

## IMPACTO DEL ALMACENAMIENTO EN LA BROTAÇÃO DE BULBOS DE AJO Y ESPECIES PATOGENICAS DE *Penicillium* Y *Erwinia* ASOCIADAS

### STORAGE IMPACT ON BULB GERMINATION OF GARLIC AND PATHOGENIC SPECIES OF *Penicillium* AND *Erwinia* ASSOCIATED

Ana María Hernández-Anguiano<sup>1\*</sup>, Gabriela Juárez López<sup>1</sup>, Leopold Fucikovsky Zak<sup>1</sup>,  
Emma Zavaleta-Mejía<sup>1</sup> y Víctor A. González Hernández<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Fitopatología y <sup>2</sup>Programa de Fisiología Vegetal, Colegio de Postgraduados. Km 36.5 Carr. México-Texcoco. 56230, Montecillo, Texcoco, Estado de México.

\* Autor para correspondencia (ahernandez@colpos.mx)

#### RESUMEN

En México se cuenta con limitada información acerca de la fisiología postcosecha del ajo (*Allium sativum* L.) y de los microorganismos patógenos durante su almacenamiento. En este trabajo se evaluó la influencia de las condiciones de almacenamiento en una bodega techada abierta (TA) y en una bodega techada cerrada (TC), sobre la brotación y sanidad de bulbos de ajo (vars. Tacátzcuaro, Tocumbo, Chetumal y María Luisa), y se identificaron las especies patógenas de hongos y bacterias asociadas a ellos. Los bulbos presentaron originalmente diversos daños por: insectos (52 %), mecánico (26 %), por hongos (14 %) y fisiológico (8.8 %). El porcentaje de daño por hongos no se incrementó durante el almacenamiento (70 d). La tasa de brotación en bulbos almacenados en la bodega TA con 22.7 °C y 61.4 % de HR fue de 44 %, y en la bodega TC con 29.0 °C y 56.2 % de HR fue de 32 %. La brotación en ajos colocados a 1 m de altura fue de 41 % y a 4 m de 35 %. Los hongos *Penicillium* y *Fusarium* fueron los que con mayor frecuencia se aislaron de bulbos almacenados, en 90 % y 70 % de los bulbos, respectivamente. Las cepas de *Penicillium* que resultaron fitopatogénicas en mitades de dientes de ajo se identificaron como *P. hirsutum* Dierckx y *P. citrinum* Thom. Las características fisiológicas y bioquímicas de una cepa bacteriana fitopatogénica correspondieron a *Erwinia carotovora*. Las cepas de *Fusarium* no resultaron patógenas.

**Palabras clave:** *Allium sativum*, *Erwinia carotovora*, *Penicillium hirsutum*, *P. citrinum*.

#### SUMMARY

In México information about the postharvest physiology of garlic (*Allium sativum* L.) and the pathogenic microorganisms associated during its storage is scarce. This work evaluated the influence of the storage conditions in an open-roof (TA) storehouse and in a closed-roof (TC) storehouse on the germination rate and on the sanitary conditions of garlic bulbs (vars. Tacátzcuaro, Tocumbo, Chetumal and María Luisa) and identified the phytopathogenic species of fungi and bacteria associated to them. Harvested garlic bulbs originally presented several damages by: insect (52 %), mechanical (26 %), fungal (14 %) and physiological (8.8 %). The percentage of damaged bulbs by

fungi did not increase during storage (70 d). Germination rate of garlic bulbs stored in TA storehouse at 22.7 °C and 61.4 % RH was 44 %, and in the TC storehouse at 29.0 °C and 56.2 % RH was 32 %. Germination in garlic bulbs placed at 1 m and 4 m heights were 41 % and 35 %, respectively. *Penicillium* and *Fusarium* were the most frequently isolated fungi, with 90 % and 70 % of infected bulbs, respectively. The *Penicillium* strains that resulted pathogenic on clove halves were identified as *P. hirsutum* Dierckx and *P. citrinum* Thom. According to its physiological and biochemical characteristics, the only phytopathogenic bacterial strain corresponded to *Erwinia carotovora*. *Fusarium* strains were non-pathogenic.

**Index words:** *Allium sativum*, *Erwinia carotovora*, *Penicillium hirsutum*, *P. citrinum*.

#### INTRODUCCIÓN

Los bulbos del ajo (*Allium sativum* L.) constituyen órganos de reserva adaptados para un almacenamiento a largo plazo, por lo que su almacenamiento racional se debe basar en el conocimiento de la fisiología del bulbo y de la patología de las enfermedades (Brewster, 2001). Cantwell (2000) y Namesny (1996) consideran que las condiciones ambientales apropiadas para almacenar bulbos de ajo son: sombra, ventilación adecuada, temperaturas frescas y humedad relativa baja; la falta de tales condiciones reduce la vida poscosecha y favorece la infección por patógenos.

