mg y S a nivel de tejidos presentaron relaciones directas con el % de daño por *S. cepivorum* ($r= 0,61; 0,64; 0,50$ y $0,75$, respectivamente). Lo que indica que el incremento de estos nutrientes en los tejidos favorecen la entrada del patógeno y viceversa.

Por otro lado el mismo análisis mostró con diferencias altamente significativas ($Pr>F<0,0001$) que el contenido de P y Ca en los tejidos de *A. cepa* presentó relación inversa con el daño ($r= -0,93$ y $-0,76$, respectivamente), indicando un efecto benéfico en la tolerancia con el incremento de estos nutrientes.

Lo descrito coincide con lo descrito por Velasco (1999), quien indica que el manejo de la fertilización con base al adecuado equilibrio de las relaciones entre los diferentes nutrientes puede constituir un punto fundamental complementario para enfrentar enfermedades.

Es de resaltar que en la época de máxima bulbificación y maduración del bulbo, se presentó el mayor % de daño, siendo éste superior en el T1 (11,3%) y menor en el T3 (3,93%), indicando que el patógeno depende del mayor crecimiento radical de la especie y con ello, del proceso de rizodeposición, a través del cual obtiene sus nutrientes y así, incrementa su capacidad para producir la enfermedad. Sin embargo, el estado nutricional de la planta influye en la predisposición al ataque del patógeno en las épocas de mayor susceptibilidad, lo que concuerda con lo descrito por Marschner (2003), Agrios (1997), Chaboussou (1987), Huber (1981) y Huber y Arny (1985), quienes afirman que plantas con nutrición

balanceada pueden tolerar o resistir más el efecto de los patógenos, lo que se traduce en mejor desarrollo y rendimiento. Haciendo referencia a los macroelementos se puede observar como elevados contenidos de N en la planta puede incrementar el % de tejido joven, de azúcares en el apoplasto y por tanto se reduce la producción de materia seca (Aguirre *et al.*, 2006), debido a trastornos metabólicos que conlleva a la reducción en la producción de fenoles y lignina, lo cual predispone al ataque del patógeno, coincidiendo con lo encontrado en esta investigación en el tratamiento 1.

La participación del K en el metabolismo de varios nutrientes, entre los que se encuentra el N puede explicar su participación en la resistencia o susceptibilidad al patógeno. Yamada (2005) afirma que ante la deficiencia de K, se deprime la síntesis de moléculas de alto peso molecular como la lignina, a favor de compuestos orgánicos de bajo peso molecular (p.ej. azúcares), influyendo directamente en el espesor y dureza de la cutícula y permeabilidad de la membrana.

El magnesio hace parte de la molécula de clorofila, por lo tanto puede esperarse que plantas con bajo suministro del nutriente, presenten trastornos en la elaboración y translocación de fotosintatos, importantes para cumplir con las funciones de defensa vegetal.

El proceso de rizodeposición de *A. cepa*, parece incrementar los productos azufrados en el área de influencia radical de la especie y con ello, la activación de los esclerocios favoreciendo la aparición de la enfermedad, tal como lo mencionan Coley & Smith (1990) y Aguirre *et al.*, (2006).

Por lo anterior, se puede deducir que plantas que presenten desequilibrios (como es el caso de aquellas del tratamiento 1), presentan alteraciones en su metabolismo convirtiéndose en mejor sustrato alimenticio y/o hábitat adecuado para la reproducción de patógenos.

Huber (1981) afirma que el incremento del P en los tejidos es fundamental para reducir enfermedades radicales, lo cual concuerda con lo encontrado en esta investigación. Gracias a su participación en los mecanismos de transferencia de energía, el P

estimula el desarrollo vegetal y así, las plantas puedan evadir las enfermedades.

El incremento de calcio en los tejidos reduce la susceptibilidad al daño producido por *S.cepivorum*, lo cual concuerda con lo descrito por Elad y Kirshner (1992), quienes afirman que este elemento reduce la severidad de enfermedades radicales. El calcio es requerido para dar estabilidad a la membrana celular y, así, es indispensable para impedir la entrada de patógenos al vegetal.

De lo anterior, se deduce que dentro de los diferentes factores de producción, el manejo de factores limitantes (como los nutrientes) puede otorgar a los vegetales la capacidad para atenuar los efectos de factores reductores como es el caso de patógenos. Además se corrobora que los elementos nutrientes influyen en el crecimiento y producción, pero también en la predisposición, tolerancia o resistencia de las plantas a plagas, entre las que se encuentra *S. cepivorum*, para el caso específico de *A. cepa*.

6.3.2.2. Micronutrientes y elementos benéficos. Aunque en menor concentración que los macronutrientes, los micronutrientes son igualmente importantes en la nutrición vegetal. En la presente sección se evaluará el comportamiento de éstos en las diferentes épocas de muestreo (tabla 13).

Boro (H_3BO_3). Absorbido principalmente en la forma de ácido bórico (H_3BO_3), sus contenidos a nivel foliar se incrementan hasta alcanzar los máximos contenidos a los 120dds (tabla 12). El análisis de varianza (anexo 8h), mostró que en las diferentes épocas se presentaron diferencias altamente significativas entre tratamientos ($Pr>F<0,0001$), siendo el lote E el que alcanzó el mayor promedio en el contenido de H_3BO_3 ($0,43kg\cdot ha^{-1}$) a los 120dds (figura 47). Los máximos contenidos del elemento en los diferentes tratamientos aplicados fueron de 0,143, 0,39 y 0,688 $kg\cdot ha^{-1}$ para T1, T2 y T3, respectivamente.

El análisis de correlación de Spearman muestra que el H_3BO_3 se comporta de manera inversa al Ca^{2+} en solución ($r=-0,94$; $Pr>F<0,0001$), esto es, mayores contenidos de calcio en solución, reducen la absorción de H_3BO_3 por las plantas.

En condiciones de $\text{pH} > 7$, se presentan las formas aniónicas H_2BO_3^- , HBO_3^{2-} , BO_3^{3-} y $\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$ y aunque las plantas pueden absorberlo, lo hacen en menor cantidad que H_3BO_3 . La absorción activa de H_3BO_3 a través de la membrana plasmática requiere la co-absorción de H^+ . Como en el interior de la célula el pH es mayor que fuera de ella, el H^+ se mueve a través de la membrana, acompañado por H_3BO_3 . Esta relación podría explicar porqué se reduce la absorción de H_3BO_3 cuando se incrementa el Ca^{2+} en solución y el gradiente de H^+ es menor.

Tabla 13. Concentración de micronutrientes (mg.kg^{-1} de MS) en tejidos en diferentes épocas.

LOTE	TRAT	dds	B	Fe	Mn	Cu	Zn	Na
E	1	30	22,91	724,24	309,99	13,81	129,46	2504,59
E	2	30	27,55	650,55	1926,12	15,91	139,52	4118,73
E	3	30	38,38	877,84	1212,30	16,11	147,56	4501,96
E	1	60	30,55	945,12	112,07	10,35	93,58	1431,79
E	2	60	39,45	976,12	664,21	10,57	94,47	1304,62
E	3	60	36,84	1874,50	2271,74	17,28	130,55	3538,21
E	1	90	31,98	1041,05	107,28	6,18	62,45	800,56
E	2	90	50,82	2112,68	137,65	8,61	68,95	741,32
E	3	90	50,36	1411,56	157,92	20,02	95,60	1259,11
E	1	120	87,74	1205,33	74,99	3,88	60,71	910,09
E	2	120	93,38	1940,62	176,35	9,21	57,70	667,75
E	3	120	106,31	4445,17	28,85	30,12	94,37	2252,87
F	1	30	35,71	892,74	186,40	24,10	125,35	3760,23
F	2	30	35,28	657,18	173,25	16,42	158,17	3452,06
F	3	30	37,52	663,65	186,88	37,88	173,43	3946,82
F	1	60	83,62	882,07	157,33	20,12	132,25	2412,66
F	2	60	64,83	872,96	155,40	10,24	108,87	1138,27
F	3	60	103,92	917,53	155,29	37,76	155,40	4423,72
F	1	90	108,46	998,99	190,32	5,33	76,28	653,92
F	2	90	85,74	1106,05	151,78	14,15	93,09	1070,49
F	3	90	114,59	1057,70	156,20	13,58	107,09	967,09
F	1	120	121,56	1254,36	105,06	11,74	83,48	819,15
F	2	120	112,54	1335,92	102,47	13,82	86,63	511,60
F	3	120	159,79	1200,53	86,39	12,38	131,07	1576,91

TRAT: Tratamiento; dds = días después de la siembra en que se recolectó la muestra. E: Lote Estancia; F: Lote Flores. La zona resaltada indica el periodo de máxima concentración.

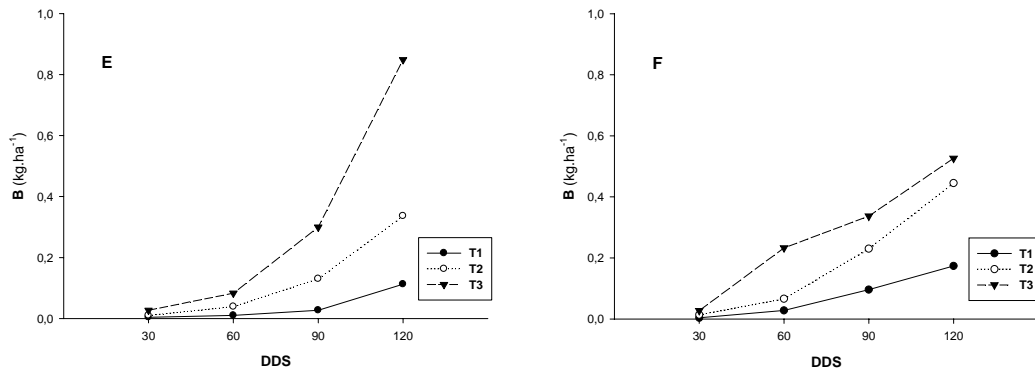


Figura 47. Variación del contenido de H_3BO_3 en tejidos.

Bertsch (2003), trabajando con cebolla Granex 33 y con rendimiento de 27 Mg.ha^{-1} , reporta concentración de boro en tejidos de 68 mg.kg^{-1} de MS. Por otro lado, Tisdale *et al* (2005) reportan un contenido de 6-60 ppm de H_3BO_3 , en la mayoría de cultivos, con presentación de síntomas de deficiencia cuando ésta es $<20\text{ppm}$. En el presente trabajo, los valores obtenidos hasta los 60dds se encuentran dentro del rango descrito (tabla 13), pero en el periodo de bulbificación y maduración, se incrementan 1,2 - 1,8 veces, coincidiendo con Aguirre (2006) quien reportó concentración en tejido de $100,95 \text{ mg}$ de $B.kg^{-1}$ de MS para producciones de 50 Mg.ha^{-1} .

Hierro (Fe^{+2}). El hierro es absorbido por las plantas en las formas Fe^{+2} y Fe^{+3} . El análisis de varianza (anexo 8i), mostró diferencias significativas entre lotes ($Pr < F = 0,0133$) y tratamientos ($Pr > F = 0,0003$). La acumulación media en los lotes evaluados (figura 48), correspondió a $5,782$ y $3,689 \text{ kg.ha}^{-1}$ para E y F, respectivamente.

El T3 acumuló las mayores cantidades del elemento en E ($8,89 \text{ kg.ha}^{-1}$), mientras que el T2 lo fue en F ($5,37 \text{ kg.ha}^{-1}$).

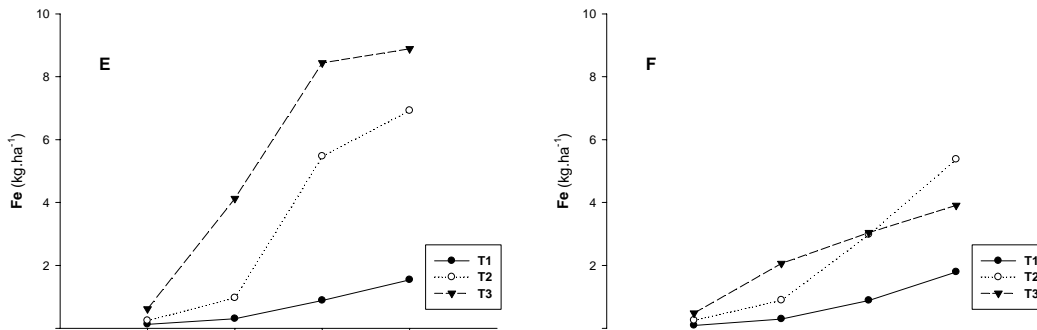


Figura 48. Variación del contenido de Fe²⁺ en tejidos.

La absorción del elemento esta asociada a las distintas condiciones edáficas de los lotes, donde el promedio reportado en el análisis indica mayor absorción del elemento en el lote E (1238,8 mg.kg⁻¹ de MS), que puede explicarse por los altos contenidos de materia orgánica menor pH, y menor aireación dada por el menor % de macroporos.

El rango de suficiencia en tejidos varía entre 50 y 250 ppm (Tisdale *et al.*, 2005). En el presente estudio este rango fue superado ampliamente, lo cual concuerda con Aguirre (2006 a y b) y Bertch (2003), lo que podría calificar a *A. cepa* como una gran extractora de hierro.

Manganeso (Mn⁺²). El manganeso es absorbido como Mn⁺² y en complejos de bajo peso molecular. El análisis de varianza (anexo 8j) mostró diferencias significativas entre lotes (Pr>F=0,024) y entre tratamientos (Pr>F=0,0159). El comportamiento de este elemento (figura 49), tiene una tendencia similar a la del Fe, con mayor disponibilidad y absorción en el lote E (0,32 kg.ha⁻¹).

La concentración de este elemento en los tejidos vegetales varía entre 20 y 500 ppm, presentándose deficiencias cuando su concentración baja de 20ppm. Los valores reportados en esta investigación se encuentran dentro del rango descrito, superando y aún duplicando lo encontrado por Aguirre (2006) y Bertsch (2003).

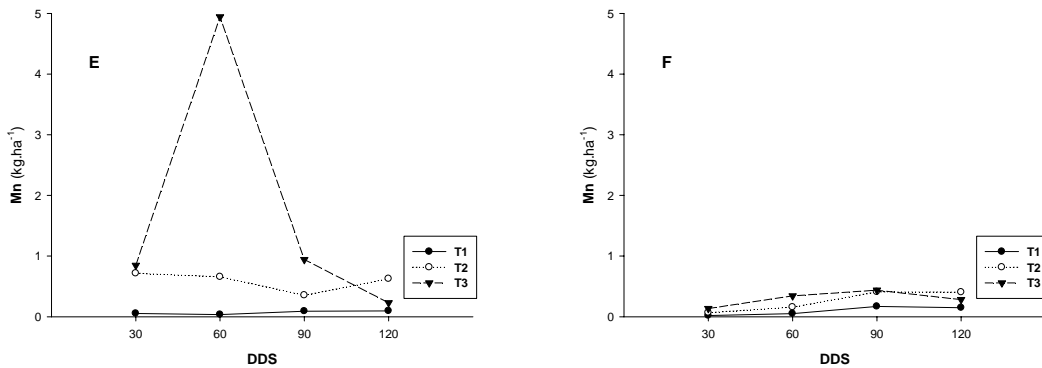


Figura 49. Variación del contenido de Mn^{++} en tejidos.

El análisis de correlación de Spearman mostró asociación directa del Mn^{++} con Ca^{++} y K^+ , indicando que la competencia con estos cationes puede afectar su absorción, tal como lo mencionan Tisdale *et al* (2005).

Cobre. (Cu^{+2}). Las plantas absorben cobre en la forma de Cu^{+2} , siendo su contenido en los tejidos vegetales de 5 – 20 ppm (Brady and Weil, 1999; Tisdale *et al.*,2005; Aguirre y Piraneque, 2007).

El análisis de varianza (anexo 8k), mostró que en las diferentes épocas de muestreo el Cu^{+2} varía con diferencias significativas entre tratamientos ($Pr>F=0,0010$). El lote E registró el mayor promedio de extracción con media de $30g$ de $Cu^{+2}.ha^{-1}$, mientras que el T3 obtuvo el mayor valor de acumulación con promedio de $140 g$ de $Cu^{+2}.ha^{-1}$ 120dds (figura 50).

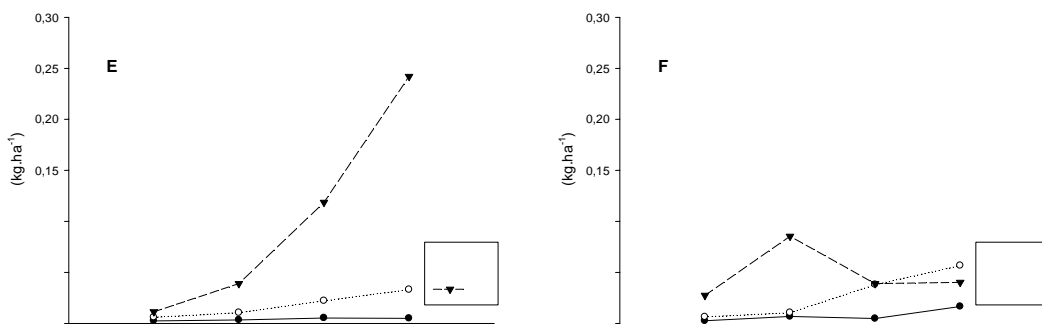


Figura 50. Variación del contenido de Cu^{2+} en tejidos.

La dinámica de extracción de Cu^{+2} por parte de la planta mostró incrementos en la etapa vegetativa, reducción en bulbificación y volvió a incrementarse en la maduración (tabla 13).

Zinc (Zn^{+2}). Absorbido como Zn^{+2} , su concentración en los tejidos vegetales varía entre 25 y 150 ppm (Tisdale *et al.*, 2005). Los valores encontrados, con mínimo de 0,01 (10 g) y máximo de 0,84 kg. de $\text{Zn}^{+2}.\text{ha}^{-1}$, se aproximan al rango descrito y podrían ser indicativos de adecuado suministro por parte de los suelos en estudio.

El análisis de varianza (anexo 8I), mostró diferencias significativas entre tratamientos ($\text{Pr}>\text{F}<0,0001$). El lote E presentó los máximos valores de acumulación (figura 51) con promedio de $200\text{g.de Zn}^{+2}.\text{ha}^{-1}$.

En los dos lotes, las mayores concentraciones del elemento se presentan en la etapa vegetativa (0-60 dds), disminuyendo en bulbificación, para incrementarse nuevamente en el periodo de maduración (Tabla 13).

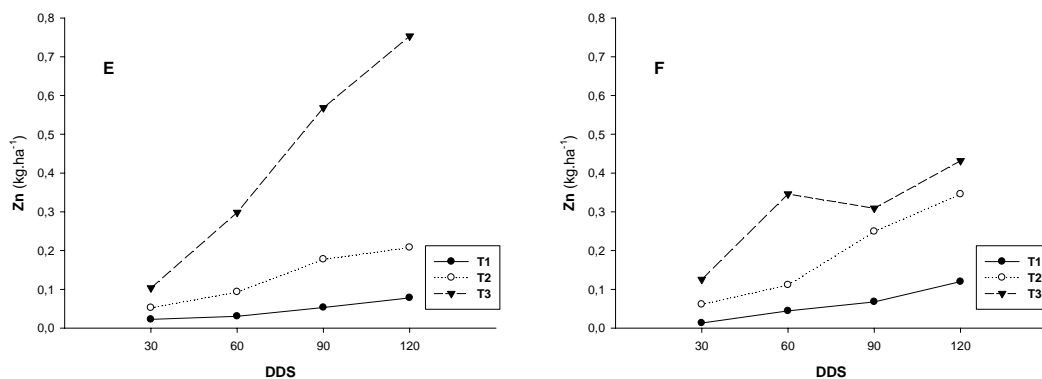


Figura 51. Variación del contenido de Zn^{2+} en tejidos.

Los menores valores de extracción se encontraron en el T2 del lote E, 120dds ($51,26 \text{ mg de Zn}^{+2}.\text{kg}^{-1}$ de MS) y los mayores en el T3 del lote F 30dds ($200,7 \text{ mg de Zn}^{+2}.\text{kg}^{-1}$ de MS).

Sodio (Na^{+}). El efecto benéfico del Na^{+} sobre el crecimiento vegetal ha sido descrito en suelos con bajos contenidos de K^{+} (Tisdale *et al.*, 2005; Salisbury y Ross, 2000).

El análisis de varianza (anexo 8m), mostró diferencias significativas entre tratamientos ($Pr > F = 0,0001$), siendo el T3, el que mostró el mayor promedio de acumulación con $11,64 \text{ kg de Na}^+ \cdot \text{ha}^{-1}$ (figura 52).

En términos generales la concentración del elemento decrece a medida que avanza el tiempo en los lotes y tratamientos evaluados (Tabla 13). Mostrando comportamiento contrario con la absorción del K, el cual aumenta en el periodo vegetativo del cultivo y decrece en maduración.

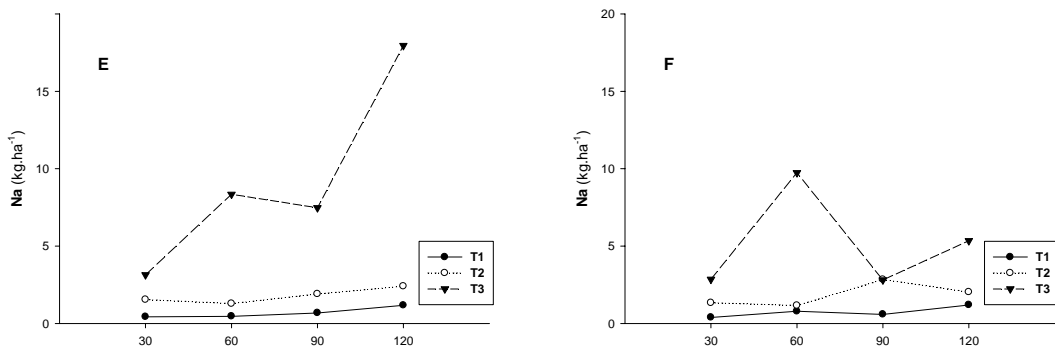


Figura 52. Variación del contenido de Na^+ en tejidos.

En la presente investigación se encontró que incrementos de K^+ en la solución del suelo, conllevan a disminuir la absorción de Na^+ ($r = -0.70; Pr > F < 0,0001$), coincidiendo con los autores citados anteriormente y a la vez permitió determinar que posiblemente las condiciones que incrementan la solubilidad y absorción del Na^+ en *A. cepa*, desfavorecen las del K^+ y por otro lado, debido a su naturaleza monovalente, el Na^+ puede parcialmente reemplazar al K^+ (o viceversa) cuando uno u otro se encuentran deficientes.

Lo enunciado coincide con Flowers y Läuchli (1983), Subarrrao *et al* (2002) y Malavolta (2006), quienes afirman que el sodio puede substituir al potasio en su papel en el potencial osmótico, en consecuencia en la generación de turgencia. Al respecto, no hay una exigencia absoluta por potasio toda vez que en el compartimiento vacuolar se han encontrado otros solutos como azúcares, aminoácidos y sales de sodio. Por otro lado, se han encontrado concentraciones parecidas de sodio y potasio en los cloroplastos de muchas especies vegetales, de ahí que se admita

que el Na ejerce funciones en la fotosíntesis como las de fosforilación (Marschner, 2003; Salisbury y Ross, 2000).

El Na puede ser tan efectivo como el K en la expansión foliar y en las variaciones de turgencia de células guarda, inducidas por la entrada de los iones. El aumento de potasio en estas células acarrea absorción de agua de las adyacentes. En las especies cuya membrana presente alta permeabilidad para el sodio, como aquellas que se ven favorecidas en condiciones de suficiencia de potasio, éste puede ser en parte substituido por Na (Marschner, 2003; Malavolta, 2006). Aspectos que requieren mayor investigación en cebolla de bulbo.

