

**EFFECTO DE LOS DAÑOS CAUSADOS POR TRÍPIDOS
(THYSANOPTERA: TRIPIDAE) EN LA SEVERIDAD DE
ALTERNARIA ALLII Y ACIDOVORAX AVENAE SUBSP. CITRULLI
EN EL CULTIVO DE CEBOLLA (*ALLIUM CEPA* L.)
EN PUERTO RICO**

Por

Merari Feliciano Rivera

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos
para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS
EN
PROTECCIÓN DE CULTIVOS
UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ
2007

Aprobado por:

Linda Wessel Beaver, Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Irma Cabrera, M.S.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Lydia I. Rivera Vargas, Ph.D.
Presidenta, Comité Graduado

Fecha

José P. Morales Payán, Ph.D.
Representante de Estudios Graduados

Fecha

Arístides M. Armstrong, M.S.
Director del Departamento

Fecha

ABSTRACT

Two experiments were conducted to determine the effects of thrips populations in the severity of *Alternaria allii* under field conditions. *Alternaria. allii* and *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* severity and damage index caused by thrips was evaluated at 14 and 45 days after inoculation of pathogens. Thrips number per plant was counted, and thrips species were identified. A triple interaction was observed between experiments, treatment and sampling, with a greater severity of *A. allii* with natural populations of thrips and inoculations of *A. allii*. *Frankliniella fusca* was the most abundant thrips species in both experiments. Plants inoculated with *Acidovorax* did not show symptoms. *F. occidentalis* and *F. shultzei* was observed associated with the crop. A suitable management of thrips populations in the field is necessary to reduce the impact of this disease.

RESUMEN

Se realizaron dos experimentos para determinar los efectos de las poblaciones de trips en la severidad de *Alternaria allii* y *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* bajo condiciones de campo. Se evaluó la severidad de ambos patógenos y los índices de daño causados por los trips a los 14 y 45 días después de la inoculación de los patógenos. Se contó el número de trips por planta y se identificaron las especies. Se observó una interacción triple entre experimento, tratamiento y muestreo en la severidad de *A. allii*, observándose la mayor severidad en las plantas de cebolla sujetas al ataque de los trips e inoculaciones de *A. allii*. Las plantas inoculadas con *Acidovorax* no presentaron síntomas. *Frankliniella fusca* fue la especie más abundante en ambos experimentos. Además se observó a *F. occidentales* y *F. shultzei* asociados al cultivo. Un manejo adecuado de las poblaciones de trips es necesario para reducir el impacto de esta enfermedad.

Al ser que ha sido mi puente en todo el trayecto de mi vida:

Mi Madre

Y al ángel que desde el cielo junto a Dios ha sido la columna del puente y la
protección del viajero:

Mi Padre

AGRADECIMIENTOS

Gracias primeramente a Dios por estar cerca de mi durante toda esta investigación. Gracias a toda mi familia en especial a mi madre, Aida L. Rivera Hernández, y mi abuela, María L. Hernández Vázquez, que son mi fuente de inspiración y motivación en cada paso de mi vida. Gracias a mi papá que desde el cielo me ha cuidado durante todo este trayecto.

Mis más sincero agradecimiento a la Dra. Lydia Rivera Vargas, por brindarme la oportunidad de realizar esta investigación, por ser mi consejera, amiga y formar parte importante en mi conocimiento y desarrollo profesional. A la Dra. Linda Wessel Beaver, gracias por toda su colaboración en la estadística de esta investigación. Gracias a la Profesora Irma Cabrera Asencio por brindarme todo el apoyo en los experimentos de campo e identificación de los trípodos. Además, quiero agradecer al Agro. Alberto Vélez por su colaboración en los trabajos de campo y a todo el personal de la Estación Experimental Agrícola de Juana Díaz, Puerto Rico. Gracias a mis compañeros de laboratorio: Juan Calle, Jessie Fernández, Mario Acosta, Lesly Colón y Robert McPhail por toda su ayuda y colaboración en la realización de esta investigación. Gracias al Departamento de Protección de Cultivos y sus secretarias, Jeannette Morales y María Pagán, por todo la ayuda brindada durante los años de investigación.

Un agradecimiento muy especial a tres personas que forman una parte esencial de este trabajo, los Agrónomos Víctor González, Luis Collazo e Ismael Badillo. Gracias por toda la ayuda que me brindaron pero, sobre todo por sus

sabios consejos. Gracias al Departamento de Agricultura de los Estados Unidos con sus oficinas en Mayagüez, Puerto Rico por permitirnos utilizar sus equipos de microscopía durante este trabajo, en especial a Julio Navarro por su colaboración. Gracias al Proyecto T-START 97 del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) que financió este trabajo de investigación.

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE CUADROS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1 <i>Allium cepa</i> L.....	5
2.2 Orden Thysanoptera.....	8
2.2.1 <i>Thrips tabaci</i> Lindeman.....	11
2.2.2 <i>Frankliniella</i> spp.	12
2.2.3 <i>Frankliniella occidentalis</i> (Pergande).....	13
2.2.4 <i>Frankliniella fusca</i> Hinds.....	14
2.2.5 <i>Frankliniella schultzei</i> Trybom.....	16
2.3 <i>Alternaria</i> spp.....	17
2.4 <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i> y bacterias asociadas al cultivo....	20
2.5 Interacción de tripsidos y patógenos.....	23
3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
3.1 Estudio observacional de la dinámica poblacional de <i>Thrips tabaci</i> L.	26
3.1.1 Predios experimentales.....	26
3.1.2 Muestreos de tripsidos.....	28
3.1.3 Procesamiento de muestras e identificación de tripsidos.....	28
3.1.4 Datos climatológicos.....	31

3. 2 Determinación de los efectos de las poblaciones de trípidos en la severidad de <i>Alternaria allii</i> y <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	31
3.2.1 Experimentos de campo.....	31
3.2.2 Preparación del inóculo de <i>Alternaria allii</i> y <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	35
3.2.3 Método de inoculación de <i>Alternaria allii</i> y <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	36
3.3 Muestreos para la contabilización del número de trípidos por planta e identificación de especies.....	41
3. 4 Variables evaluadas.....	42
3. 5 Análisis de datos.....	44
3.6 Aislamiento e identificación de hongos y bacterias asociadas al cuerpo de los trípidos.....	44
3.6.1 Microscopia electrónica de rastreo.....	45
3. 7 Observaciones de campo.....	45
3.7.1 Muestreos para patógenos.....	46
3.7.2 Muestreos para plagas.....	47
4 RESULTADOS.....	48
4.1 Estudio observacional de la dinámica poblacional de <i>Thrips tabaci</i> L.	48
4.1.1 Relación de la dinámica poblacional de <i>Thrips tabaci</i> con datos climatológicos.....	48
4.1.2 Trípidos identificados.....	52
4.2 Muestreos para la contabilización del número de trípidos por planta e identificación de especies.....	53

4.2.1 Experimentos de campo.....	54
4.2.2 Descripción de especies.....	61
4.2.3 Proporción de especies de trípidos.....	67
4.3 Evaluación de variables en los experimentos de campo.....	69
4.3.1 Largo total de hojas, número de hojas, largo total de lesiones, número de lesiones e índices de enfermedad por hoja.....	69
4.3.2 Severidad de la enfermedad causada por <i>Alternaria allii</i> e índices de daño causados por trípidos.....	79
4.3.3 Área de la hoja afectada por <i>Alternaria allii</i>	84
4.4 Aislamiento e identificación de hongos y bacterias asociados al cuerpo de los trípidos.....	86
4.4.1 Aislamiento en medios de cultivo.....	86
4.4.2 Microscopia electrónica de rastreo.....	88
4.5 Observaciones de campo.....	89
4.5.1 <i>Alternaria allii</i>	89
4.5.2 <i>Sclerotium rolfsii</i>	90
4.5.3 <i>Leveillula taurica</i>	92
4.5.4 <i>Spodoptera</i> spp.....	97
4.5.5 <i>Liriomyza trifolii</i>	99
4.5.6 Otras observaciones.....	101
5 DISCUSIÓN.....	102
5.1 Estudios observacional de la dinámica poblacional de <i>T. tabaci</i> L...	102
5.2 Muestreo para el seguimiento poblacional de trípidos.....	103
5.3 Experimentos de campo.....	107

5.4 Aislamiento e identificación de hongos y bacterias asociados al cuerpo de los trípodos.....	112
5.4 Observaciones de campo.....	112
6 CONCLUSIONES.....	115
7 RECOMENDACIONES.....	116
8 LITERATURA CITADA.....	117

LISTA DE CUADROS

Cuadros	Páginas
<p>Cuadro 1. Tratamientos aplicados a los predios de cebolla del cv. Mercedes en los experimentos de campo realizados en la Subestación Experimental Agrícola de Juana Díaz en el periodo de octubre 2005 a mayo 2006.....</p>	33
<p>Cuadro 2. Dosis, frecuencias e ingredientes activos de los plaguicidas utilizados en los predios de cebolla del cv. Mercedes en los experimentos de campo realizados en la Subestación Experimental Agrícola de Juana Díaz, Puerto Rico.....</p>	34
<p>Cuadro 3. Número de hojas por planta en los cvs. de cebolla Excalibur y Mercedes evaluadas semanalmente, durante el experimento establecido de enero a abril del 2005 en la Subestación Experimental Agrícola de Juana Díaz, Puerto Rico.....</p>	50
<p>Cuadro 4. Datos climatológicos de temperatura y precipitación tomados semanalmente durante el experimento de enero a abril del 2005.....</p>	51
<p>Cuadro 5. Número de trípodos por tratamientos en el primer experimento establecido de octubre 2005 a marzo del 2006, con plantas de cebolla del cv. Mercedes.....</p>	55
<p>Cuadro 6. Datos climatológicos de temperatura y precipitación tomados en la Subestación Experimental Agrícola de Juana Díaz durante el período de experimentos de octubre 2005 a mayo 2006.....</p>	57
<p>Cuadro 7. Número de trípodos por tratamientos en el experimento de enero a mayo del 2006, en el cv. Mercedes.....</p>	60
<p>Cuadro 8. Interacción significativa entre los experimentos por dos periodos de muestreo (14 y 45 DDI) para las variables número de hojas, largo total de lesiones, número de lesiones e índice de enfermedad por hoja.....</p>	70
<p>Cuadro 9. Comparaciones por contrastes de las variables largo total de hojas, largo total de lesiones e índice de enfermedad por hoja durante ambos muestreos para cada experimento..</p>	73
<p>Cuadro 10. Comparaciones por contrastes de las variables número de</p>	

hojas y número de lesiones para ambos muestreos en ambos experimentos.....	74
Cuadro 11. Comparaciones por contraste de las variables severidad de <i>Alternaria allii</i> e índice de daño por trípodos para ambos muestreos en ambos experimentos.....	80
Cuadro 12. Tamaño de las conidias y conidióforos de <i>Leveillula taurica</i>	96

Figuras	Páginas
Figura 1. Cabeza y pronoto de el trípido de la cebolla, <i>Thrips tabaci</i> L.....	12
Figura 2. Cabeza, pronoto y tergito abdominal VIII de <i>Frankliniella occidentalis</i>	14
Figura 3. Cabeza, pronoto y tergito abdominal VIII de <i>Frankliniella fusca</i>	15
Figura 4. Cabeza, pronoto y tergito abdominal VIII de <i>Frankliniella schultzei</i>	17
Figura 5. Vista general de los predios experimentales ubicados en la Estación Experimental Agrícola de Juana Díaz, Puerto Rico, con los cvs. Excalibur y Mercedes.....	27
Figura 6. (A) Tamiz de 200 µm para coleccionar trípidos en el proceso de lavado, (B) separación de la base de las hojas, (C) tubos de plástico transparente donde las muestras son coleccionadas después de ser procesadas y, (D) lectura de la muestra bajo el estereoscopio.	29
Figura 7. (A) Vista general del predio experimental y (B) plantas marcadas con banderas fluorescentes para identificarlas como plantas a ser inoculadas.....	38
Figura 8. (A) Marca utilizada en el área inoculada con <i>Alternaria allii</i> y (B) marca utilizada en el área de la planta inoculada con <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	39
Figura 9. (A) Heridas realizadas en los puntos a inocular y (B) inoculación de <i>Alternaria allii</i> y <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i> utilizando bombas de asperjar con un sistema de CO ₂	40
Figura 10. Escala visual utilizada para evaluar el porcentaje de daño causado por <i>Alternaria allii</i> en el cultivo de cebolla.	43
Figura 11. Número promedio de <i>Thrips tabaci</i> por planta en los cvs. Excalibur y Mercedes durante el experimento de enero a abril del 2005....	49
Figura 12. Número de ninfas y adultos en ambos experimentos evaluados.....	53

Figura 13. (A) <i>Frankliniella fusca</i> Hinds (♀), (B) <i>Frankliniella occidentalis</i> Pergande (♂) y (C) <i>Frankliniella schutzei</i> Trybom (♀).....	63
Figura 14. (A) <i>Arorathrips fulvus</i> y (B) <i>Arorathrips mexicanus</i>	64
Figura 15. (A) Trípido del Sub-Orden Tubulifera encontrado asociado al cultivo y (B) trípido del Sub Orden Tubulifera más comúnmente encontrado asociado al cultivo de cebolla en dos experimentos establecidos durante octubre 2005 a mayo 2006 en Juana Díaz, Puerto Rico.....	65
Figura 16. (A-B) Trípidos del Sub Orden Tubulifera encontrados asociados al cultivo de cebolla en dos experimentos establecidos durante octubre 2005 a mayo 2006 en Juana Díaz, Puerto Rico.....	66
Figura 17. Proporción de especies identificadas en el experimento de octubre 2005 a marzo 2006.....	68
Figura 18. Proporción de especies identificadas en el experimento de enero a mayo del 2006.....	68
Figura 19. (A) Plantas de cebolla durante el primer experimento de octubre 2005 a marzo 2006, presentando mayor número de hojas y menor número de lesiones causadas por <i>Alternaria allii</i> y (B) plantas de cebolla en el experimento de enero a mayo 2006, exhibiendo menor número de hojas y mayor número de lesiones causadas por <i>Alternaria allii</i>	71
Figura 20. Progreso de la enfermedad causada por <i>Alternaria allii</i> en el primer ciclo del cultivo de octubre 2005 a marzo 2006. (A)-(B) Síntomas causados por <i>Alternaria allii</i> tres días después de la inoculación, (C) muerte de la hoja inoculada 14 días después de la inoculación y (D)-(E) síntomas observados a los 50 días después de la inoculación en los tratamientos 7 y 8, respectivamente.....	76
Figura 21. (A) Lesiones típicas causadas por <i>Alternaria allii</i> en el tratamiento 8, tres DDI y (B) lesiones causadas por <i>Alternaria allii</i> 8 DDI, durante el segundo experimento.....	78
Figura 22. Predios devastados en el segundo experimento. (A) Predio afectado por <i>Alternaria allii</i> con una población de 10 trípidos por planta, en plantas de 100 días después de la siembra y (B) predio devastado a los 110 días de siembra.....	82
Figura 23. (A-B) Lesiones causadas por <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i> 45 días después de la inoculación en plantas tratadas con trípidos +	

fungicida + <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i> , durante el primer experimento.....	85
Figura 24. (A) Conidias de <i>Alternaria allii</i> observadas en las alas (a) de <i>F. fusca</i> , (B) conidias en los cilios (cl) de las alas y (C) conidias en el área del metanoto (mto) (20x, Olympus BX40F4, Olympus Optical Co.).....	87
Figura 25. Microscopia electrónica de rastreo. Trípodos observados bajo microscopia electrónica. (A) <i>Frankliniella</i> spp., (B) segmento abdominal X (sa-X) (Terebrantia), (C) cabeza (c) y torax (tx) de <i>Frankliniella</i> spp. y, (D) <i>Arorathrips mexicanus</i>	88
Figura 26. (A) Pudrición de bulbos causado por <i>Sclerotium folfsii</i> y (B) micelio y esclerocios de <i>Sclerotium rolfsii</i> en hojas de cebolla.....	91
Figura 27. (A-B) Síntomas causados por <i>Leveillula taurica</i> en plantas de cebolla y (C) conidias cilíndricas (cc) y lanceoladas (cl) y conidióforos (c) de <i>Leveillula taurica</i> en las hojas de cebolla (20x, Olympus BX40F4, Olympus Optical Co.).....	94
Figura 28. Microscopia electrónica de rastreo. (A) Tejido sano de hojas de cebolla, (B-D) tejido infestado por <i>Leveillula taurica</i> con conidióforos (c) emergiendo a través de las estomas (e), (E) conidias primarias lanceoladas (cl) y, (F) conidias secundarias cilíndricas (cc).....	95
Figura 29. (A) Daños causados por <i>Spodoptera</i> spp. en el cultivo de cebolla y (B) <i>Spodoptera</i> spp. en plantas de cebolla.....	98
Figura 30. (A) Minas o serpentinas causadas por <i>Liriomyza trifolii</i> en hojas de cebolla y (B) larva de <i>Liriomyza trifolii</i> en una mina abierta.....	100
Figura 31. Síntomas observados en plantas de 80-90 día.....	101

1 INTRODUCCIÓN

La industria de hortalizas se ha convertido en una dinámica y en continuo crecimiento, aportando cada vez más al ingreso bruto agrícola a nivel local y mundial. En Puerto Rico, las tierras dedicadas a la producción de hortalizas se encuentran ubicadas principalmente en la zona sur, donde las condiciones edáficas y climatológicas son las más adecuadas para la producción de las mismas. Entre las hortalizas de mayor importancia en el país, se destacan el tomate, pimiento, calabaza, cilantrillo y la cebolla, sembradas en sistemas convencionales o en sistemas hidropónicos (Censo Agrícola, 2002; Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2004-05). Dentro de este grupo, el tomate es la hortaliza de mayor importancia en la Isla y la de mayor consumo per capita a nivel local (Censo Agrícola, 2002; Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2004-05). El cultivo de cebolla ocupa el cuarto lugar en importancia económica y en consumo el segundo lugar con un consumo per capita de 3.57 kg (Censo Agrícola, 2002; Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2004-05).

La cebolla (*Allium cepa* L.), ha ganado importancia por sus propiedades medicinales contra enfermedades circulatorias y cardiovasculares, entre otras. Recientemente, ha sido estudiada como una opción medicinal en contra de la osteoporosis (King, 2005). Además, de la aportación de nutrientes como vitamina C, potasio y calcio en la dieta de los consumidores (Farm Extension Services P.E.I. Department of Agriculture, Fisheries and Aquaculture, 2005).

Económicamente, el cultivo de cebolla se considera uno de los más importantes en el mundo, produciéndose aproximadamente 55,153,027 toneladas métricas (mt) anualmente (FAO STAT, 2005). Desde sus orígenes que se remontan a 3,200 A.C. en Asia Central, dicho cultivo ha sido de gran importancia económica en esta región. Para el año 2005, la producción fue estimada en 36,496,370 mt, ubicando a Asia Central como una de las principales regiones productoras de cebolla a nivel mundial (FAO STAT, 2005).

El auge adquirido por esta hortaliza al pasar de los años, exige cada vez más un producto de excelencia en sabor, producción y apariencia física al momento de ser mercadeado. Estas exigencias por parte de los consumidores son las que han impulsado a los países productores de cebolla a tener mayor control de las plagas y enfermedades, así como, realizar buenas prácticas culturales y de manejo en el cultivo. Son muchas las plagas y enfermedades que afectan este cultivo en cada ciclo de producción y mucho más alto el costo de las medidas de control utilizadas sin ninguna remuneración al final de la cosecha.

En Puerto Rico, las principales plagas insectiles del cultivo son: *Thrips tabaci* Lindeman, *Liriomyza trifolii* (Burgues) y *Spodoptera frugiperda* (J.) (Cabrera, 1999b; Cabrera, 2001). Estos insectos se caracterizan por afectar principalmente el área foliar (Cabrera, 1999b; Cabrera, 2001), reduciendo la superficie disponible para la actividad fotosintética en la planta. *Thrips tabaci* se considera la plaga principal del cultivo por causar daños directos a las células epidermales con sus hábitos de alimentación (Edelson et al., 1986; McKenzie et al., 1993; Medina, 1961). Además, *T. tabaci* se asocia con el hongo fitopatógeno, *Alternaria porri* y la subsecuente diseminación de la

enfermedad en el cultivo de cebolla (Bhangale y Joi, 1983; Leite et al., 2004; McKenzie et al., 1993). También se han reportado otras especies de trípodos del género *Frankliniella* a nivel mundial causando daños directos a las células y siendo vectores de enfermedades virales bajo la familia Bunyaviridae y el género Tospovirus (Reitz, 2002).

En los últimos años en Puerto Rico se han realizado varias investigaciones dirigidas al estudio de los patógenos asociados al cultivo de cebolla, principalmente hongos y bacterias (Calle, 2005; Fernández, 2005; Vélez, 2001; Vélez et al., 2004). En estas investigaciones se ha determinado que las principales enfermedades limitantes al cultivo son causadas por hongos (Fernández, 2005; Vélez, 2001; Vélez et al., 2004). Especialmente varias especies del género *Alternaria* se han reportado afectando el cultivo de cebolla (Fernández, 2005). A nivel mundial, *A. porri*, es la especie de mayor importancia en el cultivo de cebolla (Everts y Lacy, 1990a; Everts y Lacy, 1996). Mundialmente, otros géneros de hongos han sido reportados afectando el cultivo de cebolla: *Botrytis allii* Munn, *Fusarium oxysporum* (Schlechtend), *Leveillula taurica* (Lev.) Arn, *Peronospora destructor* (Berk), *Phoma terrestris* Hansen, *Pythium coloratum* Vaartaja, *Rhizoctonia solani* Kühn, *Sclerotium rolfsii* Sacc. y *Stemphylium vesicarium* (Wallr), entre otros (Farm Extension Services P.E.I. Department of Agriculture, Fisheries and Aquaculture, 2005; Fernández, 2005; Mohan y Molenaar. 2005; Schwartz y Mohan, 1995; Schwartz y Mohan, 2005; Vélez, 2001; Vélez et al., 2004).

Entre las bacterias fitopatógenas más importantes se destacan: *Burkholderia cepacia* (Palleroni: Holmes), *Erwinia carotovora* (Jones), *Pantoea ananas*, *Pseudomonas viridiflava* (Burkholder), *Xanthomonas axonopodis* pv. *alli* y *X. campestris* (Pammel) (Calle, 2005; Gitaitis y Gay, 1997; Schwartz y Mohan, 1995). En pruebas de

patogenicidad realizadas en la costa sur de Puerto Rico resultaron patógenas al cultivo de cebolla: *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Burkholderia glumae*, *Pseudomonas* sp. y *Xanthomonas* sp. (Calle, 2005). Dentro de este grupo, *A. avenae* subsp. *citrulli* resultó entre las más virulentas, causando lesiones alargadas y abiertas (como rasgaduras) tres días después de la inoculación (Calle, 2005). Esta bacteria es la primera vez que se reporta asociada al cultivo de cebolla alrededor del mundo y en Puerto Rico.

El cultivo de cebolla además de ser afectado por una amplia gama de plagas y enfermedades, existen factores abióticos como lo son la temperatura, la precipitación, la humedad y la luz que limitan los rendimientos del cultivo. Muchos investigadores sugieren la posible interacción entre trípodos y hongos o trípodos y bacterias, añadiéndose al efecto directo que ejercen la precipitación y la temperatura sobre las poblaciones de trípodos y de ambos patógenos (Bhangale y Joi, 1983; Gitaitis et al., 2003; Leite et al., 2004; McKenzie et al., 1993). ¿Cómo interaccionan estos factores y cuales son sus efectos en la severidad de las enfermedades causadas por *Alternaria allii* y *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* en Puerto Rico?, es la pregunta que se pretendía responder con esta investigación. El objetivo de esta investigación fue determinar los efectos de los daños causados por los trípodos en la severidad *Alternaria allii* y *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* en el cultivo de cebolla.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 *Allium cepa* L.

La cebolla (*Allium cepa* L.), es una planta herbácea, bienal y monocotiledónea siendo su origen en Asia Central (Lancaster et al., 1996; Schwartz y Mohan, 1995; Tindall, 1983). Pertenece a la familia Alliaceae que incluye el ajo, cebollines y puerros. Posee un sistema superficial de raíces que se extienden mayormente dentro de las primeros 30.48 cm de suelo deteniéndose su crecimiento al comenzar la bulbificación (Fornaris, 1999a). El producto comercial es un bulbo que puede variar de color, forma y sabor. El desarrollo de los bulbos puede ser afectado por factores bióticos y abióticos, entre los que se encuentran la variabilidad entre cultivares, temperatura, fotoperíodo, distancia de siembra, disponibilidad de nutrientes y la presencia de plagas y enfermedades (Benacchio, 1982; Brewster, 1977; Fornaris, 1999a; Haynes et al., 2002; Lancaster et al., 1996). Estos factores influyen principalmente en el tamaño final del bulbo.

Los cultivares de cebolla se separan principalmente por la cantidad de horas de luz requeridas, por lo que se agrupan en tres grupos: cultivares de días cortos (11 a 12 horas), días intermedios (12 a 13 horas) y de días largos (14 a 16 horas) (Cabrera, 1999a). En Puerto Rico, se siembran cultivares de días cortos e intermedios, siendo los más utilizados Mercedes, Excalibur y Nikita. Este cultivo crece bien en suelos francos con pH entre 6.0 a 7.5, altos requisitos de fósforo y nitrógeno (Benacchio, 1982; Haynes et al., 2002). Las cantidades de fósforo en plantas de cebolla pueden variar de 0.25 a 0.6%, siendo la tasa de remoción de este nutriente baja en las etapas de

crecimiento e incrementándose durante la bulbificación (Pire et al., 1997). Este cultivo requiere de temperaturas entre 18 a 35°C, lográndose los mejores rendimientos cuando estas condiciones no superan los 26°C (Ramos, 1999). Requiere de clima seco y mucha radiación solar. Es relativamente resistente a la sequía, sin embargo, no debe faltar el agua en las fases de germinación y desarrollo de raíces y bulbos (Benacchio, 1982). El período de desarrollo y crecimiento del bulbo se reducirá si la cantidad de agua no es la adecuada, ocasionando bulbos dobles, característica que disminuye considerablemente el valor comercial del producto (Fusagri, 1975). En Puerto Rico, se considera la mejor época de siembra entre los meses de noviembre a enero ya que las condiciones ambientales favorables el desarrollo del cultivo. Sin embargo algunos productores establecen siembras tempranas desde los meses de agosto a octubre o tardías que pueden extenderse hasta junio.

El cultivo de cebolla esta cobrando gran interés dentro de las hortalizas producidas mundialmente, dada a la alta demanda de consumo. Es considerada una de las más importantes en el mundo produciéndose aproximadamente 55,153,027 toneladas métricas (mt) por año (FAO STAT, 2005). En la Isla, el cultivo ocupa el cuarto lugar en importancia económica después del tomate, pimiento y calabaza en el grupo de las hortalizas producidas en sistemas convencionales (Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2004-05; Martínez, 1999). La mayor parte de las siembras de cebolla se encuentran ubicadas en la costa sur de Puerto Rico, entre los municipios de Guánica, Juana Díaz y Santa Isabel. Esta zona se caracteriza por tener suelos del orden Mollisols y la serie San Antón, suelos muy buenos para la producción de

hortalizas por ser de color oscuro, con alto contenido de carbono orgánico, de consistencia friable, alta saturación de bases y buena fertilidad (Rivera, 1999).

Para el 1925, este cultivo no era muy conocido en la Isla y las producciones eran relativamente bajas, concentrándose principalmente en la costa norte (Nolla, 1925). La producción de cebollas en Puerto Rico comenzó a tener auge a partir de los años 1988-89 y en los últimos años la producción se ha triplicado alcanzando valores de 15 a 20 toneladas métricas (mt) por cuerda (600 a 800 sacos de 22.68 kg por cuerda) bajo condiciones favorables (Fornaris, 1999b). Actualmente, la producción de cebollas ha tenido un crecimiento acelerado a nivel mundial. En Estados Unidos, 26 estados cultivan cebollas para fines comerciales, siendo los estados de Washington, California, Oregon, Idaho, Texas, Georgia, Nuevo México, Colorado, Nueva York y Michigan los mayores productores (National Onion Association, 2004). La producción de esta hortaliza para el año 2005, fue estimada en 3,669, 540 mt con un valor en el mercado de \$ 863,295 millones (USDA - National Agriculture Statistics Service, 2004; FAO STAT, 2005). Para este mismo año, la producción en Puerto Rico fue de 5,444 mt de cebolla, con un valor aproximado de \$1.6 millones (Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2004-05). En el Caribe, la producción de cebolla ha aumentado de 45, 843 mt en el 1995 a 200, 215 toneladas métricas en el 2005, lo que refleja un aumento significativo en la producción de cebollas en esta región (FAO STAT, 2002). Datos para el año 2005, estiman una producción de 196,583 mt de cebolla en la región del Caribe (FAO STAT, 2005).