Según Böttcher y Pohle (1991), la pérdida en peso después de 2.5 meses de almacenamiento fue de 12 % y de 21.6 % cuando el periodo fue de 9 meses. Sin embargo, las plagas y enfermedades son las principales causas de pérdidas económicas en almacén y en todas las etapas de producción de ajo (Namesny, 1996). Tales pérdidas se deben principalmente a daños por los hongos *Aspergillus*, *Fusarium* y

*Penicillium*, y por bacterias del género *Erwinia* (*Pectobacterium*) causantes de pudriciones blandas (Rath y Mohanty, 1985, 1986; Smalley y Hansen, 1962; Snowdon, 1991). El hongo patógeno asociado con mayor frecuencia a bulbos almacenados es *Penicillium hirsutum* Dierckx (sinónimo *P. corymbiferum* Westling), cuya infección ocurre durante la cosecha y el almacenamiento, aunque los bulbos afectados muestran evidencia externa hasta que el deterioro es avanzado (Brewster, 2001).

En México existe poca información acerca de la fisiología poscosecha del ajo y de las especies de microorganismos patógenos que lo afectan durante el almacenamiento. Por lo anterior, este trabajo tuvo por objetivos determinar cómo influyen las condiciones de almacenamiento en una bodega techada abierta (TA) y en una bodega techada cerrada (TC) en la brotación y sanidad de bulbos de ajo, e identificar las especies patógenas de hongos y bacterias asociadas con ellos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Condiciones de almacenamiento

Se trabajó en dos bodegas, una ubicada en San Miguel de Allende y la otra en Salamanca, Guanajuato, denominadas techada-abierta (TA) y techada-cerrada (TC) por sus características de construcción, respectivamente. La bodega TA tenía sólo dos paredes de ladrillo, techo de lámina de dos aguas a una altura de 5 m y piso de concreto en una superficie de 880 m<sup>2</sup>; y la bodega TC presentaba cuatro paredes de multipanel, una puerta de acceso, cuatro ventilas, dos en la parte anterior y dos en la posterior, techo de lámina transparente a una altura de 6.8 m y piso de concreto en una superficie de 1650 m<sup>2</sup>. Ambas bodegas carecieron de condiciones ambientales controladas. Las condiciones de temperatura y humedad promedio durante el almacenamiento (medidas con un sensor HOB0® H8, Onset Computer Corporation, EE. UU.) fueron: en la bodega TA a 1 m de altura: 22.7 °C (22.3 a 23.1 °C) con 61.4 % (57.8 a 64.9 %) de HR; a 4 m, no se obtuvieron datos. En la bodega TC a 1 m de altura: 65.5 % (61 a 70 %) y a 4 m 47 % (39 a 57 %) de HR con 29 °C (27 a 31 °C), en ambas alturas.

### Variedades

Se incluyeron bulbos de ajo de tipo jaspeado de las variedades 'Tacátzcuaro', 'Tocumbo', 'Chetumal' y 'María Luisa', de 178 d de edad (159 a 198 d), cosechados en los ciclos agrícolas de 2001-02 y 2002-03, entre los meses de mayo y agosto de 2002 y 2003. De ambas bodegas (TA y TC) se colectaron muestras de bulbos de cajones de plásti-

co de 800 kg de capacidad, ubicados a 1 ó 4 m sobre el nivel del suelo, durante 70 d entre los meses de junio y septiembre de 2002 y 2003.

### Tasa de brotación

El tamaño de muestra consistió de tres bulbos, del ciclo agrícola 2001-02 para cada combinación de tipo de bodega, variedad de ajo, altura de almacenamiento y días de almacenamiento. Los dientes de los tres bulbos se separaron y mezclaron, y se tomaron al azar tres grupos de ocho dientes que constituyeron tres repeticiones por combinación. Cada diente se cortó longitudinalmente con una navaja para medir con un vernier, la longitud de la yema y la longitud del diente. La tasa de brotación (TB) se estimó con la siguiente fórmula (Cantwell *et al.*, 2003): TB (%) = 100 (longitud de yema/longitud de diente)

### Sanidad del ajo

Se tomaron al azar 16 bulbos por combinación de tipo de bodega, variedad, altura de almacenamiento y días de almacenamiento. En ellos se evaluó la sanidad externa mediante el número de bulbos con desarrollo externo de micelio o pudrición. Para la detección de hongos se seleccionaron dos bulbos por combinación, con tres repeticiones. Los dientes se separaron y mezclaron para formar una muestra compuesta para cada unidad experimental; de ésta, se tomaron ocho dientes al azar y se colocaron en cámara húmeda. Después de 7 d de incubación a 23 ± 2 °C se hicieron preparaciones para determinar tipo de micelio y conidio bajo el microscopio. Los géneros de hongos que más frecuentemente se desarrollaron en los dientes, se aislaron y purificaron en Papa-Dextrosa-Agar (PDA; 250 g de papa, 20 g de agar y 20 g de dextrosa por L) y se almacenaron en PDA con aceite mineral a 20 ± 2 °C, para pruebas posteriores.

La detección de bacterias se hizo en dientes aparentemente sanos a los cuales se les removieron las catáfilas, se desinfectaron con hipoclorito de sodio a 1.5 % por 3 min y se enjuagaron con agua destilada estéril. Los dientes de ajo de cada una de tres repeticiones (15 a 20 g de dientes de ajo por repetición) por combinación de tipo de bodega, variedad y altura de almacenamiento, se fragmentaron en trozos y se suspendieron en una solución agua-peptona a 0.1 % por 60 min. Luego, en cuatro cajas Petri con PDA se colocaron, en cada una, 100 µL de la suspensión. Las colonias de bacterias desarrolladas con mayor frecuencia se aislaron, purificaron y conservaron en agua destilada estéril. Al finalizar los muestreos, todos los aislamientos purificados se sembraron para su clasificación con base en las características morfológicas de las colonias.