Relación de los micronutrientes absorbidos con el daño producido por *S. cepivorum*. El análisis de correlación de Spearman, mostró con diferencias altamente significativas que el incremento de Cu ($r=-0,93$) Zn ($r=-0,68$) y Na ($r=-0,63$) en los tejidos disminuye el porcentaje de daño producido por *S. cepivorum* o viceversa, lo cual coincide con Pozza *et al.* (2004) y Bélanger & Menzies (2003), quienes afirman que mayor cantidad de microelementos puede estar asociada a inducción de resistencia sistémica y a mantener nutrición más balanceada en el vegetal.

La biosíntesis de lignina es un proceso donde participa el Cu, siendo determinante en las funciones de defensa vegetal. Por otro lado el Zn actúa directamente en la estabilidad de la pared celular e indirectamente reduce los exudados atractivos para patógenos (Yamada, 2005).

Aunque el papel del Na en la predisposición o tolerancia a plagas y enfermedades no es muy claro, su participación en los mecanismos de defensa vegetal puede atribuirse a diferentes funciones que alteran el metabolismo de otros nutrientes como es el caso del N. El Na participa en la regulación osmótica del vegetal y en ocasiones puede reemplazar al K en sus funciones (dureza y espesor de cutícula, permeabilidad de la membrana y funcionamiento de estomas), permitiendo que la planta adquiera resistencia a las enfermedades.

Comparando los tratamientos, se observó que T1 (tratamiento con el menor rendimiento) presentó los mayores contenidos en B- H_3BO_3

y Zn^{2+} , mientras que T3 (tratamiento de mayor rendimiento), presentó menor concentración en $B-H_3BO_3$, Fe^{2+} y Zn^{2+} (figura 53).

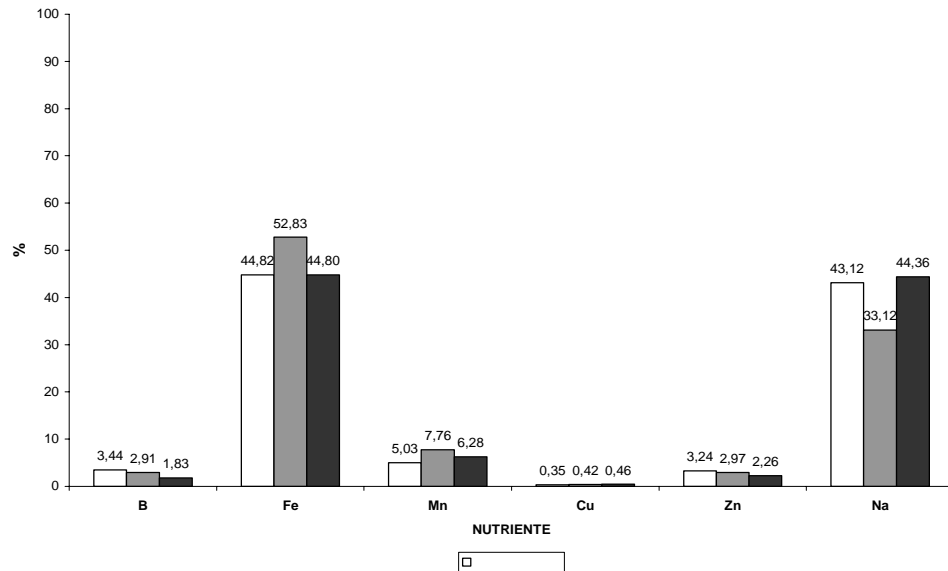


Figura 53. Concentración promedio de micronutrientes en tejidos de *A. cepa* para los tratamientos 1 y 3 en los lotes estudiados.

6.3.2.3. Extracción total de nutrientes. Con los datos de absorción reportados por el Tratamiento 3 con mayor rendimiento (50,5 y 50,9 $Mg.ha^{-1}$ para E y F, respectivamente), se procedió a determinar la extracción total de nutrientes (tabla 14)

Tabla 14. Extracción total de nutrientes ($kg.ha^{-1}$) por el cultivo de cebolla (*A. cepa*).

NUTRIENTE	LOTE		MEDIA
	E	F	
N	73,72	88,61	81,16
P	16,90	10,94	13,92
K	99,25	137,95	118,60
Ca	79,16	65,17	72,16
Mg	10,31	9,76	10,04
S	14,31	13,24	13,77
B	0,43	0,38	0,41
Fe	14,67	3,69	9,18
Mn	0,32	0,28	0,30
Cu	0,09	0,04	0,07
Zn	0,35	0,30	0,32
Na	7,18	2,86	5,02
RENDIMIENTO*	50,5	50,9	50,7

* $Mg.ha^{-1}$

En términos generales y siendo estrictos con los criterios de esenciabilidad, la concentración de macro nutrientes se presentaron en el orden: K(38,3%)> N(26,21%)> Ca(23,30%)> P(4,50%)≈ S(4,45%)> Mg(3,24%) y de micronutrientes: Fe(89,36%)> B(3,96%)> Mn(2,90%)> Zn(3,14%)> Cu(0,64%).

La secuencia de acumulación de macronutrientes del cultivo de la cebolla coincide con lo reportado (a excepción de P y Mg) por Pôrto *et al* (2006), quienes encontraron que la acumulación en orden decreciente en el cultivar de cebolla Optima, fue: K>N>Ca>S>Mg>P, Vidigal *et al* (2002), constataron en el cultivar Alfa Tropical el mismo orden obtenido en la presente investigación.

Es de resaltar la alta absorción de Na⁺ por parte del cultivo (5,02 kg.ha⁻¹). Este dato, junto con los reportados para el caso de Fe, hace de la cebolla de bulbo una gran extractora de estos elementos con influencia sobre los contenidos en el suelo y las propiedades del producto como alimento.

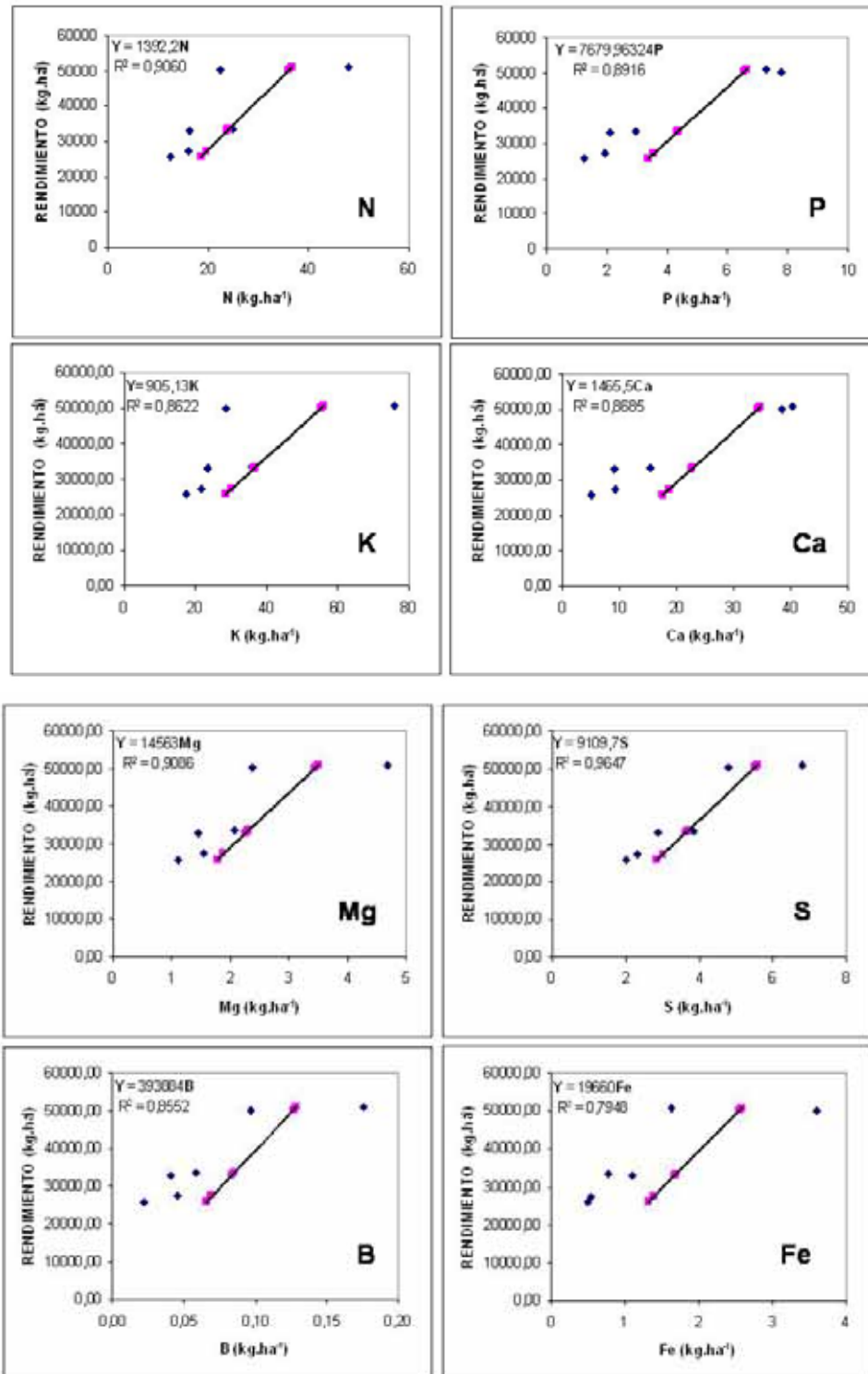
Los datos presentan 84, 91, 71.8, 69, 81, 58, 60, 29.5, 4.29, 50, 78.6 y 56% de similitud para N, P, K, Ca, Mg, S, B, Fe, Mn, Cu, Zn y Na, respectivamente con los reportados por Aguirre (2006). Los datos obtenidos para N, y Mg presentan la misma tendencia a los presentados por Bertsch (2003) en cebolla Granex 33 y por Sher (1996).

Con los datos de extracción, se estableció el rendimiento esperado a partir de la cantidad de nutrientes absorbida (figura 54). Con estas ecuaciones es posible estimar los requerimientos de cada nutriente del cultivo para alcanzar el rendimiento deseado, con alto grado de confiabilidad.

De acuerdo con la información generada, para producir 40Mg.ha⁻¹ de cebolla, el cultivo consume 93.5, 24.37, 142.0, 121.0, 12.0, 15.87, 0.5, 22.0, 0.4, 0.1, 0.45 y 10.5 kg.ha⁻¹ de N, P, K, Ca, Mg, S, B, Fe, Mn, Cu, Zn y Na, respectivamente.

Si se conoce la cantidad de nutrientes que extrae el cultivo, se puede estimar la dosis de éstos para obtener un rendimiento dado, para lo cual se confronta los datos de absorción con las cantidades

presentes en el suelo y así determinar las cantidades necesarias para lograr la meta de rendimiento propuesta (Bertsch, 2003).



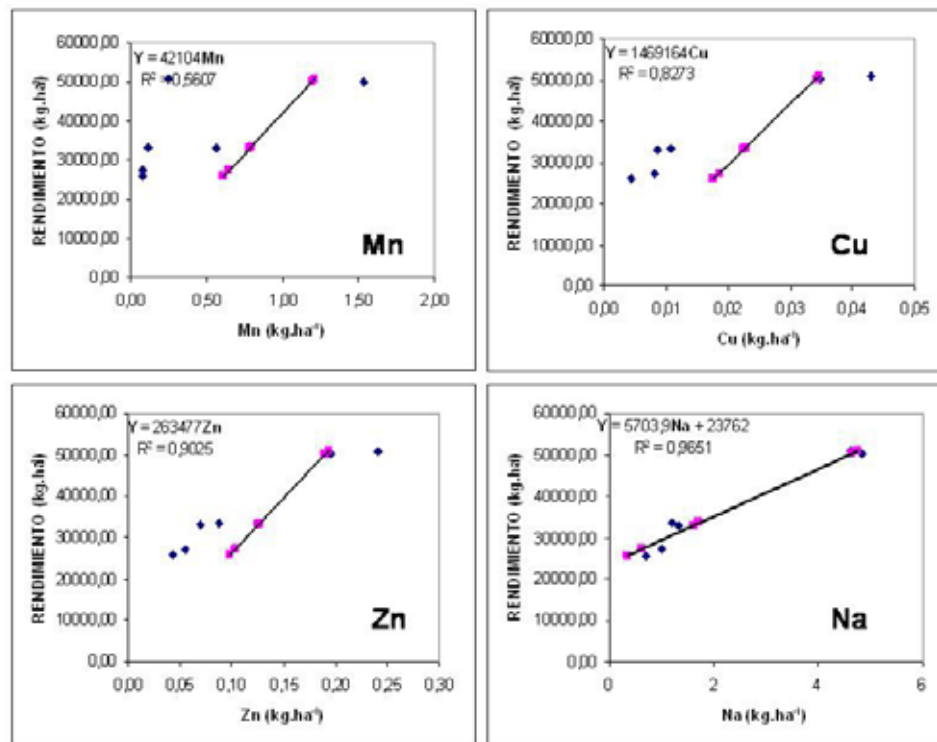


Figura 54. Ecuaciones de consumo total de nutrientes por el cultivo de cebolla (*A. cepa*).

6.4. PARAMETROS EDÁFICOS ASOCIADOS AL DAÑO PRODUCIDO POR *Sclerotium cepivorum*.

Durante el ensayo se realizaron lecturas de sanidad cada 30 días por tratamiento, se utilizó la escala de RW Barratt y JG Horsfall (anexo 4) para establecer el porcentaje de tejido infectado y aplicando diferentes métodos estadísticos se estableció las posibles características físicas, químicas y biológicas que inciden sobre el desarrollo de la enfermedad.

6.4.1. DIVERSIDAD MICROBIANA.

En la figura 55 se presenta la separación de los amplicons de rDNA 16S de *Bacteria* por DGGE. Los geles fueron analizados utilizando el programa Diversity Database para determinación de la riqueza de amplicons (Ra), con base al número total de bandas detectables, en función del tratamiento y época de muestreo en los dos lotes evaluados.

El análisis posibilitó la detección de 54 y 97 bandas distintas en E y F, respectivamente. En la figura 56, es posible observar como en el lote E, disminuye la riqueza de amplicons en función del tiempo, mientras en el lote F, éste comportamiento sólo lo presenta el tratamiento 3.

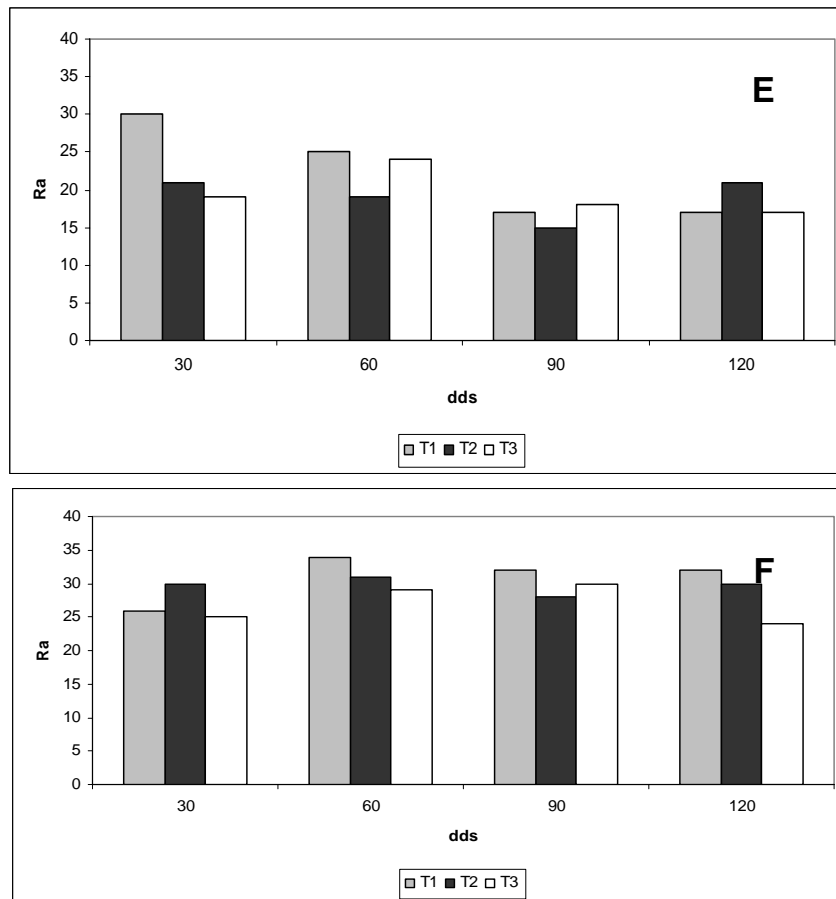


Figura 55. Riqueza de amplicons (Ra) de rDNA 16S *Bacteria* separadas por DGGE.

Ra. con base en el número de bandas detectadas luego de la separación por DGGE. Los datos representan el promedio obtenido en los lotes E=Estancia y F=Flores.

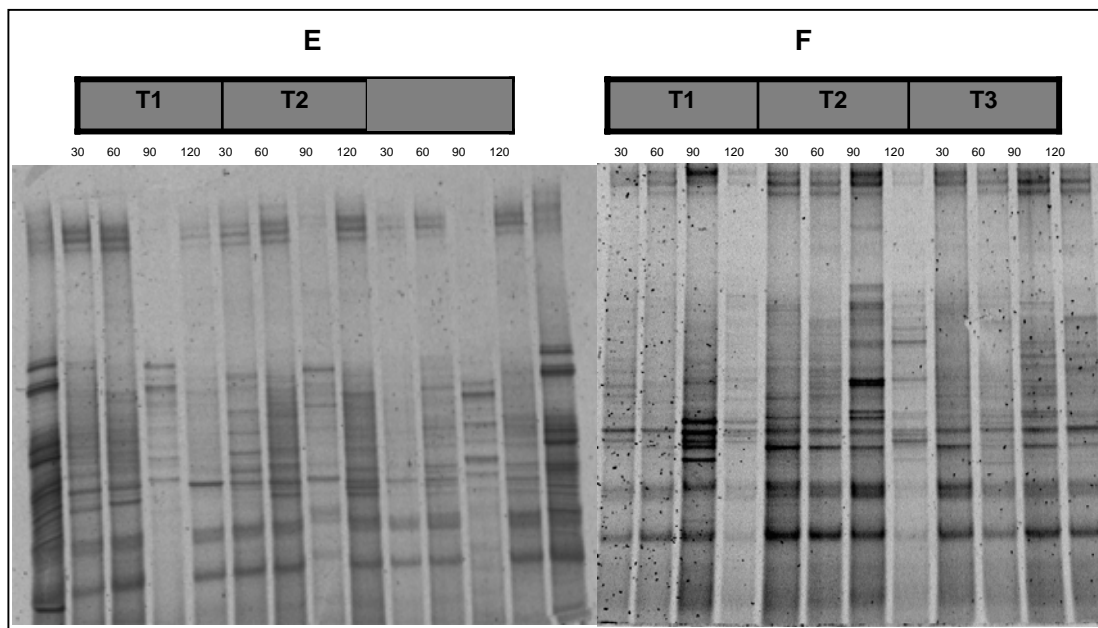


Figura 56. Amplicons en la región V3 del rDNA 16S de *Bacteria*, separados por DGGE.

E=Lote Estancia; F=Lote Flores; T1, T2 y T3=Tratamientos aplicados; 30,60,90 y120=días después de la siembra en que se realizó el muestreo.

En promedio, en el primer muestreo (30dds) fueron observados el 28,56 y 23,1% del total de amplicons en E y F respectivamente; a los 60dds, 27,95 y 26,77%; a los 90dds, 20,63 y 25,7% y al final del periodo evaluado (120dds) fue de 22,84 y 24,41% del total de amplicons en E y F respectivamente (figura 57).

Lo anterior indica que en la etapa de maduración del bulbo, las comunidades bacterianas se disminuyen, demostrando que la descomposición de los tejidos de la cebolla –producida por el patógeno–, puede favorecer la multiplicación de ciertos organismos presentes en el suelo en detrimento de otros, desfavoreciendo la diversidad y podría ser indicativo de desordenes en el vegetal.

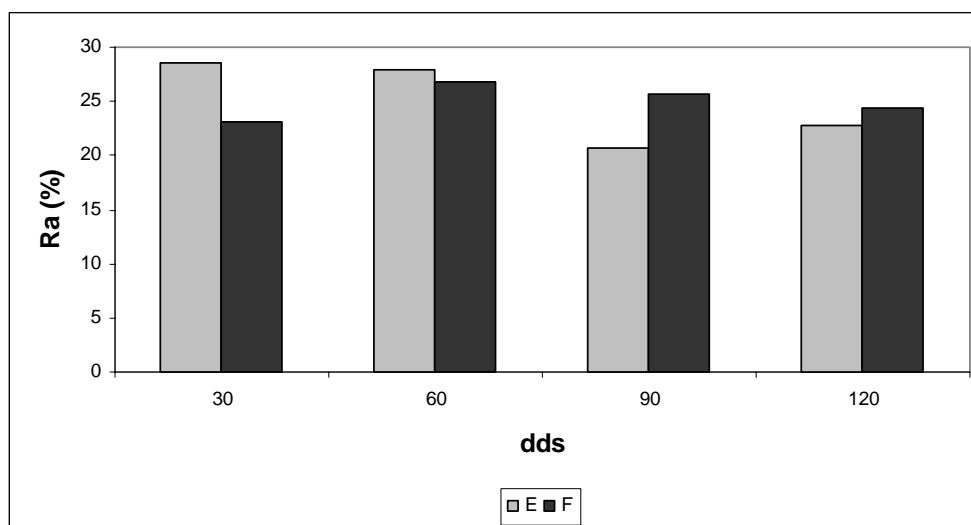


Figura 57. Porcentaje promedio de amplicons (Ra) obtenidos por época de muestreo.

El análisis de los datos por agrupamiento jerárquico mostró que las comunidades bacterianas en las diferentes épocas de cada lote son similares entre sí y diferentes entre tratamientos, mostrando que posiblemente éstos últimos influyen sobre la población y las comunidades bacterianas (figura 58).

En el lote E (con mayor % de daño), se puede apreciar que la estructura de las comunidades bacterianas se agrupan de acuerdo con las épocas de muestreo, separándose la etapa vegetativa de la de bulbificación y maduración, lo que indica que existen diferencias en las comunidades de acuerdo a la época.

En el lote F, las comunidades bacterianas se agrupan de acuerdo con el tratamiento aplicado a las unidades experimentales, separándose el T3 de T2 y T1, indicando que hay efectos de los tratamientos sobre las poblaciones y comunidades bacterianas del suelo.

Lo anterior indica que el pH, el contenido de materia orgánica, de humedad, de elementos nutrientes y el manejo de la nutrición vegetal, pueden determinar la actividad y diversidad de los microorganismos del suelo, la estructura de sus comunidades y la severidad de daño por patógenos.