2.2 Orden Thysanoptera

Los principales insectos plagas del cultivo son miembros del Orden **Thysanoptera**, Sub-Orden **Terebrantia**, la Familia **Tripidae** y sub familia **Tripinae**. Estos insectos se caracterizan por ser diminutos y en su mayoría de color marrón, aunque se pueden encontrar en tonalidades desde amarillo claro hasta negro (Carrillo, 1985; Delahaut, 2001; Medina, 1961). Dentro de esta familia, *Thrips tabaci* L. y especies del género *Frankliniella* son considerados los tripsidos de mayor importancia económica en el cultivo de cebolla, ocasionando daños que pueden alcanzar hasta un 100% (Shelton et al., 2006). Además, de los daños directos que pueden causar al destruir las células epidermales, estos son considerados vectores de varios virus dentro del género Tospovirus (Gent et al., 2004; Mound, 2002). A nivel mundial, estos virus causan pérdidas económicas severas en vegetales y plantas ornamentales producidas a nivel de campo e invernaderos (Daughtrey et al., 1997; German et al., 1992; Goldbach y Peters, 1994). Los tripsidos transmiten estos virus de forma propagativa circulativa, haciendo de estos un problema más serio en la dispersión de las enfermedades virales (Ullman et al., 1993; Wijkamp et al., 1993). Diez especie de tripsidos han sido confirmadas como vectores de virus dentro del género Tospovirus: *Frankliniella occidentalis* (Pergande), *F. schultzei* (Trybom), *F. intonsa* (Trybom), *F. fusca* (Hinds), *F. bispinosa* (Morgan), *F. zuchini* (Nakahara y Monteiro), *Thrips setosus* (Moulton), *T. palmi* (Karny), *T. tabaci* (Lindeman) y *Scirtothrips dorsalis* (Hood) (Thysanoptera: Thripidae) (Mound, 2002).

La reproducción y el desarrollo de los tripsidos están fuertemente relacionados con condiciones ambientales, especialmente la temperatura (Edelson y Magaro, 1988).

Los tripsos usualmente comienzan a establecerse en primavera y están presente hasta el invierno, con su pico poblacional en verano, cuando las temperaturas están más altas y favorecen su desarrollo (Bergant et al., 2005). El ciclo de vida se compone de tres etapas: huevos, ninfas y adultos, y puede completarse en un período de 14 - 30 días (Delahaut, 2001). Cuando las temperaturas están sobre los 30°C, el ciclo puede acortarse y ser completado en un período de 10–11 días (Cornell International Institute for Food, Agriculture and Development Global Crop Pest, 2005). Los tripsos producen sobre cinco a ocho generaciones por año si están favorecidos por condiciones climatológicas cálidas y secas (Delahaut, 2001). Por ejemplo, temperaturas medias del día superiores a 14.5°C son favorables para el desarrollo de la poblaciones de tripsos (Sites, 1992). Otros investigadores concluyen, que existe una correlación altamente positiva entre la temperatura del aire, la temperatura del suelo y la humedad relativa del aire con la densidad poblacional de los tripsos (Fournier et al., 1995). La cantidad de horas de luz también correlaciona positivamente en el desarrollo poblacional de estos insectos (Lewis, 1973). Sin embargo, la abundancia en precipitación puede afectar la tasa de mortalidad de los tripsos (Patterson et al., 1999). Otros efectos ocasionados por condiciones ambientales variables son las diferencias en el color y tamaño de los tripsos (Murai y Toda, 2002). Los factores climáticos influyen en la disponibilidad de alimento, lugares de refugio e incrementando la competencia entre especies, estos pueden actuar disminuyendo o aumentando el tamaño de las poblaciones de insectos (Fuentes, 2000).

Los tripsos son encontrados en la base de donde emergen las hojas por ser esta la parte más suculenta de la planta de cebolla, además de servir de protección

contra condiciones ambientales desfavorables y aplicaciones de insecticidas (Chaput y Schooley, 1998). Las ninfas y los adultos se alimentan principalmente del tejido joven, ocasionando daños directos al destruir las células epidermales de la hoja (Bergant et al., 2005). Las células son destruidas y vaciadas con su aparato bucal en forma de cono (raspador-chupador) que se encuentra unido a la parte inferior de la cabeza, con el que raspan y penetran el tejido para succionar la savia (Koschier et al., 2002; Medina, 1961). La parte externa de su aparato bucal esta formada por el labrum, las maxilas ubicadas a ambos lados del aparato y el labium, y en la parte interna del aparato bucal está contenida una mandíbula sola y dos estiletes asociados con las bases de la maxila (Snodgrass, 1993). Todos estos elementos del mecanismo de perforación y las partes inferiores de la pared principal de la cabeza son sujetados de forma asimétrica en los trípodos, por lo que comúnmente se le conoce como un aparato bucal asimétrico (Snodgrass, 1993).

De acuerdo con Fuentes (2000), la distribución de los trípodos en plantas de cebolla ocurre siguiendo un patrón de distribución denominado de agregación, esto es, en focos. Las plantas que han sido atacadas por los trípodos presentan raspaduras en el punto de crecimiento y a lo largo de la hoja de color blancas a plateadas (Cabrera, 1999b; Chaput y Schooley, 1998). Bajo un ataque severo de trípodos las hojas comienzan a enrizarse, enroscarse y el crecimiento se detiene provocando la muerte de la planta y la pérdida del bulbo (Medina, 1961). En Nueva York, el umbral económico es de tres trípodos por hoja en cebollas para consumo del bulbo y de un trípido por hoja en cebollines (Cornell International Institute for Food, Agriculture and Development Global Crop Pest, 2005).

2.2.1 *Thrips tabaci* Lindeman

El trípido de la cebolla (*Thrips tabaci* Lindeman), es una plaga polífaga que causa serios daños a vegetales y ornamentales en aproximadamente 140 especies de plantas, pertenecientes a 40 familias alrededor del mundo (MacIntyre et al., 2005; Murai, 2000). Es una plaga de gran importancia económica en plantas de la familia Alliaceae tales como cebolla (*Allium cepa* L.) y puerro (*Allium porrum* L.) (Lewis, 1997; McKenzie et al., 1993). Alrededor del mundo se considera la plaga principal del cultivo de cebolla, principalmente en países orientales y regiones de los Estados Unidos (Kannan y Mohamed, 2001; Kisha, 1977; MacIntyre et al., 2005; Shelton et al., 2006). En el estado de Nueva York, puede llegar a infestar el 100% de las 5,3000 ha de cebolla sembradas anualmente (Shelton et al., 2006). En regiones de Sudan, se reportan pérdidas hasta de un 57% en la producción bajo ataques severos del insecto (Kannan y Mohamed, 2001). *Thrips tabaci*, puede colonizar cultivos a una altura de 200 metros sobre el nivel del mar y su ataque puede ser más severo en climas secos y con altas temperaturas (Cornell International Institute for Food, Agriculture and Development Global Crop Pest, 2005). La mayor influencia de *T. tabaci* en la producción ocurre durante el desarrollo del bulbo (Kendall y Caminera, 1987). Bajo condiciones de invernadero un total de 10 trípidos por planta reduce la producción en un 7%.

Morfológicamente, *T. tabaci* se caracteriza por poseer alas sin venas y flecadas con pelos muy largos, antenas de siete segmentos y una línea de setas o pelos en el margen posterior del pronoto (Fig. 1) (Delahaut, 2001; Medina, 1961). Los adultos son de color marrón oscuro y las ninfas amarillo pálido (Medina, 1961). El tamaño y el color

de *T. tabaci* puede ser influenciado por la temperatura y la humedad, observándose especímenes que varían de marrón claro a amarillo y entre 965 μm hasta 1043 μm de largo (Murai y Toda, 2002).

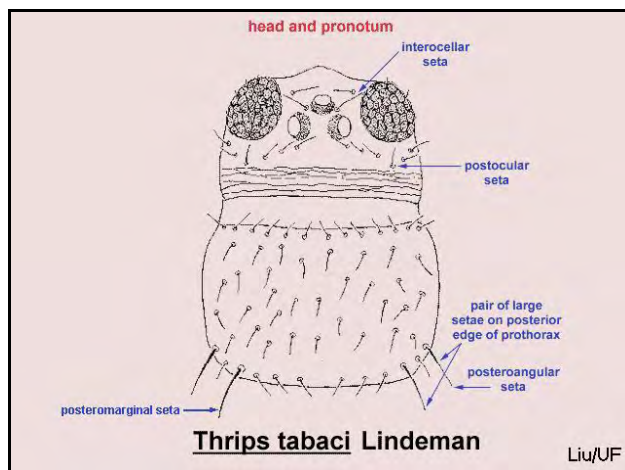


Figura 1. Cabeza y pronoto del trípido de la cebolla, *Thrips tabaci* L.
(Tomado de Image Gallery: <http://www.gladescrocare.com/imgal.html>).

2.2.2 *Frankliniella* spp.

El género *Frankliniella* incluye sobre 180 especies, la gran mayoría del Nuevo Mundo (OEPP/EPPO, 2002). Las especies dentro de este grupo son comúnmente conocidos como trípidos de las flores, por alimentarse principalmente de ellas en distintos cultivos. Dentro de este género las especies *Frankliniella occidentales*, *F. schultzei* y *F. fusca* son reportados causando daños al cultivo de cebolla en diferentes regiones alrededor del mundo (OEPP/EPPO, 2002; Shelton et al., 2006). Las diferencias en color observadas dentro de cada una de estas especies pueden influenciar en la capacidad de transmitir los virus, como es el caso de *F. schultzei*, donde

los ejemplares marrón oscuro son los vectores más eficientes del “Tomato spotted wilt virus” (TSWV) (Sakurai, 2004).

2.2.3 *Frankliniella occidentalis* (Pergande)

Frankliniella occidentalis, es original del oeste de los Estados Unidos pero, desde los años 1970 se ha reportado en regiones de Asia, Africa, América Central, América del Sur, Europa y Oceanía (OEPP/EPPO, 2002; OEPP/EPPO, 2003-2005). Esta especie es comúnmente encontrada en países de gran elevación como lo son Kenya y Malasia (Moritz et al., 2004). El rango de hospederos de esta especie incluye sobre 250 especies de plantas en 62 familias (OEPP/EPPO, 2002). *F. occidentalis*, ataca plantas en condiciones de campo y bajo condiciones de invernadero (OEPP/EPPO, 1998). Esta especie puede causar pérdidas severas de hasta un 20% en la producción bajo condiciones de invernadero (OEPP/EPPO, 1998). En adición a las pérdidas directas que causa a los cultivos por sus hábitos alimenticios, es un problema serio como vector de varios virus dentro del género Tospovirus. En la Isla, las poblaciones de *F. occidentalis*, comenzaron a estudiarse e interceptarse en cultivos en la región sur de la Isla a partir del 2005. Las poblaciones observadas hasta el momento son bajas y están presentes en ambas épocas de producción del cultivo de cebolla o sea de octubre a febrero y de enero a mayo (Feliciano et al., 2006).

Morfológicamente, se caracteriza por ser de color amarillo a marrón, con antenas de 8 segmentos. Posee tres pares de setas ocelares, un par I de setas post oculares, cinco pares de setas largas y un par corto en el pronoto, un par de sensilas

campiniformes en el metanoto y la presencia de un peine en el tergito VIII en las hembras (Fig. 2) (Moritz et al., 2004).

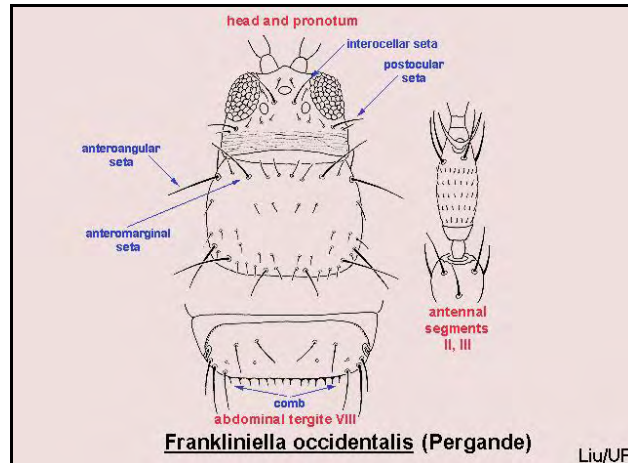


Figura 2. Cabeza, pronoto y tergito abdominal VIII de *Frankliniella occidentalis* (Tomado de Image Gallery: <http://www.gladescropcare.com/imgal.html>).

2.2.4 *Frankliniella fusca* Hinds

Frankliniella fusca, esta distribuida alrededor de los Estados Unidos, Canada, y en la zona sur de México y Puerto Rico (Moritz et al., 2004). El trípido del tabaco (“tabacco thrips”), *F. fusca*, es una de las plagas principales del cultivo de cebolla en los estados de Texas y Georgia en los Estados Unidos (Shelton et al., 2006). En Puerto Rico, se reportó en 1948, pero no se reporta asociado a ningún cultivo (Moulton, 1948). *F. fusca* es común en plantas de tabaco y algodón en la región norte de los Estados Unidos (Moritz et al., 2004). Esta especie se considera un vector eficiente del “Tomato spotted wilt virus” (Moritz et al., 2004).

Morfológicamente, se caracteriza por ser de color marrón con marcas amarillas en la cabeza y el pronoto. Posee antenas de 8 segmentos, tres pares de setas ocelares

(Fig. 3), ausencia del par de setas post oculares I (Fig. 3), pronoto con cinco pares de setas largas y un par corto (Fig. 3). Presenta un par de sensilas campiniformes en el metanoto y la ausencia del peine en el tergito VIII (Fig. 3) (Moritz et al., 2004).

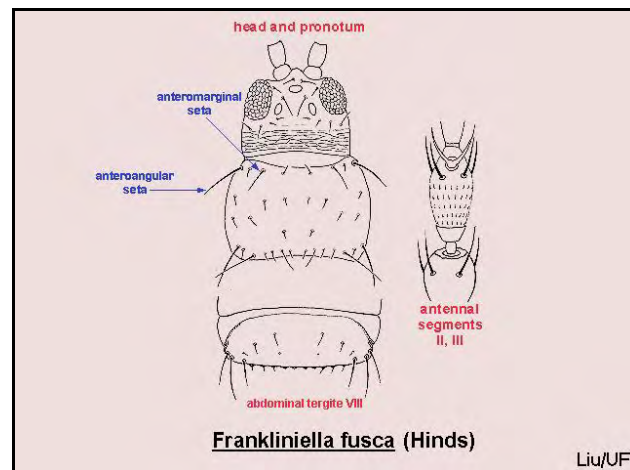


Figura 3. Cabeza, pronoto y tergito abdominal VIII de *Frankliniella fusca* (Tomado de Image Gallery: <http://www.gladescropcare.com/imgal.html>).

2.2.5 *Frankliniella schultzei* Trybom

F. schultzei esta distribuido entre las latitudes 40° al norte y 40° al sur en el Ecuador, manifestando especímenes de color oscuro y pálidos (Vierbergen y Mantel, 1991). Las formas oscuras son principalmente encontradas al norte del Ecuador y las formas pálidas al sur del Ecuador. Las formas oscuras son consideradas vectores eficientes de cuatro tospovirus: “Tomato spot wilt virus” (TSWV), “Tomato chlorotic spot virus” (TCSV), “Groundnut ring spot virus” (GRSV) y “Chrysanthemum stem necrosis virus” (CSNV). La forma oscura esta distribuida a través de Sudamérica, donde se reporta como un vector importante de tospovirus en Brasil y Argentina (Willems et al., 2001).

Morfológicamente, se caracteriza por presentar especímenes con variación en colores, cuerpo marrón con partes amarillas y cuerpo amarillo con partes color marrón. Posee antenas de 8 segmentos, tres pares de setas ocelares, un par de setas post ocular I, pronoto con cinco pares de setas largas y un par corto (Fig. 4) (Moritz et al., 2004). Una característica importante de esta especie, utilizada para diferenciarla de *F. fusca*, es la ausencia del par de sensilas campiniformes en el metanoto (Mound y Marullo, 1996). Esta especie no presenta un peine en el tergito VIII aunque, algunos científicos argumentan que ciertos especímenes pueden tener pequeños dientes laterales (Fig. 4) (Mound y Marullo, 1996).

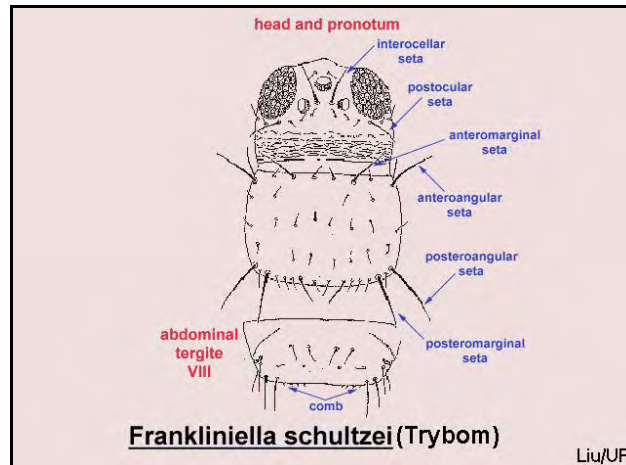


Figura 4. Cabeza, pronoto y tergito abdominal VIII de *Frankliniella schultzei* (Tomado de Image Gallery: <http://www.gladescrocare.com/imgal.html>).

2.3 *Alternaria* spp.

Alternaria porri (Ellis) Cif., pertenece a la familia Dematiaceae, caracterizada por producir conidias pigmentadas o melanizadas (Barnet y Hunter, 1998). Las conidias son color marrón, originadas en conidióforos que pueden estar solos o agrupados, con variaciones de color marrón claro a oscuro (McKenzie et al., 1993; Schwartz y Mohan, 1995). Las conidias contienen septos longitudinales y transversales y miden de 100 – 300 μm de largo por 15 - 20 μm de ancho (McKenzie et al., 1993; Schwartz y Mohan, 1995). Estas pueden ser diseminadas por el viento o el agua hasta la región del cuello de la planta y afectar el bulbo (Schwartz, 1999). Clasificar las especies de *Alternaria* taxonómicamente es muy complejo y puede resultar difícil la diferenciación entre las especies utilizando métodos tradicionales (Rotem, 1994). La mayoría de los investigadores recurren a características bioquímicas y recientemente se intenta desarrollar el uso de técnicas moleculares (Pryor y Michailides, 2002; Pryor y

Gilbertson, 2000). La producción de toxinas, pruebas de patogenicidad y características morfológicas también han sido utilizadas para la clasificación de muchas especies dentro de este género (Simmons, 1995; Simmons, 1999).

A. porri, es el agente causal de la enfermedad conocida como mancha púrpura o “purple blotch” (en inglés) en el cultivo de cebolla (Agrios, 2005; Everts y Lacy, 1990 (b); Schwartz y Mohan, 1995). La mancha púrpura es una enfermedad importante en *Allium* spp. alrededor del mundo, especialmente en ambientes húmedos y cálidos (Schwartz y Mohan, 1995). Algunos investigadores señalan que esta enfermedad es causada por un complejo entre *A. porri* y *Stemphylium vesicarium* (Suheri y Pricet, 2000). Estudios realizados en Australia, reportan un número similar de lesiones foliares cuando conidias de *A. porri* y *S. vesicarium* fueron inoculadas solos o en una combinación en plantas de cebolla y puerro (Suheri y Pricet, 2000). Ambos hongos son capaces de penetrar el tejido directamente a través de la epidermis (Suheri y Pricet, 2000). Por el contrario las especies, *A. tenuis* y *A. tenuissima* necesitan aberturas en la planta para poder penetrar al tejido (Skiles, 1953). Una vez *A. porri* invade su huésped por penetración directa o por las estomas, comienza su ciclo de infección que da origen a la formación de las conidias (Everts y Lacy, 1990 a). Se conoce que para una esporulación significativa, *A. porri* requiere de una humedad relativa de 90% y temperaturas entre los 22.5 -26.5 °C (Everts y Lacy, 1990 a; Schwartz, 1999; Schwartz y Mohan, 1995).

Los síntomas iniciales se presentan como manchas pequeñas, hundidas y acuosas con centro claro (Agrios, 2005). A medida que progresa la infección se forman anillos concéntricos de color marrón oscuro a púrpura (Agrios, 2005). Bajo

condiciones ambientales favorables la enfermedad puede distribuirse rápidamente causando cuantiosas pérdidas en el rendimiento. En Estados Unidos, las pérdidas ocasionadas por *A. porri* a nivel de campo y en cebollas almacenadas se estiman entre un 30 a un 50% y un 100% en el estado de Colorado (Schwartz, 1999). En Florida, las pérdidas ocasionadas por *A. porri* se estiman en más de un 50% (Kucharek, 2004). Una alta severidad de esta enfermedad disminuye drásticamente el tamaño de la hoja, y el tamaño y peso del bulbo (Kucharek, 2004).

En los últimos años se han realizado varios estudios dirigidos a identificar las especies del género *Alternaria* asociadas al cultivo de cebolla en Puerto Rico, por su importancia en este cultivo. Previo a los estudios realizados, *A. allii* era la única especie reportada por Nolla (1927) en el cultivo de cebolla en la zona norte de Puerto Rico. Recientemente, esta especie ha sido identificado asociado al cultivo en predios experimentales y comerciales en la región sur de Puerto Rico (Fernández, 2005; Velez, 2004). Veléz (2004), reporta las especies *A. tenuisima* y *A. alternata* como dos especies patógenas al cultivo de cebolla. Recientemente, Fernández (2005), reportó a *A. allii*, *A. tenuisima* y *Alternaria* sp. como especies patogénicas al cultivo de cebolla en la costa sur de la Isla. En predios comerciales se ha observado una incidencia de *Alternaria* de 52% y 48% en los cultivares Mercedes y Excalibur, respectivamente, en plantas de 60 a 100 días después de la siembra (Fernández, 2005). Mientras que en predios experimentales la incidencia fue menor, con un 33% y 25% en los cultivares Mercedes y Excalibur, respectivamente (Fernández, 2005). Las lesiones foliares observadas eran de forma elíptica alargada con un centro necrótico y un halo clorótico, algunas de color púrpura y otras de color marrón oscuro a negro o ambos colores

presentes en la misma lesión. Fernández (2005), afirma que estas lesiones causan el doblez de las hojas, impidiendo que la planta se desarrolle adecuadamente. En Puerto Rico, la temperatura y la humedad relativa son favorables para el desarrollo del patógeno durante todo el año, aunque una correlación positiva se ha observado entre la humedad relativa y la incidencia de *Alternaria* spp. durante los meses de febrero a abril (Fernández, 2005).

2.4 *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* y bacterias asociadas al cultivo

A nivel mundial se reportan pérdidas ocasionadas por bacterias asociadas al cultivo de cebolla, causando tizones foliares y pudriciones de hojas y bulbos. Los daños ocasionados por estos patógenos afectan directamente el tamaño y calidad del bulbo y las pérdidas pueden alcanzar un 100%, especialmente cuándo las condiciones ambientales favorables persisten al comienzo de la bulbificación (Schwartz y Gent, 2005).

Entre las bacterias de mayor importancia como patógeno del cultivo de cebolla, se destaca el género *Xanthomonas*. Estas son bacterias que se caracterizan por ser Gram negativas, en formas de bastón y móviles con un flagelo polar (Schaad et al., 2001). *Xanthomonas* spp. son comúnmente asociadas a tizones foliares o “leaf blight” en plantaciones de cebolla (Schwartz y Gent, 2005; Schwartz y Mohan, 1995). Los tizones foliares en cebolla causados por *Xanthomonas* spp., fueron reportados por primera vez en plantaciones de cebolla en Hawaii (Álvarez et al. en 1978). La clasificación taxonómica de aislados patogénicos de *Xanthomonas* aislados de plantas del género *Allium*, a pasado por muchas modificaciones desde que fueron reportados

inicialmente (Gent et al., 2005). La descripción original realizada por Álvarez et al. (1978) corresponde a *Xanthomonas* spp., sin embargo, reportes posteriores identifican a este género dentro de la especie *X. campestris* (Isakeit et al., 2000; Núñez et al., 2002). Investigaciones recientes han renombrado esta especie como *X. axonopodis* pv. *allii* (Gent et al., 2004). Actualmente, la mayoría de los investigadores identifican a *X. axonopodis* pv. *allii* como el agente causal de tizones foliares en cebolla, aunque muchos asocian a *X. campestris* con tizones foliares en el cultivo de cebolla (Gent et al., 2005; O' Garro y Paulraj, 1997; Sanders et al., 2003). Los síntomas asociados a tizones foliares en el cultivo de cebolla causados por *X. axonopodis* pv. *allii*, se observan en los lados planos de las hojas como lesiones húmedas que posteriormente se van alargando hasta formar un rayado clorótico, necrosis, muerte de las puntas de las hojas y poco desarrollo de la planta, lo que redundaría en una reducción del tamaño del bulbo (Gent et al., 2005; Gent et al., 2004). Los síntomas causados por bacterias del género *Xanthomonas* en Puerto Rico, se caracterizan por presentar una ligera pudrición alrededor de los puntos de inoculación (Calle, 2005). Los síntomas asociados a esta enfermedad pueden aparecer en cualquier estado de desarrollo en variedades de días cortos pero en variedades de días largos se desarrollan al inicio del desarrollo del bulbo (Schwartz et al., 2003).

En Puerto Rico los estudios dirigidos a identificar las bacterias asociadas al cultivo de cebolla son muy limitados. Recientemente, Calle (2005), reporta 39 cepas asociadas al cultivo de cebolla de las cuales 19 pertenecen a géneros fitopatógenicos: *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Burkholderia glumae*, *Clavibacter michiganensis*, *Pantoea agglomerans*, *Pantoea dispersa*, *Pseudomonas* sp. y *Xanthomonas* spp. Los

géneros, *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Pseudomonas* sp. y *Burkholderia glumae*, fueron reportados como patogénicos al cultivo de cebolla, produciendo los síntomas más severos a nivel de campo.

Acidovorax avenae subsp. *citrulli*, es el agente causal de la mancha bacteriana de la fruta, enfermedad devastadora en el cultivo de sandía y otras cucurbitáceas (*Citrullus lanatus*) [Thunb]. Matsum. & Nakai) (Schaad et al., 1978; Wall y Santos, 1988; Willems et al., 1992). Bajo condiciones favorables, se dispersa rápidamente a través de casas de trasplante y en el campo suele infectar y pudrir finalmente la sandía. Se conoce *A. avenae* subsp. *citrulli* anteriormente como *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* (Schaad et al., 1978). Es una bacteria Gram negativa, aeróbica, con un flagelo polar y prueba de oxidasa positiva (Hopkins y Thompson, 2002; Schaad et al., 2001). Se recuperó *A. avenae* subsp. *citrulli* del follaje de la sandía en el estado de Georgia en 1965, y desde entonces, se ha reportado alrededor de los Estados Unidos y el mundo (Black et al., 1994; Jacobs et al., 1992; Latin y Rane, 1990; Schaad et al., 1978; Somodi et al., 1991; Wall y Santos, 1988; Webb y Goth, 1965). Es capaz de infectar otras cucurbitáceas como la calabaza, pepinillo y calabacín entre otras. En Puerto Rico, es la primera vez que este género se encuentra asociado al cultivo de cebolla. Las lesiones causadas por *A. avenae* subsp. *citrulli* se caracterizaron por ser lesiones alargadas a manera de un rasguño ocasionando la ruptura del tejido (Calle, 2005). Las mismas lesiones fueron observadas en los cultivares Excalibur y Mercedes, los más utilizadas por los productores de cebolla en la Isla.

2.5 Interacción de trípidos y patógenos

Muy pocos estudios se han realizado dirigidos a estudiar la posible interacción de trípidos con enfermedades de importancia en el cultivo de cebolla. En Puerto Rico, durante el período de tiempo en que los trípidos alcanzan su mayor población, se ha observado una alta incidencia del hongo *Alternaria* sp. y bacterias fitopatógenas en plantas de cebolla de 60 a 100 días de madurez, en muestreos realizados en la región sur (Calle, 2005; Feliciano et al., 2006; Fernández, 2005). En el cultivo de cebolla *T. tabaci* se ha encontrado en ocasiones asociado al hongo fitopatógeno, *Alternaria porri* en condiciones de invernadero, aumentando su incidencia y severidad cuando el trípido se ha estado alimentando de la planta previo al ataque del hongo (McKenzie et al., 1993). Las plantas de cebolla, tratadas con infestaciones de *T. tabaci* e inoculaciones de *A. porri* presentan un acortamiento de las hojas, mayor área de la hoja infectada, mayor número de lesiones por hoja, mayor largo de lesiones y un mayor severidad de la enfermedad en comparación con plantas tratadas individualmente con *T. tabaci* y *A. porri* (McKenzie et al., 1993). Otras investigaciones realizadas con *T. tabaci* y *A. porri*, demostraron que bajo condiciones de invernadero fue necesario una alimentación previa del trípido para que *A. porri* causara lesiones foliares en las plantas de cebolla (Bhanghale y Joi, 1983; McKenzie et al., 1993). Nolla (1927), declara que los daños causados por los trípidos facilitan la infección ocasionada por *A. porri* y concluye que las heridas en el tejido epidermal sirven como punto de entrada para la invasión del hongo. En ausencia de daños ocasionados por trípidos, las hojas senescentes resultan más susceptibles a la infección por *A. porri* (Miller, 1983; McKenzie et al., 1993). Una vez las plantas han sido colonizadas por los trípidos, tanto las hojas jóvenes como las

viejas presentan lesiones foliares causadas por *A. porri*. En estudios previos no se ha observado el desarrollo de síntomas en las plantas control y en plantas inoculadas con *A. porri* (Bhanghale y Joi, 1983). Solamente se observaron síntomas en plantas donde *T. tabaci* se había estado alimentando previo a la inoculación del hongo, concluyendo que los daños causados por los hábitos alimenticios de *T. tabaci*, son casi siempre un requisito para el desarrollo de la enfermedad causada por *A. porri*.