### Pruebas de patogenicidad

Hongos. Los aislamientos identificados como *Penicillium* y *Fusarium*, de acuerdo con Burgess *et al.* (1994) y Pitt (1988), respectivamente, se seleccionaron para las pruebas ya que fueron los hongos más comunes en bulbos dañados y en bulbos aparentemente sanos. De 22 aislamientos de *Penicillium* y 34 de *Fusarium* se hicieron cultivos monoconidiales en PDA. Éstos se clasificaron de acuerdo con sus características morfológicas en grupos convencionalmente denominados, para *Penicillium*: P1 (10 aislamientos), P2 (6 aislamientos) y P3 (6 aislamientos); y para *Fusarium*: F1 (10 aislamientos), F2 (6 aislamientos), F3 (10 aislamientos) y F4 (8 aislamientos).

De cada grupo se tomó una cepa representativa y se hicieron pruebas de patogenicidad en rodajas de diente-semilla en laboratorio. Dientes aparentemente sanos se pelaron y se desinfectaron con hipoclorito de sodio a 3 % por 3 min y se enjuagaron con agua destilada estéril; a cada diente se le retiró la parte basal y se partió longitudinalmente en dos mitades. En el centro de cada mitad de diente, se depositó una gota de 50 µL de una suspensión de conidios. La inoculación con *Penicillium* se hizo con dos niveles de inóculo  $3.4 \times 10^4$  y  $2 \times 10^5$  conidios, y con *Fusarium* sólo con  $2 \times 10^5$  conidios, en 50 µL de agua. La patogenicidad de los aislamientos también se probó en invernadero; para esto, en macetas con suelo esterilizado por calor en autoclave (121 °C por 40 min) se sembraron dientes de ajo previamente desinfectados e inoculados al momento de la siembra con  $1.4 \times 10^5$  conidios de los aislamientos de *Penicillium* y *Fusarium*, por separado y juntos. Para cada combinación se establecieron tres repeticiones; cada una constó de una maceta con cuatro dientes inoculados. Durante tres semanas se registró la emergencia y a los 48 d se evaluó la sanidad y el peso seco total de las plantas.

Bacterias. Se obtuvieron 30 aislamientos los cuales se infiltraron en hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), para evaluar la respuesta de hipersensibilidad, y en rodajas de tubérculo de papa (*Solanum tuberosum* L.) para conocer su capacidad pectolítica. Los aislamientos que dieron reacción positiva en alguna de estas dos pruebas se probaron en dientes de ajo. En grupos de 15 dientes por aislamiento se aplicó, directamente en la parte media del diente, una masa de colonias de 24 h crecidas en medio B de King. Los dientes inoculados se incubaron a temperatura ambiente y 100 % de HR por 72 h.

### Identificación

La identificación a nivel de especie se realizó en los aislamientos P1 y P3 de *Penicillium* y B1, B2 y B3 de bacterias que resultaron patogénicas. La identificación de *Pe-*

*nicillium* se efectuó de acuerdo con el manual taxonómico de Pitt (1988). Los aislamientos de *Penicillium* se sembraron en los medios Extracto de Malta Agar (MEA), 25 % Glicerol-Nitrato-Agar (GNA) y Czapek-Extracto de Levadura-Agar (CYA). Los cultivos en MEA y GNA se incubaron a 25 °C y los de CYA a 5, 25 y 37 °C. Después de 7 d de incubación se registraron las características de crecimiento de las colonias y el diámetro de colonia en mm. Se hicieron preparaciones del crecimiento fungoso en CYA y MEA incubados a 25 °C para medir el tamaño de rami, métula, fiálide y conidios a 100X.

La identificación de los aislamientos bacterianos se hizo con base en sus características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas. Para medir la utilización de compuestos de carbono se siguió la metodología de Schaad *et al.* (2001): se inoculó el medio con una suspensión de  $10^8$  UFC y se observó a los 7, 14 y 21 d (Thomson *et al.*, 1981). Para la prueba de utilización de citrato se usó el medio agar citrato de Simon (Schaad *et al.*, 2001). La actividad de fosfatasa y crecimiento a 37 °C se determinó con el método descrito por Schaad *et al.* (2001). La prueba de indol se hizo de acuerdo con Schaad (1988), y la de degradación de pectato por el método de Beraha (Beraha, 1968). Para cada prueba hubo al menos tres repeticiones de cada aislamiento.