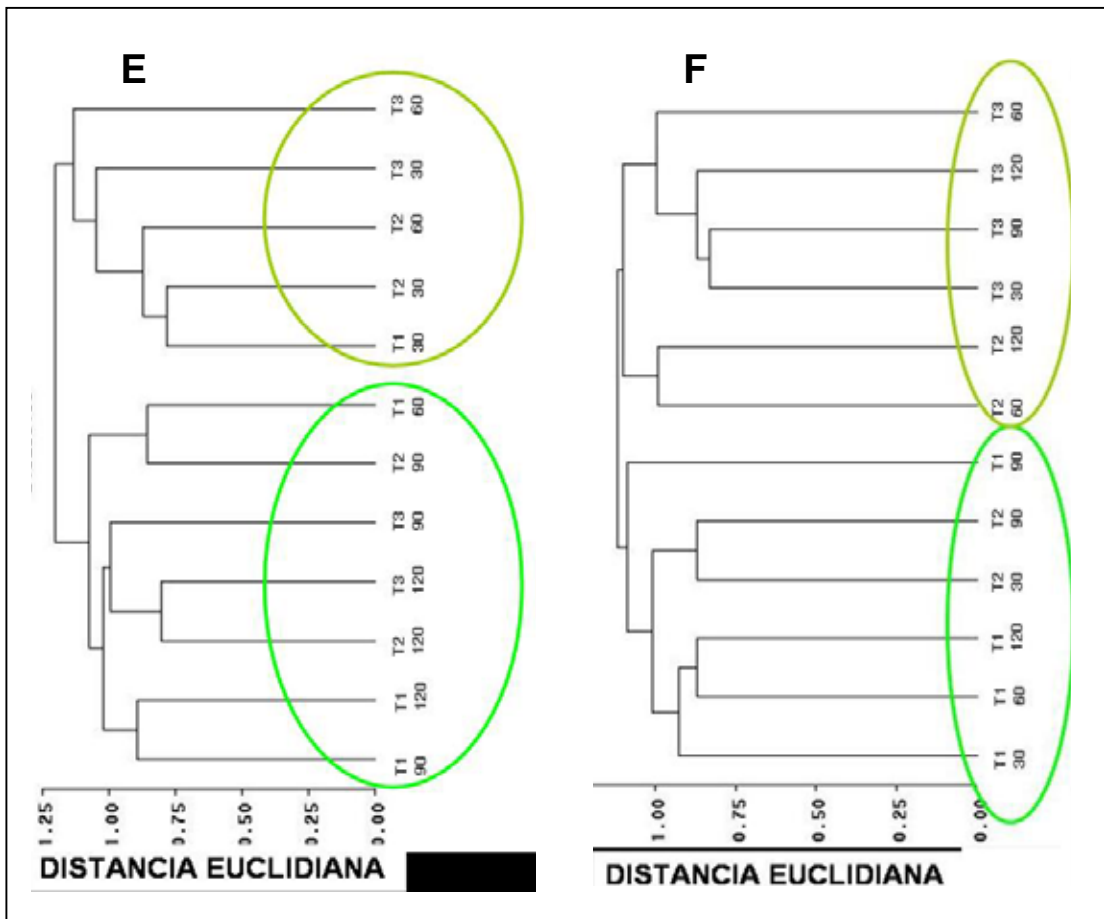


Figura 58. Agrupamiento jerárquico con base en la separación de amplicons de rDNA 16S de *Bacteria* por DGGE. Se representan los promedios obtenidos por tratamiento en las diferentes épocas de muestreo en los lotes E=Estancia y F=Flores.

El suelo es un sistema complejo con una gran variedad de microhábitat, caracterizados por propiedades físicas, químicas y biológicas particulares, con gran variabilidad espacio-temporal (Tôrsvik, 1994). El pH, los contenidos de materia orgánica en el suelo, la temperatura, la concentración de nutrientes y las prácticas de manejo pueden influenciar la actividad de los microorganismos del suelo y las estructuras de las comunidades microbianas (Singh *et al.*, 2006).

El análisis de correlación de Spearman (tabla 15) muestra como el pH del suelo, sodio, potasio intercambiable, densidad aparente, y la microporosidad, se correlacionan de forma directa con la riqueza bacteriana de estos suelos. Confirmando lo enunciado por Shing *et*

al (2006). Además se presentó relación inversa con el contenido de materia orgánica

Tabla 15. Análisis de correlación de Spearman para la variable Riqueza microbiana (Ra).

Variable	r	Pr>F
pH	0,59	<0,0001
Materia Orgánica	-0,68	<0,0001
K intercambiable	-0,56	0,0004
Na intercambiable	0,58	0,0002
Densidad aparente	0,65	<0,0001
Microporos	0,69	<0,0001

Es de resaltar que para esta investigación, el lote E (con mayor contenido de materia orgánica) presentó correlación inversa con la riqueza bacteriana, situación que puede deberse al menor valor en el pH respecto a F, toda vez que el grado de acidez o alcalinidad influye sobre la actividad de los microorganismos, siendo las bacterias asociadas en mayor medida a altos valores de pH.

Se ha observado que más del 80% de las bacterias se localizan en los microporos de microagregados del suelo (Mummey & Stahl, 2004). Por otro lado la granulometría del suelo puede determinar la estructura de la comunidad bacteriana, asociándose de preferencia a las fracciones arcilla y limo (Lambais *et al.*, 2006).

Suelos con características similares, tienden a seleccionar comunidades bacterianas poco variables, indicando que el tipo de suelo es un factor preponderante en la organización de las comunidades bacterianas (Lambais *et al.*, 2006 citando a Gelsomino *et al.*, 1999). Las comunidades microbianas responden de forma diferencial a factores como humedad, difusión de gases, temperatura, pH, textura, mineralogía, concentración de nutrientes, tenores de materia orgánica, vegetación, interferencias antrópicas, entre otros, lo que posiblemente puede explicar las diferencias en riqueza bacteriana en los lotes en estudio.

Como se verá en el siguiente apartado, la diversidad microbiana (bacteriana, en este caso), tiene alta relación con el daño producido por *S. cepivorum*. Posiblemente las condiciones dadas por la

descomposición de raíces y/o los exudados de la especie favorezcan en mayor medida a determinadas comunidades bacterianas.

El mayor % de daño se presentó en la época de máxima bulbificación y maduración (90 – 120 dds), lo que puede explicar las diferencias encontradas en el agrupamiento jerárquico, indicando que en la medida que el cultivo es afectado por *S. cepivorum*, las comunidades bacterianas disminuyen posiblemente por encontrar un substrato alimenticio específico que beneficia a algunas poblaciones y desfavorece a otras.

Lo anterior puede confirmarse con el hecho de que el T3 –que obtuvo el menor % de daño-, mostró los menores valores en riqueza bacteriana. Por tanto, podría decirse que el efecto que tiene el mal blanco en *A. cepa*, favorece el establecimiento de mayores comunidades bacterianas.

6.4.2. Variación del daño producido por *S. cepivorum*. La interacción entre el ambiente, el hospedero y el patógeno determina la severidad con que la planta puede ser afectada. Por tanto, para que una enfermedad se desarrolle se debe presentar la interacción entre ambiente adecuado, planta susceptible y el patógeno con capacidad de producir infección (Aguirre y Piraneque, 2006 citando a Agrios, 1997 y Ávila, 1991).

En el presente apartado se evaluará el comportamiento del daño producido por *S. cepivorum* en los lotes en estudio, a fin de determinar las épocas de mayor severidad y el efecto de los tratamientos sobre la misma (figura 59). Los datos fueron transformados por la expresión: $Y = \text{ArcSen}(\sqrt{\text{daño}/100})$ a fin de satisfacer el supuesto de homostaticidad, aditividad y normalidad en la variable respuesta.

El análisis de varianza (tabla 16) mostró que en las diferentes épocas de muestreo se presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($\text{Pr}>F=0,0004$) más no así entre lotes ($\text{Pr}>F=0,0317$). El Lote F y el T3 presentaron el menor promedio de daño ($Y=7,505$ y $Y=3,93$, respectivamente), mientras que el lote E y T1 mostraron el mayor promedio en la variable medida ($Y=10,056$ y $Y=11,318$, respectivamente).

Tabla 16. Análisis de medias repetidas de la varianza. Variable: %Daño.

FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F
LOTE	1	117,19805	117,198	6,75	0,0317
BLOQUE	2	19,993144	9,99657	0,58	0,58
LOTE*BLOQUE	2	21,412433	10,7062	0,62	0,5636
TRATAMIENTO	2	847,60254	423,801	24,41	0,0004
LOTE*TRATAMIENTO	2	408,43943	204,219	11,76	0,0041
ERROR	8	138,90262	17,3628		

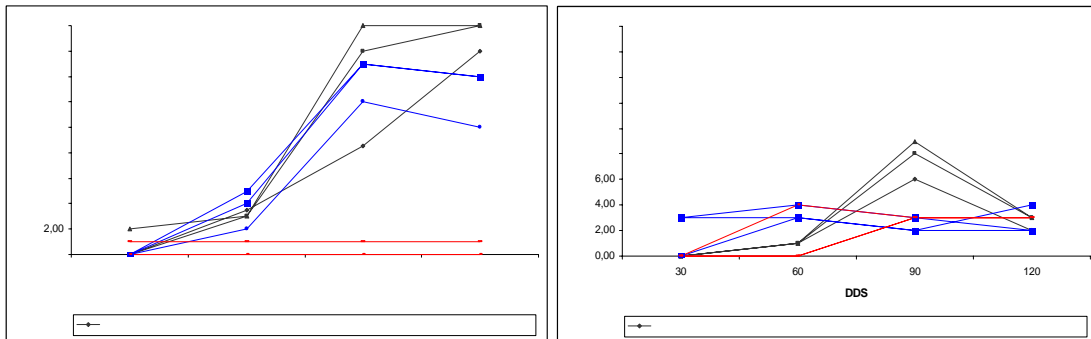


Figura 59. Variación del %daño producido por *S. cepivorum*.

Aguirre (2006), encontró respuestas similares a la aplicación de los tratamientos, pero reportó diferencias en la respuesta al daño entre lotes con características similares y pertenecientes a la misma área geográfica, lo que sugiere que existe alta variabilidad espacial y temporal del daño y que el manejo adecuado de la nutrición puede reducir la severidad con que *S. cepivorum* afecta a *A. cepa*.

Por otro lado, el T3, con menor daño en el periodo evaluado, presentó mayor promedio en el 60% de las variables medidas de las cuales el 18,5% corresponden a variables medidas a nivel físico, el 30% pertenecen a la fase intercambiable, el 11% a la fase soluble y el 33% a tejidos (tabla 17).

Adicional a lo anterior, cabe resaltar que el T3 mostró el mayor número de esclerocios y mayor masa seca al final del periodo evaluado, coincidiendo con lo reportado por Aguirre (2006).

Tabla 17. Variables medidas en los tratamientos con mayor (T1) y menor (T3) daño producido por *S. cepivorum*.

FASE	VARIABLES CON MAYOR PROMEDIO	
	T1	T3
INTERCAMBIABLE	N, S, B, Fe, Cu.	pH, P, K, Ca, Mg, S, Mn, Zn.
SOLUBLE	pH, Ca, Na, S.	P, K, Mg.
FÍSICA	HV%, Ar%, microporos.	Pt, Da, A, L, Macroporos, Mesoporos.
TEJIDOS	N, K, Mg.	Pf, Ca, S, B, Fe, Mn, Cu, Zn, Na.
BIOLOGICO	Amplicons.	Esclerocios.

El mayor daño reportado en esta investigación se obtuvo en el lote E y en el T1 (figura 60), posiblemente debido a las condiciones adversas en el suministro de nutrientes que se presentan en éste tipo de suelo. Es de resaltar que el T1, con mayores valores de S en las fases cambiante y solución y de amplicons (riqueza bacteriana), presentó incrementos en el daño a través del tiempo, para maximizarse hacia el fin del cultivo.

6.4.2.1. Atributos edáficos y vegetales relacionados con el daño producido por *S. cepivorum*. La resistencia o sensibilidad de las plantas a plagas esta íntimamente relacionada con la nutrición y el manejo cultural del sistema. Las plagas sólo afectan a plantas que han sido mal tratadas (desequilibradas) lo que causa una alteración en su metabolismo atrayéndolas o convirtiéndolas en sustrato alimenticio y hábitat adecuado para la reproducción de patógenos (Aguirre *et al.*, 2006; Chaboussou, 1987; Graham, 1983; Graham y Webb, 1991 y Huber, 1997).

Las pérdidas causadas por las enfermedades varían según el tipo de vegetal, el patógeno, el lugar, el ambiente, prácticas agronómicas y la combinación de dichos factores (Piraneque y Aguirre, 2007). Así, una planta puede enfermar cuando es atacada por un agente biótico denominado patógeno o es afectada por algún agente abiótico (Déficit o exceso de nutrientes, temperatura, alta humedad, sequedad, cambios en el pH), entre otros.

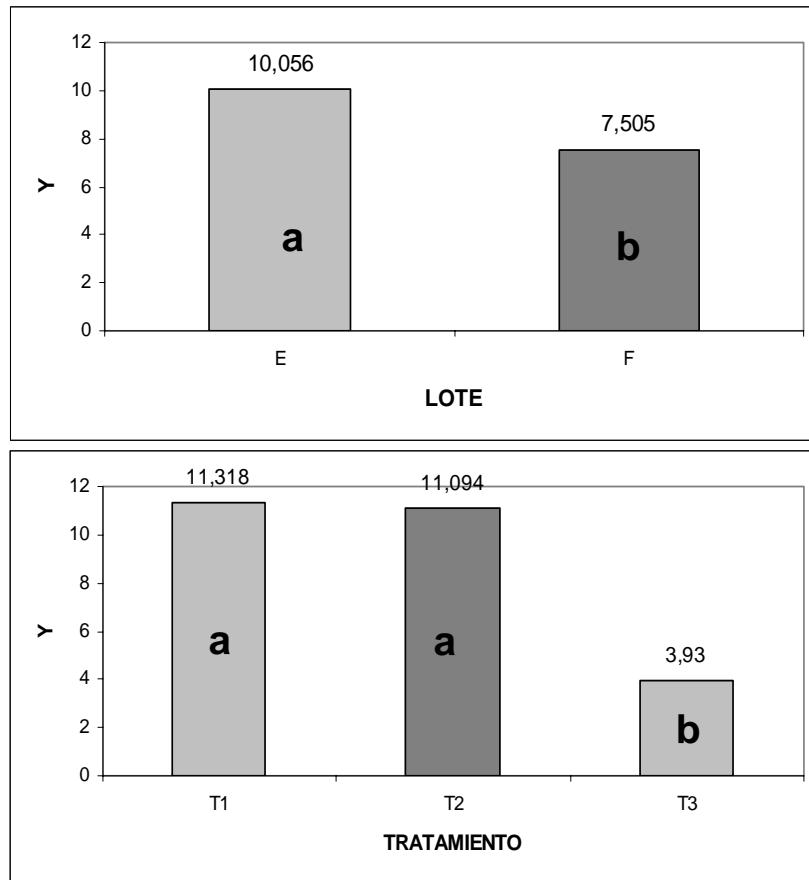


Figura 60. % de daño (Y) promedio obtenido entre lotes y tratamientos.

La interacción ambiente - patógeno y hospedero determina la severidad con que la planta puede ser afectada. Este desorden fisiológico o anomalía estructural perjudicial es común en los trópicos (alta humedad relativa, alta temperatura, baja fertilidad de los suelos) para la mayoría de las especies sembradas (Díaz-Zorita, 2006). Es en éste sistema, donde las plantas entran en estrecho contacto con su entorno de mayor actividad física, química y biológica (Siquiera y Franco, 1988) y representa la interfase de comunicación entre el vegetal y el suelo.

Los factores ambientales que más inciden en la presencia y establecimiento de un patógeno son la temperatura, la humedad superficial de las plantas y los nutrientes del suelo que juegan un papel importante en algunas enfermedades, afectando directamente el crecimiento, la susceptibilidad del hospedero, la multiplicación y la actividad del patógeno (Huber, 1997). Por tanto,

para que una enfermedad se desarrolle se debe presentar la interacción entre ambiente adecuado, planta susceptible y el patógeno con capacidad de producir infección (Agrios, 1997).

Con el fin de verificar la asociación de los atributos físicos, químicos y biológicos con el daño producido por el hongo *S. cepivorum*, se realizó un análisis exploratorio, graficando cada variable medida en función del % de daño (figura 61), lo que permitió establecer visualmente aquellas variables que presentaron alguna relación con el daño (tabla 18), descartar aquellas que no exhibieron asociación alguna y reducir la dimensión del análisis.

Estas variables así seleccionadas fueron utilizadas en el análisis de correlación y, finalmente, mediante el análisis múltiple de regresión por el método Stepwise, se determinó la variación del daño, en función de dichos parámetros.

Tabla 18. Atributos seleccionados mediante análisis gráfico exploratorio.

ATRIBUTO				
FISICOS	QUIMICOS SUELO	QUIMICOS FASE SOLUBLE	BIOLOGICOS	QUIMICOS EN TEJIDOS
V%	pH	Na	ESCLEROCIOS	N
A%	M.O	S	AMPLICONS	P
Ar%	P			Ca
MESOPOROS	Ca			S
MICROPOROS	S			Cu
	B			Zn
	Mn			Na
	Cu			

El análisis estadístico permitió establecer que el % de daño se relaciona en forma directa con Azufre y Cobre en la fase intercambiable, sodio y azufre en solución, nitrógeno, potasio, magnesio y azufre en tejidos y a nivel físico con la humedad volumétrica y el % de microporos (tabla 19).

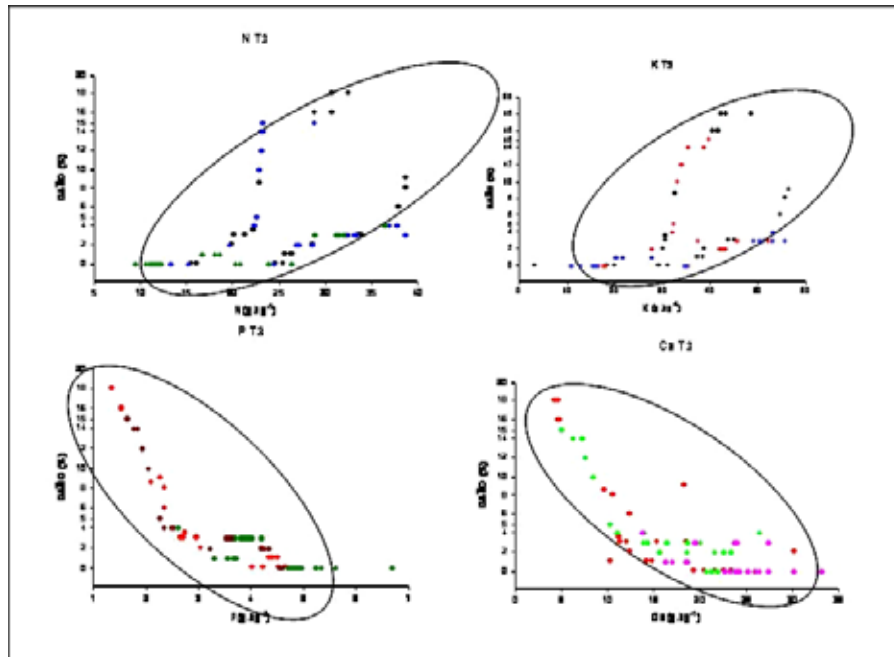


Figura 61. Ejemplo de análisis gráfico exploratorio.

En el ejemplo, algunas variables que muestran algún grado de asociación o que muestran alguna tendencia en la asociación con el % de daño. Arriba, relaciones directas, es decir, en la medida que se incrementa el valor de la variable X, se aumenta el % de daño. Abajo, relaciones inversas, donde el aumento en la variable X, trae consigo una reducción en el % de daño.

Por otro lado se establecieron relaciones inversas con pH, P y Ca del sueo, P, Ca, Cu, Zn y Na en tejidos y con el número esclerocios y amplicons (Ra) a nivel biológico.

Aguirre (2006), encontró que incrementos en los contenidos de cobre en el suelo y de nitrógeno y magnesio a nivel foliar, aumentan el porcentaje de daño por *S. cepivorum.*, y que mayor concentración de calcio y boro en tejidos es inversamente proporcional al daño. Además reportó que mayor número de esclerocios en el suelo, se traduce en menor daño en el hospedero. Resultados que coinciden con los encontrados en la presente investigación, excepción hecha para el caso del B en tejidos.

Por otro lado cabe resaltar que el S en el suelo (figura 62a), en solución(figura 62b) y en tejidos presenta relación directa con el nivel de daño, esto es, mayor contenido de S, favorece el accionar del patógeno y por tanto incrementa la severidad. Esta observación concuerda con Coley & Smith (1987 y 1990) y Aguirre *et al* (2006),

quienes afirman que los esclerocios germinan en presencia de productos azufrados, los cuales son producidos por el cultivo y son los responsables del aroma y olor característico de la cebolla.

Tabla 19. Coeficiente de correlación de Spearman, con su respectiva prueba de significancia.

Variable	FASE	r	Pr>F
pH		-0,41	0.0004
P		-0,32	0,0053
Ca	Intercambiable	-0,56	<0,0001
S		0,54	<0,0001
Cu		0,58	<0,0001
Na	solución	0,51	<0,0001
S		0,82	<0,0001
N		0,614	<0,0001
P		-0,935	<0,0001
K		0,64	<0,0001
Ca	Tejidos	-0,76	<0,0001
Mg		0,50	<0,0001
S		0,75	<0,0001
Cu		-0,93	<0,0001
Zn		-0,68	<0,0001
Na		-0,635	<0,0001
HV%	Físico	0,46	<0,0001
Microporos		0,98	<0,0001
Esclerocios	Biológico	-0,96	<0,0001
Amplicons (Ra)		-0,41	<0,0003

Sin embargo, como se puede apreciar en la figura 62, los modelos que intentan explicar el daño, presentan en ciertos casos valores negativos y diferente comportamiento para la variable independiente en cada lote en estudio (ver figura 62b). Lo cual conlleva a deducir que en éstos existe falta de ajuste y que es posible modelar el comportamiento del daño para cada lote (ver figura (62c,d), ganando en confiabilidad (R^2).

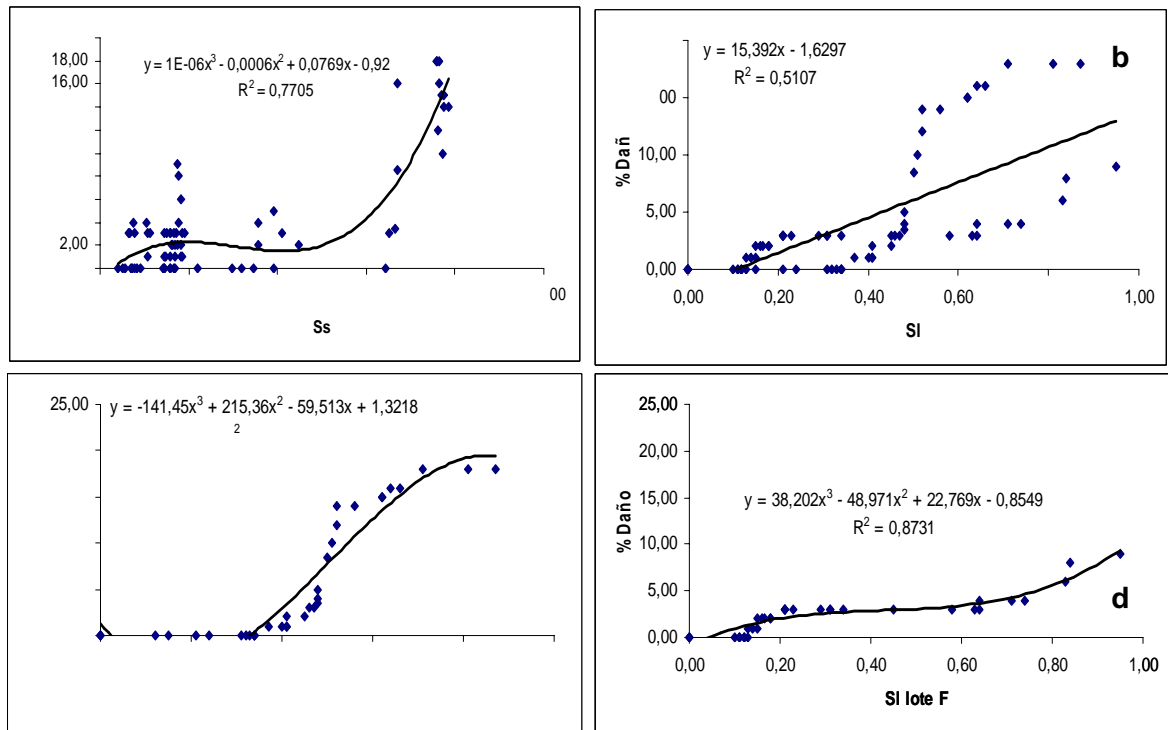


Figura 62. Modelos que explican el % de daño en función de: a) azufre en el suelo (Ss), b) azufre en solución (SI), c) azufre en solución en el lote E y d) azufre en solución en el lote F. Nótese que en b (azufre en solución), cada lote presenta un comportamiento totalmente diferente, por lo que hay necesidad de modelarlo en forma independiente (c,d), mejorando notoriamente su confiabilidad.