Debido a la asociación observada entre tripsidos y *A. porri*, se han realizado otros estudios en diferentes cultivos para determinar la interacción entre otras especies del género *Alternaria* con relación a otros insectos tales como minadores y escarabajos. Investigaciones realizadas en condiciones de laboratorio con *Alternaria cucumerina* y *Liriomyza trifolii* demuestran un aumento en el número de lesiones ocasionadas por este hongo cuando la incidencia del insecto es mayor, previo al establecimiento del hongo en los tejidos de calabaza (Chandler, 1991). Estudios realizados para determinar la asociación entre infestaciones de escarabajos y la incidencia de *Alternaria brassicicola* en repollo encontraron conidias de *A. brassicicola* en las heces de escarabajos, sobre el cuerpo y las antenas, en el aparato bucal y en el tracto digestivo de insectos colectados en los predios experimentales (Dillard et al., 1998). En pruebas bajo condiciones de campo en la costa sur de la Isla, se han observado lesiones de *A. porri* desarrollándose en daños causados por minadores (*Liriomyza* sp.) y herbicidas (Fernández, 2005). Se ha demostrado que cuando los tripsidos causan daños a las hojas de cebolla y *A. porri* está presente, el hongo utiliza las heridas ocasionadas por el insecto como lugares alternos para penetrar el tejido (McKenzie et al., 1993). Los

daños causados por los trípidos en las hojas de la cebolla facilitan la entrada de patógenos secundarios como lo son *A. tenuissima* y *Alternaria* sp. (Fernández, 2005).

Se han reportado asociaciones de bacterias y trípidos, presentando a estos insectos como vectores. Se demostró una asociación entre *Frankliniella fusca* y *Pantoea ananatis*, identificándose la bacteria como un miembro de la microflora interna (en el tracto digestivo) del trípido (Gitaitis et al., 2003). Siendo, el primer reporte de miembros del Orden Thysanoptera que sirven como vectores de bacterias patógenas (Gitaitis et al., 2003). Las pruebas de transmisión realizadas en estos experimentos resultaron positivas y confirmaron la transmisión de *P. ananatis* por *F. fusca* en el cultivo de cebolla. Esta bacteria, al igual que *Xanthomonas*, es asociada con tizones en hojas de cebolla y ha sido encontrada asociada a los cultivares Excalibur y Mercedes en la costa sur de la Isla (Calle, 2005; Gitaitis y Gay, 1997).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Estudio observacional de la dinámica poblacional de *Thrips tabaci* L.

3.1.1 Predios experimentales

Se estableció un predio de cada uno de los cultivares de cebolla: Excalibur (Sunseeds[®], California) y Mercedes (Seminis[®], California) en la Subestación Experimental Agrícola de Juana Díaz de la Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez (UPRM), durante la época de enero a mayo del 2005. La Subestación Experimental Agrícola de Juana Díaz se encuentra ubicada en la costa sur de Puerto Rico en la Carretera #510, Km. 3.2, en el Barrio Sabana Llana, en la latitud N 18° 01' 39. 1" y longitud W66° 31' 33. 2", con una elevación de 34 metros sobre el nivel del mar (Google Maps, 2006). El suelo predominante pertenece al orden Mollisols y la serie San Antón, suelos profundos, color oscuro, con alto contenido de carbono orgánico, de consistencia friable, alta saturación de bases y buena fertilidad (Rivera, 1999). Cada siembra consistió de cuatro bancos de 9 metros de largo por 0.9 metros de ancho (Fig. 5). Cada banco contenía cuatro hileras sembradas a una distancia de 25.0 cm. Los predios no fueron asperjados con insecticidas para el control de trípidos y minadores. Para el control de malezas se aplicó fluazifop-P-Butil para malezas de hoja fina y oxyflourfen para malezas de hoja ancha.

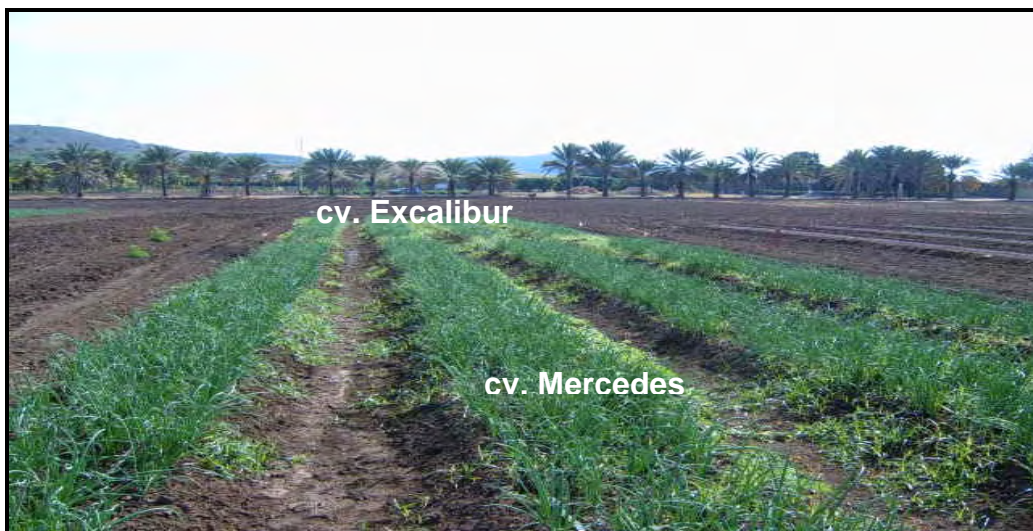


Figura 5. Vista general de los predios experimentales ubicados en la Subestación Experimental Agrícola de Juana Díaz, Puerto Rico, con los cvs. Excalibur y Mercedes.

3.1.2 Muestreos de trípidos

Semanalmente, a partir de la cuarta semana de siembra (29 enero al 4 febrero del 2005), se colectaron 25 muestras de plantas al azar de cada uno de los predios, durante los meses de febrero a abril del 2005. Las muestras se colectaron en forma sistemática de “zig zag” entre los cuatro bancos de cada predio. Las plantas eran colectadas y colocadas en bolsas plásticas que posteriormente eran depositadas dentro de una nevera portátil con hielo. Las muestras colectadas fueron procesadas en el laboratorio de Fitopatología de la Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez.

3.1.3 Procesamiento de muestras e identificación de trípidos

Las plantas se lavaron con agua corriente sobre un tamiz de 200 μm y 20.32 cm de diámetro (Fisher Scientific Co., Cat. No. 04-881-10V, USA) (Fig. 6A). Se abrió la base de donde emergen las hojas (Fig. 6B), ya que esta región es donde se encuentran los trípidos y permanecen sus etapas larvales (Chaput y Schooley, 1998). Una vez la planta era lavada en su totalidad, los trípidos quedaban atrapados en el tamiz y se depositaban en envases de plástico de 50 ml con alcohol etílico al 10% (Fig. 6C). Posteriormente, estas muestras eran depositadas sobre una placa de lectura la cual se colocaba bajo el estereoscopio (Leica[®], Leica Zoom 2000, Modeloo Z45V, USA) para determinar la cantidad de trípidos presentes en la muestra (Fig. 6D).

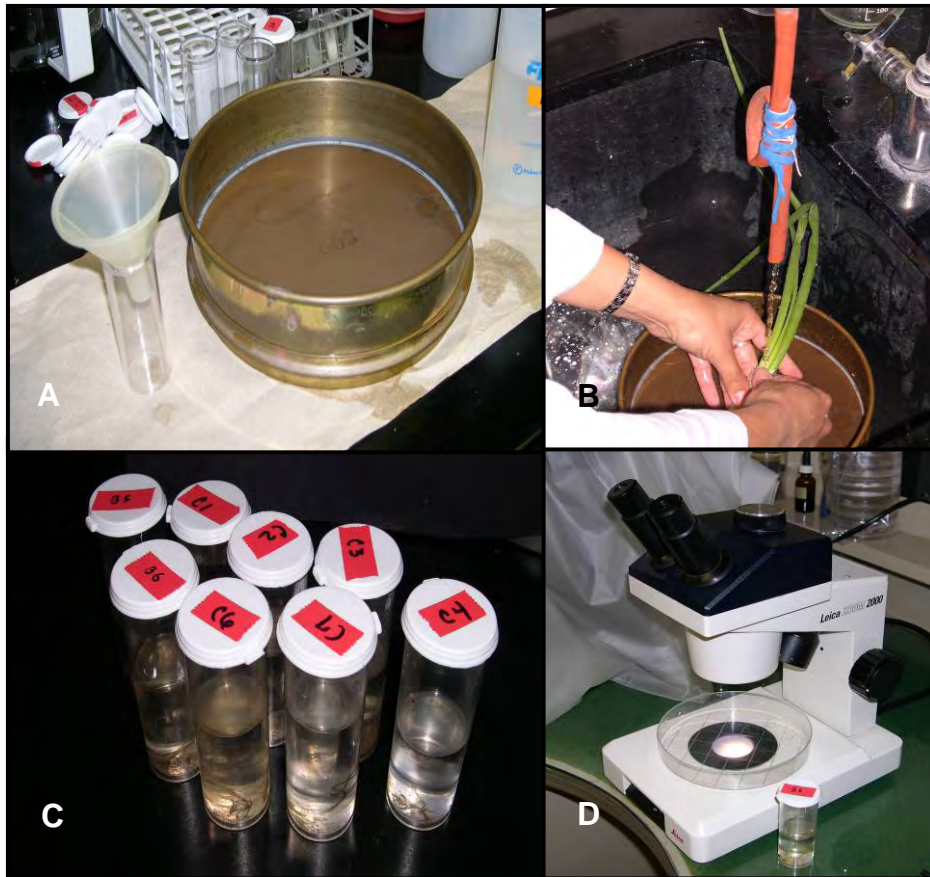


Figura 6. (A) Tamiz de 200 μm para coleccionar trípodos en el proceso de lavado, (B) separación de la base de las hojas, (C) envases de plástico transparente donde las muestras son coleccionadas después de ser procesadas y, (D) lectura de la muestra bajo el estereoscopio.

De estas muestras, se colectaban 10 trípodos adultos al azar para constatar la presencia de *T. tabaci* en los predios experimentales o alguna otra especie asociada al cultivo de cebolla. Una vez colectados los trípodos, se procedía al proceso de deshidratación, que consistía de colocar los trípodos en tubos de microcentrífuga de 1.5 ml (Fisher Scientific, USA) con alcohol etílico al 70% por un periodo de 12 horas, seguidas por 10 minutos en alcohol etílico al 95%. Luego de esto, se procedía con la clarificación de especímenes la cual consistió de: 1 min. en 50:50 de alcohol etílico al 95% y xileno 100%, seguido por 1 min. en xileno 100%. En el último paso se prepararon laminillas colocando los especímenes en una gota de una mezcla de Canada Balsam (Fisher Scientific Co., New Jersey) y xileno, donde se procedía a extender sus antenas, patas y alas. Éstas se fijaron a 51°C por 3 días en un horno (Fisher ISOTEMP® 300 Series, Modeloo 318F, USA).

3.1.4 Datos climatológicos

Los datos de precipitación y temperatura fueron tomados diariamente durante todo el ciclo del cultivo a través de una estación meteorológica ubicada en la Subestación Experimental Agrícola de Juana Díaz.

3.2 Determinación de los efectos de las poblaciones de trípidos en la severidad de *Alternaria allii* y *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*

3.2.1 Experimentos de campo

Se realizaron dos experimentos de campo en la Subestación Experimental Agrícola de Juana Díaz: durante octubre 2005 a marzo 2006 y otro de enero a mayo del 2006. En ambos experimentos se utilizó el cultivar Mercedes, con un ciclo de aproximadamente 100 días desde la siembra hasta la cosecha (Cabrera, 1999a). Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con nueve tratamientos (Cuadro 1). El área experimental consistía de 3 bloques con un tamaño de cada bloque de 21.2 m de largo por 6.4 m de ancho. Cada bloque tenía 9 parcelas de 3.03 m de largo por 0.91 m de ancho. Para el segundo experimento, el tamaño del área experimental fue el doble del tamaño del primer experimento. Alrededor del área experimental se mantenían pequeñas parcelas de cebollas (cv. Mercedes) sin tratar con plaguicidas para utilizarlas como reservorio para trípidos. Una vez germinadas las plantas, se entresacaron dejando una distancia de 7.6 cm entre plantas en las hileras. Los tratamientos utilizados consistían de combinaciones de las poblaciones naturales de

trípidos bajo condiciones de campo, e inoculaciones de suspensiones de *Alternaria allii* y *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* como se presentan en la Cuadro 1. La preparación del inóculo para ambos patógenos se explicará en detalle en la próxima sección.

En ambos experimentos se utilizaron insecticidas cuyo ingrediente activo fue cypermctrina y avermectinas para el control de trípidos en los tratamientos 2, 3, 6 y 9 (Cuadro 1). Las poblaciones de hongos fueron controladas con un fungicida de ingrediente activo iprodione en los tratamientos 1, 2, 4 y 9 (Cuadro 1). En los tratamientos 1, 3, 5 y 9, las poblaciones de bacterias fueron controladas con un bactericida cuyo ingrediente activo fue oxytetraciclina (Cuadro 1). Los plaguicidas utilizados, sus ingredientes activos, dosis y frecuencias de aplicación se presentan en la Cuadro 2. Para el control de malezas se aplicó fluazifop-P-Butil para malezas de hoja fina y oxyflourfen para malezas de hoja ancha.

Cuadro 1. Tratamientos aplicados a los predios de cebolla del cv. Mercedes en los experimentos de campo realizados en la Subestación Experimental Agrícola de Juana Díaz en el periodo de octubre 2005 a mayo 2006.

Número de Tratamientos	Descripción del tratamiento (plaguicidas o inoculaciones aplicadas)	Condición esperada simulada por tratamiento
1	Fungicida ¹ + Bactericida ²	Población natural de trípidos (n=7) ⁴
2	Insecticida ³ + Fungicida + <i>Acidovorax. avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	Lesiones causadas por <i>Acidovorax. avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>
3	Insecticida + <i>Alternaria allii</i> + Bactericida	Lesiones causadas por <i>Alternaria allii</i>
4	Fungicida + <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	Población natural de trípidos y lesiones causadas por <i>Acidovorax. avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>
5	<i>Alternaria allii</i> + Bactericida	Población natural de trípidos y lesiones causadas por <i>Alternaria allii</i>
6	Insecticida + <i>Alternaria allii</i> + <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	Lesiones causadas por <i>Alternaria allii</i> y <i>Acidovorax. avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>
7	<i>Alternaria allii</i> + <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	Población natural de trípidos y lesiones causadas por <i>Alternaria allii</i> y <i>Acidovorax. avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>
8	Control negativo ⁵	Poblaciones naturales de plagas, hongos y bacterias
9	Insecticida + Fungicida + Bactericida	Control de poblaciones naturales de plagas, hongos y bacterias

¹ Ingrediente activo iprodione.

² Ingrediente activo oxytetraciclina.

³ Dos insecticidas con ingredientes activos cypermethrin y avermectinas.

⁴ Poblaciones naturales de trípidos con una población inicial (n) de 7 trípidos por planta.

⁵ No se aplicó ningún plaguicida y se utilizaron las poblaciones naturales de los trípidos y ambos patógenos.

Cuadro 2. Dosis, frecuencias e ingredientes activos de los plaguicidas utilizados en los predios de cebolla del cv. Mercedes en los experimentos de campo realizados en la Subestación Experimental Agrícola de Juana Díaz, Puerto Rico.

Plaguicidas	Ingredientes activos	Dosis	Frecuencia
Fungicida	Iprodione	0.68kg/189L	Una aplicación a los 45 días.
Bactericida	oxytetraciclina	18g/53L	Una aplicación a los 45 días.
Insecticidas	cypermethrin	5oz/acre	Se aplicó en la semana 6, 9,11 y 13.
	avermectinas	8oz/379L	Se aplicó a partir de la semana 3 hasta la 13 (semanal).

3.2.2 Preparación del inóculo de *Alternaria allii* y *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*

El aislado utilizado de *A. allii* fue obtenido durante las pruebas de patogenicidad realizadas por Fernández (2005) en condiciones de campo. Esta especie resultó ser la más virulenta dentro de las evaluadas del género *Alternaria* spp. De igual forma, el aislado de *A. avenae* subsp. *citrulli* fue obtenido de las pruebas de patogenicidad realizadas por Calle (2005) bajo condiciones de campo. Este aislado fue identificado mediante pruebas bioquímicas por Calle (2005), utilizando el método BIOLOG.

Alternaria allii no produjo conidias en los medios de cultivo bajo condiciones de laboratorio, por lo que, el inóculo utilizado fue una suspensión de micelio. Este, fue preparado utilizando 10 platos Petri (150 x 15 mm) con crecimiento de 7 días en agar de papa y dextrosa acidulado con 25 gotas de ácido láctico al 25% (PDA). El micelio fue raspado y depositado en 1 litro (L) de agua destilada estéril para ser homogenizado en una licuadora durante 5 minutos. La suspensión final fue utilizada para la inoculación del hongo a plantas de 60 a 65 días de edad en el campo.

La suspensión de células bacterianas se obtuvo a partir de la remoción del crecimiento bacteriano de platos Petri (150 x 15 mm) con agar de soya tríptico de 24 a 48 horas de incubación a 27°C. La concentración de células bacterianas se ajustó a 10^9 ufc/ml con la ayuda de un espectrofotómetro en un amortiguador de fosfato, en un volumen total de 1 L (Gent et al., 2005). Esta suspensión se inoculó en plantas de 60 a 65 días de edad en el campo.

3.2.3 Método de inoculación de *Alternaria allii* y *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*

Previo a la inoculación, se seleccionaron al azar 10 plantas para cada tratamiento y se marcaron con banderas fluorescentes (Fig.7A-B). De cada planta se seleccionó la hoja central más joven y se identificó el área a ser inoculada. Para el hongo se marcó con un círculo negro, para la bacteria se marcó con una línea horizontal negra (Fig. 8A-B). Se inocularon plantas a los 65 (Experimento 1) ó 60 (Experimento 2) días después de siembra. Las inoculaciones de ambos patógenos se realizaron utilizando un sistema de asperjar a base de bombas de CO₂. El sistema fue calibrado para aplicar 5 ml del inóculo de cada patógeno. Las boquillas utilizadas fueron ajustadas para un área de cobertura de 2 cm de ancho a una distancia del punto de inoculación de 15 cm. Las plantas a ser inoculadas fueron desinfectadas superficialmente con una solución de alcohol etílico al 40%, que fue aplicado con bombas de asperjar de 5 galones (Ortho Round Up[®], The Fountainhead Group Inc, USA). El alcohol fue removido de las plantas con agua destilada estéril utilizando bombas de asperjar. Una vez desinfectadas las plantas, se realizaron las heridas en el punto de inoculación. Estas fueron realizadas utilizando un asa de 10 cm para sostener alfileres (BioQuip Products, Inc., USA) (Fig. 9A). Al asa se le colocaron cuatro alfileres a una distancia de 0.1 mm. La misma asa fue utilizada para crear todas las heridas en ambos experimentos, esto, para disminuir la variabilidad entre las heridas creadas en las plantas. Luego de cada herida, el asa era desinfectada en una solución de alcohol etílico al 95% para evitar contaminación. Luego de realizar las heridas se aplicó el inóculo a las plantas con el sistema de bombas de asperjar utilizando tanques de CO₂

(Fig. 9B). La aplicación de *Alternaria allii* se realizó un día previo a la inoculación de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, utilizando las mismas plantas para ambos patógenos en los tratamientos 6 y 7. Durante el primer experimento, las inoculaciones se realizaron a partir de las 6:00 p.m., y a partir de las 7:00 p.m. en el segundo experimento cuando la incidencia de los rayos del sol había disminuido. Los tratamientos fueron aplicados a las horas mencionadas para evitar la desecación del inóculo y proveer condiciones climatológicas adecuadas durante las primeras 12 h luego de la inoculación de los patógenos. Se realizaron aislamientos de las lesiones observadas para confirmar la presencia de los patógenos inoculados y de esta forma completar los postulados de Koch.



Figura 7. (A) Vista general del predio experimental y (B) plantas marcadas con banderas fluorescentes para identificarlas como plantas a ser inoculadas.



Figura 8. (A) Marca utilizada en el área inoculada con *Alternaria allii* y (B) marca utilizada en el área de la planta inoculada con *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*.

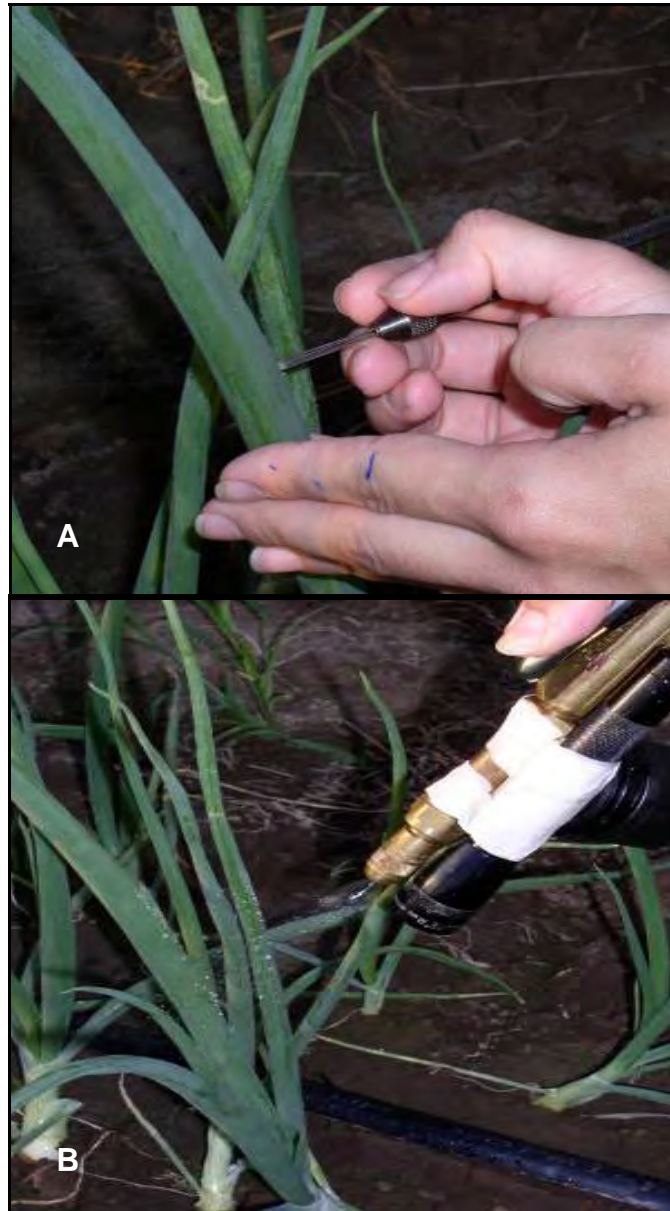


Figura 9. (A) Heridas realizadas en los puntos a inocular e (B) inoculación de *Alternaria allii* y *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* utilizando bombas de asperjar con un sistema de CO₂.

3. 3 Muestreos para la contabilización del número de trípodos por planta e identificación de especies

A partir de la cuarta semana después de siembra en ambos experimentos, se monitorearon semanalmente las poblaciones de trípodos. Los trípodos se colectaron mediante el método directo (Medina, 1961). Se seleccionaban dos plantas al azar de las plantas no tratadas en cada tratamiento, se separaba la base de donde emergen las hojas y se contabilizaba el número de trípodos (ninfas y adultos) por planta. Durante ambos experimentos se constató la presencia de otras especies de trípodos, principalmente del género *Frankliniella*, por lo que, a partir de la inoculación de los tratamientos se realizaron muestreos en intervalos de 14 - 20 días mediante el método indirecto (veáse sección 3.1.3). Los trípodos colectados fueron identificados por género y especie, y separados por sexo. Además, se identificó el instar de las ninfas observadas. Para la identificación de estas y otras especies se observaron características morfológicas distintivas: color del cuerpo, número de segmentos antenales, setas post oculares, setas en el protorax, sésilas campiniformes en el metanoto y el peine en el tergito número VIII. La identificación de las especies se realizó mediante claves taxonómicas y pictóricas desarrolladas para la identificación de trípodos (Medina, 1961; Moritz et al., 2004; Mound y Marullo, 1996; Soto y Retana, 2003; Triplehorn y Johnson, 2005). Además se contó con la colaboración del Dr. Joe Funderburck (University of Florida) para la identificación de los trípodos.

Durante el primer experimento se realizaron cinco muestreos (I – 20 /diciembre/ 2005, II – 2 /enero/ 2006, III – 16 /enero/ 2006, IV – 31 /enero/ 2006 y V – 15 /febrero/ 2006). En el segundo experimento se realizaron tres muestreos (I – 17 /abril/ 2006, II –

30 /abril/ 2006 y III – 16 /mayo/ 2006) debido al desarrollo del ciclo del cultivo y los índices de enfermedad observados.

3. 4 Variables evaluados

En cada una de las 10 plantas por parcela se determinó: (1) el número y largo total de hojas (cm), (2) el número y largo total de lesiones (cm) causados por *Alternaria allii*, (3) el número y largo total de lesiones (cm) causados por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, (4) área de la hoja afectada por *Alternaria allii* y *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (base, centro o ápice) y (5) severidad de *Alternaria allii* y *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* e índice de daño causado por los trípodos medidos con una escala de severidad de 1 a 5 donde 1=0, 2=1-25%, 3=26-50%, 4=51-75 y 5=76-100%. La severidad de ambos patógenos e índices de daño causados por trípodos fueron determinados para la planta completa. El largo total de hojas (LTH) y el largo total de lesiones (LTL) fue utilizado para determinar los índices de enfermedad por hoja (IEH) mediante la fórmula: $IEH=LTL/LTH*100$. Los variables fueron evaluados a los 14 y 45 días después de la inoculación (DDI) de ambos patógenos, en los dos experimentos.

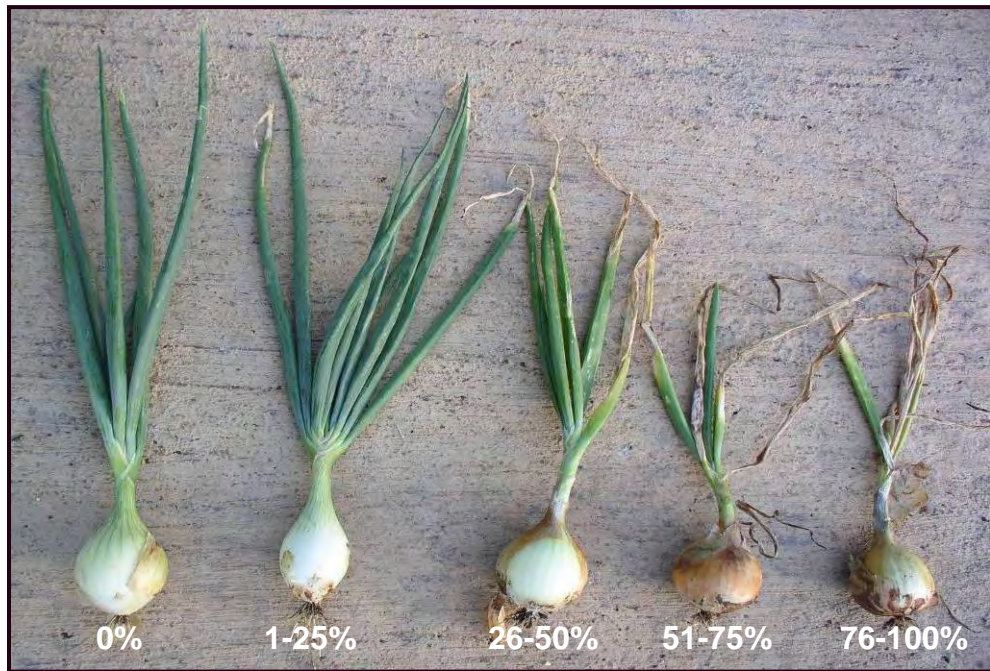


Figura 10. Escala visual utilizada para evaluar la severidad (%) de la enfermedad causado por *Alternaria allii* en el cultivo de cebolla.