### Análisis estadístico

Con los datos de brotación se analizó la diferencia estadística entre las pendientes de las líneas de regresión mediante un modelo con variables indicadoras, de acuerdo con el procedimiento de Neter *et al.* (1996). Para cada caso se construyó un modelo lineal general en el que se probó el efecto parcial de cada pendiente. Los datos de sanidad y patogenicidad se sometieron a análisis de varianza con el programa Statistical Analysis System, versión 8e.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Tasa de brotación

Aunque entre variedades no hubo diferencias en brotación, las pendientes de las líneas de regresión entre bodega y alturas fueron estadísticamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ) (Figura 1A, B). En la bodega TA los dientes de bulbos presentaron una tasa de brotación de 60.1 % a los 70 d de almacenamiento en comparación con los mantenidos durante el mismo tiempo en la bodega TC que fue de 43.6 %. La altura de almacenamiento también influyó en la brotación ya que los dientes de bulbos almacenados a 1 m registraron, en general, mayor tasa de brotación que los

almacenados a 4 m de altura, con 55 % y 46 %, respectivamente, a los 70 d. En la bodega TA la diferencia en brotación entre alturas fue de 11.7 unidades (64.0 % a 1 m y 52.3 % a 4 m) mientras que en la TC fue de 6.6 unidades 45.8 % a 1 m y 39.2 % a 4 m de altura).

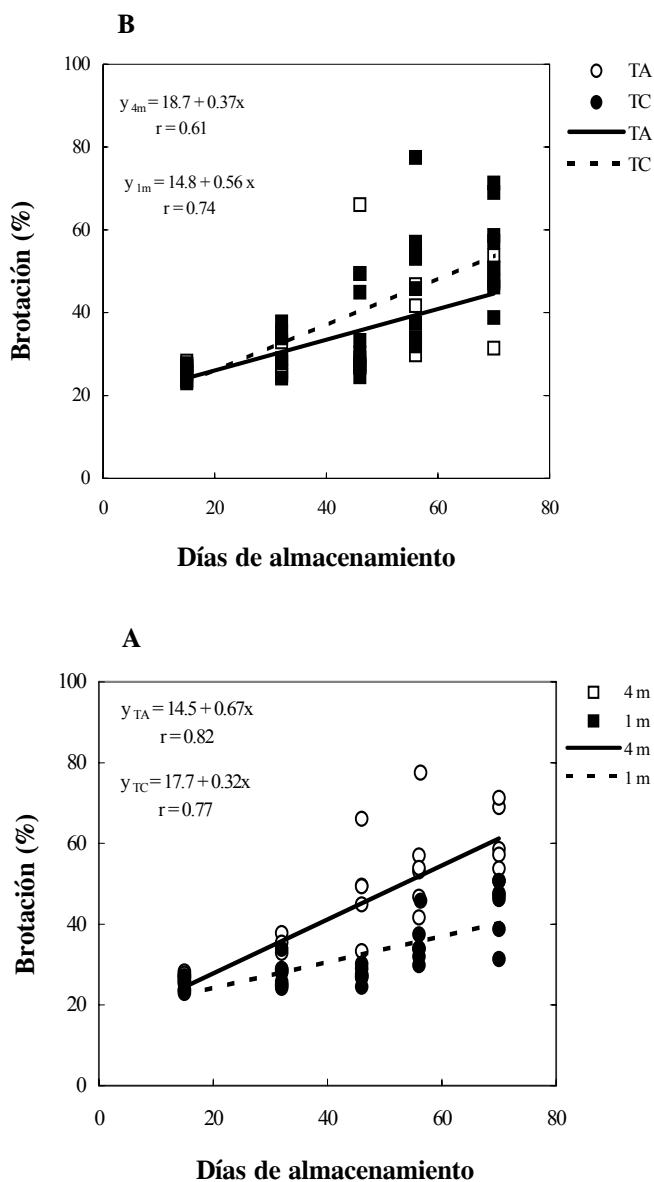


Figura 1. Efecto de las condiciones de almacenamiento (A) y de la altura de almacenamiento (B) en la tasa de brotación de los bulbos de ajo de las variedades ‘María Luisa’, ‘Chetumal’, Tacátzcuaro’ y ‘Tocumbo’ en el ciclo 2001-02. Los símbolos: ○ TA y ● TC (A) y □ 4 m y ■ 1m (B) representan los valores promedio de tres repeticiones, cada una con ocho dientes, en las bodegas techada-abierta (TA) y techada-cerrada (TC), a 4 m (A) y 1 m de altura (B), respectivamente.

De estos resultados se infiere que las combinaciones de temperaturas frescas (22.7 °C en promedio) y HR de 61.4

% registradas en la bodega TA favorecieron la brotación de las variedades de ajo aquí evaluadas. En la práctica se recomendaría, con base en este estudio, sólo almacenar bulbos de ajo destinados para siembra en estas condiciones, por periodos cortos de hasta tres meses ya que periodos más prolongados afectarían la calidad comercial del bulbo. La brotación es un efecto favorable en ajo “semilla” pero indeseable en ajo para consumo (Namesny, 1996). Por otra parte, las combinaciones de temperaturas altas (29 °C en promedio) con HR de 56.2 % presentadas en la bodega TC redujeron la brotación del ajo, pero también deberían evitarse, especialmente en almacenamiento prolongado, debido a que favorecen el deterioro por la pérdida de agua del bulbo (Snowdon, 1991; Namesny, 1996).