Otro elemento que merece atención es el cobre. Presenta relación directa con el daño en la fase intercambiable, pero ésta es inversa en tejidos. Resultado que concuerda con lo encontrado por Aguirre (2006) y lo enunciado por Entwisle (1990) y Agrios (1997), permitiendo establecer que las aplicaciones de cobre como anticriptogámico, afecta la microbiología del suelo y, especialmente a aquellos organismos que ejercen antagonismo frente a patógenos que forman estructuras de resistencia que les permite sobrevivir por amplios periodos de tiempo, especialmente en superficie.

Adicional a lo enunciado, es conocido que el cobre en la planta es esencial para la formación de la clorofila y cataliza varias reacciones, entre ellas la síntesis de fenoles y lignina para tolerar plagas, por lo que su deficiencia hace del vegetal un mejor sustrato alimenticio para el patógeno (Aguirre y Piraneque, 2007; Graham., 1983).

El número de esclerocios por gramo de suelo presenta una relación inversa con el porcentaje de daño (figura 63). Lo que permite corroborar que en la medida que se incremente el número de esclerocios en el suelo, es menor el daño en el hospedero, lo que posiblemente puede ser explicado por menor germinación de estos y por tanto tienen menor capacidad patogénica.

El efecto observado puede relacionarse con un apropiado balance nutricional; situación que concuerda con lo descrito por Sánchez (2001), Fageria *et al* (1997) y Huber (1989), quienes afirman que el manejo adecuado de nutrientes a través de un plan de fertilización constituye un control cultural efectivo que puede llegar a reducir la incidencia de enfermedades.

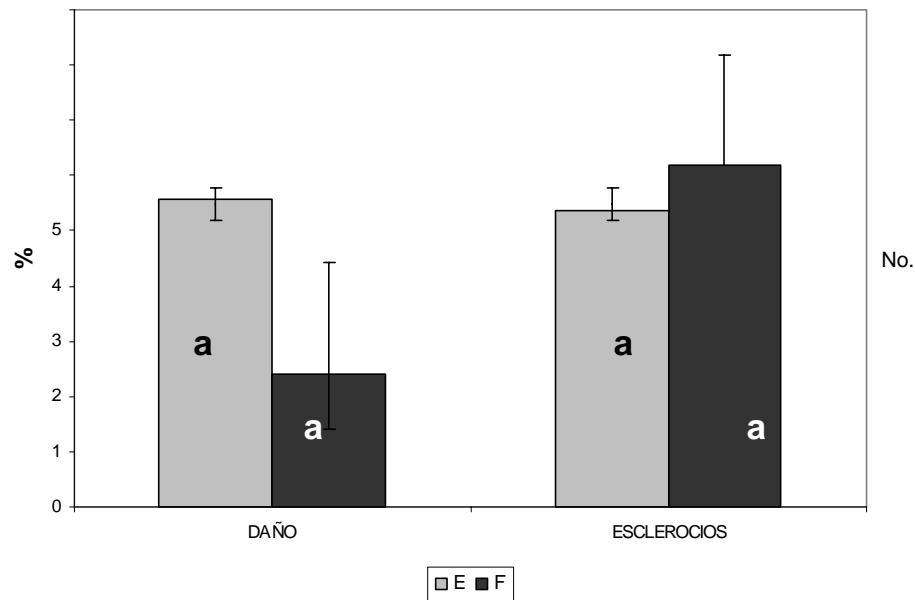


Figura 63. Comportamiento del % de daño y el número de esclerocios en los lotes estudiados.

A nivel físico, el porcentaje de microporos, presenta relación directa con el daño (figura 64). Situación que posiblemente se debe a la labranza intensiva e inadecuada que recibe el cultivo en la zona, lo cual repercute en la reducción de la macro y mesoporosidad del suelo, afectando la circulación de agua y gases. Pero al igual a lo encontrado para el caso de azufre (figura 62), se observa falta de

ajuste, con la probabilidad de encontrar valores negativos de la variable dependiente.

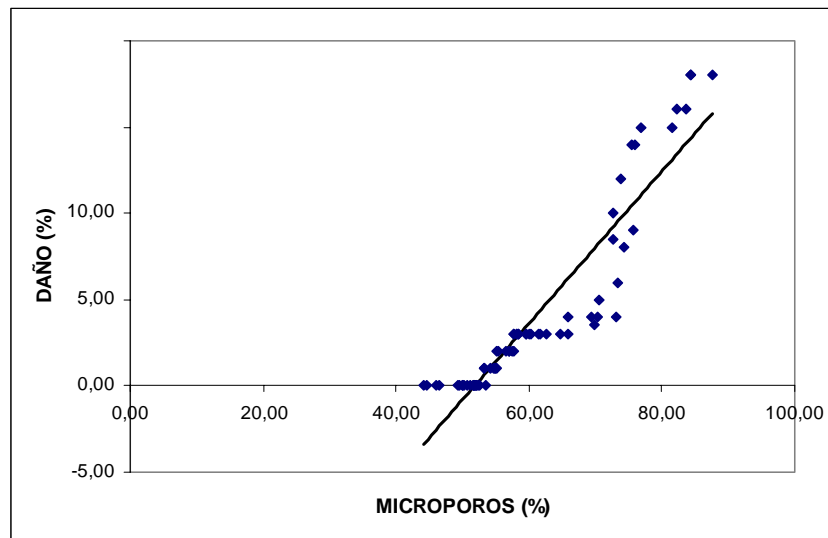


Figura 64. Variación del % de daño en función de la microporosidad del suelo.

En la figura se aprecia cómo al incrementar la microporosidad del suelo, se aumenta el % de daño producido por *S. cepivorum* en *A. cepa*. x =microporos(%).

El análisis permitió determinar que en la época correspondiente a máxima bulbificación y maduración (90-120dds) se incrementó el daño (figura 65), lo que posiblemente se deba a mayor sistema radical de la especie y con ello, aumento en la rizodeposición, favoreciendo la germinación de los esclerocios que entran en contacto con éstos exudados.

Se constató que en todas las épocas el T3 obtuvo el menor % de daño (0.16, 0.83, 1.66 y 1,66% a los 30, 60, 90 y 120 dds, respectivamente). Por otro lado, se determinó que el daño se incrementó a medida que la planta maduró. Así, el daño en el T1 se incremento 97% entre el primer y último muestreo (30 y 120dds, respectivamente), en T2 fue de 88% y en T3 de 90%.

Entwistle (1990) afirma que el número de esclerocios no se relaciona con la incidencia del patógeno, sino que su ataque depende más de las condiciones ambientales favorables (pH, nutrientes, humedad, aireación, etc). Esto ilustra el hecho de que la población de esclerocios pueda aumentar o disminuir de un cultivo a otro (Guerra, 2002 citando a Entwistle, 1990).

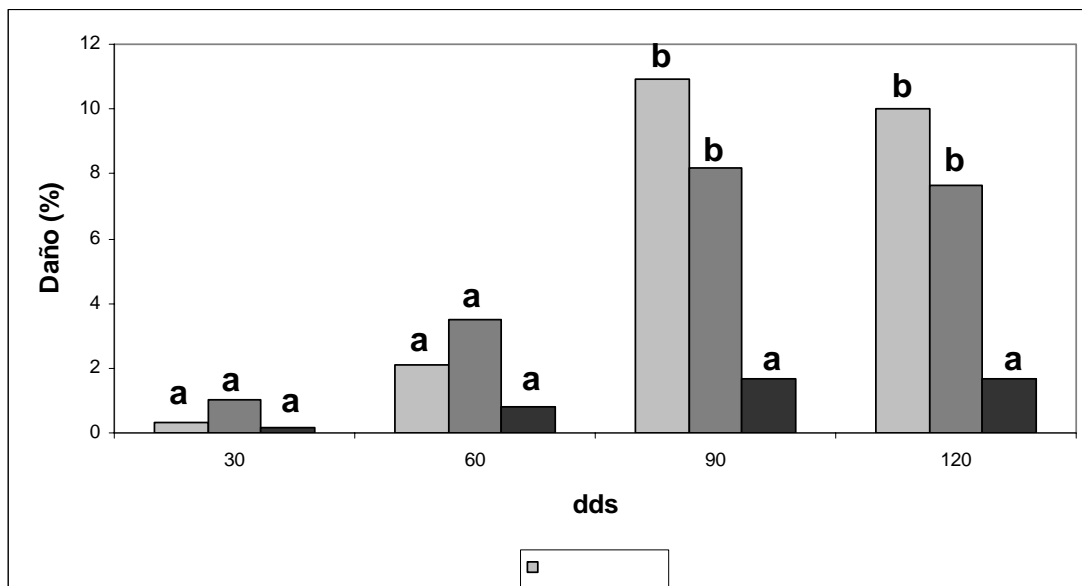


Figura 65. Efecto de la aplicación de los tratamientos sobre la evolución del daño producido por *S. cepivorum*.

Medias con la misma letra, no presentan diferencias significativas a $Pr > F = 0,05$

Se ha reportado baja incidencia del patógeno en ajo (*A. sativum*) con menos de 10 esclerocios.kg⁻¹ de suelo (Coon *et al.*, 1990 citados por Paris, 2000), mientras que en el Reino Unido, con incrementos en la población hasta de 2500 esclerocios.kg⁻¹ de suelo hacia el final del periodo productivo, sólo alcanzó severidad de daño del 10%.

Ensayos recientes han determinado que un esclerocio por 10 kg de suelo puede desarrollar la enfermedad en un cultivo. También se estableció que la germinación de los esclerocios se estimula cuando los exudados de la raíz de las plantas se extienden en el suelo alrededor de 1,25 cm. de ésta forma, si el esclerocio se encuentra más distante, no logra germinar (Paris, 2000).

En ocasiones los síntomas no se observan al exterior del bulbo, por lo cual pasa desapercibida pero en su interior denota la presencia de la enfermedad (Aguirre, 2006; Guerra, 2002). A partir de esto se puede inducir que posiblemente en poscosecha, si las condiciones favorecen la germinación de los esclerocios, la enfermedad puede alcanzar su máximo desarrollo.

La variabilidad del ataque del hongo sobre el hospedero y sobre los tratamientos podría explicarse por el número de esclerocios germinados por efecto del tratamiento aplicado, crecimiento micelial, cantidad y calidad de exudados radicales, producción de enzimas degradantes de la pared celular y de toxinas, la capacidad de la planta para activar fitoalexinas, el ambiente y la relación entre nutrientes.

Los resultados indican que a través del tiempo, al encontrar condiciones favorables para su desarrollo, los esclerocios germinan y por tanto, su número reduce, por lo que sería lógico pensar que hacia el final del cultivo, existiese menor cantidad de los mismos (Aguirre, 2006; Aguirre *et al*, 2006). Los esclerocios desaparecen del suelo cuando germinan, lo que ocurre al tener cerca una raíz del género *Allium*, ya que las hifas tienen capacidad limitada de sobrevivencia en el suelo en ausencia del huésped (Ayala, 1983 citado por Guerra, 2002).

Lo anterior concuerda con Davis (1999), quien menciona que los síntomas de la pudrición blanca pueden pasar inadvertidos durante la cosecha, pero se desarrolla en el almacenamiento; Entwisle (1990), Ávila (1991) y Agrios (1997), afirman que el hongo crece y sobrevive en la superficie del suelo favorecido por las temperaturas y mayor abastecimiento de sustancias orgánicas y que puede ser problema desde la siembra hasta la poscosecha donde mencionan un alto porcentaje de daño.

Van Der Meer (1986), reporta que las diferencias en susceptibilidad entre especies de *Allium* pueden explicarse por la estimulación diferencial en la germinación de *S. cepivorum* más que por la resistencia del tejido. Probablemente un mayor número de esclerocios germinados tienen mayor oportunidad de entrar en contacto con el hospedante presentando mayor severidad en campo, la germinación puede ocurrir una vez se establece la relación con la raíz o con el tejido activando la infección.

6.5. FACTORES EDÁFICOS QUE CONDICIONAN LA PRESENCIA Y SEVERIDAD DE DAÑO PRODUCIDO POR *S. cepivorum*.

La falta de ajuste encontrada en los modelos que intentan explicar el % de daño de forma independiente, permitió determinar que por sí mismas no pueden explicar el daño, sino que en la expresión de

éste, participan simultáneamente muchos factores y por tanto existía la necesidad de encontrar un método de análisis que permitiera integrar la población de variables independientes, para lo que se recurrió al método de regresión multivariada de Stepwise y así, explicar el daño producido por *S. cepivorum* en función de aquellas que mostraron con alto nivel de significancia en el análisis de correlación (ver tabla 19) .

El análisis de varianza de la regresión (tabla 20), mostró, que el modelo generado es altamente significativo ($Pr>F<0,0001$), por lo que con un alto grado de confiabilidad ($R^2= 0,945$), podría ser utilizado en las condiciones descritas para los lotes E y F.

Tabla 20. Análisis de varianza de la regresión. Variable dependiente %Daño.

FV	GL	SC	CM	Fc	Pr>F
Modelo	5	2924,84587	584,96917	231,02	<0.0001
Error	67	169,65413	2,53215		
Total	72	3094,5000			

cv: 39,98 R^2 : 0.945

El proceso estadístico permitió estimar los parámetros que influyen en el porcentaje de daño (tabla 21), encontrando que el contenido de materia orgánica, contenido de azufre y cobre en el suelo, el porcentaje de microporos y la riqueza bacteriana (representada por el número de amplicons), explican de una manera adecuada el porcentaje de daño producido por *S. Cepivorum*.

Tabla 21. Variables que influyen sobre el % de daño producido por *S cepivorum*.

VARIABLE	GL	PARAMETRO ESTIMADO	ERROR ESTÁNDAR	Fc	Pr>F	Inflación de la varianza
Mo	1	-0.05340	0.00575	-9.29	<0.0001	7,60
S	1	0.01891	0.00269	7,04	<0.0001	7,35
Cu	1	0.74258	0.16256	4,57	<0.0001	2,08
Microporos	1	0.22444	0.02238	10,03	<0.0001	54,37
Amplicons	1	-0,35486	0,03714	-9,56	<0.0001	25,30

Pese a obtener un alto grado de confiabilidad durante el proceso analítico, se observó que las variables microporos y amplicons, inflaron la varianza (CV=39,98).

Para solventar lo anterior y con ayuda de métodos estadísticos multivariados, se procedió a realizar análisis de componentes principales (ACP) con las variables otorgadas por la regresión. Siendo necesario aclarar que el ACP además de reducir la dimensionalidad del problema estudiado, también permite reducir la inflación de la varianza, disminuyendo la multicolinealidad entre las variables.

El ACP mostró que la materia orgánica se relaciona en forma directa con el contenido de azufre ($r=0,6841$) e inversa con el número de amplicons ($r=-0,7960$). El mismo análisis reportó que el Azufre se relaciona en forma directa con porcentaje de microporos ($0,7152$) e inversa con el número de amplicons ($r=-0,5461$) y que el contenido de cobre se relaciona en forma directa con el porcentaje de microporos ($0,6259$).

La matriz de valores propios (tabla 22) permitió establecer que con cuatro componentes principales se explica el 97% de la variación.

Tabla 22. Valores propios de la matriz de correlación (ACP).

	Autovalor	Diferencia	proporción	Acumulada
1	3,03716309	1,92868377	0,6074	0,6074
2	1,10847932	0,61874903	0,2217	0,8291
3	0,48973029	0,26085641	0,0979	0,9271
4	0,22887388	0,09312046	0,0458	0,9728
5	0,13575342		0,0272	1.0000

Así, los nuevos componentes principales (tabla 23), a los que se denominó A, B, C y D, fueron utilizados en un nuevo análisis de regresión, con la generación de un modelo más confiable.

Tabla 23. Componentes principales.

	A	B	C	D
MO	0,471232	-0,4522327	-0,054692	0,462075
S	0,511550	0,047027	0,507659	0,353206
Cu	0,380022	0,508249	-0,732933	0,202238
Micro	0,432461	0,510872	0,364599	-0,471373
Amp	0,429904	0,523336	0,262999	0,631379

MO= materia orgánica; S=contenido de Azufre en el suelo; Cu= Contenido de sobre en el suelo; micro=% de microporos; Amp= Número de amplicons.

El componente principal A todas las variables introducidas contribuyen en la variabilidad, en el B todas contribuyen a excepción del azufre, relacionándose con la parte física y biológica, el C con elementos clave en la protección a patógenos (S y Cu) y el D, hace referencia al componente biológico.

Con los anteriores resultados, a través de la estadística, se obtuvo el modelo que mejor explica ($Pr > F < 0,0001$) el porcentaje de daño en función de las variables introducidas durante el análisis:

$\% \text{ DAÑO} = 8,78056 + 3,13635 A + 3,96234 B + 3,11239 C - 3,88257 D$

$R^2 = 0,9225; CV = 25,3$

Donde el % de daño depende del contenido de **MO** (Contenido de materia orgánica), **S** (contenido de azufre en el suelo), **Cu** (Contenido de cobre en el suelo), **Micro** (% de microporos) y **Amp** (Número de amplicons)

El comportamiento biológico en condiciones de campo es difícil de modelar, debido a múltiples factores que desencadenan un proceso bioquímico y que predisponen la planta al ataque de un patógeno y al desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, el modelo obtenido matemáticamente es confiable (dado su coeficiente de determinación y variación), para las condiciones en las que se realizó el ensayo.

Los microorganismos patógenos que causan desordenes en el metabolismo, nutrición y/o fisiología de las plantas por su accionar conlleva a la reducción del crecimiento y de la fotosíntesis, incremento de la respiración, alteración del metabolismo, interferencia del sistema energético y de translocación de nutrientes y modificación en la permeabilidad de las membranas, entre otros. El estímulo rizosférico puede ser ejercido sobre patógenos como es el caso de *S. cepivorum*. Esta inducción, además de ser acentuada por la presencia de exudados provenientes de la especie vegetal, se intensifica en suelos con alto contenido de materia orgánica, sometidos a largos periodos de monocultivo (Moreira y Siquiera, 2006).

La cantidad y calidad de materia orgánica afectan considerablemente la diversidad microbiana y la estructura de sus comunidades (Lambais *et al.*, 2005; Moreira y Siquiera, 2006).

Crowe *et al* (1980), determinaron que la germinación de los esclerocios en suelos ricos en materia orgánica depende de un óptimo de temperatura de 18°C y -300 milibares de capacidad de campo.

Lo anterior conlleva a deducir que el nivel de daño producido por *S. cepivorum*, no solo depende del marcado monocultivo, sino que el contenido de materia orgánica en el suelo es fundamental para la sobre vivencia del patógeno. Esto concuerda con lo reportado por Aguirre (2006) y con lo encontrado en la presente investigación.

Es de resaltar que los compuestos azufrados y ricos en cobre, se asocian y/o forman complejos con la materia orgánica, siendo necesario recordar que el 90% del azufre del suelo se encuentra en forma orgánica.

Malavolta (2006), presenta algunos ejemplos del efecto del cobre sobre enfermedades (tabla 24). El efecto puede ser debido al papel fungistático del elemento o su función en la síntesis de lignina que dificulta la entrada del patógeno en la célula.

Se ha propuesto otras explicaciones al papel del Cu como protector contra enfermedades. Cuando el Cu se encuentra en deficiencia, hay menos O₂ activo perjudicial al patógeno, menos proteínas de pared, menor producción de fitoalexinas, desorganización de la pared celular y de las membranas (oxidación de los lípidos por los radicales libres no disipados) y falta de efecto tónico.

En trigo, la aplicación de 3kg de Cu.ha⁻¹ redujo la incidencia de *Pseudomonas cichoni* del 78% al 3%. Pese a lo anterior, Aguirre (2006) encontró que el % de daño por *S. cepivorum* en suelos clasificados como *Sulfic endoaquepts*, se encontraba en función del contenido de Mg y Cu a nivel edáfico y N y Mn a nivel foliar, con similitud para el caso del Cu, el cual reportó relación directa con el nivel de daño producido por el mal blanco.

Agrios (1997), afirma que el Cu aplicado sobre el suelo es más efectivo y suprime la presencia de hongos, sin actuar de forma selectiva. Sin embargo, lo encontrado por Aguirre (2006) y confirmado en la presente investigación, conlleva a plantear que aplicaciones continuas de cobre como anticriptogámico, controla y

reduce las poblaciones microbianas del suelo, pero promueve la permanencia, incidencia y severidad de organismos que producen estructuras de resistencia como *S. cepivorum*.

Tabla 24. Relaciones entre cobre y enfermedades.

Patógeno	Cultivo	Efecto	
		Aumenta	Disminuye
<i>Pseudomonas phaseolicola</i>	Fríjol (<i>Phaseolus vulgaris</i>)		X
<i>Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici</i>	Tomate (<i>Lycopersicum sculentum</i>)		X
<i>Sclerotium cepivorum</i>	Cebolla (<i>A. cepa</i>)		X
<i>Rhizoctonia solani</i>	Fríjol		X
<i>Botrytis alli</i>	Cebolla		X
<i>Verticillium dahliae</i>	Papa (<i>Solanum tuberosum</i>)		X
<i>Helminthosporium sativum</i>	Cereales		X
<i>Alternaria porri</i>	Cebolla		X
<i>A. solani</i>	Tomate		X

En plantas con deficiencia de Cu se altera la biosíntesis de lignina lo que predispone la planta al efecto nocivo de patógenos. Sin embargo, el uso indiscriminado de este elemento altera las interacciones entre los organismos del suelo (Sánchez de P. y Prager, 2001), incrementando los patógenos y reduciendo las poblaciones de microorganismos de acción antagónica (Aguirre, 2006; Aguirre *et al.*, 2006).

Los contenidos de azufre, asociados a proteínas y aminoácidos presentes en cebolla y a través del proceso de rizodeposición, también en el suelo, promueven la formación de sustancias y exudados que contienen alquil y alkenyl-L-cysteina sulphoxidos que estimulan la germinación de esclerocios. Coley - Smith (1990) Y Agrios (1996) citados por Castillo (2000), afirman que los esclerocios germinan como respuesta a la exudación radical de compuestos del tipo tiols y sulfóxidos volátiles. Situación que concuerda para el caso de los suelos estudiados.

La estructura del suelo parece jugar papel fundamental en la organización de las comunidades microbianas. Se ha determinado que más del 80% de las bacterias se localizan en microporos de

micro-agregados estables. Esta estructura puede variar también en función de la fracción granulométrica a la que los microorganismos se asocian, siendo las fracciones limo y arcilla las fracciones a las que en mayor proporción se asocian las bacterias (Lambais *et al.*, 2005). Por otro lado, se ha comprobado que suelos con iguales características, presentan similitud en las comunidades microbianas, por lo que el tipo de suelo puede determinar la actividad y funciones ecológicas de los microorganismos.

Finalmente, el efecto acumulativo de la intensidad de labranza unido al monocultivo, causa cambios drásticos en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Gálvis, 2005).