3. 5 Análisis de datos

Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente por medio del programa InfoStat versión 2004d.1. Se utilizó un análisis combinado de experimentos con parcelas divididas, combinando ambos experimentos, los tratamientos, los muestreos (subtratamientos) y las repeticiones (bloques). Además, se realizaron contrastes con un nivel de significancia de 0.01 y 0.05.

3. 6 Aislamiento e identificación de hongos y bacterias asociadas al cuerpo de los trípodos

Se realizaron dos muestreos de trípodos, a los 70 y 90 días de siembra en cada experimento. Los trípodos fueron colectados mediante el método directo utilizando tres plantas elegidas al azar por tratamiento (Medina, 1961). Estos fueron colectados con la ayuda de pinceles estériles y colocados en tubos vacíos de microcentrífuga estériles de 1.5 ml, donde permanecían hasta ser transportados al Laboratorio de Fitopatología de la Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez. Una vez en el laboratorio se colectaban tres trípodos con pinzas estériles y se colocaban en platos Petri (60 x 15 mm) con PDA. Para el aislamiento de bacterias se colocaron trípodos en platos Petri (60 x 15 mm) con agar de soya tríptico (TSA, 40g/l Difco™). Los platos con PDA se incubaron por siete días, y los de TSA por 24 a 48 horas, ambos a $\pm 27^{\circ}\text{C}$ (VWR Scientific Products, Sheldon Manufacturing Inc. Modelo 2020). Luego del período de incubación se purificaron las muestras y se identificaron los hongos y bacterias

asociados al cuerpo de los trípodos. Los aislados de hongos y cepas de bacterias encontrados se compararon con los previamente identificados como *Alternaria allii* y *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* por Calle (2005) y Fernández (2005).

3.6.1 Microscopía electrónica de rastreo

Se realizaron dos muestreos de trípodos, a los 70 y 90 días de siembra en cada experimento, para observar los especímenes a través de microscopía electrónica de rastreo. Para estos muestreos, se seleccionaron 2 plantas elegidas al azar de las plantas no tratadas en cada tratamiento. Los trípodos fueron colectados mediante el método directo (Medina, 1961) y colocados en tubos de microcentrífuga estériles de 1.5 ml, que contenía glutaraldehído al 4% y amortiguador de fosfato al 0.1 M ajustado a un pH de 7.2. Una vez colocados en el fijador, las muestras fueron deshidratadas. La deshidratación consistió en colocar los trípodos en diferentes concentraciones de alcohol etílico: 5, 15, 25, 35, 45, 55, 65, 75, 85, 95 y 100%, durante 20 min. cada vez. El último paso fue el secado crítico para montar los especímenes en placas de aluminio (10mm x 15mm) con doble cinta adhesiva y cubrirlos con un baño de oro, para luego ser examinados con el microscopio electrónico de rastreo (Modelo JEOL JSM-5410LV).

3.7 Observaciones de campo

Durante el período de ambos experimentos se realizaron muestreos semanalmente para identificar la presencia de plagas y enfermedades que pudieran influir en los resultados de la investigación o afectar el desarrollo de las plantas.

3.7.1 Muestreos para patógenos

En cada una de las parcelas bajo experimento se colectaron plantas que presentaban síntomas y se colocaron en bolsas plásticas en una nevera con hielo. Las muestras se transportaron al laboratorio de Fitopatología de la UPRM. Por cada muestra se realizaron tres cortes del tejido (0.5 cm) que presentaba síntomas (hojas bulbos o raíz). Los pedazos de tejido se desinfectaron con alcohol etílico al 70%, hipoclorito de sodio al 0.05% (ambos tratamientos por un min.) seguido de dos lavados con agua destilada estéril. El tejido se transfirió a PDA acidulado. Los platos Petri (60 x 15 mm) se incubaron a $\pm 27^{\circ}\text{C}$ (VWR Scientific Products, Modelo 2020, Sheldon Manufacturing Inc.). Luego de 7 días de incubación, se identificaron los hongos asociados utilizando claves taxonómicas de Barnet y Hunter (1998).

Durante los meses de enero a marzo del 2006 (primer experimento) se observó una alta incidencia de un hongo afectando la superficie de las hojas. Para evaluar la severidad de la enfermedad por planta, se desarrolló una escala porcentual visual donde 1= 0, 2=1-25, 3=26-50, 4=51-75 y 5=75-100%. Se realizaron cortes de tejido y se examinaron bajo un microscopio compuesto (Olympus BX40F4, Olympus Optical Co.). Este hongo se caracteriza por producir dos tipos de conidias, por lo que, se seleccionaron 25 conidias primarias y 25 conidias secundarias y se documentó el largo (μm) y ancho (μm) de éstas según descrito por Mohan y Molenaar (2005) para la identificación de *Leveillula taurica* en el cultivo de cebolla. Se determinó el largo (μm) y ancho (μm) de 25 conidióforos tomados al azar. Se colectó tejido con síntomas y asintomático para ser examinado con el microscopio electrónico de rastreo (Modelo

JEOL JSM-5410LV). Los tejidos (0.5 cm) se fijaron en glutaraldehído al 4% y amortiguador de fosfato 0.1 M, ajustado a un pH de 7.2. Luego se deshidrataron con alcohol etílico al 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 y 100% por 20 min cada vez, realizó el punto critico de secado y el baño de oro para ser observados en el microscopio electrónico de rastreo.

3.7.2 Muestreos de plagas

Para identificar las plagas asociadas al cultivo, se observaron las plantas y se colectaron larvas y adultos de insectos en las hojas. Las larvas y adultos fueron colectados y colocados en tubos plásticos que eran depositados en neveras para ser transportados al Laboratorio de Fitopatología de la UPRM. Las plagas observadas fueron identificadas utilizando descripciones previas de estas plagas asociadas al cultivo de cebolla (Cabrera, 1999b) y claves taxonómicas (Triplehorn y Jonson, 2005).

4 RESULTADOS

4.1 Estudio observacional de la dinámica poblacional de *Thrips tabaci* L.

La población de *T. tabaci* aumentó durante el desarrollo vegetativo de la cebolla (10^{ma} a 12^{ma} semanas), declinando en la fase de maduración del cultivo (13^{ra} a 15^{ta} semanas), en ambos cultivares evaluados (Fig. 11). El máximo poblacional fue en la semana 12, con un total de 85.9 y 75.4 trípodos por planta en 'Excalibur' y 'Mercedes', respectivamente. El aumento poblacional se relaciona con la etapa de desarrollo donde ambos cultivares presentaron mayor número de hojas, 9.5 para 'Excalibur' y 8.5 para 'Mercedes' (Cuadro 3). Se observó una disminución en la población de trípodos al final del ciclo de la cebolla (15^{ta} semana) cuando ocurrió una reducción en el área foliar disponible de un 50% y la mayoría de las plantas presentaban el doblez de las hojas a nivel del cuello (Fig. 11 y Cuadro 3).

4.1.1 Relación de la dinámica poblacional de *T. tabaci* con datos climatológicos

Durante el mes de febrero ocurrieron las temperaturas mínimas y máximas más bajas durante todo el ciclo del cultivo (Cuadro 4). Durante la 8^{va} a la 10^{ma} semanas, las temperaturas mínimas se mantuvieron en un rango de 18.2 a 19.6°C y las máximas de 30.8 a 31.1 °C (Cuadro 4). A partir de la 10^{ma} semana se comenzó a observar un incremento en las temperaturas mínimas y máximas, subsecuentemente se comenzó a

observar un incremento en el número de trípodos por planta que alcanzó su máximo nivel poblacional durante la 12^{ma} semana.

No ocurrieron eventos de precipitación o esta estuvo muy baja hasta la semana 12^{ma}, donde se reportaron 0.43 cm de precipitación (Cuadro 4). La mayor precipitación ocurrió durante la 13^{ra} semana con 1.67 cm, lo cual coincidió con la disminución del número de trípodos por planta hasta la 15^{ta} semana.

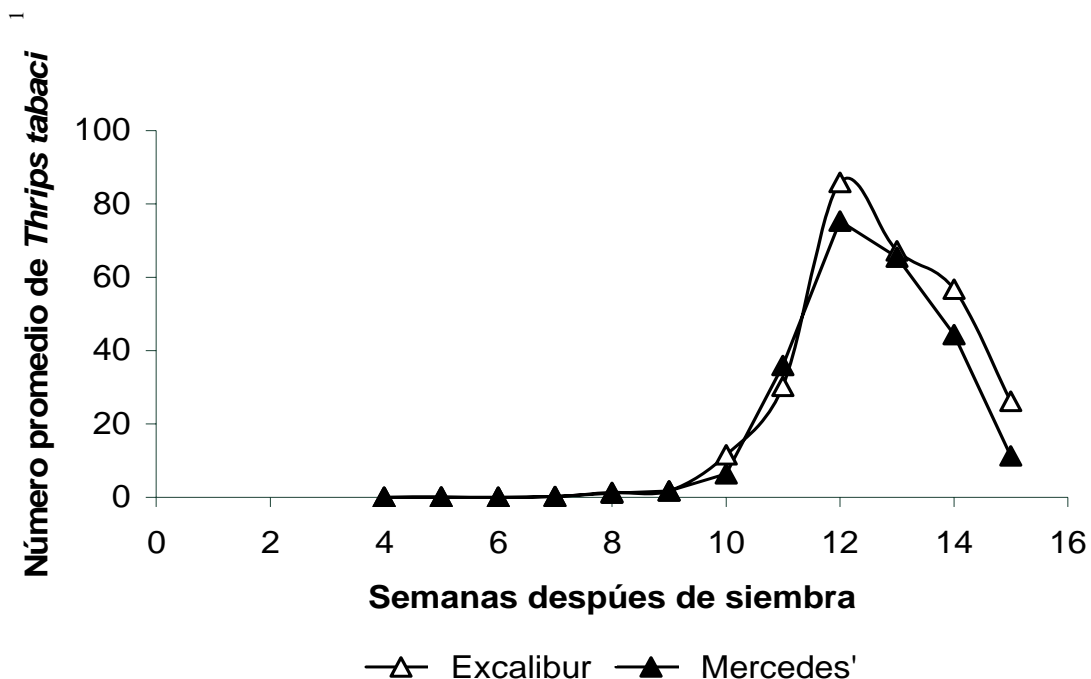


Figura 11. Número promedio de *Thrips tabaci* por planta en los cvs. Excalibur y Mercedes durante el experimento de enero a abril del 2005.

¹ Promedio por planta de un total de 25 plantas muestreadas por semana.

Cuadro 3. Número de hojas por planta en los cvs. de cebolla Excalibur y Mercedes evaluadas semanalmente, durante el experimento establecido de enero a abril del 2005 en la Subestación Experimental Agrícola de Juana Díaz, Puerto Rico.

Semanas después de siembra ¹	Fechas	Número de hojas ²	
		Excalibur	Mercedes
4	29 /enero/ 2005 – 4 /febrero/ 2005	2.5	2.9
5	5 /febrero/ 2005 – 11 /febrero/ 2005	2.9	2.6
6	12 /febrero/ 2005 – 18 /febrero/ 2005	3.3	3.6
7	19 /febrero/ 2005 – 25 /febrero/ 2005	3.6	3.6
8	26 /febrero/ 2005 – 4 /marzo/ 2005	5.0	4.9
9	5 /marzo/ 2005 – 11 /marzo/ 2005	7.0	6.6
10	12 /marzo/ 2005 – 18 /marzo/ 2005	8.0	8.1
11	19 /marzo/ 2005 – 25 /marzo/ 2005	8.7	8.5
12	26 /marzo/ 2005 – 1 /abril/ 2005	9.5	8.6
13	2 /abril/ 2005 – 8 /abril/ 2005	8.9	8.0
14	9 /abril/ 2005 – 15 /marzo/ 2005	5.9	5.3
15	16 /abril/ 2005 – 22 /abril/ 2005	4.5	4.4

¹ Los muestreos comenzaron a partir de la cuarta semana de siembra (29 enero 2005).

² Promedio del número de hojas por planta de un total de 25 plantas muestreadas por semana.

Cuadro 4. Datos climatológicos de temperatura y precipitación tomados semanalmente durante el experimento de enero a abril del 2005.

Semanas después de siembra	Fechas	Temperatura (°C) ¹		Precipitación (cm) ²
		Min.	Max.	
4	29 /enero/ 2005 – 4 /febrero/ 2005	15.4	29.7	0.07
5	5 /febrero/ 2005 – 11 /febrero/ 2005	14.3	30.6	0.05
6	12 /febrero/ 2005 – 18 /febrero/ 2005	16.0	30.8	0
7	19 /febrero/ 2005 – 25 /febrero/ 2005	15.5	30.4	0
8	26 /febrero/ 2005 – 4 /marzo/ 2005	19.6	31.1	0
9	5 /marzo/ 2005 – 11 /marzo/ 2005	19.5	30.8	0
10	12 /marzo/ 2005 – 18 /marzo/ 2005	18.2	31.0	0
11	19 /marzo/ 2005 – 25 /marzo/ 2005	19.5	31.3	0
12	26 /marzo/ 2005 – 1 /abril/ 2005	20.4	31.7	0.43
13	2 /abril/ 2005 – 8 /abril/ 2005	20.1	31.1	1.67
14	9 /abril/ 2005 – 15 /marzo/ 2005	22.2	32.2	0.22
15	16 /abril/ 2005 – 22 /abril/ 2005	22.6	31.4	0.94

¹ Las temperaturas mínimas y máximas son el promedio por fecha.

² La precipitación es el total durante la fecha de muestreo.

4.1.2 Trípidos identificados

Durante todo el ciclo del cultivo, se observaron ninfas y muy pocos adultos hacia finales de este. Basado en aspectos morfológicos, los trípidos identificados pertenecen al género *Thrips tabaci* y *Dolichothrips indicus* Hood siendo *T. tabaci*, el más frecuentemente encontrado. Este se caracterizaba por ser de color blanco o amarillo pálido en las etapas inmaduras, de color amarillo pálido a marrón en los estadios de pupa y de color marrón amarilloso el adulto, sus antenas poseen 7 segmentos, ojos negros y ocelos grises, pronoto con dos pares de setas posteroangulares y 3 a 4 pares de setas en el margen posterior. *Dolichothrips indicus* (Thysanoptera: Tubulifera) fue reportado en Puerto Rico en 1994 en el cultivo de pimiento y berenjena (Cabrera, 1998). Este fue encontrado en muy baja frecuencia, solamente ocho veces durante todo el ciclo del cultivo, en las muestras analizadas. Este trípido se caracterizaba por ser de color rojo brillante en sus etapas larvales y marrón oscuro en su etapa adulta, presentando un tamaño de 2 mm de largo aproximadamente.

4. 2 Muestreos para la contabilización del número de trípodos por planta e identificación de especies

En términos generales, las poblaciones de trípodos fueron mayores en el experimento de enero a mayo del 2006 (401 trípodos) en comparación con el de octubre 2005 a marzo 2006 (367 trípodos) (Fig. 12). En el primer experimento no se observaron diferencias significativas ($p=0.05$) en la prueba de t entre el número de ninfas y adultos (Fig. 12). Por el contrario, para el segundo experimento si se observan diferencias significativas ($p=0.05$) entre el número de ninfas y adultos (Fig. 12). Las poblaciones de ninfas observadas en el segundo experimento superan en más de un 70% las poblaciones de adultos, por lo que los daños observados por planta fueron mucho mayores.

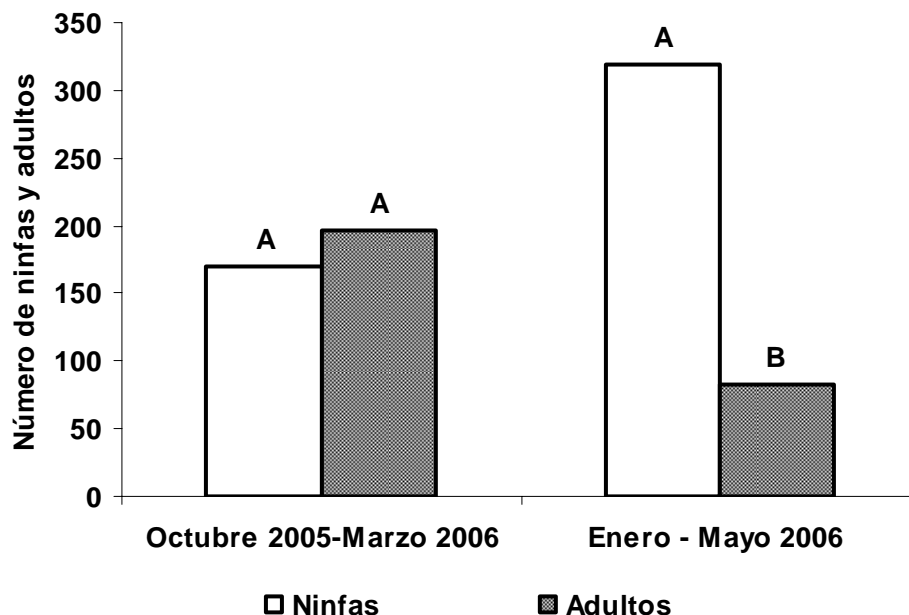


Figura 12. Número de ninfas y adultos en ambos experimentos evaluados. Dentro de un experimento la misma letra indica que no hubo diferencias significativas al nivel de probabilidad de 0.05 de acuerdo con la prueba de la Diferencia Mínima Significativa.

4. 2.1 Experimentos de campo

Durante el primer experimento establecido de octubre 2005 a marzo 2006, se obtuvo un total de 367 trípodos incluyendo ninfas y adultos en los muestreos realizados. Los tratamientos 4, 7 y 8 presentaron las poblaciones más altas durante el primer muestreo realizado entre los 60 a 65 días después de siembra, siendo el tratamiento 8 significativamente más alto comparado con el tratamiento 6 donde no se observaron trípodos durante dicho muestreo (Cuadro 5). Es importante señalar que los tratamientos 4, 7 y 8 presentaban poblaciones naturales de trípodos y el tratamiento 6 aplicaciones de insecticidas para el control de trípodos. Esto demuestra la efectividad de los insecticidas sobre las poblaciones de trípodos en esta etapa del cultivo. Durante este mismo muestreo los tratamientos 2, 3 y 9 que también recibieron aplicaciones de insecticidas presentaron poblaciones igual o menores a 1 trípido por planta. Es importante señalar que aunque estos tratamientos no presentan diferencias significativas con tratamientos que tenían las poblaciones naturales de trípodos, el número de trípodos se mantiene por debajo de los umbrales de daño económico establecidos para esta plaga (Chaput y Schooley, 1998).

Durante el segundo muestreo realizado entre los 75 a 80 días después de siembra, se observan menos trípodos por planta en todos los tratamientos. Sin embargo el tratamiento 7 alcanzó una población de 1 trípido por planta, presentando a su vez diferencias significativas con los tratamientos 3, 5 y 6, donde no se observaron trípodos (Cuadro 5).

Cuadro 5. Número de trípodos por tratamientos en el primer experimento establecido de octubre 2005 a marzo del 2006, con plantas de cebolla del cv. Mercedes.

Tratamientos	Número de trípodos ¹				
	I ²	II ³	III ⁴	IV ⁵	V ⁶
1-Fungicida + Bactericida	3.7 bcd	0.7 ab	5.3 ab	3.7 ab	3.0 bc
2-Insecticida + Fungicida + <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	0.7 cd	0.3 ab	0.3 b	0.0 c	0.0 c
3-Insecticida + <i>Alternaria allii</i> + Bactericida	1.0 cd	0.0 b	8.3 ab	4.0 ab	3.3 bc
4-Fungicida + <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	5.3 abc	0.3 ab	1.0 b	2.3 abc	3.7 bc
5- <i>Alternaria allii</i> + Bactericida	3.0 bcd	0.0 b	2.0 b	0.7 bc	2.3 bc
6-Insecticida + <i>Alternaria allii</i> + <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	0.0 d	0.0 b	0.3 b	0.7 bc	0.3 c
7- <i>Alternaria allii</i> + <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	6.3 ab	1.0 a	11.0 a	1.0 abc	4.7 ab
8-Control negativo	10.0 a	0.3 ab	6.0 ab	4.3 a	8.3 a
9-Insecticida + Fungicida + Bactericida	0.7 cd	0.3 ab	0.0 b	0.0 c	1.0 bc

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

¹ Las poblaciones de trípodos son el promedio del número de trípodos en treinta plantas por tratamiento.

² Muestreo realizado 60-65 días después de siembra.

³ Muestreo realizado 75-80 días después de siembra.

⁴ Muestreo realizado 90-95 días después de siembra.

⁵ Muestreo realizado 105-110 días después de siembra.

⁶ Muestreo realizado 120-125 días después de siembra.

En el tercer muestreo (90-95 días después de siembra) el número de trípodos por planta aumento en todos los tratamientos en comparación con el segundo muestreo. El tratamiento 7 presentó el mayor número de trípodos por planta en comparación con los tratamientos 2, 4, 5, 6 y 9 donde cuyas poblaciones no superan los dos trípodos por planta (Cuadro 5).

En el cuarto muestreo (105-110 días después de siembra) el tratamiento 8 presentó el mayor número de trípodos por planta con respecto a los tratamientos 2, 5, 6 y 9 que presentaron el menor número de trípodos. De estos tratamientos con el menor número de trípodos el tratamiento 5 ha presentado una reducción en el número de trípodos a partir del segundo muestreo hasta este muestreo.

Durante el quinto muestreo (120-125 días después de siembra) el tratamiento 8 presentó el mayor número de trípodos por planta en comparación con los tratamientos 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 9. El tratamiento 8 se destacó por presentar las poblaciones más altas en la mayoría de los muestreos.

En el período de muestreo durante el primer experimento la temperatura mínima más baja de 17.5°C se reportó durante el mes de febrero (Cuadro 6). Por el contrario la temperatura máxima más alta fue 32.3°C durante los meses de octubre y noviembre. Durante el mes de octubre también se reportó la mayor precipitación de 9.47cm.

Cuadro 6. Datos climatológicos de temperatura y precipitación tomados en la Subestación Experimental Agrícola de Juana Díaz durante el período de experimentos de octubre 2005 a mayo 2006.

Período ¹	Temperatura (°C) ²		Precipitación (cm) ³
	Min.	Max.	
16-22 octubre 2005	23.6	32.3	1.49
23 -29 octubre 2005	23.1	31.9	9.47
30 octubre - 5 noviembre 2005	23.3	32.2	0.58
6-12 Noviembre 2005	22.7	32.3	2.31
13-19 Noviembre 2005	21.7	31.9	0.53
20-26 Noviembre 2005	20.7	31.7	0.46
27 Noviembre -3 D1ciembre 2005	18.2	30.9	1.78
4-10 Diciembre 2005	20.3	31.3	0.23
11-17 Diciembre 2005	20.4	31.2	0.13
18-24 Diciembre 2005	19.9	30.5	0.05
25-31 Diciembre 2005	20.0	31.2	0.05
1-7 Enero 2006	18.2	30.4	0.46
8-14 Enero 2006	20.7	30.9	0.18
15-21 Enero 2006	20.2	30.3	2.46
22-28 Enero 2006	20.9	30.9	0.18
29 Enero 4 Febrero 2006	18.4	29.9	0.15
5-11 Febrero 2006	19.4	30.1	0.36
12-18 Febrero 2006	17.9	30.9	0.66
19-25 Febrero 2006	17.5	30.5	1.75

¹ Los datos fueron agrupados por semana a partir de la fecha del establecimiento del primer experimento.

² Los datos de temperature son el promedio de las temperatures maximas y minimas de cada semana en °C.

³ Los datos de precipitación son el total por semana de muestreo.

Cuadro 6. Continuación

Período ¹	Temperatura (°C) ²		Precipitación (cm) ³
	Min.	Max.	
26 Febrero - 4 Marzo 2006	19.3	30.5	0
5-11 Marzo 2006	17.9	30.9	5.13
12-18 Marzo 2006	19.3	30.9	3.18
19-25 Marzo 2006	18.2	29.4	4.01
26 Marzo-1 Abril 2006	22.2	30.3	4.34
2-8 Abril 2006	20.0	30.5	4.11
9-15 Abril 2006	20.9	30.8	0.41
16-22 Abril 2006	20.9	31.5	1.29
23-29 Abril 2006	22.9	31.7	1.60
30 Abril 6-Mayo 2006	21.5	31.8	2.00
7-13 Mayo 2006	23.1	31.9	1.57
14-20 Mayo 2006	23.3	32.1	0.23
21-27 Mayo 2006	22.6	32.1	3.81
28 Mayo 3-Junio 2006	21.6	32.0	1.85

¹ Los datos fueron agrupados por semana a partir de la fecha del establecimiento del primer experimento.

² Los datos de temperatura son el promedio de las temperaturas máximas y mínimas de cada semana en °C.

³ Los datos de precipitación son el total por semana de muestreo.

Las poblaciones de trípodos observadas durante el segundo experimento fueron mucho mayores a las observadas en el primer experimento. En el muestreo I el tratamiento 8, control negativo, presentó las poblaciones más altas de trípodos por planta, con una población de 9.7 trípodos, mientras que en el tratamiento 4 (Fungicida + *A. avenae* subsp. *citrulli*), no se observó la presencia de trípodos durante este muestreo (Cuadro 7). En el muestreo II, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos pero el tratamiento 5 presentó la mayor población de trípodos por planta (10.67), contrario al tratamiento 2 que presentó la menor población. Durante el muestreo III no se observan diferencias significativas entre tratamientos, pero se observó un incremento poblacional de los trípodos del muestreo II al III en los tratamientos 1, 2, 6, 8 y 9 (Cuadro 7). Los tratamiento 2 y 4 presentaron las poblaciones más bajas durante este muestreo, 2.3 y 3.0, respectivamente (Cuadro 7). Es importante señalar que aunque estadísticamente no se observan diferencias entre los tratamientos en los muestreos II y III, bajo circunstancias reales en el campo las diferencias en el número de trípodos si son significativas ya que superan los umbrales de daño económico establecidos para esta plaga.

Durante el segundo experimento la temperatura más baja se reportó durante el mes de febrero (17.5°C) y la más alta durante el mes de mayo (32.1°C). La mayor precipitación ocurrió durante el mes de marzo con 5.1cm (Cuadro 6).

Mediante la comparación de medias de tratamientos por contrastes para las poblaciones de trípodos, no se observaron contrastes significativos para ambos experimentos, no observándose diferencias entre tratamientos con y sin aplicaciones de insecticidas. Sin embargo los tratamientos que tenían las poblaciones naturales de

trípodos presentaron poblaciones que superan los umbrales de daño establecidos para estos insectos en el cultivo de cebolla en Estados Unidos (Chaput y Schooley, 1998).

Cuadro 7. Número de trípodos por tratamientos en el experimento de enero a mayo del 2006, en el cv. Mercedes.

Tratamientos ³	Número de trípodos ¹		
	I ²	II ³	III ⁴
1-Fungicida + Bactericida	3.0 b	3.0 a	10.7 a
2-Insecticida + Fungicida + <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	0.7 b	1.0 a	2.3 a
3-Insecticida + <i>Alternaria allii</i> + Bactericida	4.3 ab	9.0 a	7.3 a
4-Fungicida + <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	0 b	3.7 a	3.0 a
5- <i>Alternaria allii</i> + Bactericida	2.3 b	10.7 a	6.0 a
6-Insecticida + <i>Alternaria allii</i> + <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	1.3 b	2.3 a	8.3 a
7- <i>Alternaria allii</i> + <i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>citrulli</i>	3.3 b	10.0 a	10.0 a
8-Control negativo	9.7 a	6.3 a	9.7 a
9-Insecticida + Fungicida + Bactericida	2.3 b	3.3 a	4.0 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

¹ Las poblaciones de trípodos son el promedio del número de trípodos en treinta plantas por tratamiento.

² Muestreo realizado 75-80 días después de siembra.

³ Muestreo realizado 95-100 días después de siembra.

⁴ Muestreo realizado 115-120 días después de siembra.

4. 2. 2 Descripción de especies

Se identificaron tres especies del género *Frankliniella* basado en diferencias morfológicas y con la colaboración del Dr. Funderburck (Profesor de Entomología, University of Florida, North Florida Research and Education Center). Las especies encontradas fueron:

Frankliniella fusca (Hinds): Adultos color marrón aunque, se observaron especímenes más claros entre marrón y amarillo pero, nunca totalmente amarillos (Fig. 13A). Par de setas post ocular I ausentes. Protorax con setas anteroangulares más largas que las posteromarginales. Un par de sensilas campiniformes presentes en el metanoto. Peine en el tergito XIII ausente aunque, algunos especímenes presentaron pequeños dientes laterales. Todos los especímenes colectados en cebolla fueron hembras.