**Sanidad**

A su entrada al almacén los bulbos presentaron diversos daños: insectos (52 %), mecánico (26 %), hongos (14 %) y fisiológicos (8.8 %), solos o en combinación. El porcentaje de daño por hongos no se incrementó durante el almacenamiento. Brewster (2001) señala que si los bulbos se almacenan en condiciones de HR menores a 70 % se tendrá un buen control de hongos. En este estudio la HR promedio entre bodegas y alturas fue 58.8 %, condición que posiblemente no favoreció el desarrollo de los hongos o bacterias en los bulbos almacenados.

De los crecimientos fúngicos desarrollados en los bulbos dañados por hongo, 9 % correspondió a *Penicillium* y 5 % a *Fusarium*. En dientes aparentemente sanos hubo una incidencia de 90 % con *Penicillium*, 70 % con *Fusarium*, 47 % con *Aspergillus*, 9 % con *Alternaria* y 5 % con *Rhizopus*. *Penicillium* fue más frecuente en catáfilas mientras que *Fusarium* en la parte basal del diente. Fue común encontrar a ambos hongos desarrollándose en un mismo bulbo o diente de ajo. Entre bodegas o entre variedades no hubo diferencias en el número de géneros de hongos, ni en la frecuencia de los mismos, al final del almacenamiento de las variedades aquí probadas.

**Pruebas de patogenicidad, caracterización e identificación de especie**

En laboratorio, los aislamientos P1 y P3 de *Penicillium* causaron pudrición al tejido del diente de ajo. P1 ocasionó pudrición en 100 % de las mitades de dientes a los 7 d después de la inoculación con  $3.4 \times 10^4$  ó  $2.0 \times 10^5$  conidios; mientras que P3 ocasionó pudrición en 82 % de las mitades de dientes y solamente con  $2.0 \times 10^5$  conidios. Con P1 se registró desarrollo de micelio en las mitades de dientes a los 3 d después de la inoculación, mientras que con P3 ello ocurrió hasta los 7 d. Lo anterior indica que P1 es un aislamiento que tiene más habilidad para invadir y

desarrollarse que P3 en dientes de ajo por lo que, de acuerdo con Boss y Parlevliet (1995), P1 es un aislamiento más agresivo que P3. El género *Penicillium* comprende varias especies que ocasionan pudriciones comúnmente conocidas como moho azul o pudriciones húmedas, en bulbos de flores y hortalizas; estas especies tienen la capacidad de producir enzimas extracelulares, como celulasas y hemicelulasas, en un rango amplio de temperaturas lo que las convierte en un problema potencial tanto en campo como en almacén (Overy *et al.*, 2005a, b).

Por otra parte, las mitades de dientes inoculadas con F1, F2, F3 y F4 de *Fusarium* no mostraron pudrición, sino solamente crecimiento de micelio y esporulación sobre el tejido, en 75, 30, 35 y 80 % de los casos, respectivamente, después de 7 d de haber sido inoculadas. Cabe señalar que ninguno de los aislamientos de *Penicillium* o *Fusarium* causó pudrición al tejido o mostró desarrollo de micelio en dientes sanos (sin heridas). Estos hongos se consideran patógenos débiles, ya que no tienen la capacidad de penetrar por sí solos, pues necesitan de heridas ya sea naturales o artificiales para hacerlo.

En la prueba en invernadero no se registraron plantas enfermas y las diferencias de peso seco entre tratamientos no fueron significativas ( $P \leq 0.05$ ). Smalley y Hansen (1962) reportaron que el daño mecánico preinoculación y el bajo contenido de humedad en el suelo, fueron factores importantes en la infección exitosa de plántulas de ajo por *Penicillium* en condiciones de invernadero. En cambio, en este estudio no se ocasionó daño mecánico al diente-semilla ya que la inoculación se realizó por inmersión del diente en una suspensión de conidios, considerándose que la infección podría haber ocurrido a través de las rupturas de la parte basal del diente ocasionadas por la emergencia de las raíces al momento de la germinación. Los resultados aquí obtenidos demuestran la importancia del daño mecánico en este tipo de pruebas, ya que los aislamientos P1 y P3 sí fueron patogénicos en las pruebas en laboratorio.

El aislamiento P1 se identificó como *P. hirsutum* por presentar ramificación triverticilada y cuatriverticilada, dos rami de 18.3  $\mu\text{m}$  de longitud por penicilli; métula de 10.8  $\mu\text{m}$  de longitud; rami y métula con paredes rugosas; fiálides ampuliformes, de 9.7  $\mu\text{m}$  de longitud, con paredes lisas y célula corta, y conidios esféricos y lisos (Figura 2 A). Las características presentadas a 25 °C fueron: en medio CYA, colonias de 18 mm acanaladas, con exudado y pigmento café soluble en el medio, café por el reverso de la caja; en MEA, colonias de 32.6 mm planas, verdes por el reverso de la caja; y en GNA, colonias acanaladas radialmente con diámetro de 19.4 mm. En CYA a 5 °C las colonias fueron de 3.0 mm y sin crecimiento a 37 °C.

*P. hirsutum* es una especie que se ha clasificado dentro de la serie Corymbifera de *Penicillium* y reportado por Overy *et al.* (2005a) como agente causal de pudriciones en bulbos almacenados de varias especies de flores y hortalizas, así como del moho azul en ajo. Este hongo se caracterizó como menos agresivo que *P. alli*, otro miembro de la serie, en pruebas de patogenicidad realizadas en bulbos de ajo (Overy *et al.*, 2005b); sin embargo, puede permanecer activo aún en condiciones de refrigeración (5 a 15 °C) (Overy *et al.*, 2005b), por lo que representa un problema potencial en almacenamientos a bajas temperaturas.