La labranza, fertilización, control de plagas, etc., son factores determinantes en el grado de severidad con que *S. cepivorum* afecta al cultivo de cebolla, por que el manejo del suelo empleado en forma tradicional ha cambiado la estructura, incremento de microporos y reducción drástica de los mesoporos, afectando la capacidad de almacenamiento y en la disponibilidad de agua para las plantas. A nivel químico, la aplicación excesiva de algunos elementos como Ca^{+2} y K^{+} , pueden producir deficiencia inducida de otros elementos. Entre ellos el Mg^{+2} , por lo cual se presentan diferentes desordenes fisiológicos que conllevan a mayor susceptibilidad al patógeno y, por último, la presencia de la enfermedad puede conllevar a mayor tasa respiratoria de la planta y con ello, mayor rizodeposición, por lo cual se puede favorecer al patógeno (que germina en presencia de exudados de la especie) y con ello se seleccionan y reducen las comunidades microbianas del suelo, resultando en menor antagonismo para el patógeno.

6.6. EVALUACION DE RENDIMIENTO

El análisis de varianza (tabla 25) mostró diferencias significativas ($\text{Pr}>\text{F}<0,0001$) entre tratamientos, más no así entre lotes. El T3 presentó el mayor promedio con $50,54 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$, seguido por el T2 con $33,25 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ y del T1 con $26,58 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Figura 66).

Tabla 25. Análisis de varianza del rendimiento obtenido en los lotes y tratamientos evaluados.

FV	GL	SC	CM	Fc	Pr>F
Lote	1	3781250	3781250	0.75	0.4041
Tratamiento	2	183489583	9174479	181.47	<0.0001
Lote*Tratamiento	2	812500	406250	0.08	0.9233

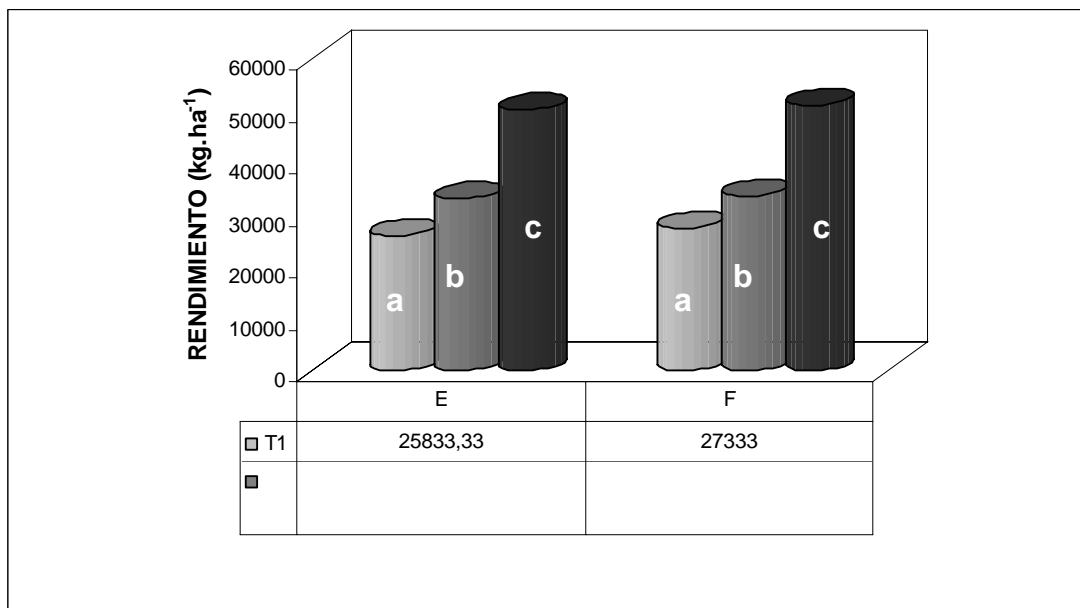


Figura 66. Rendimiento obtenido por cada tratamiento evaluado.

El DANE y URPA, 2006 reportan un rendimiento promedio para el cultivo de cebolla de bulbo de 24843 kg.ha⁻¹, valor inferior a los obtenidos en esta investigación indicando que el suelo contiene suficientes remanentes de elementos nutrientes que le permite reportar rendimientos aún sin la aplicación de fertilizantes. El rendimiento reportado por el tratamiento 3 supera en 37 y 44% a T1 y T2, respectivamente, lo que sugiere que al mejorar las relaciones entre nutrientes se incrementan los rendimientos.

Lo anterior, unido a la reducción en un 50% de los costos de producción logrado por el T3, permite establecer que el manejo de nutrientes con bases técnicas no solo mejora la adquisición de nutrientes por el cultivo, sino que también es una forma eficiente y económica para manejar plagas limitantes en los cultivos, con bajo impacto sobre el recurso suelo.

7. CONCLUSIONES

Las propiedades edáficas de dos suelos en el Distrito de Riego del Alto Chicamocha (Municipio de Tibasosa) se evaluaron en términos de su capacidad de condicionar el daño producido por el hongo *Sclerotium cepivorum* en el cultivo de cebolla de bulbo (*Allium cepa*), estableciéndose que existen factores físicos (% de microporos y % de humedad volumétrica), químicos (Cu y S en el suelo, Na y Cu en la solución y N, K, Mg y S en tejidos) y biológicos (Número de esclerocios y Número de amplicons) del suelo que favorecen la presencia y diseminación del patógeno en cultivos comerciales de cebolla de bulbo.

El estudio de la fertilidad del suelo y el manejo de las propiedades (físicas, químicas y biológicas) del mismo, con énfasis en el manejo adecuado de nutrientes son aspectos críticos de los sistemas agrícolas implementados. A través de la investigación se presentó la evolución de algunas propiedades del suelo y su influencia sobre el daño producido por *S. cepivorum*, comprobándose que es posible reducir la severidad de daño producido por el patógeno, mediante el manejo adecuado del suelo que incluye el establecimiento de planes apropiados de fertilización, nutrición y mejoramiento de las propiedades físicas del suelo.

Dadas las marcadas diferencias encontradas en los tipos de suelos evaluados a nivel físico, químico y biológico (incluyendo al vegetal), pone de manifiesto que el conocimiento del tipo y distribución de los suelos es esencial para relacionar la productividad potencial de las especies con propiedades edáficas que influyen la disponibilidad y retención de nutrientes. Por lo anterior, las recomendaciones de nutrientes se deben realizar a través de la evaluación del potencial de rendimiento esperado, el suministro natural de nutrientes por parte del suelo y la eficiencia de la planta para acceder a los mismos. Los datos suministrados por los laboratorios son guías importantes para la toma de decisiones en campo, que deben ajustarse para satisfacer los requerimientos vegetales en condiciones edáficas específicas.

Los paquetes tecnológicos concebidos a partir de pruebas regionales para el manejo de la nutrición y de problemas fitosanitarios en el cultivo de cebolla de bulbo, no pueden utilizarse en forma generalizada, siendo necesario recurrir a ensayos in situ que permitan estrechar la variación de las características edáficas, guardando armonía con el clima, la planta y el hombre y lograr soluciones integrales que reduzca el riesgo de degradación de los suelos en la zona productora de cebolla en Boyacá. Para ajustar los planes de fertilización del cultivo en la zona de estudio, pueden utilizarse las relaciones obtenidas donde el manejo adecuado de nutrientes en época, cantidad, disponibilidad, es imprescindible para incrementar los rendimientos y reducir la degradación del recurso edáfico a través de prácticas conservacionistas con menor dependencia de labranza, fertilizantes y demás agroquímicos para lograr sistemas productivos eficientes y sostenibles.

El monocultivo, el manejo inapropiado y la labranza intensiva, dañan las propiedades físicas del suelo y con ello, se desfavorece el suministro de agua y nutrientes a las plantas, además de beneficiar y seleccionar organismos con actividad patogénica como *S. cepivorum*, el cual forma estructuras de resistencia, favorecidos por el contenido de materia orgánica y la acumulación de productos ricos en azufre y cobre que cambian la estructura de las comunidades microbianas reduciendo la competencia y el antagonismo de los organismos benéficos del suelo.

Aunque el comportamiento biológico en condiciones de campo es difícil de modelar, debido a múltiples factores que desencadenan un proceso bioquímico y que predisponen la planta al ataque de un patógeno y al desarrollo de la enfermedad, los resultados de la evaluación de sanidad indican que el contenido de cobre en el suelo, la riqueza bacteriana y el porcentaje de microporos, son las variables que más contribuyen a la presencia y diseminación del patógeno.

La cantidad de nutrientes y la capacidad de suministro del suelo hacia la planta condicionan en gran medida la tolerancia de *A. cepa* al daño producido por *S. cepivorum*. Desequilibrios en sus concentraciones y relaciones, tienen como resultado el aumento en la susceptibilidad al daño, con los consecuentes efectos adversos en los rendimientos. El daño esta relacionado con condiciones adversas

como: mayor contenido de humedad en el suelo, alta microporosidad, elevados contenidos de Cu y S en el suelo, Na y S en la solución del mismo y bajos en Ca y P en tejidos, de lo que se infiere que un programa de manejo adecuado de suelos y fertilización pueden ser importantes para la protección de la planta en presencia del patógeno.

Si no hay producción de conocimiento autóctono, es decir de la propia problemática del suelo, sobrevendrá un estancamiento o una mayor dependencia tecnológica. La difusión de los resultados de esta investigación, permitirá que las zonas productoras de cebolla de bulbo (*A. cepa*), cuenten con herramientas eficientes para contrarrestar el daño producido por *S. cepivorum* y evitar la degradación de los suelos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ❖ **AGRIOS GEORGE N.** Plant Pathology. Department of Plant Pathology Universidad of Florida. Fourth edition. Academic Press. San Diego California Estados Unidos. Chapter seven. P. 143-152, 1997.
- ❖ **AGUILAR, L.** Caracterización microbiológica y fisicoquímica de suelos de islas de fertilidad de mezquite en un ecosistema semiárido. Tesis de licenciatura, Instituto de ciencias agrícolas, Universidad de Guanajuato. Irapuato, GTO., México. 1998.
- ❖ **AGUIRRE, S.** Influencia de la nutrición y absorción diferencial de nutrimentos sobre la severidad del hongo *Sclerotium cepivorum* en cebolla de bulbo en Tibasosa Boyacá. Tesis de grado. Maestría en Ciencias Agrarias Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 120 p. 2006.
- ❖ **AGUIRRE, S; MENJIVAR, J.; PIRANEQUE, N.** Relación entre la nutrición mineral y la severidad del daño ocasionado por pudrición blanca en cebolla de bulbo. Acta agronómica, Vol. 55, No 4. p. 21-28. 2006.
- ❖ **AGUIRRE, S.; PIRANEQUE N.** Nutrición vegetal. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Módulo facultad de Ciencias agropecuarias y del medio ambiente. Bogotá, 195p. 2007.
- ❖ _____. Absorción de macro y micronutrientes por el cultivo de cebolla en Boyacá, Revista de Investigaciones de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. Vol. 5 No 1 y 2, p. 107-120. ed. Especial 2006.
- ❖ _____. Influencia del ambiente y la nutrición sobre las enfermedades vegetales. Revista de Investigación Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. Vol. 4 no. 2, p. 25-37. 2005.

- ❖ **AMÉZQUITA E.** Hacia la sostenibilidad de los suelos en los Llanos Orientales de Colombia. Memorias IX congreso Colombiano de la ciencia del suelo. P 106-120. 2000.
- ❖ **AMÉZQUITA E.** Propiedades físicas de los suelos de los Llanos Orientales y sus requerimientos de labranza. Trabajo presentado en el taller sobre "Encuentro nacional de labranza". ISBN: 958-608-138-9. 1998.
- ❖ **AMÉZQUITA E.** Las propiedades físicas y el manejo productivo de los suelos. En: SILVA, F. Fertilidad de suelos: Diagnóstico y Control. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, Colombia. pp 137-154. 1994.
- ❖ **AMÉZQUITA, E; HOYOS, P; MOLINA, D. L; CHAVEZ, L Y GALVIS, J. H.** En convenio con el Ministerio de Agricultura (MADR). Resultados de la investigación en suelos de la Altillanura Colombiana 1996 – 2002. CIAT.46 p. 2003.
- ❖ **AMÉZQUITA, E. Y LONDOÑO, H.** La infiltración del agua en algunos suelos de los Llanos Orientales y sus implicaciones en su uso y manejo. Revista Suelos Ecuatoriales Vol.27:163-168. 1997.
- ❖ **ARARAT, A.** Estado Actual de los nutrientes en los suelos del departamento de Córdoba. Montería: Centro de publicaciones Universidad de Córdoba. p. 45-48. 1995.
- ❖ **ARMANN, R.I.; LUDWIG, W.** Ribosomal RNA- targeted nucleic acid probes for studies in microbial ecology. Microbiology Reviews, New York, v. 24, p. 555-565, 2000.
- ❖ **ATLAS, R.M.** Diversity of microbial communities. *In*: K.C. Marshall (ed). Advances in Microbial Ecology 7: 1-47. Plenum press, New York, USA. 1984.
- ❖ **ÁVILA, C.** Aspectos de la biología del hongo *Sclerotium cepivorum* estimulación de la germinación de esclerocios. En Fitopatología Colombiana. Vol.15, N.2. 1991.

- ❖ **AYALA, H.** Influencia de la material orgánica sobre *Sclerotium cepivorum* Berk y *Ditylenchus dipsaci* en ajo y su posible interacción entre los dos patógenos. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo) Universidad Nacional de Colombia, escuela de Agronomía. Bogotá, 1983.

- ❖ **BALACHANDRAN, S., V.M. HURRY, S.E. KELLEY, C.B. OSMOND, S.A. ROBINSON, J. ROHOZINSKI, G.G.R. SEATON y D.A. SIMS.** Concepts of plant biotic stress. Some insights into the stress physiology of virus-infected plants, from the perspective of photosynthesis. *Physiol. Plant.* 100: 203-213. 1997.

- ❖ **BÉLANGER, R., BENHAMOU, N. y MENZIES, J.** Cytological Evidence of an Active Role of Silicon in Wheat Resistance to Powdery Mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *Tritici*). IN: *Phytopathology*. Vol 93, No.4 Pág.402 – 412. 2003.

- ❖ **BÉLANGER, R. y MENZIES, J.** Use of silicon to control diseases in vegetable crops. In: *Congresso Brasileiro de Fitopatologia*, 36, Uberlândia, *Fitopatologia Brasileira* 28:S42-S45. 2003.

- ❖ **BERGMAN, E. y BOYLE, J.** Effect of tobacco mosaic virus on the mineral content of potato leaves. *Phytopathology* 52: 956-957. 1962.

- ❖ **BERTSCH FLORIDA.** Absorción de nutrimentos por los cultivos. *Asociación Costarricense de la ciencia del suelo*. 2003.

- ❖ **BLOCK ERIC.** Química del Ajo y la Cebolla. Departamento de Enxeñeria Química. Santiago de Compostela. 1991.

- ❖ **BOHANNAN, B.J.M.; HUGHES J.** New approaches to analyzing microbial biodiversity data. **Current Opinion in Microbiology**, London, v. 6, p. 282–287, 2003.

- ❖ **BOSCH SERRA ANGELA D.** Ecophysiological basis of Onion production *Allium cepa* L. *Universitat de Lleida* 1999.

- ❖ **BRADY, N and WEIL, R.** The nature and properties of soils. Twelfth edition. Prentice Hall inc. pág. 130-160, 449-459, 491-536, 540-580, 585-606. New Jersey, 1999.
- ❖ **BREWSTER, J.L.** Las cebollas y otros *Alliums*. Ed. Acribia. .Pg. 44, 68-227. Zaragoza España, 2001.
- ❖ **BUENO, C.J.; AMBRÓSIO, M.M. de Q.; SOUZA, N.L.** Produção e avaliação da sobrevivência de estruturas de resistência de fungos fitopatogênicos habitantes do solo. Summa Phytopathologica, v.33, n.1, p.47-55, 2007.
- ❖ **CABRALES, ELIECER M.** Dinámica del azúfre en un Tepic sulfaquept del medio Sinú, Colombia. Tesis de grado, Magíster en Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia. Córdoba, 2004.
- ❖ **CADENA, M.** Relación del Magnesio con el potasio y el calcio en la interfase: Suelo derivado de cenizas volcánicas – raíces de plantas de café. Tesis de grado. Doctorado en ciencias agropecuarias Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 100 p. 2004.
- ❖ **CAMPILLO R., R., C. QUEZADA L. y A. AGUILA C.** Incidencia del virus del enrollamiento de la hoja de la papa en la respuesta a la fertilización NPK. Agricultura Técnica 41: 25-29. 1981.
- ❖ **CASTILLO, N.** Aislamiento, identificación y selección de potenciales microorganismos antagonistas para el control del hongo *Sclerotium cepivorum* causante de la pudrición blanca de la cebolla de bulbo (*Allium cepa* L.). Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Tunja, 2000.
- ❖ **CASTRO, HUGO, E.** Producción y fertilización de hortalizas en Colombia EN: Fertilización de Cultivos de Clima Frío. Monómeros colombo venezolanos S.A Pág. 195 -217. Bogotá, 1998.

- ❖ _____ . Fundamentos para el conocimiento y manejo de suelos agrícolas. Manual técnico. Instituto Universitario Juan de Castellanos. Tunja. 360 p. 1998^a.
- ❖ **CEBALLOS, H.** Resistencia genética a enfermedades y criterios para su correcta utilización. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 33p. (inédito). 2002.
- ❖ **CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ CENICAFE.** Manual de conservación de suelos de ladera. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, 1975.
- ❖ **CHABOUSSOU, F.** Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos. A teoria de trofobioses. Ma. J. Guazzell (trad). Poto Alegre. L&PM. 256 p. 1987.
- ❖ **CHAO, A.; LEE, S. M.** Estimating the number of classes via sample coverage. *Journal of the American Statistical Association*, Alexandria, v. 87, p. 210–217. 1992.
- ❖ **CHAO, A.; SHEN, T.J.; HWANG, W.** Application of laplace's boundary-mode approximations to estimate species and shared species richness. *Australian & New Zealand Journal of Statistics*, Melbourne, v. 48, n. 2, p. 117–128, 2006.
- ❖ **CLARKSON, T. PAYNE, A. MEAD AND J. M. WHIPPS.** Selection of fungal biological control agents of *Sclerotium cepivorum* for control of white rot by sclerotial degradation in a UK soil. *Plant Pathology* 51 , 35–745. 2002.
- ❖ **COLEY-SMITH, J. R.** White rot disease of *Allium*: problems of soil-borne diseases in microcosm. *Plant Pathology* 39: 214-222. 1990.
- ❖ _____ . Differential stimulation of germination of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* by cultivars of onion and its effect on white rot disease *Plant Pathol.* 36:246-257.1987.
- ❖ **COON, J., HNENII, S., KO, W, ROVIRA, A., SCHIPPERS, D. and SCOTT, O.** Biological control of borne plant pathogens. CAB International, 1990.

- ❖ **CORPOICA.** Hortalizas Productividad y mercado. Centro de Investigación Tibaitatá. Mosquera, 2002.
- ❖ **COYNE, M.** Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio. Ed. Paraninfo. 416 p. España, 2000.
- ❖ **CROWE, F..** White Rot. Pp. 14-16 in Compendium of Onion and Garlic Diseases (H. F. Schwartz and S. K. Mohan, eds.). AI'S Press, St. Paul, MN, USA. 1995.
- ❖ **CROWE, F. J.; HALL, D. H.; GREATHEAD, A. S.; BAGHOTT, K. G.** Inoculum density of *Sclerotium cepivorum* and the incidence of white rot of onion.1980.
- ❖ **CURY, J. C.** Atividade microbiana e diversidades metabólica e genética em solo de mangue contaminado com petróleo. 84p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.
- ❖ **DAVIS MICHAEL R.** Use of a Natural Product to stimulate Sclerotial germination of *Sclerotium cepivorum* for the control white rot of onion and garlic. Pest Management Grants Final Report. Department of Plant Pathology, University of California, 1999.
- ❖ **De VISSER, C.** Alcepas. An onion growth model based on SUCROS87.I. Development of the model. Journal of Hortucultural Science 69 (3), 501 – 518, 1994.
- ❖ **DÍAZ-ZORITA, M.** Impacto de la fertilidad del suelo sobre las enfermedades en el Cultivo de soja. Memorias III congreso de soja del MERCOSUR. Rosario Argentina. 4 p. 2006.
- ❖ **ENTWISTLE, A., R.** Allium white rot and its control. Soil Use Manage. Vol. 6 (4):201-209. 1990.
- ❖ **ESPINOSA, J.** Tendencias en el manejo sostenible de la fertilidad del suelo. EN: Suelos ecuatoriales 37 (1): 5-9. Osorio, Walter (Ed.). Bogotá, Colombia, 2007.

- ❖ **FAGERIA, N.K., V.C. BALIGAR y Ch.A. JONES.** Growth and mineral nutrition of fields crops. 2nd edition. Marcel Dekker, Inc. New York, 1997.
- ❖ **FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.** Guía para el Manejo eficiente de la nutrición de las plantas. Roma, 2001.
- ❖ **FAWE, A., ABOU-ZAID, M., MENZIES, J.G. & BÉLANGER, R.R.** Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. *Phytopathology* 88:396-401. 1998.
- ❖ **FIGUEROA, M Y TORRES, M.** Cebolla: Bases Nutricionales de la Fertilización. *EN: Agromail Servicio de Información Agropecuaria www.agromail.net. EEA INTA Pergamino. Ecuador, 2002.*
- ❖ **FLOWERS, T. J., and LÄUCHLI, A.** Sodium Vs. Potassium: Substitution and compartmentation. Pp651-681. IN: Läuchli and Bielecki R.L. (eds.). *Inorganic plant nutrition. Encyclopedia of plant nutrition vol. 15B.* Springer-Verlag. Berlin, Germany. 1983.
- ❖ **FILGUEIRA FAR.** Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2ed. Viçosa: UFV. 412p. 2003.
- ❖ **FONTES PCR.** *Cultura da cebola.* Viçosa: Universidade Federal do Visisa. 40p. 1998.
- ❖ **FORSYTHE,** Física de los suelos. Manual de laboratorio. Ed. IICA, San José de Costa Rica. 211 p. 1985
- ❖ **GALVIS, J.** Evaluación del efecto de la intensidad de labranza en la formación del sellamiento superficial de un oxisol de sabana en los llanos orientales de Colombia. Tesis de grado (Magíster en Ciencias Agrarias) Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. 2005.
- ❖ **GAMIELY, S., RANDLE, W., MILLS, H and SMITTER, D.** Onion plant growth bulb quality and water uptake following

ammonium and nitrate nutrition. Hort Science 26: 1061-1063, 1991

- ❖ **GELSOMINO, A.; KEIJZER-WOLTERS, A.C.; CACCO, G. & van ELSAS, J.D.** Assessment of bacterial community structure in soil by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis. J. Microbiol. Methods, 38:1-15, 1999.
- ❖ **GILBERT, J., MCLAREN, D.L AND GRANT C.A.** Effects of Nutrition and Nutrient Management on Plant and Human and Animal Health. Manitoba, Winnipeg. www.umanitoba.ca. 5p. 2001.
- ❖ **GISSAT.** Caracterización de la Problemática de Suelos Sulfatados Ácidos Improductivos y Evaluación del manejo para su rehabilitación agrícola. Distrito de Riego del Alto Chicamocha – Boyacá. Proyecto COLCIENCIAS – UPTC. 2004.
- ❖ **GLASS, ADM.** Plant nutrition: an introduction to current concepts. Boston: Jones an Bartlett Publishers. 243 p. 1989.
- ❖ **GRAHAM, R.D.** Effects of nutrient stress on susceptibility of plants to disease with particular reference to the trace elements.. In: H.W. Woolhouse (ed.). Advances in Botanical Res. Vol. 10. Academic Press, pg. 221-276. London, 1983.
- ❖ **GRAHAM, R.D. Y M.J. WEBB.** Micronutrients and disease resistance and tolerance in plants. Pp. 329-370. In J.J. Mortvedt, F.R. Cox, L.M. Shuman, and R.M. Welch eds. Micronutrients in Agriculture. 2nd edition. Soil Science Society of America. 1991.
- ❖ **GUERRA, S.** *Sclerotium cepivorum Berk* en cebolla de Bulbo (*Allium cepa L.*). Especialización en manejo biológico de cultivos, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Trabajo de grado. Tunja, 2002.
- ❖ **GUERRERO, R. R.** Fertilización de cultivos de clima frío. Monómeros Colombo Venezolanos. 1998.