Frankliniella occidentalis (Pergande): Adultos color crema con partes amarillas (Fig. 13B). Par de setas postular I presentes. Protorax con setas anteroangulares y anteromarginales de igual largo. Metanoto con par de sensila campiniformes presentes. Peine en el tergito XIII ausente por que todos los especímenes colectados de esta especie fueron machos. Sternitos III-VII con área glandular transversa.

Frankliniella schultzei (Trybom): Adultos color marrón (Fig. 13C). Par de setas post ocular I presente. Protorax con setas anteromarginales levemente más cortas que las anteroangulares. Metanotum que carece de un par de sensilas campiniformes. Peine en el tergito VIII no desarrollado. Todos los especímenes encontrados en cebollas fueron hembras.

Dentro del género ***Arorathrips*** se identificaron *A. fulvus* (Fig. 14A) y *A. mexicanus* (Fig. 14B). *Arorathrips mexicanus* se caracteriza por presentar un sobrecrecimiento de la tibia sobre el tarso y poseer de 15 a 20 setas en el vertex de la cabeza. *Arorathrips fulvus* no posee el sobrecrecimiento de la tibia (Fig. A) y presenta de 3 a 4 pares de setas en el vertex de la cabeza. Además de estas especies se observaron especímenes del Sub Orden Tubulifera que solo fueron identificados hasta Orden, por no considerarse plaga en el cultivo de cebolla (Fig. 15-16).

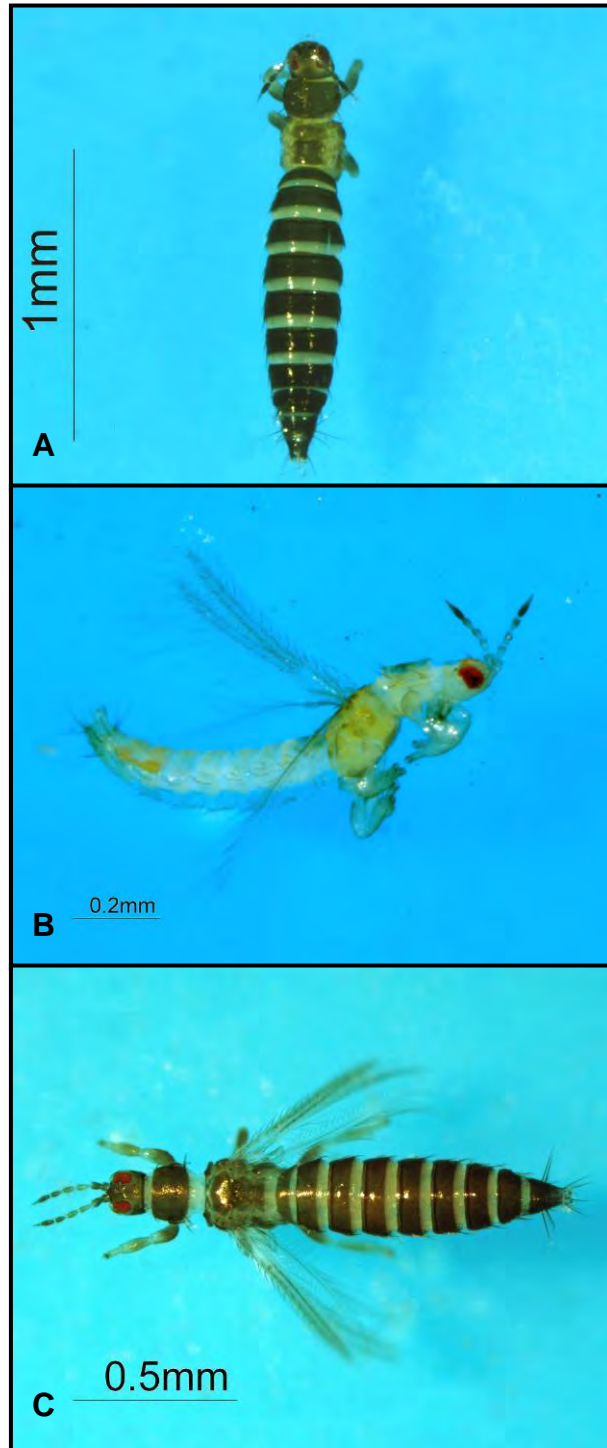


Figura 13. (A) *Frankliniella fusca* Hinds (♀), (B) *Frankliniella occidentalis* Pergande (♂) y (C) *Frankliniella schultzei* Trybom (♀).

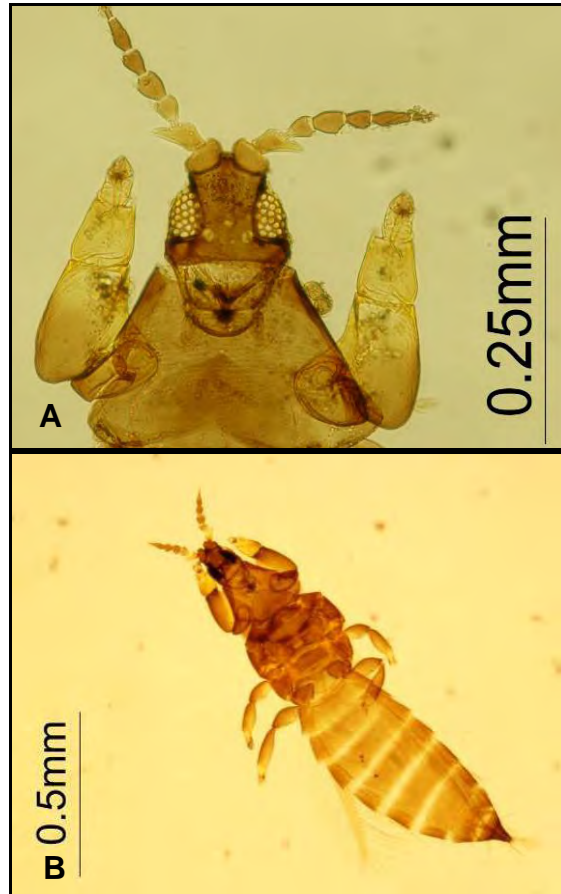


Figura 14. (A) *Arorathrips fulvus* y (B) *Arorathrips mexicanus*

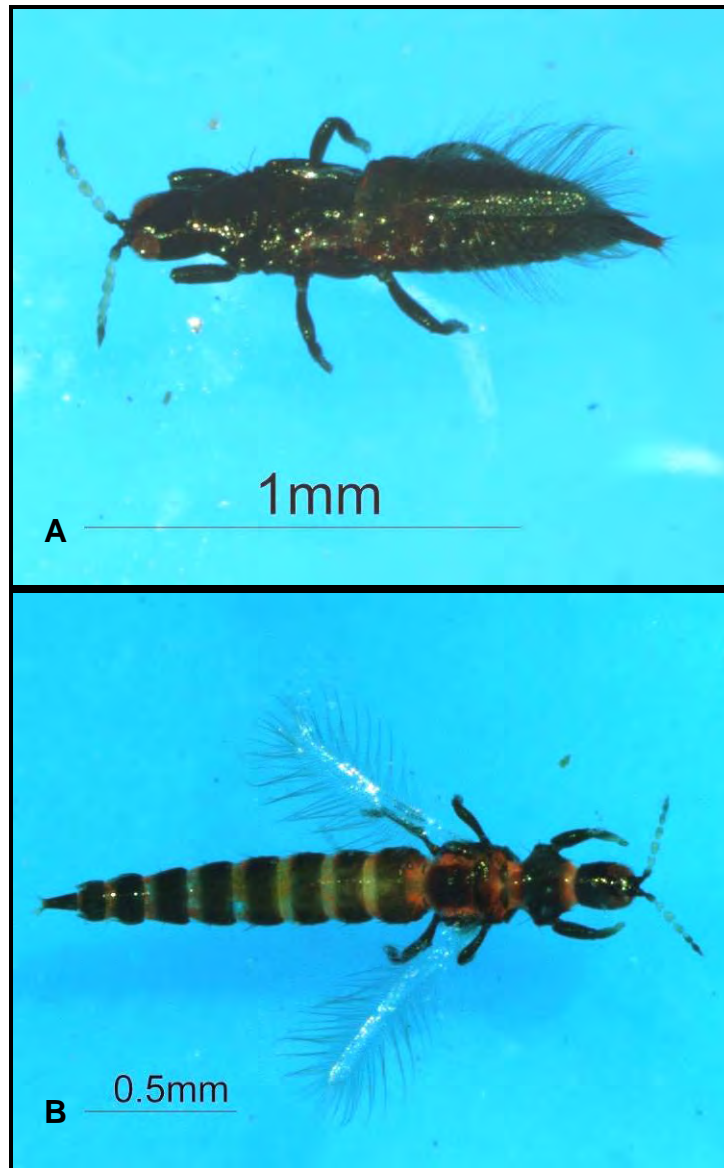


Figura 15. (A) Trípido del Sub-Orden Tubulifera encontrado asociado al cultivo y (B) trípido del Sub Orden Tubulifera más comúnmente encontrado asociado al cultivo de cebolla en dos experimentos establecidos durante octubre 2005 a mayo 2006 en Juana Díaz, Puerto Rico.



Figura 16. (A-B) Trípodos del Sub Orden Tubulifera encontrados asociados al cultivo de cebolla en dos experimentos establecidos durante octubre 2005 a mayo 2006 en Juana Díaz, Puerto Rico.

4. 2. 3 Proporción de especies de trípodos

Del total de trípodos obtenidos durante el experimento 1 (octubre 2005 a marzo 2006), 53.6% fueron adultos y 46.3% ninfas. Los adultos colectados fueron identificados y se determinó la presencia de varios géneros de trípodos asociados al cultivo de cebolla, entre los que se destaca el género *Frankliniella* con un 55% de la población identificada (Fig. 17). Dentro de este género *Frankliniella fusca* (40%) fue la especie más abundante, seguida por *Frankliniella occidentalis* (8%) y, en menor población *F. schultzei* (7%). *T. tabaci*, el único trípido reportado en el cultivo de cebolla, presentó las poblaciones más bajas (3%). *F. occidentalis* y *F. schultzei* representaron un 8 y 7% de la población total, respectivamente (Fig. 17). Estas dos especies no han sido reportadas como plagas del cultivo de cebolla, aunque en otras regiones del mundo son consideradas las principales plagas del cultivo junto a *F. fusca*. *Arorathrips* spp., es un género que no ha sido asociado al cultivo de cebolla, sin embargo, presentó poblaciones más altas (7%) que *T. tabaci*. Además de estas especies, se identificaron otros géneros dentro del Sub-Orden Tubulifera (35%) que fueron clasificados dentro del renglón otros ya que los mismos no son considerados plagas del cultivo. Los muestreos realizados durante el segundo experimento (enero a mayo del 2006) presentaron un incremento en el número de trípodos por planta en todos los tratamientos. Se colectó un total de 401 trípodos, donde 20.4% de la población fue adultos y un 79.5% ninfas. *Frankliniella fusca* fue la especie más abundante con un 28%, seguida por *F. schultzei* con un 15%, *F. occidentalis* con un 13%, *T. tabaci* con un 10% y *Arorathrips* spp. con un 4%. Se observó un incremento de 7% en la población de *T. tabaci*, 8% en *F. schultzei* y de 5% en *F. occidentalis* (Fig. 18). Por el contrario, *F.*

fusca presentó un disminución de un 12% y *Arorathrips* spp. de un 3% (Fig. 18). Los tripsidos bajo el renglón otros presentaron un 30% de la población total durante este experimento.

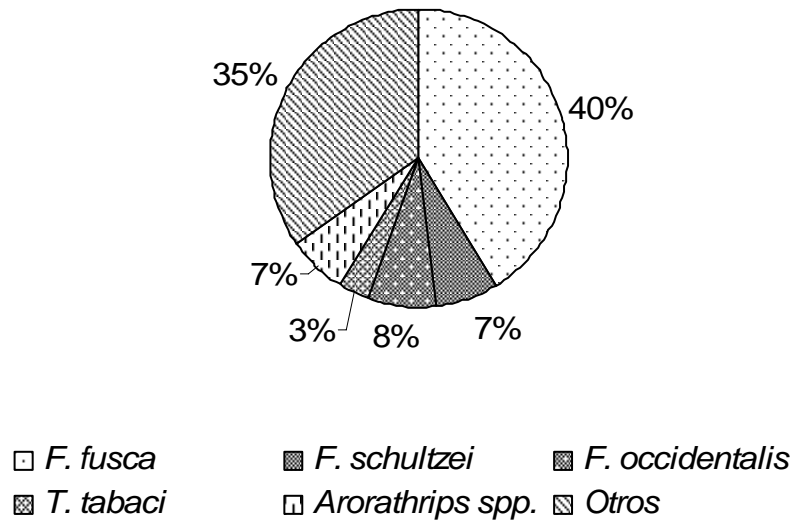


Figura 17. Proporción de especies identificadas en el experimento de octubre 2005 a marzo 2006.

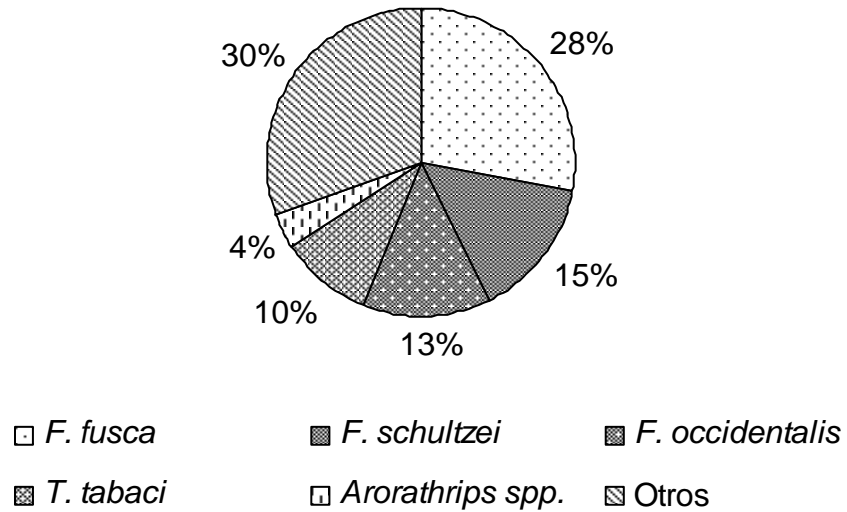


Figura 18. Proporción de especies identificadas en el experimento de enero a mayo del 2006.

4. 3 Evaluación de diferentes variables en los experimentos de campo

4. 3. 1 Largo total de hojas, número de hojas, largo total de lesiones, número de lesiones e índice de enfermedad por hoja

Mediante el análisis estadístico se observó una interacción entre experimentos por muestreo (Expto*Muestreo) para las variables largo total de hojas, número de hojas, largo total de lesiones, número de lesiones e índice de enfermedad por hoja (Cuadro 8). El largo total de hojas fue significativamente mayor durante el primer experimento en comparación al segundo experimento. Durante el primer experimento se observaron plantas con más hojas (Fig. 19). Las lesiones medidas durante el primer experimento fueron significativamente más cortas que las del segundo experimento. El número de lesiones fue significativamente mayor durante el muestreo realizado a los 45 DDI en el segundo experimento comparado con los demás muestreos del primer y segundo experimento. Los índices de enfermedad por hoja fueron significativamente mayores en el segundo experimento en comparación con el primero.

Cuadro 8. Interacción significativa entre los experimentos por dos periodos de muestreo (14 y 45 DDI) para las variables número de hojas, largo total de lesiones, número de lesiones e índice de enfermedad por hoja.

Experimento	Muestreo	Variables ¹				
		Largo total de hojas (cm)	Número de hojas	Largo total de lesiones (cm)	Número de lesiones	Índice de enfermedad por hoja LTL/LTH * 100.
1	14	38.7 c	7.5 c	8.4 b	1.0 a	21.9 b
1	45	44.9 d	12.1 d	5.9 a	1.0 a	13.1 a
2	14	31.6 b	6.4 b	19.3 c	1.3 a	61.3 c
2	45	27.1 a	4.8 a	20.5 c	2.4 b	76.2 d
P		<0.0001	<0.0001	0.0186	0.0002	<0.0001

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas (p=0.05)

¹ Las medias de las variables son el promedio de 30 plantas para cada tratamiento.

² Índice de enfermedad causado por *A. allii* donde LTL=largo total de lesiones y LTH=largo total de hojas.



Figura 19. (A) Plantas de cebolla durante el primer experimento de octubre 2005 a marzo 2006, presentando mayor número de hojas y menor número de lesiones causadas por *A. allii* y (B) plantas de cebolla en el experimento de enero a mayo 2006, exhibiendo menor número de hojas y mayor número de lesiones causadas por *A. allii*.

En las comparaciones realizadas por contraste para estas variables no se observó efecto de tratamientos (Cuadro 9 y 10). Durante el segundo experimento en el muestreo realizado a los 14 DDI, las parcelas con las poblaciones naturales de trípodos (tratamiento 1) mostraron hojas más cortas que las parcelas con poblaciones naturales de trípodos e inoculaciones de *Acidovorax* (tratamiento 4). Ambos tratamiento presentan un efecto de las poblaciones naturales de trípodos debido a la ausencia de síntomas causados por *Acidovorax* en ambos experimentos. Cabe señalar que durante este muestreo el tratamiento 1 presentó poblaciones más altas que el tratamiento 4 (Cuadro7).

Cuadro 9. Comparaciones por contrastes de las variables largo total de hojas, largo total de lesiones e índice de enfermedad por hoja durante ambos muestreos para cada experimento.

Comparaciones ³	Largo total de hojas (cm)				Largo total de lesiones (cm) ¹				Índice de enfermedad por hoja ²			
	Exp. 1		Exp. 2		Exp. 1		Exp. 2		Exp. 1		Exp. 2	
	14	45	14	45	14	45	14	45	14	45	14	45
Control negativo (8) vs. Control químico (9)	37.9	45.2	33.3	28.3	13.6	4.4	22.9	22.8	36.5	9.7	68.3	82.2
	34.8	45.2	31.1	27.5	8.8	4.5	14.2	19.5	24.9	10.0	46.0	71.4
	NS ⁴	NS	NS	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS	NS
Trípidos solo (1) vs. Trípidos + <i>Acidovorax</i> (4)	38.2	46.4	29.6	26.3	8.1	3.6	18.0	19.9	21.0	7.9	61.1	75.3
	40.3	44.2	33.9	30.1	2.6	3.6	14.1	19.3	6.3	8.3	42.1	64.4
	NS	NS	** ⁵	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Trípidos solo (1) vs. Trípidos + <i>Alternaria</i> (5)	38.2	46.4	29.6	26.3	8.1	3.6	18.0	19.9	21.0	7.9	61.1	75.3
	40.6	44.8	32.2	26.7	8.6	7.0	23.4	21.2	21.4	15.4	72.7	80.8
	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Trípidos solo (1) vs. Trípidos + <i>Acidovorax</i> + <i>Alternaria</i> (7)	38.2	46.4	29.6	26.3	8.1	3.6	18.0	19.9	21.0	7.9	61.1	75.3
	38.5	45.2	31.9	25.9	8.9	11.1	19.9	19.9	23.3	24.5	62.2	77.0
	NS	NS	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	**	NS	NS
<i>Acidovorax</i> sin Trípidos (2) vs. <i>Acidovorax</i> + trípidos (4)	41.0	43.9	30.3	25.5	6.6	6.5	16.9	18.5	16.3	14.4	56.3	72.3
	40.3	44.2	33.9	30.1	2.6	3.6	14.1	19.3	6.3	8.3	42.1	64.4
	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<i>Alternaria</i> sin Trípidos (3) vs. <i>Alternaria</i> + trípidos (5)	39.0	45.8	29.2	23.7	8.1	9.0	19.4	20.0	21.0	19.5	65.7	83.6
	40.6	44.8	32.2	26.7	8.6	7.0	23.4	21.2	21.4	15.4	72.7	80.8
	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<i>Acidovorax</i> + <i>Alternaria</i> sin Trípidos (6) vs. <i>Acidovorax</i> + <i>Alternaria</i> + Trípidos (7)	38.0	44.2	32.8	29.5	9.9	3.5	25.2	22.9	26.0	7.9	77.1	78.9
	38.5	45.2	31.9	25.9	8.9	11.0	19.9	19.9	23.3	24.5	62.2	77.0
	NS	NS	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	**	NS	NS

¹ El largo de lesiones causadas por *Alternaria allii*.

² El índice de enfermedad por hoja (IH) fue determinado para *A. allii* con la fórmula $IH = LTL/LTH$ donde LTL=largo total de lesiones y LTH=largo total de hojas.

³ Se compara el primer tratamiento indicado en cada contraste versus el segundo tratamiento.

⁴ No significativo.

⁵ ** Significativo al nivel de probabilidad de 0.05 y 0.01, respectivamente, de acuerdo con la prueba de F del contraste indicado de un sólo grado de libertad.

Cuadro 10. Comparaciones por contrastes de las variables número de hojas y número de lesiones para ambos muestreos en ambos experimentos.

Comparaciones ²	Número de hojas				Número de lesiones ¹			
	Exp. 1		Exp. 2		Exp. 1		Exp. 2	
	14	45	14	45	14	45	14	45
Control negativo (8) vs. Control químico (9)	8.6	12.7	7.3	5.1	1.6	1.5	0.9	3.1
	7.4	11.5	6.1	5.0	0.6	0.8	0.7	1.7
	** ³	NS	**	NS	**	NS	NS	NS
Trípidos solo (1) vs. Trípidos + <i>Acidovorax</i> (4)	7.5	11.9	6.0	5.2	0.6	0.5	0.6	2.1
	7.2	13.7	6.6	5.6	0.4	0.7	1.2	2.6
	NS ⁴	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Trípidos solo (1) vs. Trípidos + <i>Alternaria</i> (5)	7.5	11.9	6.0	5.2	0.6	0.5	0.6	2.1
	7.3	11.8	6.4	4.9	1.5	0.9	2.1	2.4
	NS	NS	NS	NS	**	NS	**	NS
Trípidos solo (1) vs. Trípidos + <i>Acidovorax</i> + <i>Alternaria</i> (7)	7.5	11.9	6.0	5.2	0.6	0.5	0.6	2.1
	7.6	12.1	6.6	4.9	1.7	1.4	1.7	3.0
	NS	NS	NS	NS	**	NS	**	NS
<i>Acidovorax</i> sin trípidos (2) vs. <i>Acidovorax</i> + trípidos (4)	7.5	12.9	6.3	3.9	0.5	1.8	1.3	2.4
	7.2	13.7	6.6	5.6	0.4	0.7	1.2	2.6
	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS
<i>Alternaria</i> sin trípidos (3) vs. <i>Alternaria</i> + trípidos (5)	7.8	11.9	6.2	4.1	1.3	1.1	1.7	1.6
	7.3	11.8	6.4	4.9	1.5	0.9	2.1	2.4
	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<i>Acidovorax</i> + <i>Alternaria</i> sin trípidos (6) vs. <i>Acidovorax</i> + <i>Alternaria</i> + trípidos (7)	7.0	10.4	6.4	4.9	1.1	0.4	1.3	2.5
	7.6	12.1	6.6	4.9	1.7	1.4	1.7	3.0
	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

¹ Causadas por *Alternaria allii*.

² Se compara el primer tratamiento indicado en cada contraste versus el segundo tratamiento.

³ *, ** Significativo al nivel de probabilidad de 0.05 y 0.01, respectivamente, de acuerdo con la prueba de F del contraste indicado de un sólo grado de libertad.

⁴ No significativo.

Un efecto contrario fue observado durante el segundo experimento a los 45 DDI, las parcelas que recibieron inoculaciones de *Acidovorax* (tratamiento 2) mostraron hojas más cortas que parcelas que recibieron inoculaciones de *Acidovorax* y tenían la presencia de poblaciones naturales de trípodos (tratamiento 4) (Cuadro 9). Durante este muestreo ambos tratamientos presentaron poblaciones de trípodos similares (Cuadro 7). Es importante señalar que el efecto observado no es causado por *Acidovorax* sino por las poblaciones naturales de los trípodos y del hongo ya que esta bacteria no se estableció en los experimentos.

Con la variable largo total de lesiones en el primer experimento a los 45 DDI, las parcelas que presentaban las poblaciones naturales de trípodos (tratamiento 1) mostraron lesiones causadas por *Alternaria allii* más cortas que las mostradas en las parcelas que presentaban poblaciones naturales de trípodos más inoculaciones con ambos patógenos (tratamiento 7). En este mismo muestreo las parcelas que recibieron inoculaciones de ambos patógenos y el control de trípodos (tratamiento 6) presentaron lesiones más cortas que las que mostraron las parcelas que recibieron inoculaciones de ambos patógenos y poblaciones naturales de trípodos (tratamiento 7). En el segundo experimento a los 14 DDI las parcelas que no recibieron aplicaciones de productos químicos (tratamiento 8) mostraron lesiones de mayor extensión que las parcelas que recibieron aplicaciones de productos químicos (tratamiento 9) (Cuadro 9).

En el primer experimento las lesiones causados por *A. allii* progresaron a medida se desarrollaban las plantas. Tres días después de la inoculación se caracterizaban por pequeñas lesiones elipsoidales de color púrpura, de aproximadamente 0.5 cm (Fig. 20 A-B). Ocho días después, las lesiones cubrían toda la hoja (Fig. 20 C). Estas lesiones

ocasionaron la caída de la hoja inoculada dos semanas más tarde (Fig. 20 C). Se observaron lesiones que estuvieron presentes hasta finales del ciclo, caracterizadas por ser de color púrpura y presentar rugosidad del tejido en los tratamientos 7 y 8 (Fig. 20 D-E).



Figura 20. Progreso de la enfermedad causada por *A. allii* en el primer ciclo del cultivo de octubre 2005 a marzo 2006. (A)-(B) Síntomas causados por *A. allii* tres días después de la inoculación, (C) muerte de la hoja inoculada 14 días después de la inoculación y (D)-(E) síntomas observados a los 50 días después de la inoculación en los tratamientos 7 y 8, respectivamente.

Con relación a la variable índice de enfermedad por hoja, se observó en el primer experimento a los 45 DDI que las parcelas que presentaban la combinación de trípodos e inoculaciones con ambos patógenos (tratamientos 7) mostraron índices de enfermedad mayores a los observados en las parcelas con poblaciones de naturales de trípodos (tratamiento 1) y parcelas con inoculaciones de ambos patógenos sin trípodos (tratamiento 6). Esto fue observado en los contrastes 4 y 7 (Cuadro 9).

Para la variable número de hojas las parcelas que no recibieron aplicación de productos químicos (tratamiento 8) mostraron más hojas que aquellas que recibieron aplicaciones de químicos (tratamiento 9) en el muestreo a los 14 DDI en ambos experimentos. Durante el segundo experimento a los 45 DDI, las parcelas que recibieron inoculaciones de *Acidovorax* (tratamiento 2) presentaron menos hojas que parcelas que recibieron inoculaciones de *Acidovorax* y tenían la presencia de poblaciones naturales de trípodos (tratamiento 4) (Cuadro 10).

Las parcelas que no recibieron aplicaciones de químicos (tratamiento 8) mostraron más lesiones que parcelas que recibieron aplicaciones de químicos (tratamiento 9). Para ambos experimentos en el muestreo a los 14 DDI, las parcelas que presentaban las poblaciones naturales de trípodos (tratamiento 1) mostraron menos lesiones que parcelas que recibieron inoculaciones de *Alternaria allii* y poblaciones naturales de trípodos (tratamientos 5 y 7). Esto se observa en los contrastes 3 y 4 (Cuadro 10). Durante el segundo experimento se observaron lesiones más largas que cubrían la totalidad de las hojas (Fig. 21).



Figura 21. (A) Lesiones típicas causadas por *A. allii* en el tratamiento 8, tres DDI y (B) lesiones causadas por *A. allii* 8 DDI, durante el segundo experimento a los 14 DDI.

4. 3. 2 Severidad de la enfermedad causada por *A. allii* e índice de daño causado por los trípodos

La severidad de la enfermedad causada por *A. allii* y los daños causados por los trípodos, presentaron una interacción triple entre experimento, tratamiento y muestreos (Expto*Trat*Muestreo). En las comparaciones por contraste se observa el efecto de tratamiento para ambas variables cualitativas (Cuadro 11). Las parcelas que no recibieron aplicaciones de químicos (tratamiento 8) mostraron una severidad de la enfermedad causada por *Alternaria allii* e índices de daño causados por trípodos mayor a los mostrados en las parcelas que recibieron aplicaciones de químicos (tratamiento 9) (Cuadro 11). Esto se observó en ambos muestreos durante ambos experimentos. En el segundo experimento a los 14 DDI, las parcelas que recibieron inoculaciones de *Acidovorax* (tratamiento 2) mostraron mayor severidad que parcelas que recibieron inoculaciones de *Acidovorax* y tenían la presencia de poblaciones naturales de trípodos (tratamiento 4) (Cuadro 11). El contraste 3 resultó significativo para ambos muestreos en ambos experimentos. En el primer experimento y durante el muestreo a los 45 DDI del segundo experimento, se observó mayor severidad en las parcelas con poblaciones naturales de trípodos e inoculaciones de *Alternaria allii* (tratamiento 5) que las parcelas con la presencia de poblaciones naturales de trípodos (tratamiento 1). Por el contrario en el segundo experimento a los 14 DDI el tratamiento 1 presentó una mayor severidad (Cuadro 11).