El aislamiento P3 se clasificó como *P. citrinum* Thom por presentar ramificación biverticilada, relación fiálide/métula de 0.66, fiálides de forma ampuliforme; de tres a cinco métulas por estípite, lisas, de 13  $\mu\text{m}$  de longitud; fiálides de 8.4  $\mu\text{m}$  y conidios esféricos lisos (Figura 2B). Las características a 25 °C fueron: en CYA, colonias acanaladas radialmente, amarillas por el reverso de la caja y pigmento soluble del mismo color; en MEA, colonias planas, azul claro en el margen y conidiogénesis densa; en GNA, colonias con diámetro de 13.1 mm, verde olivo por el reverso de la caja, arrugadas, con micelio blanco, sin crecimiento a 5 °C ni a 37 °C aunque en este último caso se registró crecimiento a los 18 d después de la inoculación del medio. También *P. citrinum* se ha reportado entre las especies de *Penicillium* causantes del moho azul en ajo y cebolla (*Allium cepa* L.) durante cosecha y postcosecha (Schwartz y Mohan, 1995), por lo que representa un problema potencial en almacenamiento.

De las cepas bacterianas asociadas con el ajo almacenado, tres se presentaron con mayor frecuencia y fueron denominadas B1, B2 y B3. Éstas causaron pudrición en papa y fueron patogénicas en ajo, pero no dieron reacción de hipersensibilidad en tabaco. En ajo, el crecimiento y la pudrición del tejido se observó a 24 h de la inoculación. Los resultados de las pruebas morfológicas, bioquímicas y fisiológicas fueron las siguientes (Cuadro 1): Gram-, peritricas, anaeróbicas facultativas, catalasa positivas, degradan pectato, palatinosa y  $\alpha$ -methyl-d-glucósido positivas, con producción de ácido de maltosa, melibiosa, rafinosa, celobiosa, galacturonato e inulina, pero negativas en oxidasa, fosfatasa, indol y citrato de sodio, y sin crecimiento a 36 °C. Con excepción de las pruebas en inulina y citrato de sodio, en el resto de las pruebas B1, B2 y B3 coinciden con *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. Puesto que Dickey (1979) y Shaad *et al.* (2001) encontraron coincidencia con todas las pruebas, en este estudio podría tratarse de otra subespecie del grupo pectolítico. Cabe señalar que el género *Erwinia* se reclasificó (Hauben *et al.*, 1998) y se ubicó dentro del género *Pectobacterium*, por lo que las cepas B1, B2 y B3 podrían ser una variante de *P. atrosepticum*, de acuerdo con esta nueva clasificación.