- ❖ **HAGG, H., HOMA, P. e KIMOTO, T.** Nutrição mineral de hortaliças. VIII. Absorção de nutrientes pela cultura da cebola. Anais...ESALQ. Piracicaba. Brasil p. 143-153. 1970
- ❖ **HARIKRISHNAN, R and DEL RIO, L.** Relationship between weather and white mold of dry bean in north Dakota. *Phytopathology*. 95, s163. 2004.
- ❖ **HARTMAN, G.L., SINCLAIR, J.B, RUPE, J.C.** Compendium of soybean diseases. APS Press, St.Paul (MN, USA), 100 pp. 1999.
- ❖ **HEDGE, D.M.** Effect of irrigation and nitrogen fertilization on yield, quality, nutrient uptake and water use of onion (*Allium cepa* L). *Singapore Journal of Primary Industries* 16(2), 111-123. 1988.
- ❖ **HEINRICH, K. y ELLIES, A.** El rol de la física de suelo en la producción agrícola. *Agrosur* v. 27 No. 1. Valdivia, 1999.
- ❖ **HERRERA, P.** Efecto de la labranza sobre algunas propiedades físicas del suelo. Tesis de Agrólogo. Universidad Jorge Tadeo Lozano. 75 p. Bogotá, 1989.
- ❖ **HILLEL, D.** Introduction to environmental soil physics. 2003.
- ❖ **HINSINGER P.** How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. Academic Press. *Advances in Agronomy*, vol 64 p 225 – 265. 1998.
- ❖ **HINSINGER, P. and JAILARD, B.** Root-induced release of interlayer potassium and vermiculitization of phlogopite as related to potassium depletion in the rhizosphere of ryegrass. *J. Soil Sci*: 44, 525-534. 1993.
- ❖ **HOEFT, R.G.; NAFZIGER, E.D.; JOHNSON, R.R.; ALDRICH. S.R.** Modern corn and soybean production. MCSP Publications, Champaign (IL, USA), 353 pp. 2000.

- ❖ **HUBER, D. M.** Manejo de la nutrición para el combate de patógenos. EN: *Agronomía costarricense* 21 (1): 99-102. 1997
- ❖ _____. Fertilizers and soilborne disease. *IN: Soil use Manage* 6: 168- 173. 1991.
- ❖ _____. Soilborne plant pathogen: management of disease with macro and microelements. pg 1-8. In: A.W. Engelhard (ed.). APS Press. St. Paul, Minnesota, 1989.
- ❖ _____. The use of fertilizers and organic amendments in the control of plant disease. pp. 357-394. *In: D. Pimentel (ed.). CRC Handbook of pest management in agriculture. Vol. 1. CRC Press, Boca Raton, Fl. 1981*
- ❖ _____. The role of mineral nutrition *IN: Plant Disease and advanced treatise. Vol 5. Academic Press. pg 163-168, 1980.*
- ❖ _____. Disturbed mineral nutrition. *IN: J.G. Horsfall y E.B. Cowling (eds.). Plant Disease and advanced treatise. Vol 3. Academic Press. pg.163-18, 1978.*
- ❖ **HUBER, D.M. y ARNY.** Interactions of potassium with plant disease. *In: R.D. Munson (ed.). Potassium in agriculture. pg. 467-488. Madison, Wisconsin. USA, 1985.*
- ❖ **HUBER, D.M. y WATSON, R.D..** Nitrogen form and plant disease. *Ann. Rev. Phytopathol. 12: 139-165. 1974.*
- ❖ **ICA.** Boletín Sanidad Vegetal No. 35 Surbata – Boyacá. 2002.
- ❖ **KEMP,P.F.; ALLER, J.Y.** Bacterial diversity in aquatic and other environments: what 16S rDNA libraries can tell us, **FEMS Microbiology Ecology**, Oxford v. 47, p. 161-177, 2004.
- ❖ **KENNEDY, A.C.; SMITH K.L.** Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.170, n.1, p.75-86, 1995.

- ❖ **KIRALY, Z.** Plant disease resistance as influenced by biochemical effects of nutrients in fertilizers. Proc. 12th colloq. Int. Potash Inst. Bern, pp 33-46. 1976.
- ❖ **LAL, R.** Methods and Guidelines for assesing sustainable use of soil and water resources in the tropics. USDA. 1994.
- ❖ **LAMBAIS, M. R.** Untraveling the signaling and signal transduction mechanisms controlling arbuscular mycorrhiza development. Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.), v.63, n.4, p.405-413, July/August 2006.
- ❖ **LAMBAIS, M. R.; CURY, J.C.; MALUCHE-BARETTA, C.; BULL, R.C.** Diversidade Microbiana nos Solos: Definindo Novos Paradigmas. In: VIDAL-TORRADO, P.; ALLEONI, L. R. F.; COOPER, M.; SILVA, A. P.; CARDOSO, E. J.. (Ed.). **Tópicos em ciência do solo.** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 4, p. 43-84. 2005.
- ❖ **LAVELLE, P. and SPAIN, A.** Soil Ecology. Kluwer Academic Publisher. Boston, 2001.
- ❖ **LEMAIRE, G. and GASTAL, F.** N uptake and distribution in canopies pp. 3-43. IN: Lemaire G. (ed.). Diagnosis of thenitrogen status in crops. Springer Verlang. Berlín - Germany, 1997.
- ❖ **LOZUPONE C.; KNIGHT, R.** UniFrac: a New Phylogenetic Method for Comparing Microbial Communities. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, p. 8228–8235, 2005.
- ❖ **McCAIG, A.E.; GLOVER, L.A. & PROSSER, J.I.** Numerical analysis of grassland bacterial community structure under different land management regimens by using 16S ribosomal DNA sequence data and denaturing gradient gel electrophoresis banding patterns. Appl. Environ. Microbiol., 67:4554-4559, 2001.
- ❖ **MALAVOLTA, E., VITTI, G. y de OLIVEIRA, S.** Avalicao do estado nutricional das plantas: principios e aplicacoes, POTAFOS, Piracicaba (SP, Brasil), 319 pp. 1997.

- ❖ **MANNERS, J.** Introducción a la fitopatología. Traducción Guzmán, M. Editorial Limusa. México. 295p. 1986.
- ❖ **MARGALEF, R.** Information theory in ecology. **Genetic Systematic**, New York. v. 3, p. 36–71. 1958.
- ❖ **MARSCHNER, H.** Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd edition. Academic Press. London, 887 p. 2003.
- ❖ **MENJIVAR, J.** Cátedra de Fertilidad de Suelos. Escuela de Posgrados Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. Doctorado en Ciencias Agropecuarias – Manejo y Conservación de Suelos - (inédito), 2004.
- ❖ **MONFORT, W., KIRPATRICK, T and MAUROMOSTAKOS, A.** Influence of soil texture on *Meloidogyne incognita* induced yield suppression of cotton. *Phytopathology* 95, s 175. 2005.
- ❖ **MONTENEGRO, G. y MALAGON, D.** Propiedades físicas de los suelos. Subdirección agrícola IGAC. Bogotá, Colombia, 1990.
- ❖ **MOREIRA, F. y SIQUEIRA, O.** Microbiología e bioquímica do solo. Universidade federal de Lavras, 2^a ed. 729 p., Lavras, Brasil, 2006.
- ❖ **MORTVEDT, J., BERGER, K and DARLING, H. 1963.** Effects of manganese and copper on the growth of *Streptomyces scabies* and the incidence of potato scab. *Am. Potato J.* 40, 96-102.
- ❖ **MUMMEY, D.L. & STAHL, P.D.** Analysis of soil whole- and inner-microaggregate bacterial communities. *Microbiol Ecol.*, 48:41-50, 2004.
- ❖ **MUYZER, G.; de WAAL, E.C.; UITTERLINDEN, A.G..** Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes encoding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.59, p. 695-700, 1993.

- ❖ **MUYZER, G.; SMALLA, K.** Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology **Antonie van Leeuwenhoek**, Wageningen, v. 73, p. 127–141, 1998.
- ❖ **NANAYAKARA , U; DATNOFF, L.** Effects of silicon on development of gray leaf spot in perennial ryegrass. *Phytopathology*, 95, s172, 2004.
- ❖ **NOGUEZ, A.M.; ARITA, H.T.; ESCALANTE, A.E.; FORNEY, L.J.; GARCÍA-OLIVA, J; SOUZA, V.** Microbial macroecology: highly structured prokaryotic soil assemblages in a tropical deciduous forest. **Global Ecology Biogeography**, Oxford, v. 14, p. 241–248, 2005.
- ❖ **NÜBEL, U.; GARCIA-PICHEL, F.; KUHL, M.; MUYZER, G.** Quantifying microbial diversity: morphotypes, 16S rRNA genes, and carotenoids of oxygenic phototrophs in microbial mats. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, p. 422–43, 1999.
- ❖ **OLALDE , P. y AGUILERA, G.** Microorganismos y biodiversidad. *Terra* 16: (3) 289-292. 1998.
- ❖ **OLEMBO, R.** Importance of microorganisms and invertebrates as component of biodiversity. *In*: D.L. Hawksworth (ed). *The biodiversity microorganisms and invertebrates: its role in sustainable agriculture*. Redwood Press, Melksham, UK. 1991.
- ❖ **ØVREÅS, L.** Population and community level approaches for analyzing microbial diversity in natural environments. **Ecology Letters**, London, v. 3, p. 236-251, 2000.
- ❖ **ØVREÅS, L.; FORNEY, L.; DAAE, F.L.; TORSVIK, V.** Distribution of bacterioplankton in meromictic lake saelenvannet, as determined by denaturing gradient gel electrophoresis of pcr amplified gene fragments coding for 16s rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 63, n. 9, p. 3367–3373, 1997.

- ❖ **PACE, N. R.; STAHL, D. A.; LANE D. J.; OLSEN, G. J.** The analysis of natural microbial populations by ribosomal RNA sequences. **Advances in Microbial Ecology**, New York, v. 9, p. 1-55, 1986.
- ❖ **PARIS, M.** Aislamiento, identificación y selección de bacterias y levaduras biocontroladoras del fitopatógeno *Sclerotium cepivorum* Berk. Causante de la pudrición blanca en cebolla de bulbo *Allium cepa* L. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo) Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Facultad de ciencias Agropecuarias. Tunja, 2000
- ❖ **PERRENOUD, S.** Potassium and plant health. IN: Research topics No. 3 pp 1-118. International Potash Institute, Bern Switzerland. 1977.
- ❖ **PIRANEQUE, N. y AGUIRRE, S. (coordinadores).** Microbiología: En búsqueda de nuevos paradigmas. Cap. 9. Estudio y aplicaciones de la diversidad microbiana. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Bogotá. Pg. 131 – 140. 2007.
- ❖ **PLA, I.** Labranza, propiedades físicas y producción de maíz en los llanos occidentales. EN: memorias “Taller sobre prácticas de labranza en los sistemas de producción con maíz en los llanos occidentales”. Araure, Venezuela. 1994.
- ❖ _____. Propiedades físicas del suelo. Relaciones con la productividad y procesos de degradación. Métodos de evaluación y modelaje. P 1-35, 1993.
- ❖ **PÔRTO DRQ; CECÍLIO FILHO AB; MAY A; BARBOSA JC.** Acúmulo de macronutrientes pela cebola ‘Optima’ estabelecida por semeadura direta. Horticultura Brasileira 24:470-475. 2006.
- ❖ **POZZA, A., ALVES, E., POZZA, E., CARVALHO, J., MONTANARI, M., GUIMARÃES, P., E. SANTOS, D.** Efeito do silício no controle da cercosporiose em três variedades de cafeeiro. EN: Fitopatol. Bras. 29 (2), mar – abr. Brasília. 10p. 2004.

- ❖ **PRECIADO, L.** Influencia del tiempo de uso del suelo en las propiedades físicas en la productividad y sostenibilidad del cultivo de arroz en Casanare. Trabajo de grado Magíster en conservación de suelos y aguas. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de ciencias agrícolas, 111p. Palmira, 1997.
- ❖ **RINCON ALVARO HERNAN.** Caracterización Física De Suelos Sulfatados Ácidos Improductivos En El Distrito De Riego Del Alto Chicamocha (Boyacá). Trabajo de grado. Ingeniería Agronómica Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. 80 pTunja,2005.
- ❖ **SALAZAR-ARIAS, N.** Respuesta de plántulas de café a la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio. Cenicafé, Chinchina, v. 28, n. 2, p. 61-66. 1977.
- ❖ **SALISBURY, F. and ROSS, C.** Fisiología de las plantas. Ed. Paraninfo, Madrid, 2000.
- ❖ **SÁNCHEZ de P., M. y PRAGER, M.** Nociones fundamentales para el manejo ecológico de problemas fitosanitarios. Universidad Nacional de Colombia, Palmira - PRONATA. 43P. 2001.
- ❖ **SÁNCHEZ, M de P. MARMOLEJO F, BRAVO N.** Microbiología Aspectos Fundamentales. Universidad Nacional de Colombia. 2001.
- ❖ **SÁNCHEZ de P.,M. (coordinadora)** Endomicorrizas en Suelos Tropicales. Cap. 3. La rizósfera: Estrategia de colonización. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. Pg. 106 – 134 (inédito). 2005.
- ❖ **SARNIGUET, A. LUCAS, P., LUCAS, M. And SAMSON, R.** Soil conduciveness to take-all of wheat: Influence of the nitrogen fertilizers on the structure of populations of fluorescent pseudomonas. Plan Soil. 145, 29 p. 1992.
- ❖ **SCHLOSS, P.D.; LARGET, B.R.; HANDELSMAN, J.** Integration of microbial ecology and statistics: a test to compare gene libraries. **Applied and Environmental**

Microbiology, Washington, DC, v, 70, n.9, p. 5485–5492 , 2004.

- ❖ **SEEBOLD, K.W., DATNOFF, L.E., CORREA-VICTORIA, F.J., KUCHAREK, T.A. & SNYDER, G.H.** Effect of silicon rate host resistance on blast, scald, and yield of upland rice. *Plant Disease* 84:871-876. 2000.
- ❖ **SHEN T.J.; CHAO, A.; LIN, C.F.** Predicting the number of new species in further taxonomic sampling. *Ecology*, Ithaca, v. 84, n. 3, p. 798–804, 2003.
- ❖ **SING, B., MUNRO, S., REID, E., ORD, B., POTTS, M., PATERSON, E. y MILLARD, P.** Investigating microbial community structure in soils by physiological, biochemical and molecular fringerprinting methods. *European Journal of soil Science*, Oxford, v 57, p. 72-82, 2006.
- ❖ **SINGLETON, D. R., M. A. FURLONG, S. L. RATHBUN, AND W. B. WHITMAN.** Quantitative comparisons of 16S rRNA gene sequence libraries from environmental samples. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 67, p.4374–4376, 2001.
- ❖ **SIQUIERA, J y FRANCO, A.** *Bioteecnología do solo. Fundamentos e perspectivas. Mec – Esalq – Saepe.* Rio de Janeiro, Brasil. 234 p. 1998.
- ❖ **SMIT, E.; LEEFLANG, P.; GOMMANS, S.; van den BROEK, J.; van, M.S. & WERNARS, K.** Diversity and seasonal fluctuations of the dominant members of the bacterial soil community in a wheat field as determined by cultivation and molecular methods. *Appl. Environ. Microb.*, 67:2284-2291, 2001.
- ❖ **STACH, J.E.M.; MALDONADO, L.A.; MASSON, D.G.; WARD, A.C.; GOODFELLOW, M.; BULL, A.T.** Statistical approaches for estimating actinobacterial diversity in marine sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, p. 6189–6200, 2003.

- ❖ **SUBARRAO, G., STUTTE, G., WHEELER, R. and BERRY, W.** Sodium: a functional nutrient in plants. En: Hand Book of plant na crop physiology 2a ed. P. 363-384 M. Pesarakly (ed.). New York, 973p. 2002.
- ❖ **THOMAS, J.R. y D.M. McLEAN.** Growth and mineral composition of squash (*Cucurbita pepo* L.) as affected by N P K and tobacco ring spot virus. Agron. J. 59: 67-69. 1967.
- ❖ **THONBAI, P., GRAHAM, R., NECTE, S. and WEBB, M.** Interactions between zinc nutritional status of cereals and *Rhizoctonia* root rot severity. II. Effects of Zn on disease severity of wheat under controlled conditions. Plant Soil. 153, 215 – 222. 1993.
- ❖ **TISDALE S, HAVLIN J, NELSON WERNER.** Fertility and fertilizers An Introduction to nutrient Management Prentice Hall, seventh edition, New Jersey, 2005.
- ❖ **TÔRSVIC, V.** Diversity of microbial communities determined by DNA analysis. IN: RITZ, K.; DIGHTON, J.; GILLER, K. (ed.). Beyond Biomass. (s.I): Willey Exeter. p. 39-48. 1994.
- ❖ **TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M.** Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: ALVAREZ V, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS,N.F.;MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M.. (Ed.). Tópicos em ciência do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 2, p. 195-276. 2002.
- ❖ **URPA, MINISTERIO DE AGRICULTURA, GOBERNACIÓN DE BOYACA.** Informe de Coyuntura económica 2004. Evaluación y diagnostico agrícola de cultivos. Secretaria de Agricultura de Boyacá 73 p. 2004.
- ❖ **VALLONE, S.D. 2003.** Enfermedades de soja. Mundo Soja 122-132
- ❖ **VAN DER MEER, Q. P.** Review on the availability of resistance to Allium white rot (*Sclerotium cepivorum* Berk.). In: Proceedings of the Third International Workshop on Allium White Rot. 1986.

- ❖ **VELASCO, V.** Papel de la nutrición mineral en la tolerancia a las enfermedades de las plantas. *EN: Terra* Vol 17 No. 3. p. 193-200. 1999.
- ❖ **VIDIGAL SM; PEREIRA PRG; PACHECO DD.** Nutrição mineral e adubação de cebola. In: *Informe Agropecuário* 23: 36-50. 2002.
- ❖ **WIEDENFELD, R.** Nitrogen rate and timing effects on onion growth and nutrient uptake in a subtropical climate. *Subtropical Plant Science* 46: 32-37, 1994.
- ❖ **YAMADA, T.** Simposio discute relações entre nutrição mineral de plantas e outros fatores abióticos e a incidência de doenças de plantas. *Informações Agronomicas* 109: 8-13. 2005.
- ❖ **ZAPATA, R.** Química de la acidez del suelo. 1ª ed. Medellín Colombia, 2004.
- ❖ **ZHANG, J. y LUO, S:** A case study on the relationship between the sulphur forms and acidity in acid sulphate soils. 2002.
- ❖ **ZHOU, J.; XIA, B.; HUANG, H.; PALUMBO, A.V.; TIEDJE, J. M.** Microbial Diversity and Heterogeneity in Sandy Subsurface Soils **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v, 70, n.3, p. 1723–1734, 2004.

ANEXO 1

PROTOCOLO PARA EXTRAÇÃO DE DNA TOTAL DO SOLO

(Não publicado)

Daniele Takahashi, Gisele Lopes Nunes, Lucas Carvalho Basílio de Azevedo, Marcio Morais, Rafael Dutra de Armas, Hélio Kamida, Marcio Rodrigues Lambais

Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz USP.

1. Ligar Shaker horizontal com temperatura a 30°C.
2. Pesar 0,5g de solo em tubos de 2 mL com tampa rosca.
3. Adicionar 1,25mL de Na₂PO₄ (1mM - pH 7,0) + SDS 1%. Adicionar 0,1g de PVPP.
4. Incubar a 30°C por 30 minutos, agitando a cada 5 minutos.
5. Centrifugar a 12000g por 15 minutos a temperatura ambiente. Transferir o sobrenadante (500µl) para um tubo 1,5 (Eppendorf). Adicionar 50µL de acetato de potássio (Kac) 5M, invertendo 10 vezes e incubar em gelo por 10 minutos.
7. Centrifugar a 12000g por 5 minutos a temperatura ambiente.
 - 7.1. Adicionar 500µL de Fenol Cloroformo alcohol isomil 25:24:1²
 - 7.2. Centrifugar a 14000 RPM 10', pasar el sobrenadante a un tubo de 1.5 mL
 - 7.3. Adicionar 500 µL cloroformo: Alcohol Isomil 24:1
 - 7.4. Mix inversion 5'. Centrifugar 10000 RPM 10'
8. Transferir o sobrenadante para tubo 1,5(Eppendorf) e adicionar 1mL de etanol absoluto gelado, misturar por inversão 10 vezes e centrifugar por 15 minutos a 4°C.
9. Lavar o pélete com 500µl de etanol 70% e centrifugar por 5 minutos a 4°C.
10. Secar o pélete a 37°C por 20 minutos.
11. Ressuspender em 50µL de água MilliQ autoclavada.

² Pasos 7.1 a 7.4 adicionados a recomendación del laboratorio de biología molecular de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira

ANEXO 2.

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

En Abril de 1983, Kary Mullis dio a conocer la Técnica de reacción en cadena de la Polimerasa o PCR que es una técnica para la síntesis "in Vitro" de secuencias específicas de DNA con la cual la insuficiente cantidad de ADN ya no es un problema en los procedimientos de Biología Molecular ni en los procedimientos de diagnóstico basados en el estudio de DNA.

La técnica se basa en la replicación del ADN en los organismos eucariotas realizada por la DNA polimerasa. Estas enzimas realizan la síntesis de una cadena complementaria de DNA en el sentido 5' -> 3' usando un molde de cadena sencilla, pero a partir de una región de doble cadena. Para crear esta región doble cadena se usan los denominados iniciadores (primers). Son una pareja de oligonucleótidos sintetizados de manera que sean complementarios a cada uno de los extremos 3' del fragmento de DNA que se desea amplificar.

Partiendo de este principio, la reacción en Cadena de la Polimerasa se basa en la repetición de un ciclo formado por tres etapas:

1ª Desnaturalización del ADN doble cadena

2ª Hibridación de los iniciadores a la zona 3' específica de cada una de las hebras

3ª Extensión del cebador por actuación de la DNA polimerasa

En la primera etapa (desnaturalización) la doble hélice de ADN se separa en dos hebras. Para ello se realiza una incubación de la muestra a altas temperaturas (93-97°C). La renaturalización se producirá cuando la temperatura disminuya.

En el segundo paso (hibridación) los cebadores se unen a las zonas 3' complementarias que flanquean el fragmento que queremos amplificar. Se realiza gracias a la bajada de la temperatura (50-65° C)

En la tercera etapa (elongación) se produce la síntesis de una cadena sencilla (produciéndose un fragmento de doble cadena por la complementariedad) en la dirección 5' -> 3' mediante la enzima DNA polimerasa, la cual incorpora los desoxinucleótidos fosfato presentes en el medio siguiendo la cadena molde. Todos estos pasos se pueden apreciar gráficamente en la Figura 1.

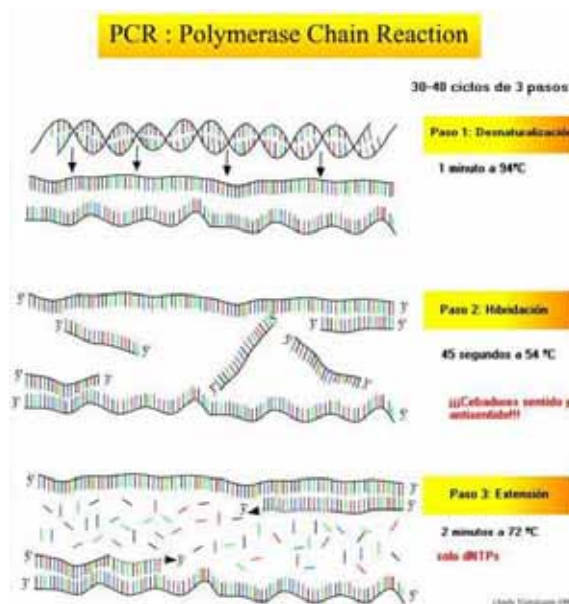


Figura 1: Pasos básicos de la PCR (de Andy Vierstracte 1999)

Este proceso se lleva a cabo en un equipo llamado termociclador (fig.2). Este aparato realiza los ciclos en los tiempos y temperaturas programadas de forma exacta.