Cuadro 11. Comparaciones por contraste de las variables severidad de *Alternaria allii* e índice de daño por trípodos para ambos muestreos en ambos experimentos.

Comparaciones	Severidad de <i>Alternaria allii</i>				Índice de daño por trípodos			
	Exp. 1		Exp. 2		Exp. 1		Exp. 2	
	14	45	14	45	14	45	14	45
Control negativo (8) vs. Químico (9)	3.7 2.0 **	3.7 2.2 **	4.1 3.1 **	4.5 2.8 **	2.8 1.0 **	3.8 2.3 **	2.7 2.2 **	4.5 2.6 **
Trípodos solo (1) vs. Trípodos + <i>Acidovorax</i> (4)	2.3 2.2 NS	2.3 2.1 NS	4.1 2.2 **	3.7 3.4 NS	2.7 2.2 **	2.7 2.3 **	3.4 2.3 **	3.2 3.1 NS
Trípodos solo (1) vs. Trípodos + <i>Alternaria</i> (5)	2.3 3.3 **	2.3 3.6 **	4.1 3.7 **	3.7 4.5 **	2.7 2.7 NS	2.7 3.7 **	3.4 3.4 NS	3.2 4.2 **
Trípodos solo (1) vs. Trípodos + <i>Acidovorax</i> + <i>Alternaria</i> (7)	2.3 3.6 **	2.3 3.8 **	4.1 4.3 NS	3.7 4.7 **	2.7 2.7 NS	2.7 3.7 **	3.4 3.7 NS	3.2 4.7 **
<i>Acidovorax</i> sin trípodos (2) vs. <i>Acidovorax</i> + trípodos (4)	2.1 2.2 NS	2.5 2.1 **	3.2 2.2 **	3.6 3.4 NS	2.1 2.2 NS	2.2 2.3 NS	2.1 2.3 NS	3.1 3.1 NS
<i>Alternaria</i> sin trípodos (3) vs. <i>Alternaria</i> + trípodos (5)	2.6 3.3 **	3.4 3.6 NS	4.2 3.7 **	4.7 4.5 NS	2.6 2.7 NS	2.8 3.7 **	3.5 3.4 NS	3.2 4.2 **
<i>Acidovorax</i> + <i>Alternaria</i> sin trípodos (6) vs. <i>Acidovorax</i> + <i>Alternaria</i> + trípodos (7)	2.3 3.6 **	2.7 3.8 **	3.6 4.3 **	3.5 4.7 **	2.4 2.7 **	2.4 3.7 **	3.3 3.7 NS	3.4 4.7 **

¹ Se compara el primer tratamiento indicado en cada contraste versus el segundo tratamiento.

² **, * Significativo al nivel de probabilidad de 0.05 y 0.01, respectivamente, de acuerdo con la prueba de F del contraste indicado de un sólo grado de libertad

³ No significativo.

Para el contraste 4, trípodos solo (1) vs. trípodos + *Acidovorax* + *Alternaria* (7), se observó una mayor severidad en el tratamiento 7 en ambos experimento excepto en el muestreo a los 14 DDI del segundo experimento, donde el contraste no fue significativo. En el contraste 5, *Acidovorax* sin trípodos (2) vs. *Acidovorax* + trípodos (4), las parcelas del tratamiento 2 presentaron mayor severidad que las del tratamiento 4, esto a los 45 DDI en el primer experimento y a los 14 DDI en el segundo experimento (Cuadro 11). A los 14 DDI en el primer experimento, las parcelas que recibieron inoculaciones de *Alternaria allii* (tratamiento 3) mostraron menor severidad que las parcelas que presentaron las poblaciones naturales de trípodos e inoculaciones con el hongo (tratamiento 5). Por el contrario en el muestreo a los 14 DDI en el segundo experimento se observa lo opuesto (Cuadro 11). En el contraste 7, se observa mayor severidad en las parcelas del tratamiento 7 que en las parcelas del tratamiento 6 durante ambos experimentos (Cuadro 11). Durante el segundo experimento los predios que se mantenían alrededor de los experimentos para mantener poblaciones de trípodos, fueron devastados por *Alternaria allii* en un periodo de 10 días y con una presencia de 10 trípodos por planta (Fig. 22).



Figura 22. Predios devastados en el segundo experimento. (A) Predio afectado por *A. allii* con una población de 10 trípodos por planta, en plantas de 100 días después de la siembra y (B) predio devastado a los 110 días de siembra.

Las parcelas con poblaciones naturales de trípodos (tratamiento 1) mostraron mayores índices que los observados en las parcelas con poblaciones naturales de trípodos e inoculaciones con *Acidovorax* (tratamiento 4) durante ambos muestreos en el primer experimento y a los 14 DDI en el segundo experimento. En los muestreos a los 45 DDI en ambos experimentos, las parcelas con poblaciones naturales de trípodos (tratamiento 1) presentaron índices de daño más bajos que los observados en las parcelas con poblaciones naturales de trípodos e inoculaciones con *Alternaria allii* (tratamiento 5). A los 14 DDI en ambos experimentos las parcelas con poblaciones naturales de trípodos (tratamiento 1) mostraron índices de daño más bajos que los que mostraron las parcelas con poblaciones naturales de trípodos e inoculaciones de ambos patógenos (tratamiento 7). Para estos mismos muestreos en el contraste 6, las parcelas inoculadas con *Alternaria* (tratamiento 3) mostraron índices de daño más bajos que los mostrados en las parcelas con poblaciones naturales de trípodos e inoculaciones de *Alternaria* (tratamiento 5). Las parcelas que recibieron inoculaciones de ambos patógenos (tratamiento 6) mostraron menores índices de daño que las parcelas inoculadas con ambos patógenos y poblaciones naturales de trípodos (tratamiento 7).

4. 3. 3 Área de la hoja afectada por *Alternaria allii*

En el muestreo realizado a los 14 DDI en el primer experimento, el 70% de las lesiones observadas se encontraban ubicados en la parte central de la hoja, el 20% en la base y un 5% en la parte apical de la hoja. Durante este muestreo no se observó desarrollo de lesiones causadas por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. En el muestreo realizado 45 DDI, el 73% de las lesiones se encontraban en la parte central de la hoja, 18% en la base y el 9% en el ápice de la hoja. Solo se observaron 2 lesiones causadas por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, 45 DDI, en el tratamiento cuatro. Estas tenían un largo aproximado de 4 cm y se encontraban ubicadas en la parte central de la hoja (Fig. 23A-B).

En el segundo experimento a los 14 DDI, el 60% de las lesiones se encontraban en la parte central de la hoja, el 25% desde la base hasta el centro y el 15% en el área apical de las hojas. A los 14 DDI, no se observó el desarrollo de lesiones causadas por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Durante el muestreo realizado a los 45 DDI, el 31% de las lesiones se encontraban en la parte central de la hoja, 55% desde la base hasta el ápice y el 14% en el ápice. No se observó el desarrollo de síntomas causados por *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* a los 45 DDI en el segundo experimento.

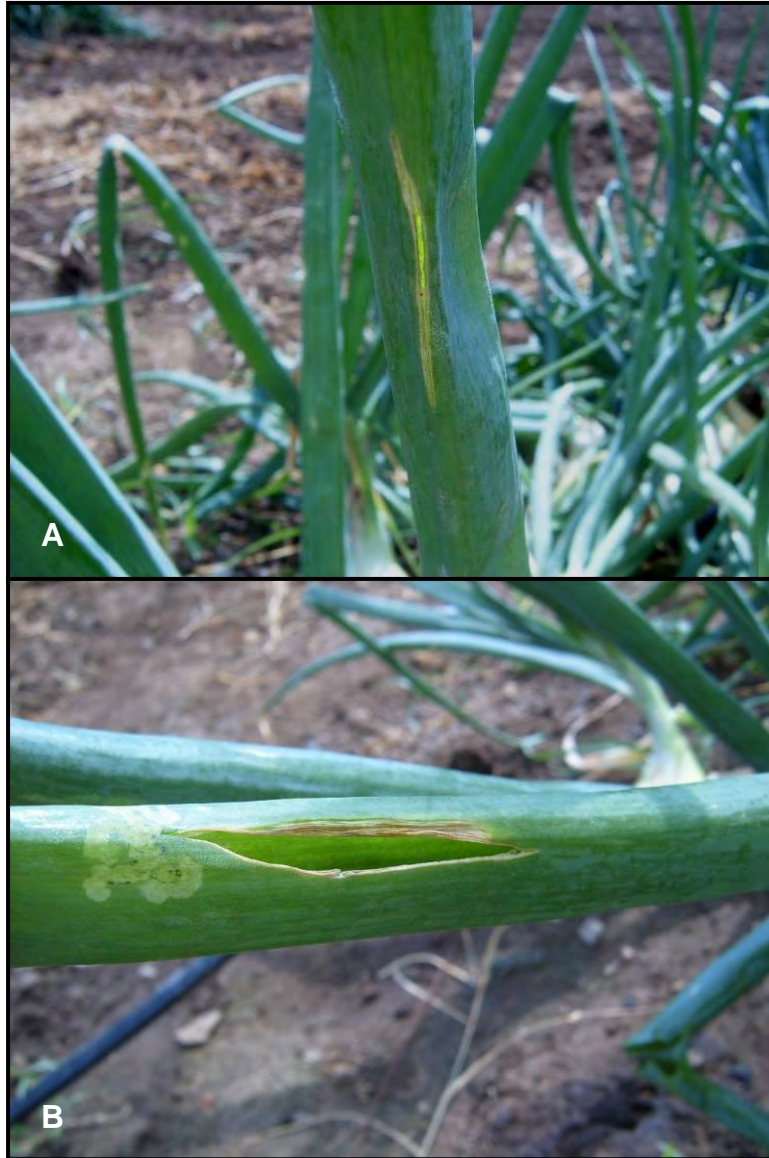


Figura 23. (A-B) Lesiones causadas por *A. avenae* subsp. *citrulli* 45 días después de la inoculación en plantas tratadas con trípodos + fungicida + *A. avenae* subsp. *citrulli*, durante el primer experimento.

4. 4 Aislamiento e identificación de hongos y bacterias asociados al cuerpo de los trípodos

4. 4.1 Aislamiento en medios de cultivo

De los trípodos colocados en platos con agar de papa y dextrosa (para aislamiento de hongos) y con agar de soya tríptico (para aislamiento de bacterias) no se logró aislar ninguno de los patógenos evaluados en los experimentos. Se obtuvieron colonias de hongos contaminantes, como *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp., en ambos muestreos en los dos experimentos.

De todos los trípodos colectados para el seguimiento poblacional en el cultivo de cebolla, solo en una ocasión se observaron conidias de *Alternaria* asociadas al cuerpo de *Franklineilla fusca*, la especie más abundante en ambos experimentos. Las conidias (c) se observaron en las alas (a) (Fig. 24 A-B), en el área del metanoto (mto) (Fig. 24C) y en el protórax (ptx) del insecto.

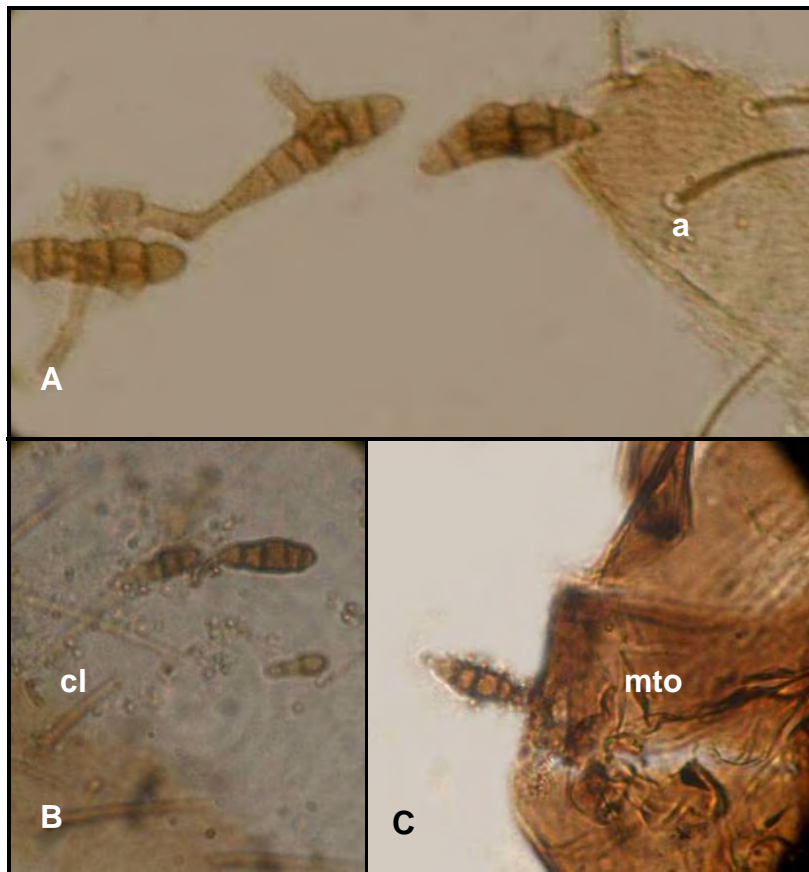


Figura 24. (A) Conidias de *A. allii* observadas en las alas (a) de *F. fusca*, (B) conidias en los cilios (cl) de las alas y (C) conidias en el área del metanoto (mto) (20x, Olympus BX40F4, Olympus Optical Co.).

4. 4. 2 Microscopía electrónica de rastreo

No se observaron conidias de *Alternaria allii*, ni bacterias asociadas al cuerpo de los trípodos observados utilizando el microscopio electrónico de rastreo (Fig. 25 A-D).

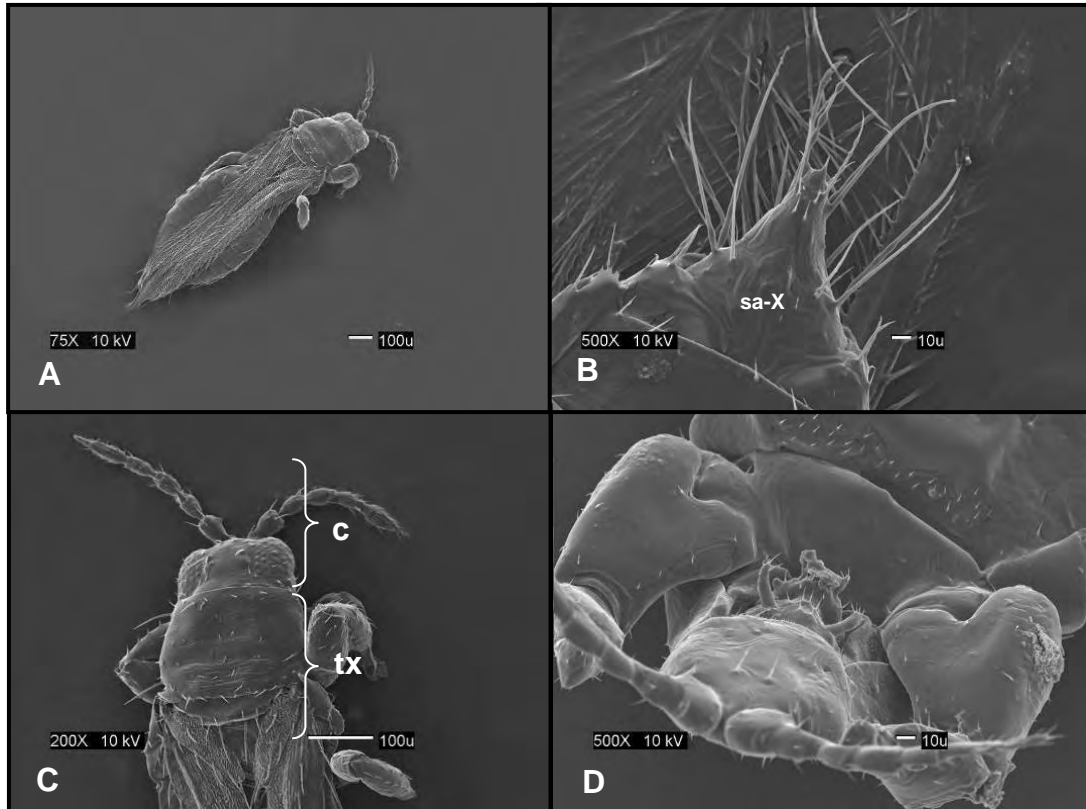


Figura 25. Microscopía electrónica de rastreo. Trípodos observados bajo microscopía electrónica. (A) *Frankliniella* spp., (B) segmento abdominal X (sa-X) (Terebrantia), (C) cabeza (c) y torax (tx) de *Frankliniella* spp. y, (D) *Arorathrips mexicanus*.

4. 5 Observaciones de campo

Durante las observaciones de campo se confirmó la presencia de varios patógenos y plagas asociadas al cultivo de cebolla en ambos experimentos. Entre los patógenos observados se identificó a *A. allii*, *Sclerotium rolfsii* y *Leveillula taurica*. Las plagas más frecuentemente observadas en los predios evaluados fueron *Spodoptera* sp. y *Liriomyza trifolii*.

4. 5. 1 *Alternaria allii*

Previo a la aplicación de los tratamientos en el primer experimento, se observaron lesiones necróticas elipsoidales que comenzaban como pequeños puntos negros de apariencia acuosa de 0.5 mm y a medida progresaba la enfermedad se tornaban en lesiones más largas, alcanzando hasta 2 cm de largo. El aislado obtenido a partir de estas lesiones fue identificado como *Alternaria allii* por sus características en los medios de cultivo PDA y PCA y por la ausencia de esporas en medios de cultivo como fue reportado por Fernández (2005) y Nolla (1927). El medio de PDA presentaba una pigmentación amarillo anaranjado y en PCA desarrollo de micelio verde claro. Estas lesiones fueron encontradas entre los 50 a 60 días después de siembra, según reportado por Fernández (2005), donde las lesiones comenzaron a observarse entre los 46-59 días después de la siembra.

4. 5. 2 *Sclerotium rolfsii*

En ambos experimentos se observaron plantas cloróticas que a medida pasaba el tiempo presentaban una marchitez general, pudriciones de bulbos y el desarrollo de esclerocios en hojas y bulbos (Fig 26A-B). Se confirmó la presencia de *Sclerotium rolfsii* como el agente causal de los síntomas previamente descritos en los muestreos colectados. Durante el primer experimento se murieron alrededor de 20 plantas, lo que representa un 1.5% del total de plantas a causa de este hongo fitopatógeno. Para el segundo experimento el número de plantas muertas fue de aproximadamente 42 plantas lo que representó un 1.6% del total de plantas sembradas. Este hongo ha sido reportado anteriormente afectando el cultivo de cebolla en Puerto Rico, causando una desintegración total del bulbo bajo condiciones *in vitro* (Vélez, 2004).

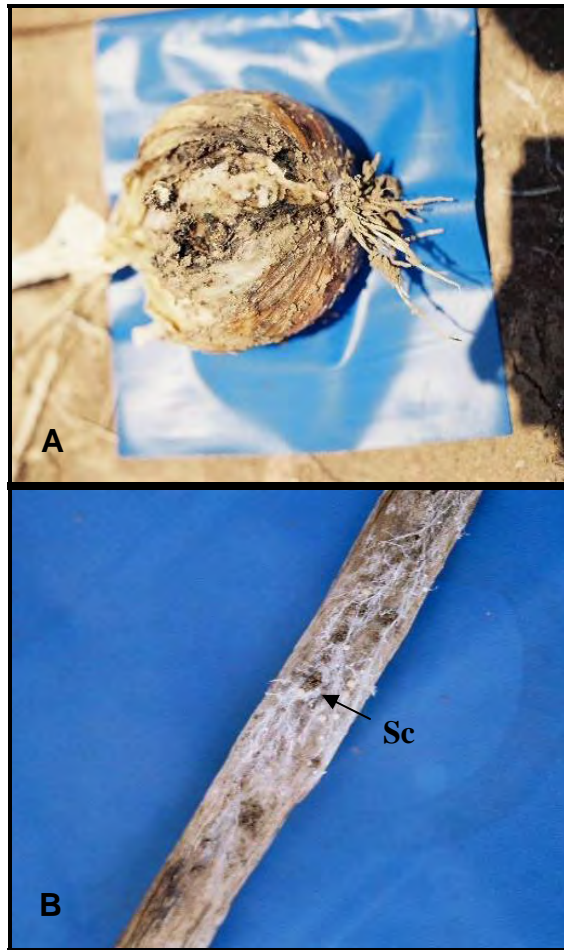


Figura 26. (A) Pudrición de bulbos causado por *Sclerotium rolfsii* y (B) micelio y esclerocios de *S. rolfsii* en hojas de cebolla.

4. 5. 3 *Leveillula taurica*

Se identificó a *Leveillula taurica* (Lév) Arnaud como el causante del añublo polvoriento en cebolla. Este hongo es la forma asexual de *Oidiopsis taurica* y es un parásito obligado que se caracteriza por crecer sobre tejido vivo en alrededor de 1000 especies de plantas pertenecientes a 74 familias, incluyendo solanáceas (Agrios, 2005; Goldberg, 2004; Schwartz y Mohan, 1995).

Los primeros síntomas causados por *L. taurica* se comenzaron a observar a los 75 días después de siembra (enero 2006). Los síntomas observados fueron pequeñas lesiones ovaladas blancas que eventualmente se cubrían de micelio blanco (Fig. 27 A-B). Estas se observaron tanto en tejido joven como en tejido maduro de la planta de cebolla. Las lesiones cubiertas de crecimiento micelial coalescen y cubrían grandes áreas del tejido (Fig. 27 A-B). En los cortes a mano libre y utilizando microscopía electrónica de rastreo se observó la presencia de dos conidias: conidias primarias lanceoladas y conidias secundarias cilíndricas (Fig. 27 C). Las conidias lanceoladas se caracterizan por ser puntiagudas en su extremo apical y obtusas hacia la unión con el conidióforo. Las conidias cilíndricas se caracterizaban por ser redondeadas en el ápice y de forma cilíndrica hasta la base del conidioforo, donde se observa una reducción en el ancho de la conidia. Ambas conidias eran hialinas y de una célula. Se determinó una proporción de 60:40 conidias lanceoladas por conidias cilíndricas, en los cortes de tejido. Contrario al tejido sano, se observó el desarrollo de micelio endofito con conidióforos emergiendo a través de las estomas (Fig. 28). Además se observaron las conidias lanceoladas (Fig. 28E) y cilíndricas (Fig. 28F). La severidad por planta se

mantuvo entre un 26 a 50% (3 dentro de la escala de severidad utilizada), hasta las etapas finales del cultivo. Las condiciones climáticas fueron adecuadas para el desarrollo del patógeno, las temperaturas se mantuvieron en un rango de 20 a 31°C, con poca o ninguna precipitación y humedad relativa alta (75-85%). Las observaciones morfológicas de las conidias y conidióforos se presentan en la Cuadro 12.

Temprano en la década de los noventas este se convirtió en un problema recurrente en pimiento, tomate, algodón, cebolla, alcachofa y un gran número de malezas en el estado de California (Ministry of Agriculture and Lands, 2004). En Puerto Rico ha sido reportado afectando el cultivo de pimiento y alrededor del mundo en más de 100 cultivos, entre los que se destaca el tomate como uno de los principales hospederos (Mohan y Molenaar, 2005; Ruiz y Rodríguez, 1991).

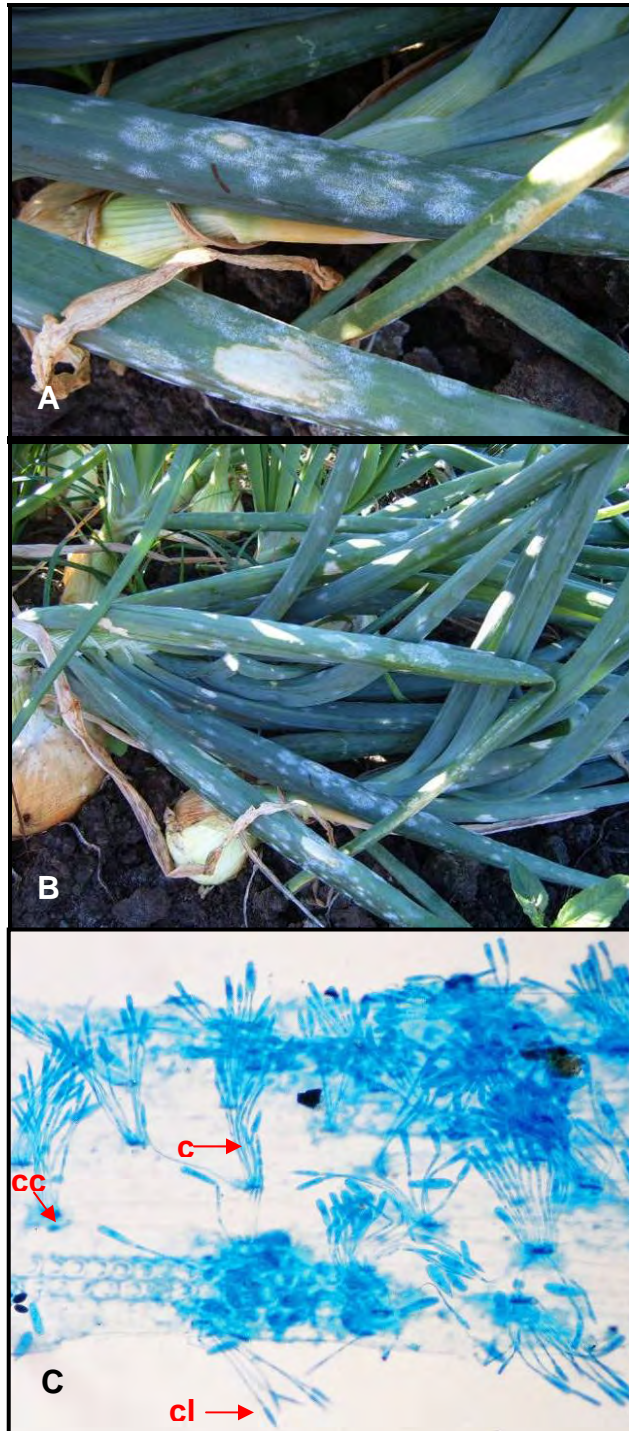


Figura 27. (A-B) Síntomas causados por *Leveillula taurica* en plantas de cebolla y (C) conidias cilíndricas (cc) y lanceoladas (cl) y conidióforos (c) de *Leveillula taurica* en las hojas de cebolla (20x, Olympus BX40F4, Olympus Optical Co.).

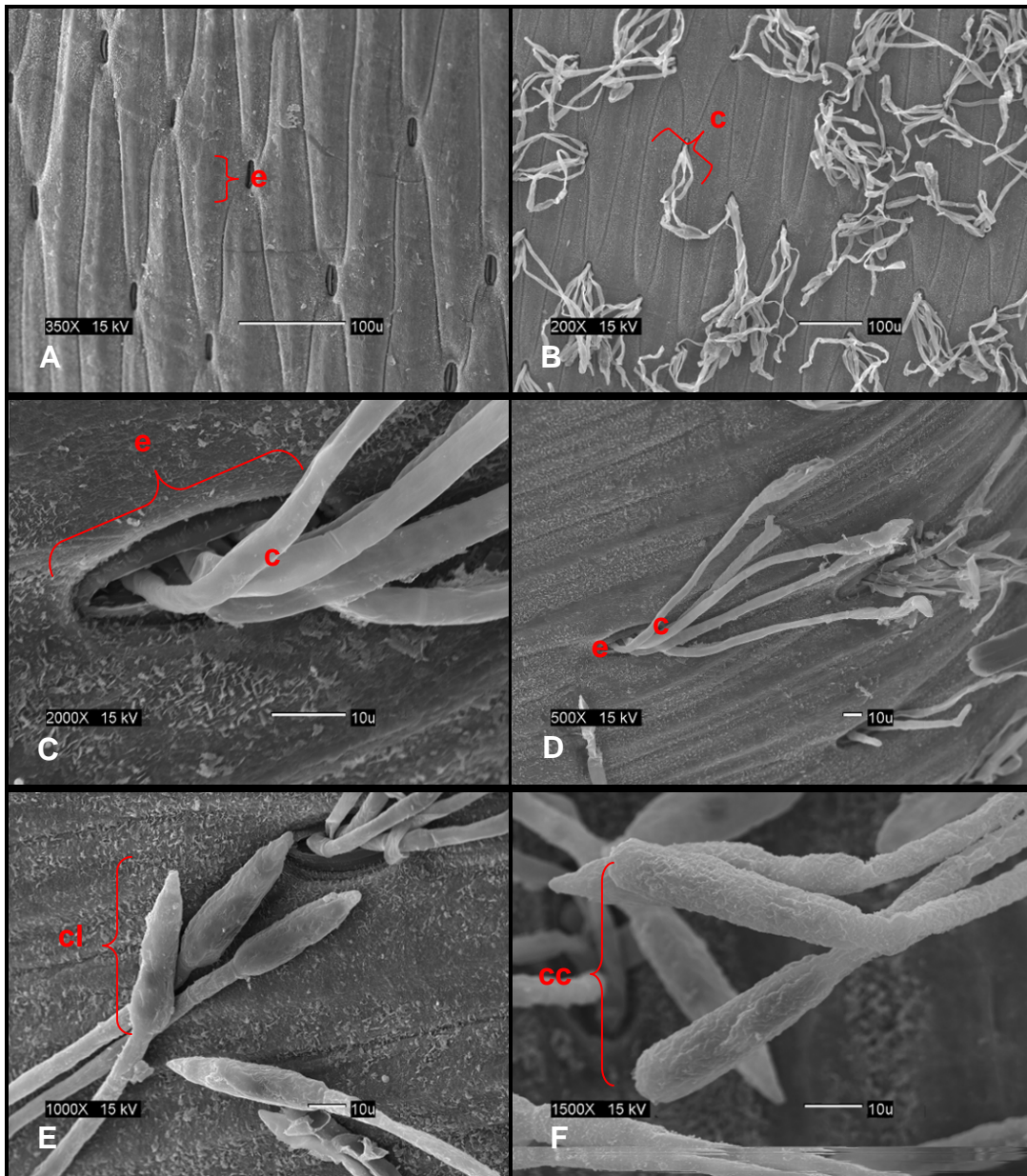


Figura 28. Microscopia electrónica de rastreo. (A) Tejido sano de hojas de cebolla, (B-D) tejido infestado por *L. taurica* con conidióforos (c) emergiendo a través de las estomas (e), (E) conidias primarias lanceoladas (cl) y, (F) conidias secundarias cilíndricas (cc).