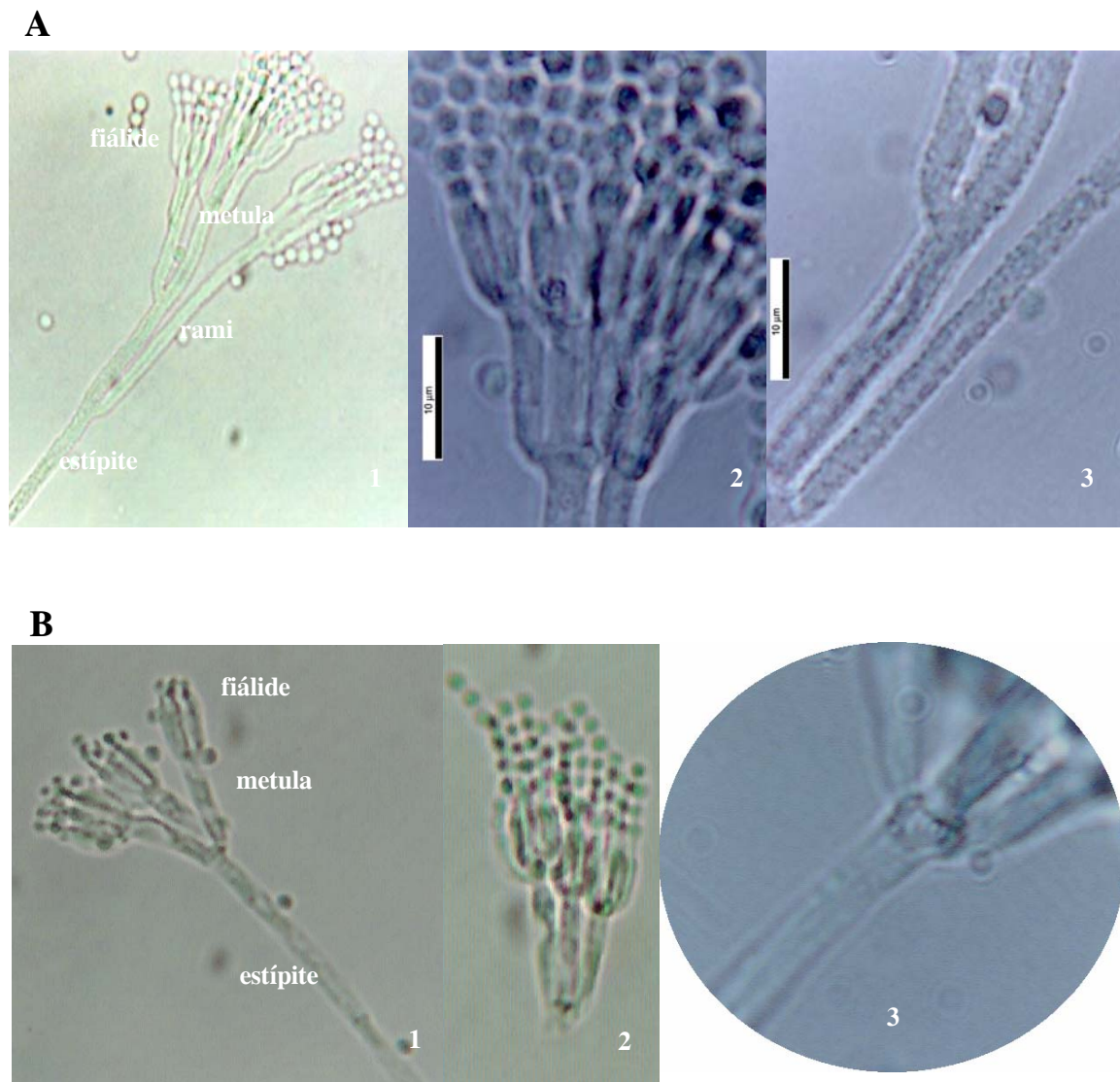


Figura 2. Estructura y características del conidióforo de *Penicillium hirsutum* (A) y *Penicillium citrinum* (B) al microscopio compuesto a 10X; A2 y B2 acercamiento de metula a 40X. Acercamiento de rami (A3) y estípite (B3) mostrando la pared rugosa y pared lisa, respectivamente, a 100X.

Los resultados indican que las condiciones de almacenamiento afectan la brotación de los bulbos de ajo de las variedades 'Tacátzcuaro', 'Tocumbo', 'Chetumal' y 'María Luisa'. La combinación de temperatura fresca con HR de 60 % o más y buena ventilación, favoreció la tasa de brotación del ajo; en cambio, la combinación de temperatura alta con HR de 56 % y ventilación deficiente la inhibió. Este conocimiento es de utilidad práctica, porque permitirá tomar decisiones sobre el almacenamiento apropiado de los bulbos de estas variedades, dependiendo de si se destinan para consumo o para siembra. Los resultados también muestran que hay dos cepas patogénicas de *Penicillium* y una patogénica de *Erwinia* asociadas a los bulbos

de ajo; las cepas se identificaron como *P. hirsutum* Dierckx y *P. citrinum* Thom, mediante claves taxonómicas, y *E. carotovora* con base en sus características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas. Sin embargo, sería recomendable confirmar estas identificaciones por pruebas moleculares mediante la amplificación de las regiones internas transcritas (ITS) de los genes ribosomales (rARN) para *Penicillium* (Skouboe *et al.*, 1999) y del gen 16S rDNA para *Erwinia* (Kwon *et al.*, 1997).

Cuadro 1. Comparación de las características de las cepas bacterianas patógenas asociadas a bulbos de ajo con las reportadas en la literatura.

Prueba	Cepas de ajo B1, B2, B3	Resultados de literatura <sup>‡</sup>		
		<i>Ecc</i>	<i>Ecb</i>	<i>Eca</i>
<b>Patogenicidad en ajo</b>	+			
Tinción Gram	-	-	-	-
Flagelación	Peritrica	Peritrica	Peritrica	Peritrica
Hipersensibilidad en tabaco	-	-	-	-
Pudrición en papa	+	+	+	+
Oxidación/fermentación	+/+	+/+	+/+	+/+
Oxidasa	-	-	-	-
Catalasa	+	+	+	+
Citrato de sodio	-	+	-	+
Degradación de pectato	+	+	+	+
Fosfatasa	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-
Palatinosa	+	-	+	+
$\alpha$ - methyl-d-glucósido	+	-	+	+
<b>Producción de ácido de:</b>				
Maltosa	+	-	+	+
Melibiosa	+	+	-	+
Rafinosa	+	+	-	+
Celobiosa	+	+	-	+
Galacturonato	+	+	-	+
L-lisina	-	-	+	-
i-inositol	-	+	+	-
Crecimiento a 36 °C	-	+	+	-
Inulina	+	-	+	-

<sup>‡</sup>Según lo reportado por: Dickey (1979), Shaad (1988) y Shaad *et al.* (2001). *Ecc* = *E. carotovora* subsp *carotovora*; *Ecb* = *E. carotovora* subsp *betavascularum*; *Eca* = *E. carotovora* subsp *atroseptica*. + reacción positiva, - reacción negativa.