Figura 2: Termociclador para reacciones de PCR

Observemos en las figuras 3a y 3b, observamos que una vez completado el primer ciclo, disponemos de 2 copias de la muestra original, al final del segundo ciclo tenemos 4, al final del tercero 8...Si los ciclos se producen un número "n" de veces y suponiendo que el número de copias de ADN se duplica en cada ciclo,

obtenemos una cantidad de ADN de $2n$, por lo que la amplificación se realiza en forma de progresión geométrica.

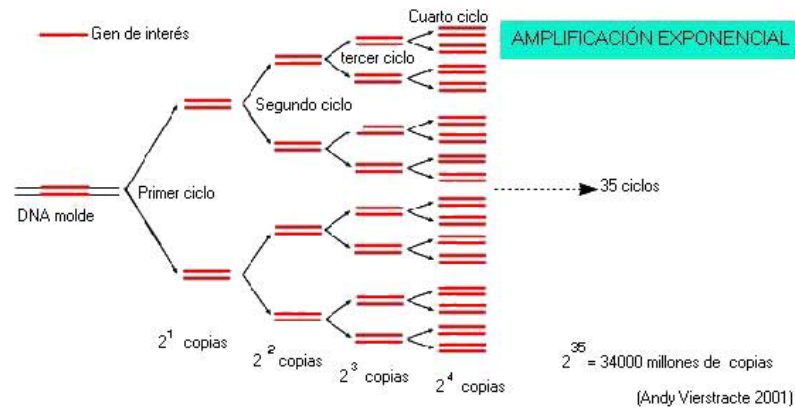


Figura 3a: Amplificación exponencial del PCR (de Andy Vierstracte 2001)

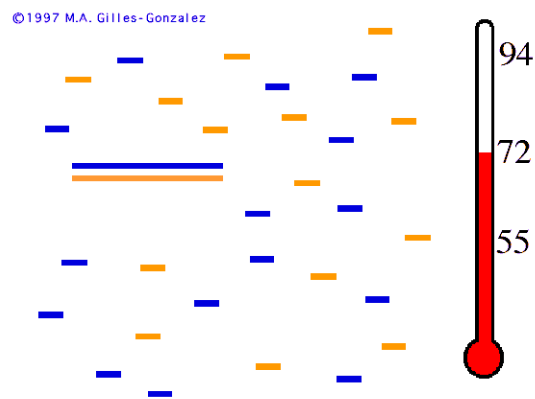


Figura 3b: Amplificación exponencial del PCR (de M.E. Gilles-González 1997)

Es importante recalcar que los productos obtenidos tras la tercera etapa son de dos tipos: "producto corto" y "producto largo". El producto corto tiene una longitud perfectamente definida por los extremos 5' de los cebadores y contiene exactamente la secuencia que se desea amplificar. Es el fragmento que se almacena de manera exponencial durante la reacción. El producto largo es el que incorpora las cadenas de ADN originales de la muestra y cuyos extremos 3' no están definidos. Sin embargo, es importante aclarar que al final de la PCR, la cantidad del producto corto sintetizado es muy superior en comparación con el producto largo, por lo que generalmente para posteriores estudios, a partir del producto de la PCR, se desestima. (fig. 4).

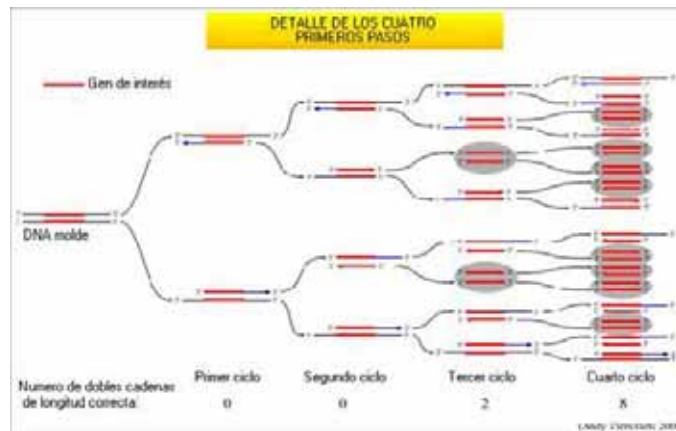


Figura 4: Detalle de los cuatro primeros pasos de la PCR (de Andy Vierstracte 2001)

La detección del producto de la Reacción en Cadena de la Polimerasa se realiza normalmente mediante corrido electroforético (fig 5) dependiendo del tamaño de la amplificación y la resolución que deseemos utilizaremos diferentes medios (agarosa, poliacrilamida) a distintas concentraciones. La posterior visualización se puede realizar con bromuro de estudio (lámpara de luz UV), tinción de plata, fluorescencia, radioactividad.



Figura 5: Preparación del corrido electroforético

En la actualidad se desarrollan métodos para poder cuantificar el producto de la PCR, visualizando in situ sobre tejidos (Cao, Y. y cols, 2000). Lo que hace prever un crecimiento, si cabe mayor, del uso de la técnica de la PCR.

A continuación trataremos de profundizar en los componentes y parámetros más importantes para obtener una amplificación óptima.

Componentes y optimización de la reacción de amplificación:

Muestra de ADN

Existen una serie de reglas sencillas para que el DNA molde no sea un problema en la reacción:

- Integridad del ADN: no puede estar fragmentado en trozos más pequeños de lo que queremos amplificar.
- Origen de la muestra y proceso de extracción: la muestra no debe llevar agentes quelantes (EDTA) que reducen la concentración de iones de Mg. en la disolución. Tampoco debe haber determinados factores sanguíneos, fenol, detergentes... que inhibirían la actividad de la polimerasa.
- Cantidad de la muestra: si se dispone de suficiente cantidad para la amplificación de ADN genómico de copia única se usan cantidades de 100-500 ng. En el caso de zonas repetidas se puede reducir esta cantidad a 10-50 ng. El mínimo oscila entre 10-100 ng. y el máximo entre 400-500 ng.

Diseño de los iniciadores

Para la elección de los primers, existen una serie de normas que nos pueden ayudar, aunque hay que indicar también que existen programas de ordenador que nos facilitan esta tarea (DNAsis, Primer3, etc.).

- El contenido en G + C debe ser aproximadamente del 50%. La relación máxima de purinas/pirimidinas será 60%/40%.
- Deben evitarse zonas con largas secuencias de una sola base.
- No seleccionar cebadores que en su extremo 3' tenga una importante estructura secundaria.
- Se recomienda que los extremos las últimas bases sean G o C.
- Se debe evitar la complementariedad entre la pareja de iniciadores. Si esta existe entre los extremos 3' existe la posibilidad de que se formen dímeros de iniciadores.
- Normalmente deben tener un tamaño de 18-30 pb.
- La Temperatura de hibridación de los cebadores debe ser similar en ambos y será variable en función de la secuencia de los mismos. Generalmente oscila entre los 45 y 60 ° C.
- Si el primer es menor a 20 pb, la temperatura de fusión (Tm), se calcula en base a la siguiente fórmula:

$$T_m = 4(G+C) + 2(A+T)$$

Siendo G, C, T y A el número de cada una de las bases que forman cada uno de los oligos. La temperatura de hibridación debe ser aproximadamente 5º menor que la temperatura calculada.

DNA Polimerasa

Existen diferentes tipos de DNA polimerasa que llevan a cabo la replicación del ADN, siguiendo el mismo método de síntesis. Se pueden clasificar en:

- Termolábiles: Tª óptima de 37-42°C. Se desnaturalizan con el calor.

TIPO	DNA polimerasa I (<i>E. coli</i>)	Fragmento Klenow de DNA polimerasa I (<i>E. coli</i>)	T4 DNA polimerasa (<i>E. coli</i>)	DNA polimerasa dependiente de RNA (retrovirus)
5' -> 3' polimerasa	Sí (baja)	Sí (baja)	Sí (medio)	Sí
5' -> 3' exonucleasa	Sí	No	No	Exorribonucleasa
3' -> 5' exonucleasa	Sí (baja)	Sí (baja)	Sí (alta)	Exorribonucleasa

- Termoestables: Tª óptima de 74 °C. Resiste durante 40-50´ a 96°C.

Tipo	Taq DNA polimeras (94 Kda)	Taq DNA polimeras (61 Kda)	Replicasa	Tth polimerasa
5' -> 3' polimerasa	Sí	Sí	Sí	Sí
5' -> 3' exonucleasa	Sí	No	?	?
3' -> 5' exonucleasa	No	No	No	?

Tipos	Taq	Pwo	Pfu	Pfx
Fidelidad	1x	12x	30x	48x
Amplificación Máxima	1 Kb	4 Kb	5 Kb	12 Kb
U/Reacción	2.5	2.5	1.25-5	1.25-5

Inicialmente se usó el fragmento Klenow de la DNA polimerasa de *E. coli* (Saiki y cols., 1985) la cual posee actividad 3' -> 5' exonucleasa que le proporciona la capacidad de cambiar el nucleótido que ha sido erróneamente incorporado. La importancia de esta actividad radica en que aumenta la fidelidad de la replicación del ADN original. Sin embargo, se trata de una enzima termolábil por lo que no soporta los ciclos y temperaturas utilizados en una PCR.

Actualmente la polimerasa que se utiliza es la Taq polimerasa (Estivil, 1991). Es una enzima termoestable aislada de *Termus aquaticus* (Taq), una bacteria que soporta altas temperaturas. La Taq polimerasa ha simplificado enormemente la

técnica de la PCR, ya que ha permitido su automatización (desarrollo del termociclador).

Como se observa en las Tablas anteriormente descritas, las polimerasas termoestables, como la Taq polimerasa, carecen de actividad 3' → 5' exonucleasa, lo que las hace menos seguras a la hora de comparar las fidelidades. Por ello hay que intentar conseguir las mejores condiciones para que ésta aumente. Podemos citar:

- No usar un alto número de ciclos, ya que la tasa de error es proporcional al número de estos. Normalmente el número de ciclos utilizado es de 25-30.
- La concentración de los deoxinucleótidos (dNTPs) debe ser igual para los 4 y debe ser la más baja posible para que nos permita conseguir la cantidad de ADN necesaria.
- Disminuir en lo posible el tiempo de cada etapa.
- La concentración de Mg⁺⁺ en la reacción oscila entre 0,50 y 2,5 mM. Se trata de un ión necesario, pero su exceso hace que disminuya la especificidad de la PCR.

Deoxinucleótidos trifosfato (dNTPs)

Son cuatro: dATP, dGTP, dCTP y dTTP. Como hemos señalado anteriormente se deben añadir en la solución de la reacción en concentraciones iguales que normalmente oscila entre los 20 y los 200 μmol > mM. Los dNTPs pueden captar Mg⁺⁺, por lo que las concentraciones de ambos componentes deben guardar siempre la misma relación. No debemos variar ninguno de ello de manera independiente. Se aconseja (Bradley, 1991) que la concentración de Mg⁺⁺ sea de 0.5 – 1.0 mM veces superior a la concentración de dNTPs.

Amortiguador de la reacción

Por lo general está formado por: 10 mM tris-HCl (pH=8.4 a Tª ambiente), 50 mM KCl, 0.1% w/v gelatina y 1.5 mM MgCl₂.

Algunos autores recomiendan el uso de adyuvantes, los cuales ayudarían en la práctica a aumentar la especificidad y fidelidad de la reacción en cadena de la polimerasa. El dimetilsulfóxido (DMSO) añadido al buffer de la reacción en un 10% contribuye a la disminución de la estructura secundaria del ADN (Anderson, 1990). También se pueden usar detergentes como el tween 20, laureth 12 (0.1%) o Tritón x10, que ayudan a estabilizar la enzima. Existen también protocolos que incorporan polietilenglicol (PEG), glicerol, formamida, seroalbúmina bovina (BSA), etc, aunque no son en ningún caso imprescindibles.

Sales

Es de gran importancia la concentración de dos cationes que son añadidos en forma de sales.

- Cloruro potásico (KCl). Influye en la desnaturalización del ADN. Elevadas concentraciones del ión K⁺ favorece la desnaturalización de secuencias cortas de ADN. Bajas concentraciones de K⁺ ayudan a la desnaturalización de secuencias largas de ADN.

- Cloruro de magnesio ($MgCl_2$). Aumenta la temperatura de hibridación del DNA. La concentración de este ion resulta fundamental para la optimización de la reacción. Altas concentraciones de Mg^{++} disminuyen la especificidad de la reacción. Bajas concentraciones de Mg^{++} aumentan la especificidad de la reacción

Temperaturas y tiempos de los ciclos

Como hemos explicado anteriormente la Reacción en Cadena de la Polimerasa se realiza en tres etapas que constituyen un ciclo, que repite durante un número determinado de veces. El tiempo, la temperatura y el número de ciclos son factores determinantes en los resultados de la PCR, por lo tanto modificándolos podemos optimizar la reacción.

Las primeras reacciones se realizaban manualmente cambiando continuamente los tubos de un baño María a otro de diferente temperatura (la T^a de desnaturalización, la de hibridación y la de elongación). El proceso resultaba demasiado tedioso y era difícil alcanzar las temperaturas y los tiempos correctos, por lo que se desarrolló el termociclador que lo hacía de manera automática.

A continuación describiremos de forma más detallada el tiempo y la temperatura de cada una de las etapas de un ciclo.

1.- Desnaturalización

Se trata de una etapa crítica ya que es muy importante que el ADN molde se desnaturalice completamente. Para lograrlo de manera adecuada se recomiendan temperaturas de $94^{\circ}C$ durante 30 segundos a 1 minuto. Tiene alto contenido de G + C puede aumentar el tiempo o la temperatura.

Sin embargo hay que tener en cuenta que la actividad de la enzima decrece de manera muy rápida a partir de los $95^{\circ}C$, por lo que a estas temperaturas o superiores es aconsejable disminuir el tiempo de incubación.

En la práctica se suele añadir un período de desnaturalización antes de comenzar los ciclos para asegurarnos que se produce a lo largo de toda la muestra de ADN. Esta etapa suele ser de 5' a $94^{\circ}C$.

2.- Hibridación

En este caso, la temperatura y el tiempo van a depender de 3 factores relacionados con los oligonucleótidos: la composición de bases, el tamaño y la concentración.

En la práctica, la temperatura de hibridación puede oscilar entre $45^{\circ}C$ y $65^{\circ}C$, durante un tiempo comprendido entre 30 segundos y 1 minuto. Un aumento de temperatura o del tiempo favorece la especificidad ya que disminuye las uniones incorrectas de los iniciadores con la hebra molde.

3.- Elongación

En la mayoría de las reacciones, la etapa de extensión se realiza a $72^{\circ}C$. Teóricamente esta temperatura puede variar entre $70-72^{\circ}C$. El tiempo de extensión depende del tamaño de la amplificación. Se puede estimar un tiempo de 1 minuto para elongar 1 Kb

En la práctica es normal que al final de todos los ciclos se realice una última elongación de 5´ a 72°C.

Número de ciclos

También adquiere gran relevancia a la hora de optimizar una PCR el número de ciclos que se utilizan. Este número depende de la cantidad de ADN que existe en la muestra una vez que el resto de factores han sido optimizados (normalmente de manera empírica).

Es importante no realizar un número alto de ciclos ya que puede dar lugar a la amplificación de productos no deseados originados por hibridaciones no específicas.

Hay que tener en cuenta que la reacción está producida por una enzima que sufre el efecto meseta que describe la atenuación en la tasa de la acumulación del producto. Después de un número determinado de ciclos la amplificación deja producirse de manera exponencial y llega a una fase estacionaria. Generalmente cuando el efecto meseta se produce, la cantidad de ADN sintetizado es suficiente para su posterior utilización.

Contaminación en la PCR

La Reacción en Cadena de la Polimerasa es una técnica muy sensible, por lo que es de gran importancia evitar contaminaciones, ya que es posible que el ADN no deseado (aunque se encuentre en una cantidad muy pequeña) se amplifique y obtengamos un resultado que no es real. Vemos que una de sus mayores ventajas de la técnica, se convierte a la vez en el principal inconveniente (Kwok y Higuchi, 1989).

Existen una serie de normas que ayudan a evitar las contaminaciones. En el caso de trabajar con muestras de ARN las precauciones se deben extremar al máximo:

- Lugar físico exclusivo para realizar la PCR
- Uso de instrumental exclusivo para la PCR
- Utilización de reactivos y tubos estériles
- Uso de guantes por el manipulador

Realización de controles de blanco (se añade agua en lugar de ADN, no debe existir amplificación).

ANEXO 3.

ELECTROFORESIS EN GEL CON GRADIENTE DESNATURANTE (DGGE)

El DGGE consiste en una técnica de impresión de huellas que permite el rápido análisis de la diversidad bacteriana en un ecosistema. Su principio se basa en el hecho de que la doble hebra de ADN se disocia a altas temperaturas o bajo la influencia de agentes químicos desnaturalantes. Cuando se analizan muestras de ADN (PCR amplicons de 16S rRNA) utilizando DGGE, son arrastradas desde la parte superior de un gel de poliacrilamida que contiene compuestos desnaturalantes cuya concentración es lineal en el mismo. El gel es colocado luego en un campo eléctrico. Durante la electroforesis, el DNA migra del polo positivo (en la parte superior del gel) y disociado. El DNA puede empezar a fundirse por uno de los extremos de la fibra debido a que uno de los Primers utilizados en el PCR consiste en la unión de fijador-GC (guanina – citosina). El fijador esta constituido por 40 nucleotidos – con G's y C's – y por tanto muy difícil de expulsar (la disociación de 3 puentes de hidrógeno entre un par de bases G=C requiere más energía que la disociación de dos puentes de hidrógeno existente en un par de bases A=T). La disociación de todo el producto del PCR se lleva a cabo bajo este mismo principio. Debido a la disociación, el DNA pierde movilidad y se detiene debido al cambio de estructura geométrica y a ciertas concentraciones de compuestos desnaturalantes. La concentración del compuesto o compuestos desnaturalantes a las cuales la muestra de DNA puede parar la migración depende de la secuencia del producto PCR. Debido a las altas cantidades de G's y C's presentes en el producto PCR, se requiere alto porcentaje de desnaturalantes químicos para fundirlo. Luego de arrancar, se hace visible una banda en el gel en la posición donde el producto detiene su migración. Por DGGE es posible separar secuencias con un solo par de bases en el gel. El principio de la técnica se presenta en la figura.

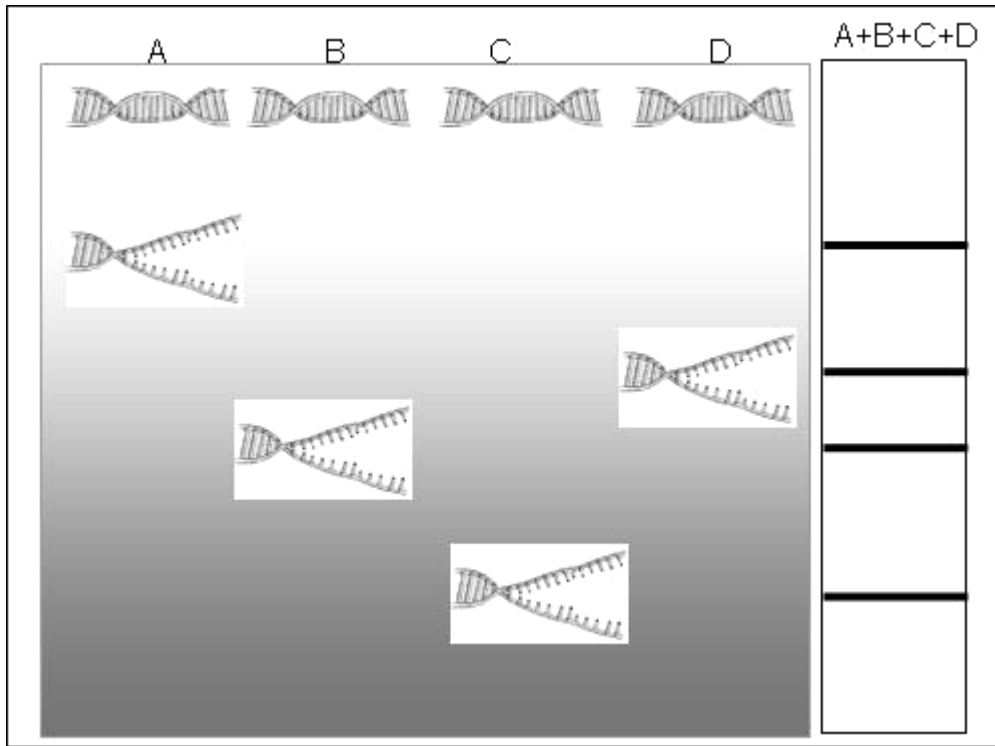


Figure: Principle of DGGE (a) denaturing (b) image after staining. Traducido y adaptado de Kees Roest October 2004. roest@iq.uva.es

ANEXO 4. Escala de Barrat y Horsfall.

Para medir la presencia de una enfermedad en una población lo mejor es acudir a métodos directos en los que se aprecie cuantos individuos están enfermos (Intensidad) y que tan enfermos y grave están (severidad).

$$SEVERIDAD = \frac{AREADETEJIDOENFERMO}{AREATOTAL(SANA + ENFERMA)}$$

Para cuantificar la severidad de una enfermedad a nivel individual se utilizan las escalas de evaluación, descriptiva, diagramas graficas y otras, una de ellas es la de Barrat y Horsfall.

Evaluación de sanidad:

Se realizaron evaluaciones de sanidad a las hojas de las plantas de cebolla, cada 15 días a partir del transplante hasta la cosecha, de acuerdo con la escala de Horsfall y Barrat. Una vez cosechados los bulbos se les hará igualmente la evaluación de sanidad de acuerdo con el porcentaje de tejido infectado.

GRADO	TEJIDO INFECTADO (%)
1	0
2	0-3
3	3-6
4	6-12
5	12-25
6	25-50
7	50-75
8	75-88
9	88-94
10	94-97
11	97-100
12	100

FUENTE: Horsfall y Barrat.

ANEXO 5.