Cuadro 12. Tamaño de las conidias y conidióforos de *Leveillula taurica*.

	Observaciones morfológicas ¹	
	Largo (µm)	Ancho (µm)
Conidias lanceoladas	40.1 - 60.2	10.0 - 11.0
Conidias cilíndricas	40.0 - 60.1	10.3 - 20.0
Conidióforos	90.0 – 200.0	10.0

¹ Medidas tomadas a una magnificación de 40X (Olympus BX40F4, Olympus Optical Co.).

4. 5. 4 *Spodoptera* spp.

El gusano de la hoja, como se le conoce comúnmente a *Spodoptera* sp. pertenece al orden Lepidóptera y la Familia Noctuidae. Fue observado en ambos experimentos, sin embargo, durante el primer experimento (octubre 2005 a marzo 2006) se observaron más daños en las hojas que durante el segundo experimento (enero a mayo del 2006). Las larvas del insecto se alojaban principalmente dentro de las hojas y en algunas ocasiones sobre estas. Los daños de esta plaga se limitaban a las hojas, las cuales consumen en su totalidad o el 50% de éstas (Fig. 29A). Estos daños reducen el área disponible para que ocurra el proceso de fotosíntesis en la planta, lo que provoca una reducción en el desarrollo normal de la planta. Las poblaciones más altas del insecto se observaron en las primeras siete semanas luego de la germinación de las plantas. Las larvas se caracterizaban por ser de color marrón con franjas horizontales de un extremo a otro de su cuerpo, de color anaranjadas y amarillas (Fig. 29B). En Puerto Rico y alrededor del mundo se ha reportado a *S. frugiperda* han sido reportada como plaga secundaria en el cultivo de cebolla, y otras hortalizas (Cabrera, 1999b; Murua y Virla, 2004).

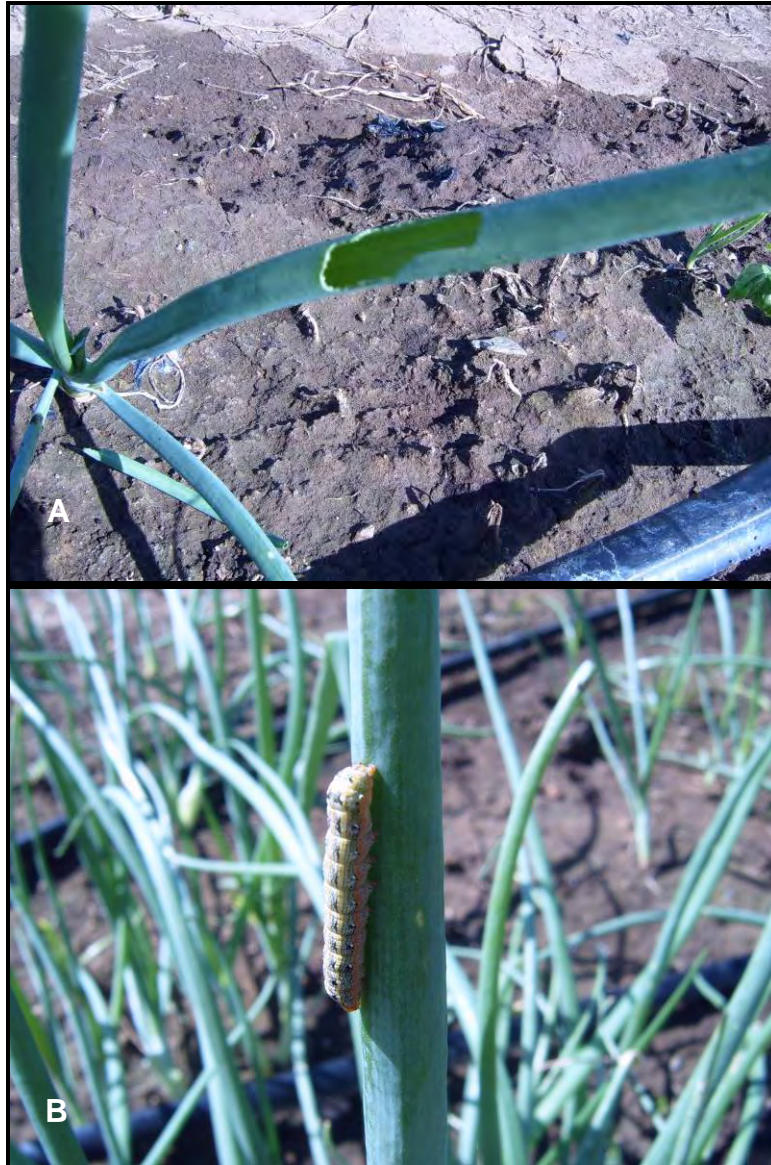


Figura 29. (A) Daños causados por *Spodoptera* spp. en el cultivo de cebolla. y (B) *Spodoptera* spp. en plantas de cebolla.

4. 5. 5 *Liriomyza trifolii*

El minador de las hojas se caracteriza por causar el daño conocido como minas o serpentinadas en las hojas de cebolla y otros cultivos (Fig. 30A). Pertenece al Orden Díptero y la Familia Agromizidae. Las minas en el cultivo de cebolla se caracterizan por ser de color blanco, finas y de gran extensión (en ocasiones de la base al ápice de la hoja). Las minas causadas por *L. trifolii* se comenzaron a observar a partir de la tercera semana del cultivo, y declinando a partir de la novena semana. Las larvas observadas eran de color amarillo pálido (Fig. 30B) y la mayoría de las veces se encontraban al inicio o al final de la mina (Fig. 30B). Este insecto ha sido reportado en Puerto Rico causando daños que fueron estimados en 100% en el cultivo de cebolla (Cabrera, 2001). Cabrera (2001) declara que los rendimientos se pueden ver afectados si las poblaciones de *L. trifolii* no son controladas a tiempo (Cabrera, 2001).

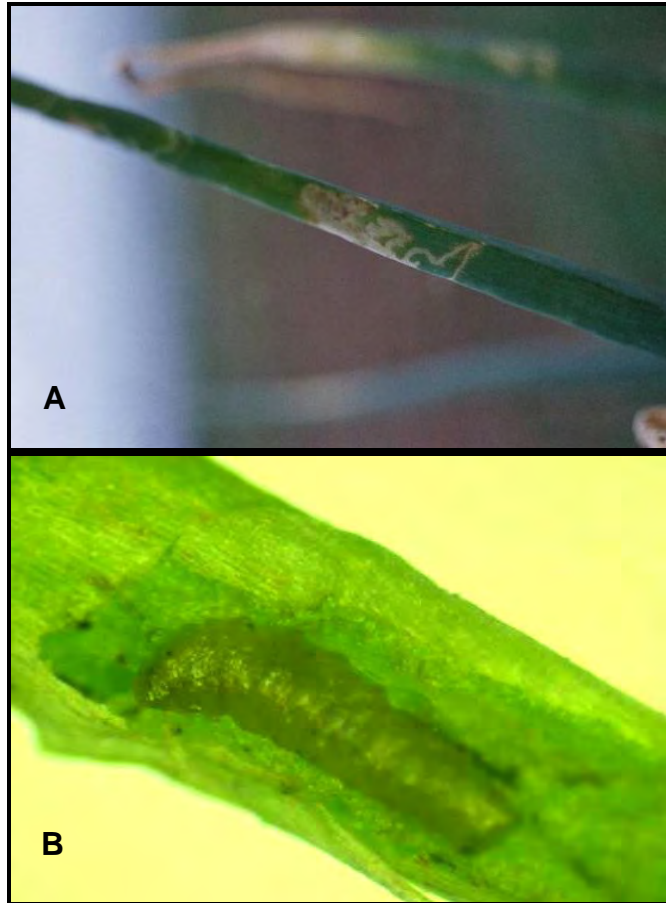


Figura 30. (A) Minas o serpentinias causadas por *L. trifolii* en hojas de cebolla y (B) larva de *L. trifolii* en una mina abierta.

4. 5. 6 Otras observaciones

Además, de los hongos e insectos encontrados durante las observaciones de campo, se observaron otros síntomas de los cuales no se logró identificar el agente causal mediante las técnicas utilizadas. En el experimento de octubre 2005 a marzo 2006, se observaron lesiones ovoides e irregulares de color blancas, con un arreglo en forma de anillos alrededor de la lesión central (Fig. 31). Esta presentaba una apariencia seca y podían extenderse hasta alcanzar de 5-10cm de largo, aunque, con la coalescencia de varias lesiones el largo podía alcanzar uno 20-30 cm.



Figura 31. Síntomas observados en plantas de 80-90 días

5 DISCUSIÓN

5. 1 Estudios observacional de la dinámica poblacional de *T. tabaci* L.

Las poblaciones de *Thrips tabaci* aumentaron durante el desarrollo vegetativo de la cebolla, alcanzando su pico poblacional a mayor área foliar disponible para su alimentación. Este comportamiento concurre con el hábito de alimentación y ciclo de vida de este insecto que de acuerdo con Lewis (1973), necesita de alimentos de alto valor proteico en las primeras etapas de desarrollo. En ambos cultivares las poblaciones de *T. tabaci* alcanzaron valores sumamente altos, de 85.8 y 75.36 trípodos por planta para los cvs. Excalibur y Mercedes, respectivamente. Estos datos comparados a los umbrales de daño económico establecidos en Estados Unidos, que es de 3 trípodos por hoja para cebolla, son alarmantes (Chaput y Schooley, 1998).

Los daños causados por *T. tabaci* se comenzaron a observar desde la base de donde emergen las hojas a partir de la séptima semana y hasta el ápice en las últimas semanas del cultivo. La mayoría de los trípodos observados se encontraban en etapas de ninfa, alojadas en la base de donde emergen las hojas, lugar utilizado como protección de los rayos del sol y aplicaciones de insecticidas (Salas et al., 1993). Una alta población de ninfas provoca daños más severos por ser esta la etapa que permanece en la planta alimentándose hasta pasar a los estados de pupa y adulto. Durante el periodo de estudio, enero a abril del 2005, las temperaturas mínimas y máximas (14-32°C) se mantuvieron dentro del rango que se ha reportado para el desarrollo de las poblaciones de trípodos. No ocurrió precipitación hasta la semana 11, reportándose poca lluvia a partir de la semana 12. Muchos investigadores presentan

estos factores como influyentes en las poblaciones de trípidos (Lewis, 1973; Bergant et al., 2005). En nuestra investigación estos factores pueden haber influenciado en nuestras poblaciones acortando el ciclo de vida del insecto y disminuyendo la tasa de mortalidad. Sites (1992), afirma que temperaturas medias del día superiores a 14.5°C son favorables para el desarrollo de la población de *T. tabaci*. Durante el experimento la temperatura se mantuvo igual o superior a ésta, además, temperaturas sobre los 30°C pueden acortar el ciclo a un período de 10–11 días. (Cornell International Institute for Food, Agriculture and Development Global Crop Pest, 2005). Fournier et al. (1995) concluyen que existe una correlación altamente positiva entre la temperatura del aire y la temperatura del suelo con la densidad poblacional de los trípidos.

Los daños observados en las plantas alcanzaron hasta un 100%, debido a la gran cantidad de ninfas en el segundo instar presentes durante el estudio. Este instar se caracteriza por ser el más voraz en sus hábitos alimenticios (Salas et al., 1993). Según Lewis (1973), el I y II instar comen todo lo necesario para desarrollarse en adulto, presentando los hábitos de alimentación más voraces. Solo un total de 20 adultos de *T. tabaci* fueron colectados en los muestreos. Durante el estudio no se observaron adultos machos; lo que demuestra que este insecto presenta una reproducción partenogenética, tipo teletokia (Salas et al., 1993).

5. 2 Muestreo para el seguimiento poblacional de trípidos

Las poblaciones de trípidos observadas en ambos experimentos, se mantuvieron por debajo de las reportadas en el estudio de la dinámica poblacional de *T. tabaci*. Las poblaciones alcanzaron un valor máximo por planta de 11 trípidos, mientras que *T.*

tabaci presentó poblaciones que alcanzaron los 85 trípodos por planta (Feliciano et al., 2006). Es importante señalar que las especies de trípodos observadas durante los experimentos de campo son especies nuevas en este cultivo en Puerto Rico. Se observó un patrón similar de especies para ambos experimentos. Las poblaciones de *F. fusca* fueron las más altas en ambos experimentos, aunque durante el primer experimento se observó una población mayor (40%) que para el segundo (28%). La mayor abundancia de esta plaga en regiones de los Estados Unidos ocurre entre los meses de abril a mayo (Groves et al., 2001; Reitz, 2002). Esta especie es la primera vez que se encuentra asociada al cultivo de cebolla en Puerto Rico aunque había sido reportada en la Isla sin mencionar el cultivo (Medina, 1961). Sin embargo, en otras regiones del mundo, como en Estados Unidos, esta es la plaga principal del cultivo y no *T. tabaci* (Shelton et al., 2006).

Es la primera vez que las especies *F. occidentalis* y *F. schultzei* son encontradas en Puerto Rico, asociadas al cultivo de cebolla. Las poblaciones de *F. occidentalis* fueron superiores durante el experimento de enero a mayo de 2006. En el estado de Florida la abundancia de esta especie se reporta durante los meses de abril a mayo y principios del verano (Reitz, 2002). *F. schultzei*, ha sido reportado en el cultivo de cebolla en regiones de África y sus principales daños son por la transmisión de virus del género *Tospovirus* (Palmer et al., 1989). La mayor población de esta especie fue observada durante el experimento de enero a mayo del 2006, presentando un comportamiento similar al de *F. occidentalis* en Estados Unidos, donde ambas especies abundan más entre los meses de abril a mayo. Es importante señalar que existe la posibilidad de que estas especies esten en proceso de adaptación en el cultivo de

cebolla y a las condiciones edáficas y climáticas de la Isla por lo que el número de de estas especies es muy bajo en comparación con las poblaciones que ocurren en otras regiones que pueden alcanzar hasta 100 trípodos por planta (Reitz, 2002).

El género *Arorathrips*, anteriormente conocido como *Chirothrips*, al igual que las especies del género *Frankliniella* no había sido reportado en el cultivo de cebolla. Las poblaciones de esta especie superaron las de *T. tabaci* durante el primer experimento por un 4%. Dos especies dentro de este género fueron identificadas: *A. mexicanus* y *A. fulvus*, separándose principalmente por el número de setas en el vertex y la composición de una protuberancia de la tibia sobre el tarso en *A. mexicanus*.

Las poblaciones de *T. tabaci* fueron muy bajas para ambos experimentos, siendo superadas por más del 50% por las poblaciones de *F. fusca* en ambos experimentos. Un posible factor de competencia entre especies puede haber ocurrido, ya que se ha observado una disminución bien marcada de las poblaciones de *T. tabaci* en presencia de otras especies como *T. palmi* en el cultivo de pimiento (Cabrera, com. per., 2005). Las poblaciones de *Frankliniella* probablemente comenzaron a establecerse en el cultivo a partir del 2005 o antes y a medida se van adaptando existe la posibilidad de que ocurra un incremento en las poblaciones por lo que, *T. tabaci* podría ser desplazado del cultivo ya que no ha demostrado poder competir con estas especies. En Nueva York las poblaciones de *T. tabaci* en el cultivo de cebolla presentan un comportamiento diferente en presencia de otras especies del género *Frankliniella* (Shelton, 2006).

Todas las especies bajo el género *Frankliniella* colectados en ambos experimentos fueron hembras exepcto las de la especie *F. occidentalis* que todos

fueron machos. Esta observación ha sido reportada para poblaciones de trípodos, especialmente en condiciones tropicales, donde presentan mayormente hembras vírgenes que producen solamente hembras, desconociéndose la morfología de los machos (FAO, 1990; Lewis, 1973).

El número de trípodos observados fluctuó de acuerdo al tratamiento. Para el primer experimento los tratamientos con aplicaciones de insecticidas, 2, 6 y 9, presentaron el menor número de trípodos por planta, disminuyendo en algunas ocasiones las poblaciones a cero. Esto sugiere un efecto de los insecticidas avermectinas y cypermethrin sobre las poblaciones de trípodos durante la primera época. Durante el segundo experimento el comportamiento de las poblaciones con respecto a los tratamientos no fue tan contundente como para el primer experimento, dado que en tratamientos con aplicaciones de insecticidas se observó un número mayor de trípodos. Varias investigaciones han concluido que el efecto de los insecticidas tienen una variación entre especies de trípodos, no resultando siempre en el control de las poblaciones ya que estas pueden desarrollar resistencia contra insecticidas que puede variar de acuerdo a la especie (Sloderbeck y Whitworth, 2006).

Otros factores además de los climáticos y las aplicaciones de insecticidas pueden influir en los patrones poblacionales de estas especies como lo son: la geografía (Reitz, 2002), disponibilidad de hospederos alternos como malezas (Groves, 2001) y las fluctuaciones poblacionales de los enemigos naturales (Ripa et al., 2002). Es por lo antes expuesto se deben desarrollar trabajos de investigación dirigidos a aclarar los efectos de estos factores sobre las poblaciones de trípodos en la Isla.

Conocer la abundancia de estas especies por época provee información para el desarrollo de protocolos de muestreos más correctos y precisos para cada especie y el establecimiento de programas de manejo integrado adecuados.

5. 3 Experimentos de campo

Durante el primer experimento las variables largo total de hojas, número de hojas y número de lesiones fluctuaron dentro del marco previsible de estas variables, especialmente el número de hojas que en una planta creciendo en condiciones óptimas puede llegar a producir de 12 a 18 hojas (Fornaris, 1999a). La mayoría de las plantas de cebolla estuvieron iguales o cerca de estos valores en el muestreo realizado a los 45 DDI. Ejemplo de esto fue el tratamiento 4 (Fungicida+*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*) que tenía plantas con un promedio de 13.7 hojas por planta para el muestreo realizado a los 45 DDI. Por el contrario, durante el segundo experimento el número de hojas por planta se redujo en todos los tratamientos tanto en el muestreo a los 14 DDI como a los 45 DDI. Contrario al primer experimento, el mayor número de hojas en todos los tratamientos fue observado en el muestreo realizado a los 14 DDI. El desarrollo de las plantas medido por el largo total de hojas demostró plantas más altas durante el primer experimento en ambos muestreos que en el segundo experimento en ambos muestreos. Con estas dos variables, largo total de hojas y número de hojas se demuestra que las plantas durante el primer experimento tuvieron mayor área foliar y se mantuvieron con un desarrollo normal durante todo el ciclo, desarrollo que no fue observado en las plantas durante el segundo experimento.

Las lesiones más largas durante el primer experimento alcanzaron un máximo de 13.6 cm en el tratamiento 8 (control negativo) a los 14 DDI. Para el segundo experimento en este mismo muestreo las lesiones más largas ocurrieron en el tratamiento 6 y alcanzaron un máximo de 25.2 cm. Para el muestreo a los 45 DDI esta variable presentó un comportamiento similar.

Los índices de enfermedad por hoja fueron más altos en el segundo experimento en comparación al primer experimento, esto en ambos muestreos. El por ciento de daño en la hoja se ha estimado en un 25.6% en hojas jóvenes y en un 72.4% en hojas viejas (Miller, 1983). Durante el segundo experimento en el muestreo a los 14 DDI los índices de enfermedad estaban sobre un 42% en todos los tratamientos y a los 45 DDI sobre un 64% como mínimo en el tratamiento 4 y un máximo de 83.6% en el tratamiento 3. Estos datos son sumamente altos considerando que durante este experimento las plantas eran más pequeñas y con menos hojas.

El número de lesiones más alto fue observado en los tratamientos con poblaciones naturales de trípodos e inoculaciones de *Alternaria allii*, alcanzando hasta de 2.1 lesiones por hoja en el tratamiento 5. Estos promedios superan lo que se ha demostrado bajo condiciones de campo, donde el número de lesiones causadas por *Alternaria porri* fluctúa entre 0.4-0.6 lesiones por planta y en condiciones climatológicas favorables puede incrementar de 0.28 a 1.48 lesiones por planta en una semana (Everts y Lacy, 1990).

La severidad de *Alternaria allii* y los índices de daño por trípodos son posiblemente los resultados más contundentes para demostrar los efectos de los daños

causados por trípidos en la severidad de la enfermedad causada por *A. allii*. Al observar el comportamiento de ambas variables se observa que a medida incrementan los índices de daño causados por trípidos también incrementa la severidad de *Alternaria allii*. Esto se observa principalmente en los tratamientos donde se encontraban las poblaciones naturales de trípidos y las inoculaciones de *Alternaria allii* y el control negativo. Los tratamientos que recibieron aplicaciones de insecticidas y que tenían las poblaciones naturales de trípidos presentaron los índices de daño por trípidos y la severidad de *Alternaria allii* más bajos en ambos experimentos. Es necesario destacar que los tratamientos 3 (Insecticida + *A. allii* + Bactericida) y 6 (Insecticida + *A. allii* + *A. avenae* subsp. *citrulli*) presentaron una severidad similar a los tratamientos que presentaban la combinación de los trípidos y el hongo. Esto confirma la habilidad de *A. allii* para penetrar directamente en el tejido (Agrios, 2005; Fernández, 2005).

El comportamiento de las variables observado durante el primer experimento podría ser efecto de las condiciones climatológicas y del manejo durante este experimento además, de que ocurrieron las poblaciones más bajas de ninfas. La precipitación durante este experimento fue menor, lo que permitió un control de malezas menos intenso, disminuyendo los hospederos alternos tanto del patógeno como de la plaga (Agrios, 2005). Por otro lado, la poca precipitación y las temperaturas frescas mantuvieron la humedad relativa baja lo que pudo reducir la esporulación de *A. allii*, que ha sido reportada en 90% (Everts y Lacy, 1990a). Este cultivo requiere de temperaturas entre 18 a 35°C, lográndose los mejores rendimientos cuando estas

condiciones no superan los 26°C (Ramos, 1999), estas condiciones fueron observadas durante este experimento.

Durante el segundo experimento, las temperaturas se mantenían más altas principalmente entre los meses de abril a mayo, donde se observaron mayores daños y mayor población de trípodos. La precipitación fue mayor durante este experimento, incrementando la humedad relativa en el ambiente y por consecuencia favoreciendo el desarrollo y dispersión de *A. allii*, ya que esta puede ser transportada de una planta a otra por el salpicado de las gotas al caer en las plantas. Las poblaciones de ninfas durante este experimento fueron significativamente mayores que las poblaciones de adultos, lo que causa un efecto directo sobre el desarrollo de lesiones causadas por *A. allii*. Esto, debido a que las etapas larvales permanecen en la planta causando mayores heridas al alimentarse, lo que provee puntos de entrada para el patógeno. Según MacKenzie et al. (1993), las plantas en presencia de *T. tabaci* y *A. porri* presentan daños más severos. De acuerdo con Bhangale y Joi (1983), los daños causados por los trípodos son casi siempre un requisito para el desarrollo de la mancha púrpura. El tratamiento 3, presentó en ocasiones daños similares a los tratamientos con presencia de *A. allii* y trípodos, lo que destaca nuevamente el potencial de este patógeno tanto en presencia de trípodos como en ausencia de estos. El aumento en las poblaciones de *L. trifolli* y *S. frugiperda* durante este experimento causó daños adicionales que pueden ser utilizados por *A. allii* como puntos de entrada. Fernández (2005), reporta lesiones de *Alternaria* creciendo sobre minas causadas por *L. trifolli*.

Este comportamiento durante el segundo experimento no solo pudo haber estado influenciado por factores climatológicos que favorecieron las poblaciones de

trípodos sino, por la presencia de inóculo natural de *A. allii* en el área experimental, ya que el predio experimental estaba cerca del primero y este hongo pudo haber estado en hospederos alternos hasta que fueron establecidos los predios de cebolla. Este género ha sido encontrado con una incidencia que alcanza un 33% en la misma zona experimental utilizada (Fernández, 2005).

En los tratamientos con *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* no se reconoció la presencia de síntomas con excepción del tratamiento 4, observándose síntomas que coinciden con los reportados por Calle (2005). Se ha comprobado que esta bacteria puede ser separada en dos grupos de acuerdo a su patogenicidad (Walcott et al., 2004) y tolerancias a distintos niveles de temperatura, humedad y pH (Silveira et al., 2004). Se ha encontrado que las temperaturas óptimas para el desarrollo de lesiones causadas por *A. avenae* subsp. *citrulli*, en el cultivo de melón son alrededor de los 35° C, temperaturas que no se reportaron durante ninguno de los experimentos. Es necesario señalar que esta bacteria fue reportada por primera vez en el cultivo de cebolla en el año 2005 (Calle, 2005), en predios cercanos a siembras de cucurbitáceas, lo que probablemente incrementó el inóculo y esta fue capaz de causar daños al cultivo (Calle com. per., 2005). Por esta razón se necesitan realizar nuevos estudio para confirmar la patogenicidad de esta bacteria sobre plantas de cebolla solas y con borduras de cucurbitáceas para identificar su efecto.

Algunos patógenos son transmitidos por artrópodos de forma accidental o incidental, sin presentar una relación biológica entre el insecto y el patógeno (Triplehorn y Johnson, 2005). Un comportamiento incidental aunque no de transmisión, puede ser adjudicado a los trípodos con respecto a *A. allii*, ya que estos no comparten una relación

biológica como lo hacen con los virus, pero sí ayudan a incrementar los daños causados por *A. allii* a través de sus hábitos alimenticios.

5.4 Aislamiento e identificación de hongos y bacterias asociados al cuerpo de los trípodos

Una limitación observada durante la preparación de especímenes, es que el manejo de las muestras durante el proceso de deshidratación puede eliminar las conidias del hongo y las bacterias del cuerpo de los trípodos durante el proceso de lavado. Además, el proceso de coleccionar los trípodos a nivel de campo (método directo) para ser observados bajo microscopía electrónica de rastreo podría ocasionar la remoción de ambos patógenos al ser coleccionados con los pinceles. Ambos factores pudieron ser limitantes durante este proceso.

5.5 Observaciones de campo

Se confirmó la presencia de tres patógenos de importancia económica en el cultivo de cebolla: *Alternaria allii*, *Sclerotium rolfsii* y *Leveillula taurica* (Lev.). Estos patógenos han sido reportados alrededor del mundo causando severos daños al cultivo (Fernández, 2005; Schwartz y Mohan, 1995; Vélez, 2001). *Alternaria* spp., es el hongo más comúnmente aislado de predios de cebolla en la costa sur de Puerto Rico, por lo que se podía esperar la presencia de un inóculo natural en los predios experimentales. Las lesiones observadas naturalmente coinciden con las reportadas anteriormente en predios de cebolla en la Isla, caracterizadas por una coloración púrpura y marrón (Fernández, 2005).

Sclerotium rolfsii, es causante del tizón sureño, se caracteriza por la pudrición de los tejidos por la acción de enzimas pectolíticas, celulasas y ácido oxálico (Schwartz y Mohan, 1995). Los síntomas observados a nivel de campo, pudrición total de bulbos, coinciden con estudios previos bajo condiciones *in vitro* con aislados obtenidos de la costa sur de Puerto Rico (Vélez, 2004). Otra especie, *Sclerotium cepivorum* Berk., ha sido reportado a nivel mundial como el agente causal de la pudrición blanca en cultivos de ajo (*Allium sativum* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.). Este patógeno es exclusivo del género *Allium*, produciendo esclerocios que pueden ser viables en el campo hasta 20 años en ausencia del hospedero (Coley et al., 1990). Sólo es necesario un esclerocio por kg de suelo para una incidencia de 50% de la enfermedad (Crowe y Hall, 1980).