## CONCLUSIONES

La combinación de temperatura fresca (22.7 °C en promedio) con HR de 60 % o más y buena ventilación, favoreció la tasa de brotación del ajo, efecto favorable en ajo “semilla” pero indeseable en ajo para consumo. En cambio, la combinación de temperatura alta (29 °C en promedio) con HR de 56 % y ventilación deficiente redujo la brotación del ajo. La brotación fue mayor en ajos colocados a una altura de 1 m (41 %) que a 4 m (35 %). Varios microorganismos se encontraron asociados con los bulbos de ajo almacenados. Entre bodegas o entre variedades no hubo diferencias en el número de géneros de hongos ni en la frecuencia de los mismos. Destacaron dos especies patógenas de *Penicillium*: *P. hirsutum* Dierckx y *P. citrinum* Thom, con alta frecuencia, y una bacteria peptolítica identificada como *E. carotovora*.

## AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por el apoyo económico a través del proyecto I39135-B; a la empresa Aguilares S.P.R.de R.L. por permitir el acceso a sus instalaciones y materiales vegetales; y a Luis Espejel Flores por el apoyo técnico.

## BIBLIOGRAFÍA

- Beraha L (1968)** A rapid method for the preparation of a semi-solid agar medium for detection of pectolytic enzyme activity in *Erwinia carotovora*. Plant Dis. Rep. 52:167.
- Boss L, J E Parlevliet (1995)** Concepts and terminology on plant/pest relationships: toward consensus in plant pathology and crop protection. Annu. Rev. Phytopathol. 33:69-102.
- Böttcher H, K Pohle (1991)** Studies on the occurrence of postharvest decay of garlic bulbs (*Allium sativum* L.). Archiv. Phytopathol. Pflanzenschutz 27:445-457.
- Brewster J L (2001)** Las Cebollas y otros Alliums. A M Mayoral-Canalejas, O López-Bauesa (trads). Acribia, España. 251 p.
- Burgess L W, B A Summerell, S Bullock, K P Gott, D Backhouse (1994)** Laboratory Manual for *Fusarium* Research. 3rd ed. University of Sidney. 133 p.
- Cantwell M I (2000)** Garlic recommendations for maintaining postharvest quality. Postharvest Technology Research and Information Center. <http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Veg/garlic.shtml>. Actualización junio, 2002.
- Cantwell M I, J Kang, G Hong (2003)** Heat treatments control sprouting and rooting of garlic cloves. Postharv. Biol. Technol. 30:57-65.
- Dickey R S (1979)** *Erwinia chrysanthemi*: a comparative study of phenotypic properties of strains from several hosts and other *Erwinia* species. Phytopathology 69:324-329.
- Kwon S W, S J Go, H W Kang, J C Ryu, J K Jo (1997)** Phylogenetic analysis of *Erwinia* species based on 16S rRNA gene sequences. Int. J. Syst. Bacteriol. 47:1061-1067.
- Namesny V A (1996)** Post-recolección de Hortalizas Vol. II. Bulbos, Tubérculos, Rizomas. Ediciones de Horticultura S. L. Reus, España. 294 p.
- Hauben L, E R B Moore, L Vauterin, M Steenackers, J Mergaert, L Verdonck, J Swings (1998)** Phylogenetic position of phytopathogens within the *Enterobacteriaceae*. Syst. Appl. Microbiol. 21:384-397.
- Neter J, M H Kutner, C J Nachtsheim, W Wasserman (1996)** Applied Linear Statistical Models. 4th ed. IRWIN. Chicago. pp:455-496.
- Overy D P, J C Fresvad, U Steinmeier, U Thrane (2005a)** Clarification of the agents causing blue mold storage rot upon various flower and vegetable bulbs: implications for mycotoxin contamination. Postharv. Biol. Technol. 35:217-221.
- Overy D P, K Karlshøj, M J Due (2005b)** Low temperature growth and enzyme production in *Penicillium* ser. Corymbifera species, causal agents of blue mold storage rot in bulbs. J. Plant Pathol. 87:57-63.
- Pitt I J (1988)** A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species. 2nd ed. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Division of Food Processing. Australia. 187 p.
- Rath GC, G N Mohanty (1985)** *Aspergillus* rot of stored garlic and its control. Indian J. Micol. Plant Pathol. 15:323-324.
- Rath G C, G N Mohanty (1986)** *Fusarium* rot of stored garlic. Indian Phytopathol. 39:614-615.
- Shaad N W (1988)** Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 2nd ed. APS Press. Minnesota. 158 p.

- Schaad N W, J B Jones, W Chun (eds) (2001)** Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 3rd ed. APS Press. USA. 373 p.
- Schwartz F H, K S Mohan (eds) (1995)** Compendium of Onion and Garlic Diseases. APS Press. Minnesota, USA. 54 p.
- Skouboe P, J C Frisvad, J W Taylor, D Lauritsen, M Boysen, L Rossen (1999)** Phylogenetic análisis of nucleotide sequences from the ITS region of terverticillate *Penicillium* species. Mycol. Res. 103:873-881.
- Smalley E B, H N Hansen (1962)** *Penicillium* decay of garlic. Phytopathology 52:666-678.
- Snowdon A L (1991)** Post-harvest Diseases and Disorders of Fruits and Vegetables. Vol. 2. Vegetables. Wolfe Scientific Ltd. England. 262 p.
- Thomson S V, D C Hildebrand, M N Schroth (1981)** Identification and nutritional differentiation of the *Erwinia* sugar beet pathogen from members of *Erwinia carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. Phytopathology 71:1037-1042.