ANALISIS DE MEDIAS REPETIDAS DE LA VARIANZA Y PRUEBA DEL RANGO ESTUDENTIZADO DE LAS VARIABLES FISICAS MEDIDAS

a. Variable: Densidad aparente (Da)

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

FUENTE DE VARIACION	ANALISIS DE VARIANZA					Prueba del rango estudentizado de Tukey					
	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	0,722001	0,722001	481,65	<0,0001	30 dds	0,9411 b	1,1166 a	0,9966 a	1,0383 a	1,0516 a
TRATAMIENTO	2	0,009602	0,004801	3,20	0,0715	60 dds	0,9266 b	1,1377 a	1,0400 a	1,0283 a	1,0283 a
ERROR	14	0,020986	0,001499			90 dds	0,9188 b	1,1222 a	0,9966 b	1,04500 a	1,0200 ab
						120 dds	0,9355 b	1,1466 a	1,0283 a	1,0616 a	1,0333 a

b. Variable: Porosidad total (Pt)

FUENTE DE VARIACION	ANALISIS DE VARIANZA					Prueba del rango estudentizado de Tukey					
	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	836,064	836,064	36,03	<0,0001	30 dds	63,948 a	55,862 b	59,492 a	59,437 a	60,787 a
TRATAMIENTO	2	262,0900	131,045	5,65	0,0159	60 dds	63,190 a	55,150 b	62,642 a	660,088 ab	54,780 b
ERROR	14	324,8974	23,2069			90 dds	61,537 a	56,292 b	63,390 a	57,175 a	56,178 a
						120 dds	60,651 a	54,760 b	60,108 a	57,675 a	55,333 a

c. Variable: Macroporos

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

FUENTE DE VARIACION	ANALISIS DE VARIANZA					Prueba del rango estudentizado de Tukey					
	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	63,0003	63,0003	0,32	0,58	30 dds	34,563 a	26,556 a	37,068 a	20,080 b	34,530 a
TRATAMIENTO	2	505,963	252,981	1,27	0,31080	60 dds	34,018 a	31,909 a	29,290 a	35,123 a	34,477 a
ERROR	14	2785,01	198,929			90 dds	30,157 a	35,058 a	30,863 a	32,108 a	34,850 a
						120 dds	24,746 b	37,444 a	26,422 a	29,093 a	37,770 a

d. Variable: Mesoporos

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	112,125	112,125	117,3342	<0,0001	30 dds	6,2367 b	7,7200 a	5,6517 b	8,8117 a	6,4717 b
TRATAMIENTO	2	12,4382	6,21912	6,51	0,0100	60 dds	6,0811 b	8,8000 a	6,7850 a	8,1920 a	7,3450 a
ERROR	14	13,3785	0,95561			90 dds	5,8422 b	8,2044 a	7,3100 a	6,7750 a	6,9850 a
						120 dds	4,9933 b	8,4122 a	6,5483 a	6,5483 a	7,0117 a

e. Variable: Microporos

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	455,8690	455,8690	6,43	0,0238	30 dds	52,781 a	52,324 a	53,212 a	54,233 a	50,213 a
TRATAMIENTO	2	2088,523	1044,261	14,72	0,0004	60 dds	60,971 a	57,719 a	59,847 ab	65,813 a	52,375 b
ERROR	14	992,8838	70,9202			90 dds	69,564 a	63,933 a	77,307 a	66,957 ab	55,983 b
						120 dds	70,044 a	59,254 b	71,850 a	67,515 a	54,583 b

f. Variable: Humedad volumétrica (HV%)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	363,4657	363,4657	96,07	<0,0001	30 dds	34,421 b	38,668 a	34,710 b	36,916 ab	38,008 a
TRATAMIENTO	2	31,1650	15,5825	4,12	0,0392	60 dds	37,246 b	40,756 a	39,285 a	39,4733 a	38,246 a
ERROR	14	52,9673	3,78338			90 dds	39,416 b	44,076 a	41,938 ab	43,4750 a	39,827 b
						120 dds	41,586 b	47,143 a	46,727 a	44,397 ab	41,972 b

ANEXO 6.

ANALISIS DE MEDIAS REPETIDAS DE LA VARIANZA Y PRUEBA DEL RANGO ESTUDENTIZADO DE LAS VARIABLES QUIMICAS INTERCAMBIABLES

a. Variable: pH

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

FUENTE DE VARIACION	ANALISIS DE VARIANZA					FUENTE DE VARIACION	Prueba del rango estudentizado de Tukey				
	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F		LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	48,1507	48,1507	116,42	<0,0001	30 dds	6,1644 b	7,6967 a	6,7067 b	6,7950 ab	7,29 a
TRATAMIENTO	2	7,86797	3,93398	9,51	0,0025	60 dds	6,0867 b	7,5444 a	6,5150 b	6,70 b	7,2317 a
ERROR	14	5,79051	0,41360			90 dds	5,6800 b	7,4789 a	6,290 b	6,3350 b	7,1133 a
						120 dds	5,5778 b	7,3311 a	6,090 b	6,2817 b	6,9917 a

b. Variable: MO

FUENTE DE VARIACION	ANALISIS DE VARIANZA					FUENTE DE VARIACION	Prueba del rango estudentizado de Tukey				
	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F		LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	124330,066	124330,066	2220,23	<0,0001	30 dds	101,50 a	38,026 b	68,248 a	70,697 a	70,352 a
TRATAMIENTO	2	640,9569	320,4785	5,72	0,0153	60 dds	126,58 a	36,510 b	86,417 a	75,310 a	82,922 a
ERROR	14	783,9823	55,9987			90 dds	120,37 a	37,192 b	85,592 a	78,185 a	72,570 a
						120 dds	131,75 a	36,051 b	89,795 a	84,642 a	84,642 a

c. Variable: Nitrógeno (N)

FUENTE DE VARIACION	ANALISIS DE VARIANZA					FUENTE DE VARIACION	Prueba del rango estudentizado de Tukey				
	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F		LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	310,835	310,835	2211,79	<0,0001	30 dds	5,0760 a	1,9022 b	3,4133 a	3,5367 a	3,5183 a
TRATAMIENTO	2	1,60791	0,80395	5,72	0,0153	60 dds	6,3311 a	1,8244 b	4,3217 a	3,7650 a	4,1467 a
ERROR	14	1,96750	0,14053			90 dds	6,0189 a	1,8622 b	4,2817 a	3,910 a	3,630 a
						120 dds	6,5867 a	1,8022 b	4,490 a	3,8633 a	4,230 a

d. Variable: Fósforo (P)

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	190464,83	190464,83	51,74	<0,0001	30 dds	158,94 b	313,38 a	213,66 a	233,96 a	260,88 a
TRATAMIENTO	2	35415,96	17707,98	4,81	0,0257	60 dds	179,31 b	277,08 a	221,43 a	236,12 a	227,05 a
ERROR	14	51533,866	3680,9905			90 dds	161,65 b	246,69 a	171,42 b	195,34 ab	245,75 a
						120 dds	161,67 b	235,88 a	161,74 b	184,76 b	249,83 a

e. Variable: Potasio (K)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	73,75051	73,75051	206,64	<0,0001	30 dds	3,3844 a	1,3511 b	2,040 a	2,5850 a	2,4783 a
TRATAMIENTO	2	0,99250	0,496250	1,39	0,2813	60 dds	2,9100 a	0,8656 b	1,788 a	1,8200 a	2,0550 a
ERROR	14	4,99670	0,35690			90 dds	2,7656 a	0,7267 b	1,696 a	1,6150 a	1,9267 a
						120 dds	2,4733 a	0,4933 b	1,376 a	1,4817 a	1,5917 a

f. Variable: Calcio (Ca)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	991,6088	991,6088	35,11	<0,0001	30 dds	17,299 b	23,180 a	19,665 a	18,603 a	22,450 a
TRATAMIENTO	2	246,3501	123,1750	4,36	0,0337	60 dds	16,126 b	20,037 a	16,198 b	17,42 ab	20,625 a
ERROR	14	395,4324	28,2451			90 dds	10,488 b	18,523 a	14,73 ab	10,002 b	18,785 a
						120 dds	65,106 b	16,967 a	11,485 a	9,800 a	11,823 a

g. Variable: Magnesio (Mg)

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	2,864022	2,864022	11,04	0,0050	30 dds	3,2189 a	1,7444 b	1,8033 b	2,6817 a	2,960 a
TRATAMIENTO	2	2,324836	1,16241	4,48	0,0313	60 dds	3,1056 a	2,4956 b	2,7367 a	2,6650 a	3,000 a
ERROR	14	3,630786	0,25934			90 dds	2,6789 a	2,7911 a	2,9233 a	2,4833 a	2,793 a
						120 dds	2,5533 a	2,9300 a	2,8117 a	2,3917 a	3,021 a

h. Variable: Sodio (Na)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	30,0958	30,0958	882,40	<0,0001	30 dds	0,2233 b	1,6744 a	0,9583 a	0,7950 a	1,0933 a
TRATAMIENTO	2	0,48221	0,24110	7,07	0,0075	60 dds	0,1222 b	1,4077 a	0,6533 a	0,7183 a	0,9233 a
ERROR	14	0,47749	0,03410			90 dds	0,0088 b	1,2988 a	0,5700 b	0,6616 ab	0,7300 a
						120 dds	0,0000 b	1,1455 a	0,4166 b	0,6667 a	0,6350 ab

i. Variable: Azufre (S)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	230460,52	230460,52	20,74	0,0005	30 dds	159,71 a	39,03 b	136,05 a	105,04 a	57,04 a
TRATAMIENTO	2	131074,43	65537,21	5,90	0,0139	60 dds	181,49 a	62,46 b	181,34 a	121,76 ab	62,83 b
ERROR	14	155567,06	11111,93			90 dds	272,04 a	75,33 b	219,87 a	231,87 a	69,37 b
						120 dds	97,90 a	81,71 b	110,25 a	99,32 a	59,86 a

j. Variable: Boro (B)

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	42,3353	42,33533	34,53	<0,0001	30 dds	4,1500 a	2,0567 b	3,3217 a	2,7850 a	3,2033 a
TRATAMIENTO	2	6,52013	3,260066	2,66	0,1050	60 dds	4,4233 a	4,1856 a	4,3600 a	4,1133 a	4,4400 a
ERROR	14	17,1651	1,226081			90 dds	4,2711 a	2,7200 b	4,5033 a	2,6083 b	3,3750 ab
						120 dds	3,6244 a	1,3722 b	2,7833 a	2,5350 a	2,1767 a

k. Variable: Hierro (Fe)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	751,49183	751,491	9,27	0,0087	30 dds	9,091 b	33,723 a	31,298 a	26,048 ab	6,875 b
TRATAMIENTO	2	2599,7405	1299,87	16,04	0,0002	60 dds	15,258 a	23,647 a	14,997 a	26,162 a	17,198 a
ERROR	14	1134,6893	81,0492			90 dds	19,812 a	18,486 a	31,417 a	16,857 ab	9,173 b
						120 dds	12,424 a	6,576 b	11,907 a	14,120 a	2,473 b

I. Variable: Cobre (Cu)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	1110,6184	1110,6184	12,43	0,0034	30 dds	0,3688 a	0,4066 a	0,4117 a	0,4083 a	0,3433 a
TRATAMIENTO	2	30,064019	15,032010	0,17	0,8468	60 dds	0,7044 a	0,5667 a	0,7483 ab	0,7817 a	0,3767 b
ERROR	14	1250,6134	89,329535			90 dds	1,5078 a	0,7267 a	2,6383 a	0,3050 b	0,4083 b
						120 dds	31,074 a	0,5360 b	11,690 a	15,330 a	20,390 a

m. Variable: Zinc (Zn)

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	14,814939	14,8149	0,09	0,7702	30 dds	6,6170 a	12,376 a	4,568 a	10,742 a	13,178 a
TRATAMIENTO	2	1097,5556	548,777	3,29	0,0675	60 dds	15,426 a	18,874 a	22,603 a	6,4580 a	22,388 a
ERROR	14	2337,0846	166,934			90 dds	19,969 a	14,471 a	11,387 b	13,140 ab	27,133 a
						120 dds	17,760 a	17,679 a	18,283 a	14,937 a	19,938 a

n. Variable: Manganeso (Mn)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	7303,7712	7303,7712	70,80	<0,0001	30 dds	28,479 b	37,650 a	24,893 b	36,265 ab	38,035 a
TRATAMIENTO	2	2061,5134	1030,7567	9,99	0,020	60 dds	35,103 a	48,121 a	33,925 a	44,013 a	46,898 a
ERROR	14	1444,2536	103,16097			90 dds	26,378 b	51,016 a	33,175 a	41,323 a	41,592 a
						120 dds	24,871 b	58,619 a	33,213 b	44,455 ab	47,567 a

ANEXO 7.

ANÁLISIS DE MEDIAS REPETIDAS DE LA VARIANZA Y PRUEBA DEL RANGO ESTUDENTIZADO DE TUKEY DE LAS VARIABLES QUÍMICAS EN SOLUCIÓN

a. Variable: pH

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

ANÁLISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	0,11123	0,11123	0,53	0,4791	30 dds	8,0400 a	7,9322 a	7,9650 a	8,1117 a	7,8817 a
TRATAMIENTO	2	0,57588	0,28794	1,37	0,2865	60 dds	7,8167 a	7,8078 a	8,0817 a	7,7550 a	7,6000 a
ERROR	14	2,94525	0,21037			90 dds	7,5089 a	7,4378 a	7,5317 a	7,5183 a	7,3700 a
						120 dds	8,1011 a	7,9744 a	8,0650 a	8,0767 a	7,9617 a

b. Variable: Fósforo ($H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-})

ANÁLISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	0,10050	0,10050	0,73	0,4069	30 dds	0,9400 a	0,8339 a	0,7783 a	1,0067 a	0,8833 a
TRATAMIENTO	2	0,56503	0,282518	2,06	0,1650	60 dds	0,7589 a	0,6711 a	0,5550 a	0,7600 a	0,8300 a
ERROR	14	1,92456	0,137469			90 dds	1,5022 a	1,4389 a	1,2467 a	1,5300 a	1,6350 a
						120 dds	0,6244 a	0,5778 a	0,5950 a	0,6267 a	0,5817 a

c. Variable: Potasio (K^+)

ANÁLISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	619,93073	619,93073	2,76	0,1187	30 dds	81,487 a	78,911 a	65,665 b	62,7220 b	112,210 a
TRATAMIENTO	2	10912,315	5456,1578	24,32	<0,0001	60 dds	128,39 a	119,76 a	113,36 b	119,703 b	139,180 a
ERROR	14	3140,8963	224,3497			90 dds	105,56 a	95,610 a	84,045 b	111,455 a	106,268 a
						120 dds	67,134 a	64,821 a	44,292 b	83,9180 a	69,7230 a

d. Variable: Calcio (Ca²⁺)

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	8111,3461	8111,3461	20,33	0,0005	30 dds	75,671 a	67,136 a	72,1350 b	90,6270 a	51,448 c
TRATAMIENTO	2	14470,466	7235,2332	18,14	0,0001	60 dds	114,29 a	79,078 b	108,732 a	109,388 a	71,945 b
ERROR	14	5585,0265	398,93047			90 dds	57,894 a	51,567 a	57,6520 a	62,7870 a	43,888 a
						120 dds	116,94 a	82,020 b	113,44 a	109,280 a	75,710 a

e. Variable: Magnesio (Mg²⁺)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	29,18480	29,18480	11,16	0,0049	30 dds	10,571 a	9,8456 a	9,8250 b	8,9083 b	11,891 a
TRATAMIENTO	2	205,7833	102,8891	39,33	<0,0001	60 dds	16,366 a	14,591 a	13,672 b	15,183 ab	17,580 a
ERROR	14	36,62304	2,6159			90 dds	13,772 a	13,088 a	11,351 b	12,840 b	16,091 a
						120 dds	12,347 a	10,443 b	8,7500 b	11,310 b	14,127 a

f. Variable: Sodio (Na⁺)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	8199,681	8199,681	17,86	0,0008	30 dds	68,719 a	47,601 b	59,492 a	86,383 a	48,605 a
TRATAMIENTO	2	7342,846	3671,423	8,000	0,0048	60 dds	72,586 a	51,860 b	63,810 a	69,010 a	53,850 a
ERROR	14	6427,509	459,1078			90 dds	103,03 a	82,748 b	98,610 ab	108,02 a	72,040 b
						120 dds	131,73 a	108,48 b	123,87 a	132,06 a	104,39 a

g. Variable: Azufre (SO₄⁻²)

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

FUENTE DE VARIACION	ANALISIS DE VARIANZA					Prueba del rango estudentizado de Tukey					
	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	0,198450	0,198450	5,61	0,0328	30 dds	0,3422 a	0,1911 a	0,2500 a	0,3550 a	0,1950 a
TRATAMIENTO	2	1,033258	0,516629	14,61	0,0004	60 dds	0,3944 a	0,2722 a	0,3050 a	0,4600 a	0,2350 a
ERROR	14	0,4950416	0,035360			90 dds	0,4766 a	0,4455 a	0,7717 a	0,4033 b	0,2083 b
						120 dds	0,4600 a	0,3444 a	0,6050 a	0,4350 ab	0,1667 b

ANEXO 8.

ANALISIS DE MEDIAS REPETIDAS DE LA VARIANZA Y PRUEBA DEL RANGO ESTUDENTIZADO DE LAS VARIABLES QUIMICAS EN LOS TEJIDOS DE *Allium cepa*.

a. Variable: Materia seca (M.S)

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	136607, 3	136607, 39	7, 35	0,0169	30 dds	250.60 a	237.55 a	115.18 c	189.8 b	115.18 a
TRATAMIENTO	2	53664228, 5	26832114, 2	1443, 1	<0,0001	60 dds	706.37 a	730.09 a	273.61 c	501.5 b	1379.5 a
ERROR	14	260290, 48	18592, 18			90 dds	1854.21 b	1935.44 a	723.22 c	1314.7 b	3646.4 a
						120 dds	2751.0 a	3048.7 a	1126.3 c	1894.2 b	1126.3 a

b. Variable: Nitrógeno (N)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	2006,9280	2006,9280	64,55	<0,0001	30 dds	15,151 b	26,172 a	21,162 a	22,1877 a	18,637 a
TRATAMIENTO	2	607,5695	303,7847	9,77	0,0022	60 dds	18,879 b	30,090 a	23,695 ab	28,948 a	20,810 b
ERROR	14	435,2698	31,0907			90 dds	22,077 b	33,327 a	33,280 a	27,448 ab	22,377 b
						120 dds	22,244 b	30,999 a	31,687 a	26,760 ab	21,418 b

c. Variable: Fósforo (P)

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	7,156805	7,156805	5,23	0,0382	30 dds	4,2067 a	4,4933 a	4,1950 a	4,2800 a	4,5750 a
TRATAMIENTO	2	28,81063	14,40531	10,54	0,0016	60 dds	3,3489 a	4,0244 a	3,6617 ab	2,9550 b	4,4433 a
ERROR	14	19,14190	1,367278			90 dds	2,6800 a	3,4433 a	1,9917 b	2,9533 b	4,2400 a
						120 dds	2,8544 a	3,6511 a	2,3017 b	2,8200 b	4,6367 a

d. Variable: Potasio (K)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	5051,1300	5051,1300	43,64	<0,0001	30 dds	20,154 b	34,977 a	26,702 a	28,532 a	27,463 a
TRATAMIENTO	2	777,5896	388,7944	3,36	0,0644	60 dds	26,477 b	43,153 a	34,153 a	40,700 ab	29,592 b
ERROR	14	1620,6147	115,7581			90 dds	30,863 b	50,914 a	47,018 a	41,732 ab	33,917 b
						120 dds	31,477 b	46,903 a	43,527 a	41,112 a	32,887 a

e. Variable: Calcio (Ca)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	522,5066	522,5066	13,95	0,0022	30 dds	20,089 a	21,588 a	19,965 a	19,325 a	23,225 a
TRATAMIENTO	2	1245,844	622,922	16,63	0,0002	60 dds	15,367 a	17,759 a	12,315 a	14,330 b	23,043 a
ERROR	14	524,3683	37,4548			90 dds	11,663 b	19,399 a	10,012 b	13,968 b	22,613 a
						120 dds	12,489 b	22,413 a	12,900 b	14,793 ab	24,660 a

f. Variable: Magnesio (Mg)

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	16,302050	16,302050	87,38	<0,0001	30 dds	1,1144 b	2,2800 a	1,7517 a	1,8283 a	1,5117 a
TRATAMIENTO	2	3,170533	1,585266	8,50	0,0038	60 dds	1,5567 b	2,5500 a	2,2333 a	2,1483 ab	1,7483 b
ERROR	14	2,611966	0,186569			90 dds	2,0311 b	2,8867 a	2,9200 a	2,2167 b	2,2400 ab
						120 dds	2,6368 b	3,4300 a	3,4217 a	2,8500 b	2,8300 b

g. Variable: Azufre (S)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	15,6893	15,6893	21,14	0,0004	30 dds	3,0740 a	3,7822 a	3,0483 a	3,8983 a	3,3383 a
TRATAMIENTO	2	11,5080	5,754	7,75	0,0054	60 dds	3,1400 b	4,4056 a	3,6500 a	4,2850 a	3,3833 a
ERROR	14	10,3891	0,742			90 dds	3,6456 b	5,2220 a	5,0400 a	4,4533 a	3,5083 b
						120 dds	4,2322 a	4,6167 a	5,1433 a	4,6500 a	3,4800 b

h. Variable: Boro (B)

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	25007,424	25007,424	67,66	<0,0001	30 dds	29,613 a	36,170 a	29,307 a	31,415 a	37,950 a
TRATAMIENTO	2	4365,0169	2182,5084	5,90	0,0138	60 dds	35,613 b	84,123 a	57,088 a	52,138 a	70,378 a
ERROR	14	51,74,552	369,61091			90 dds	44,384 b	102,92 a	70,170 a	68,278 a	82,475 a
						120 dds	95,812 b	131,29 a	104,62 b	102,95 b	133,05 a

i. Variable: Hierro (Fe)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	1144554,24	1144554,24	5,98	0,0283	30 dds	750,87 a	737,86 a	808,50 a	653,90 a	770,70 a
TRATAMIENTO	2	571342,310	285671,15	1,49	0,2586	60 dds	1265,2 a	890,90 a	913,60 a	924,50 a	1396,0 a
ERROR	14	2680222,41	191444,45			90 dds	1521,8 a	1054,2 a	1020,0 a	1609,4 a	1234,6 a
						120 dds	1417,3 a	1263,6 a	1229,8 a	1638,3 a	1153,3 a

j. Variable: Cobre (Cu)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	384,56888	384,56888	5,23	0,0383	30 dds	15,273 b	26,132 a	18,952 ab	16,165 b	26,992 a
TRATAMIENTO	2	1934,9763	967,48815	13,15	0,0006	60 dds	12,734 a	22,706 a	15,235 ab	10,403 b	27,520 a
ERROR	14	1029,9732	73,569516			90 dds	11,602 a	11,020 a	5,7530 b	11,378 ab	16,802 a
						120 dds	14,403 a	12,644 a	7,8070 a	11,513 a	21,252 a

k. Variable: Zinc (Zn)

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	8203,73753	8203,73753	26,41	0,0002	30 dds	138,84 a	152,31 a	127,41 b	148,85 ab	160,49 a
TRATAMIENTO	2	15934,11325	7967,05663	25,65	<0,0001	60 dds	106,20 b	132,17 a	112,92 ab	101,67 b	142,97 a
ERROR	14	4348,76834	310,62631			90 dds	75,667 b	92,153 a	69,362 b	81,022 ab	101,34 a
						120 dds	70,929 b	100,39 a	72,100 b	72,170 b	112,72 a

l. Variable: Manganeso (Mn)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	3608273,979	3608273,979	13,65	0,0024	30 dds	1149,5 a	182,2 b	248,20 b	1049,7 a	699,60 a
TRATAMIENTO	2	1837272,80	918636,40	3,48	0,0595	60 dds	1016,0 a	156,0 a	134,70 a	409,80 a	1213,5 a
ERROR	14	3700363,23	264311,66			90 dds	134,28 a	166,1 a	148,80 a	144,72 a	157,06 a
						120 dds	93,400 a	97,97 a	90,030 a	139,41 a	57,620 a

m. Variable: Sodio (Na)

ANALISIS DE VARIANZA						Prueba del rango estudentizado de Tukey					
FUENTE DE VARIACION	GL	SC Tipo III	CM	F	Pr>F	FUENTE DE VARIACION	LOTE		TRATAMIENTO		
							E	F	1	2	3
LOTE	1	61482,39	61482,39	0,07	0,0800	30 dds	3708,4 a	3719,7 a	3132,4 a	3785,4 a	4224,4 a
TRATAMIENTO	2	21720802,3	10860401,1	11,78	0,0010	60 dds	2091,5 a	2658,2 a	1922,0 ab	1221,0 b	3981,0 a
ERROR	14	12908523,5	922037,40			90 dds	933,70 a	897,20 a	727,20 a	905,90 a	1113,1 a
						120 dds	1276,9 a	969,20 a	864,60 b	589,70 b	1914,9 a