Leveillula taurica, es un hongo de regiones tropicales y sub tropicales que fue reportado por primera vez en el cultivo de cebolla en 1985 en el estado de California (Schwartz y Mohan, 1995). En la Isla fue reportado en 1991 en *Capsicum annum* en la zona sur de Puerto Rico (Ruiz y Rodríguez, 1991). En el cultivo de cebolla es la primera vez que se reporta con una severidad de 26-50%. La presencia de este patógeno en el cultivo de cebolla pudo deberse a la cercanía de los predios experimentales a predios de pimiento, donde el patógeno es comúnmente encontrado.

Las plagas observadas fueron: *Spodoptera frugiperda* y *Liriomyza trifolii*, estos se caracterizan principalmente por reducir el área foliar debido a sus hábitos alimenticios. Las heridas ocasionadas por ambos insectos aumentan los puntos de entrada para *A. alli*, ayudando de forma indirecta en la severidad de esta hongo. Durante el primer experimento las temperaturas fluctuaron entre 17.5 a 31.9°C como mínima y máxima, respectivamente, reportándose las más bajas durante el mes de

febrero (casi a finales del ciclo). Para el segundo experimento las temperaturas fueron más altas y constantes sin fluctuaciones tan marcadas como las observadas durante el primer experimento. Esto pudo haber favorecido el desarrollo de ambos insectos.

6 CONCLUSIONES

1. La población de *T. tabaci* aumenta durante el desarrollo vegetativo de la cebolla, declinando en la fase de maduración del cultivo.
2. Las condiciones ambientales influyen sobre las poblaciones de ninfas, lo que ayudó a aumentar los daños de *Alternaria allii* y a deteriorar y debilitar la planta.
3. El inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* no se estableció en las plantas en ambos experimentos realizados.
4. Las plantas de cebolla sujetas al ataque de los tripsidos presentan mayores índices de enfermedad que las tratadas con insecticidas o el control positivo.
5. *Frankliniella fusca* fue la especie más abundante durante ambas experimentos, siendo sus etapas inmaduras las que provocaron más daños en las hojas.
6. Otras especies de tripsidos que se encuentran asociadas al cultivo fueron: *F. fusca*, *F. occidentalis*, *F. schultzei*, *Arorathrips fulvus* y *Arorathrips mexicanus*.
7. *Alternaria allii* puede devastar un predio en menos de una semana con una población de 10 tripsidos por planta.
8. El tratamiento 9 fue el que mejor resultado presentó para el control de la enfermedad causadas por *A. allii* y de las poblaciones de tripsidos.
9. Los patógenos e insectos encontrados en las observaciones de campo causan una reducción en área fotosintéticamente activa de la planta, además de causar heridas que el hongo *Alternaria allii* puede utilizar como puntos de entrada en la planta.

7 RECOMENDACIONES

Trípidos

1. Desarrollar técnicas de muestreo más adecuadas para coleccionar los trípidos como trampas de pega para la estimación de la población.
2. Identificación de los trípidos utilizando técnicas moleculares, para reducir errores relacionados a la identificación morfológica.
3. Determinar la efectividad de los insecticidas utilizados en la Isla y evaluar el efecto de otros insecticidas sobre las poblaciones trípidos.
4. Determinar la distribución de *F. occidentalis*, *F. fusca* y *F. shultzei* en la Isla.

Alternaria allii

1. Determinar la efectividad del fungicida utilizado en estos experimentos sobre *A. allii* en Puerto Rico e intervalos de aplicación efectivos.
2. Evaluar el efecto de otros fungicidas sobre las poblaciones de *A. allii*.

Cultivo

1. Sincronizar las siembras de acuerdo al comportamiento de los trípidos y el hongo, recomendándose los meses de octubre a marzo como los más adecuados.

8 LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. 5^{ta} ed. Elsevier Academic Press Publication. San Diego, California. 922 pp.
- Álvarez, A. M., I. W., Buddenhagen, E. S. Buddenhagen and y H. Y. Domen. 1978. Bacterial blight of onion, a new disease caused by *Xanthomonas* sp. *Phytopathology*. 68:1132-1136.
- Barnet H. L. y B. B. Hunter. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Mac Millan Publishing Co., New York, 218 pp.
- Benacchio, S. 1982. Algunas exigencias agroecológicas de 58 especies de cultivo con potencial de producción en el trópico americano (Compendio). FONAIAP. Maracay, Venezuela. 4pp.
- Bergant, K., S. Trdan, D. Znidarcic, Z. Crepinsek, L. Kajfez-Bogataj, 2005. Impact of climate changes on development dynamics of *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae): Can it be quantified? *Environ. Entomol.* 34(4): 755-766.
- Bhangale, G. T. y M. B. Joi. 1983. Role of thrips in development of purple blotch of onion. *J. Maharashtra Agric. Univ.*, 8 (3):299-300.
- Black, M. C., T. Isakeit, L. W. Barnes, T. A. Kucharek, R. J. Hoover, N. C. Hodge. 1994. First report of bacterial fruit blotch of watermelon in Texas. *Plant Dis.* (78):831.
- Brewster, J. L. 1977. The physiology of the onion. *Horticultural Abstracts* (47):17-23.
- Cabrera, A. I. 1998. *Dolichothrips indicus* (Hood) (Thysanoptera: Phaeothripidae): Un nuevo reporte para pimienta y berenjena en Puerto Rico. *J. Agric. Univ. P.R.* 82 (1-2): 111-112 p.
- Cabrera, A. I. 1999a. Variedades en: Conjunto Tecnológico para la Producción de Cebolla. Publicación 156, Río Piedras, P. R. 4-7 pp.
- Cabrera, A. I. 1999b. Insectos en: Conjunto Tecnológico para la Producción de Cebolla. Publicación 156, Río Piedras, P. R. 23-24 pp.
- Cabrera, A. I. 1999c. Enfermedades en: Conjunto Tecnológico para la Producción de Cebolla. Publicación 156, Río Piedras, P. R. 24-28 pp.
- Cabrera, A. I. 2001. *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromizidae) un nuevo récord y un nuevo reporte en cebolla, *Allium cepa* L. para Puerto Rico. *J. Agric. Univ. P.R.* 85 (1-2): 83-84 p.

- Calle B. J. 2005. Caracterización morfológica y molecular de hongos fitopatógenos de suelo e identificación de bacterias foliares en el cultivo de cebolla. M.S. Tesis. Departamento de Agronomía y suelos, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez. 127pp.
- Carrillo, C. J. 1985. El cultivo de cebolla. Estación Experimental Lara-Barquisimeto. FONAIAP DIVULGA. N. 18. 2 pp.
- Chandler, L. D. y C. E. Thomas. 1991. Effect of leaf miner feeding activity on the incidence of *Alternaria* leaf blight lesions on muskmelons leaves. *Plant Dis.* (75):938-940.
- Chaput, J. y K. Schooley. 1998. Thrips on onion and cabbage. Ministry of Agriculture and Food. [http://www.search.gov.on.ca:8002/compass?viewtemplate=simple1\(nov/2005\)](http://www.search.gov.on.ca:8002/compass?viewtemplate=simple1(nov/2005))
- Coley, S., J. R., C. M. Mitchel y E. C. Sansford. 1990. Longterm survival of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and *Stromatinia gladioli*. *Plant Pathology* (39): 58-69.
- Cornell International Institute for Food, Agriculture and Development. Global Crop Pest. Onion Thrips. 2005. <http://www.nysaes.cornell.edu/ent/hortvrops/english/thrips.html>
- Crowe, F. J. y D. H. Hall. 1980. Soil temperature and moisture effects on *Sclerotium germination* and infection of onion seedlings by *Sclerotium cepivorum*. *Phytopathology* (70): 74-78.
- Daughtrey, M. L., R. K. Jones, J. W. Moyer, M. E. Daub and J. R. Baker. 1997. Tospoviruses strike the greenhouse industry: INSV has become a major pathogen on flower crops. *Plant Dis.* 81: 1220–1230.
- Delahaut, K. A. 2001. Onion thrips. University of Wisconsin-Extension. *Garden Facts.* A3721-E. 2 p.
- Departamento de Agricultura de Puerto Rico. 2004-05. Estadísticas Agrícolas. Ingreso bruto y neto agrícola de Puerto Rico 2004-2005. Oficina de Estadísticas Agrícolas, San Juan, P.R.
- Dillard, H. R., A. C. Cobb y J. S. Lamboy. 1998. Transmission of *Alternaria brassicicola* to cabbage by flea beetles (*Phyllotreta cruciferae*). *Plant Dis.* (82):153-157.
- Edelson, J. V., B. Cartwright y T. A. Royer. 1986. Distribution and impact of *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) on onions. *Econ. Entomol.* (79): 502-505 p.

- Edelson, J. V. y J. J. Magaro. 1988. Development of onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman, as a function of temperature. *Southwest Entomol.* (13):171-176.
- Everts, K. L. y M. L. Lacy. 1990 (a). Influence of environmental on conidial concentration of *Alternaria porri* in air and on Purple Blotch incidence on onion. *Phytopathology* (80):1387-1391.
- Everts, K. L. y M. L. Lacy. 1990 (b). The influence of dew duration, relative humidity, and leaf senescence on conidial formation and infection of onion by *Alternaria porri*. *Phytopathology* (80):1203-1207.
- Everts, K. L. y M. L. Lacy. 1996. Factors influencing infection onion leaves by *Alternaria porri* and subsequent lesion expansion. *Plant Dis.* (80):276-280.
- FAO STAT Online, 2002 [www.http:apps.fao.org](http://apps.fao.org)
- FAO STAT Online, 2005 [www.http:apps.fao.org](http://apps.fao.org)
- Farm Extension Services P.E.I. Department of Agriculture, Fisheries and Aquaculture. 2005. Publication No. 1400A
http://www.gov.pe.ca/photos/original/af_onions.pdf
- Feliciano, M., I. Cabrera y L. I. Rivera. 2006. *Frankliniella* spp., new pest of onions in Puerto Rico. 52nd Annual Meeting of Interamerican Society for Tropical Horticulture. Isla Verde, Puerto Rico. CD-ROM (*Abstract*).
- Fernández, G. J. 2005. Incidencia y caracterización: morfología, patogénica y genética de *Alternaria* spp. en cultivos de cebolla del sur de Puerto Rico. M.S. Tesis. Departamento de Protección de Cultivos, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez. 185 pp.
- Fornaris, G. J. 1999 (a). Características de la planta en: Conjunto Tecnológico para la Producción de Cebolla. Publicación 156, Río Piedras, P. R. 2-4 pp.
- Fornaris, G. J. 1999 (b). Cosecha y curado en: Conjunto Tecnológico para la Producción de Cebolla. Publicación 156, Río Piedras, P. R. 29-31 pp.
- Fournier, F., G. Boivin y K. R. Stewart. 1995. Sequential sampling for *Thrips tabaci* on onions. *Thrips biology and management*. Plenus Press., New York. 557-552p.
- Fuentes, P. M. 2000. Control biológico natural de Tripidos, *Thrips tabaci* Lindeman 1888 (Thysanoptera: Thripidae) por sirfidos predadores en cultivo de cebolla (*Allium cepa* L.) y por el cultivo de borduras y/o entrelíneas. Instituto Aerotécnico. Comunicaciones científicas y tecnológicas. Universidad Nacional del Nordeste, Brazil. 4pp.

- Fusagri. 1975. Amarilidáceas, cebolla y ajo. Estación Experimental Cagua. Aragua, Venezuela. Serie A. N° 39. 95p.
- Gamiely, S., W. M. Randle, H. A. Mills y D. A. Smitle. 1991. A rapid and nondestructive method for estimating leaf area of onions. *HortScience* 26(2):206.
- Gent, D. H., J. M. Lang y H. F. Schwartz. 2005. Epiphytic survival of *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* and *X. axonopodis* pv. *phaseoli* on leguminous hosts in Colorado. *Plant Dis.* (89):507-514.
- Gent, D. H., H. R. Schwartz, y R. Khosla. 2004. Distribution and incidence of IYSV in Colorado and its relation to onion plant population and yield. *Plant Dis.* (88):446-425.
- German, T. L., D. E. Ullman y J. W. Moyer (1992) *Tospoviruses: diagnosis, molecular biology, phylogeny, and vector relationships.* *Ann. Rev. Phytopathol.* (30): 315–348.
- Gitaitis, R. D. y J. D. Gay. 1997. First report of a leaf blight, seed stalk rot and bulb decay of onion by *Pantoea ananas* in Georgia. *Plant Dis.* 81:1096.
- Gitaitis, R. D., R. R. Walcott, M. L. Wells, J. C. Díaz, y F. H. Sanders. 2003. Transmission of *Pantoea ananatis*, causal agent of center rots of onion by tobacco thrips, *Frankliniella fusca*. *Plant Dis.* 87:675-678.
- Goldbach, R. y D. Peters. 1994. Possible causes of the emergence of tospovirus diseases. *Sem. Virol.* (5): 113–120.
- Google Maps. 2006. Puerto Rico Satellite Maps. <http://maps.google.es/>
- Groves, R. L., J. F. Walgenbach, J. W. Moyer y G. G. Kennedy. 2001. Overwintering of *Frankliniella fusca* (Thysanoptera: Thripidae) on winter annual weeds infected with tomato spotted wilt virus and patterns of virus movement between susceptible leed hosts. *Phytopathology* 91:891-899.
- Haynes, C., E. Everhart y R. Jauron. 2002. Cebollas. Guía de Horticultura de Iowa StateUniversity.3pp.<http://usda.mannlib.cornell.edu/reports/nassr/fruit/pvgbban/vgan0105.pdf>
- Hopkins, D. L. y C. M. Thompson. 2002. Evaluation of *Citrullus* sp. germplasm for resistance to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*.
<http://usda.mannlib.cornell.edu/reports/nassr/fruit/pvg-bban/vgan0105.pdf>
- Isakeit, T., Miller, M. E., Barnes, L. W., Dickstein, E. R., y Jones, J. B. 2000. First report of leaf blight of onion caused by *Xanthomonas campestris* in the continental United States. *Plant Dis.* (84):201.

- Jacobs, J. L., J. P. Damicone B. D. y McCraw. 1992. First report of bacterial fruit blotch of watermelon in Oklahoma. *Plant Dis.* (76):1185.
- Kannan, H. O. y M. B. Mohamed. 2001. The impact of irrigation frequency on population density of *Thrips tabaci* Rom (Thripidae, Thysanoptera) and yield of onion in El Rahad, Sudan. *Ann. Appl. Biol.* (138):129-132.
- Kendall, D. M. y J. L. Capinera. 1987. Susceptibility of onion growth stages to onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) damage and mechanical defoliation. *Environ. Entomol.* (16): 859-863 p.
- King, A. G. 2005. Onions Battle Osteoporosis. *J. Chem. Educ.* (82): 1114.
- Kisha, J. S. A. 1977. Cultural and insecticidal control of *Thrips tabaci* on onions in Sudan. *Ann. Appl. Biol.* (86):219-228.
- Koschier, E. H., K. A. Sedy y J. Novak. 2002. Influence of plant volatiles on feeding damage caused by onion thrips, *Thrips tabaci*. *Crop. Prot.* 21:419-425.
- Kucharek, T. 2004. Plant disease management guide. Institute of Food and Agricultural Science, Florida Cooperative Extension Service, University of Florida. (3): 34-37.
- Lancaster, J. E., C. M. Trigos, J. M. De Ruiter y P. W. Gandar. 1996. Bulbing in onion: photoperiod and temperature requirements and prediction of bulb size and maturity. *Annals of Botany* 78:423-430.
- Latin, R. X. y K. K. Rane. 1990. Bacterial fruit blotch of watermelon in Indiana. *Plant Dis.* (74):331.
- Leite, G. L., M. C. Santos y S. L. Rocha. 2004. Intensity of attacks of thrips, purple blotch and gray mold on onion cultivars. *Hortic. Bras.* 22 (1):151-153.
- Lewis, T. 1973. Thrips: their biology, ecology and economic importance. London, Academic Press. 452 pp.
- Lewis, T. 1997. Thrips as crop pests. CAB International, Cambridge, UK.
- MacIntyre, A. J. K., C. D. Scott, J. H. Tolman y C. R. Harris. 2005. Evaluation of sampling methodology for determining the population dynamics of onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) in Ontario onion fields. *J. Econ. Entomol.* 98(6):2272-2281.
- Martínez, S. 1999. Introducción en: Conjunto Tecnológico para la Producción de Cebolla. Publicación 156, Río Piedras, P. R. 29-31 pp.

- McKenzie, C. L., B. Cartwright, M. E. Millar y J. V. Edelson. 1993. Injury to onions by *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) and its role in the development of purple blotch. *Environ. Entomol.* 22 (6):1266-1277.
- Medina, G. S. 1961. The thysanoptera of Puerto Rico. University of Puerto Rico, Agricultural Experimental Station, Río Piedras, Puerto Rico. 159 pp.
- Miller, M. E. 1983. Relationships between onion leaf age and susceptibility to *Alternaria porri*. *Plant Dis.* 67:284-286.
- Ministry of agriculture and lands. 2004. Management of Powdery Mildew, *Leveillula taurica*, in Greenhouse Peppers. Crop protection fact sheet. <http://www.agf.gov.bc.ca/cropprot/peppermildew.pdf>
- Mohan, S. K. y N. D. Molenaar. 2005. Powdery mildew caused by *Leveillula taurica* on glossy leaf genotypes of onion in Idaho. *Plant Dis.* 89:431.
- Moritz, G., L. Mound, D. Morris y A. Goldarazena. 2004. Pest Thrips of the World: Visual and Molecular Identification of Pest Thrips. CD. Centre for Biological Information Technology.
- Moulton, D. 1948. The genus *Frankliniella* Karny, with keys for the determination of species (Thysanoptera), *Rev. de Ent.* 19:55-114.
- Mound L.A. y Marullo R. 1996. The thrips of Central and South America: An Introduction (Insecta: Thysanoptera). Mem. Entomol. 487 p.
- Mound, L. A. 2002. So many thrips-so few tospovirus? In Thrips and Tospovirus. Proceeding of the 7th Internatinal Symposium on Thysanoptera. Australian National Insect Collection, Canberra, 15-18 pp.
- Murai, T. 2000. Effect of temperature on development and reproduction of onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae), on pollen and honey solution. *Appl. Entomol. Zool.* 35: 499-504.
- Murai, T. y S. Toda. 2002. Variation of *Thrips tabaci* in colour and size. Thrips and Tospovirus: Proceeding of the 7th Internatinal Symposium on Thysanoptera. 377-378 pp.
- Murua, M. G. y E. G. Virla. 2004. Presencia Invernal de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en el Área Maicera de la Provincia de Tucumán, Argentina. *Rev. Fac. Agron.* 105 (2): 46-52.
- National Onion Association. 2004. About Onions: Bulb Onion Production <http://www.onions-usa.org/about/production.asp>.

- Nolla, J. A. B. 1925. El cultivo de la cebolla en Puerto Rico. Departamento de Agricultura y Trabajo, Negociado de Fomento Agrícola. Circular de Fomento No. 9. 22 pp.
- Nolla, J. A. B. 1927. New *Alternaria* disease of onions (*Allium cepa* L.). *Phytopathology* (17):115-132.
- O'Garro, L. W., y L. P. Paulraj. 1997. Onion leaf blight caused by *Xanthomonas campestris*: Alternative hosts and resistant onion genotypes. *Plant Dis.* (81):978-982.
- OEPP/EPPO. 1998. Data sheets on quarantine organisms No. 177, *Frankliniella occidentalis*. Bulletin OEPP/EPPO (19): 725-731.
- OEPP/EPPO. 2002. Diagnostic protocols for regulated pests: *Frankliniella occidentales*. Bulletin OEPP/EPPO (32):281-292.
- OEPP/EPPO. 2003-2005. Distribution maps of quarantine pests for Europa: *Frankliniella occidentalis*. 3 pp.
- Palmer, J., L.A. Mound y G.J. Heaume. 1989. IIE Guides to insects of importance to man. Thysanoptera. CAB International, Wallingford, UK. C.R. Betts, editor. 73 pp.
- Patterson, D. T., J. K. Westbrook, R. J. V. Joyce, P. D. Lingren y J. Rogasik. 1999. Weeds, insects and diseases. *Clim. Change.* (43):711-727.
- Pire, R., H. Ramírez, J. Riera y N. Gómez. 1997. Remoción de NPK y Ca, por un cultivo de cebolla (*Allium cepa* L), en un suelo arcilloso de una región semiárida de Venezuela. UCLA, Barquisimeto, Venezuela.
- Pryor, B. M. y R. L. Gilbertson. 2000. Molecular phylogenetic relationships among *Alternaria* species and related fungi based upon analysis of nuclear ITS and mt SSU rDNA sequences. *Mycological Research* 104:1312-1321.
- Pryor, B. M. y Michailides, T. J. 2002. Morphological, pathogenic, and molecular characterization of *Alternaria* isolates associated with *Alternaria* late blight of pistachio. *Phytopathology* 92:406-416.
- Ramos, G. C. 1999. Determinación de funciones de producción y comportamiento del cultivo de la cebolla bajo diferentes láminas de riego y dosis de fertilización fosforada en San Juan de Lagunillas, Mérida, Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. (16): 38-51.

- Reitz, R. S. 2002. Seasonal and within plant distribution of *Frankliniella* thrips (Thysanoptera:Thripidae)in north Florida tomatoes. *Florida Entomologist* 85(3): 431-439.
- Ripa, R., F. Rodríguez, J. Funderburk y F. Espinosa. 2002. Predation of *Frankliniella occidentalis* by *Orius insidiosus* on plant host serving as source of population infesting fruit orchards. Thrips and Tospovirus: Proceeding of the 7th Internatinal Symposium on Thysanoptera. 129-131.
- Rivera, L. E. 1999. Suelo y preparación del terreno en: Conjunto Tecnológico para la Producción de Cebolla. Publicación 156, Río Piedras, P. R. 29-31 pp.
- Rotem, J. 1994. The Genus *Alternaria*: Biology, Epidemiology and Pathogenicity. APS Press. St. Paul, Minnesota, 326 pp.
- Ruiz G. H. y R del P. Rodríguez. 1991. Añublo polvoriento del pimiento en Puerto Rico causado por *Leveillulla taurica* (Lev.) Arn. *J. Agric. UPR*. 76(1): 29-32.
- Sakurai, T. 2004. Transmission of Tomato spotted wilt virus by the dark form of *Frankliniella schultzei* (Thysanoptera: Thripidae) originating in tomato fields in Paraguay. *Appl. Entomol. Zool.* 39(1):189-194.
- Salas, J., G. Morales, O. Mendoza, C. Alvaréz y A. Parra. 1993. Biología y hábitos de vida de *Thrips tabaci* Lideran Thysanoptera: Thripidae en cebolla *Allium cepa* L. *Agronomía Trop.* 43(3-4): 173-183.
- Sanders, F. H., D. B. Langston, J. H. Brock y R. D. Gitaitis. 2003. First Report of a Leaf Blight of Onion Caused by *Xanthomonas* spp. in Georgia. *Plant Dis.* (87):749
- Schaad, N. W., G. Sowell, R. W. Goth, R. R. Colwell, R. E. Webb. 1978. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* subsp. *nov.* *Int. J. Syst. Bacteriol.* (28):117–125.
- Schaad, N. W., J. B. Jones y W. Chun. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. APS Press St. Paul, Minnesota. 121-137 pp.
- Schwartz, H. F. 1999. *Botrytis*, Downy Mildew and Purple Blotch of onion. *Crop Series, Diseases.* Colorado State University Cooperative Extension. www.colostate.edu/Depts/CoopExt
- Schwartz, H. F. y D. H. Gent. 2005. *Xanthomonas* Leaf Blight of Onion. *Crop Series, Diseases.* Colorado State University Cooperative Extension. no. 2.951 <http://www.ext.colostate.edu/pubs/garden/02951.html>
- Schwartz, H. F. y S. K. Mohan. 1995. Compendium of onion and garlic diseases. APS Press, St Paul, MN. 54pp.

- Schwartz, H. F. y S. K. Mohan. 2005. Common names of plant diseases: diseases of onion (*Allium cepa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.). APSnet, Plant Pathology Online. <http://www.apsnet.org/online/common/comment/onion.asp>
- Schwartz, H. F., K. L. Otto y D. H. Gent. 2003. Relation of temperature and rainfall to development of *Xanthomonas* and *Pantoea* leaf blights of onion in Colorado. *Plant Dis.* (87):11-14.
- Shelton, A. M., J. Z. Zhao, B. A. Nault, J. Plate, F. R. Musser y E. Larentzaki. 2006. Patterns of insecticide resistance in onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) in onion fields in New York. *Environ. Entomol.* 99(5): 1798-1804.
- Simmons, E. G. 1995. *Alternaria* themes and variations (112-144). *Mycotaxon* (55):55-163.
- Simmons, E. G. 1999. *Alternaria* themes and variations(236-243) Host-Specific toxin producers. *Mycotaxon* (20):325-369.
- Sites, R. W. 1992. Diel periodicity of thrips (Thysanoptera:Thripidae) dispersion and the occurrence of *Frankliniella williamsi* on onions. *J. Econ. Entomol.* 85(1):100-105.
- Skiles, R. L. 1953. Purple and Brown blotch of onions. *Phytopathology* (43):409-412.
- Sloderbeck, P. E. y R. J. Whitworth. 2006. Cotton Insect Management 2006. Kansas State University - Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service. 8 pp. <http://www.oznet.ksu.edu/library/entml2/mf2674.pdf>
- Snodgrass, R. E. 1993. Principles of insect morphology. Cornell University Press, Ithaca and London. 667 pp.
- Somodi, G. C., J. B. Jones, D. L. Hopkins, R. E. Stall, T. A. Kucharek, N. C. Hodge y J. C. Watterson. 1991. Occurrence of a bacterial watermelon fruit blotch in Florida. *Plant Dis.* (75):1053-1056.
- Soto, G. A. y A. P. Retane. 2003. Clave ilustrada para los géneros de Thysanoptera y especies de *Frankliniella* presentes en cuatro zonas hortícolas en Alajuela, Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 27(2): 55-68.
- Suheri, H. y T. V. Price. 2000. Infection of onion leaves by *Alternaria porri* and *Stemphylium vesicarium* and disease development in controlled environments. *Plant Pathology* (49):375-382.
- Tindall, H. D. 1983. Vegetables in the tropics. Macmillan Press London. 533pp.
- Triplehorn, C. A. y N. Jonson. 2005. Borror and delong's introduction to the study of insects. 7th ed. Thomson Brooks/Cole, US. 864 pp.

- Ullman, D. E., T. L. German, J. L. Sherwood, D. M. Westcot y F. A. Cantone (1993) Tospovirus replication in insect vector cells: Immunocytochemical evidence that the nonstructural protein encoded by the ss RNA of tomato spotted wilt tospovirus is present in thrips vector cells. *Phytopathology* (83): 456–463.
- USDA - National Agriculture Statistics Service. 2002. Census of Agriculture-Puerto Rico Data.
- USDA - National Agriculture Statistics Service. 2004. Vegetables 2004 Summary <http://usda.mannlib.cornell.edu/reports/nassr/fruit/pvg-bban/vgan0105.pdf>.
- Vélez, L., L. I. Rivera, R. Rodríguez e I. Cabrera. 2004. Hongos asociados al cultivo de cebolla (*Allium cepa*) en la zona sur de Puerto Rico. *J. Agric. Univ. P.R.* 88(1-2): 55-72.
- Vélez, R. 2001. Catastro de hongos asociados al cultivo de cebolla (*Allium cepa*) en la zona sur de Puerto Rico. M.S. Tesis, Depto. Protección de Cultivos, Universidad de Puerto Rico, Mayagüez. 99 pp.
- Vierbergen, G. y W. P. Mantel. 1991. Contribution to the knowledge of *Frankliniella schultzei* (Thysanoptera: Thripidae). *Ent. Ber. Amst.* (51): 7–12.
- Wall, G. C. y V. M. Santos. 1988. A new bacterial disease on watermelons in the Mariana Islands. (Abstr.) *Phytopathology*. (78):1605.
- Webb, R. E., R. W. Goth. 1965. A seed borne bacterium isolated from watermelon. *Plant Dis. Rep.* (49):818.
- Wijkamp, I., J. van Lent, R. Kormelink, R. Goldbach y D. Peters (1993) Multiplication of tomato spotted wilt virus in its insect vector, *Frankliniella occidentalis*. *J. Gen. Virol.* (74): 341–349.
- Willems, A., M. Goor, S. Thielemans, M. Gillis, K. Kersters y J. De Ley. 1992. Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, and *Acidovorax konjaci*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* (42):107–119.