

MICROFLORA FUNGOSA DETECTADA EN SEMILLAS DE *Panicum maximum* CV. LIKONI

O. Alonso y A. Delgado

Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey"
Matanzas, Cuba

De un lote de semillas de *Panicum maximum* cv. Likoni almacenadas al ambiente, se tomaron muestras aleatorias mensualmente durante un año, con el fin de analizarlas por el método "Blotter Test" para identificar los hongos asociados a estas. Se seleccionaron 400 semillas llenas, las que fueron sembradas en placas Petri plásticas sobre dos láminas de papel de filtro humedecido e incubadas posteriormente en un cuarto climatizado durante 7 días. Al octavo día se hizo el conteo de los hongos sobre las simientes bajo un estereoscopio con un aumento de 6-50 X. Los agentes fungosos que se presentaron durante todo el período experimental fueron: *Curvularia* sp., *Fusarium* sp. y *Helminthosporium* sp.; el primero de ellos fue el que provocó la mayor infestación durante los 12 meses ($x = 23,96 \%$). La infección causada por los hongos en su conjunto disminuyó durante el almacenamiento y no afectó de forma representativa la germinación y la viabilidad de las semillas evaluadas.

Palabras claves: *Hongos, Panicum maximum cv. Likoni, almacenamiento de semillas*

A laboratory experiment was conducted in order to identify fungal incidence on a seed lot from guinea grass (*Panicum maximum* cv. Likoni) under environmental conditions. Randomized seed samples were monthly taken during a year and the Blotter Test method was used. 400 full seeds were sown in plastic Petri dishes arranged on moistened filter papers (2 per dish) and stored under controlled conditions during 7 days. Following that date, fungal infection was examined using a stereoscopic power of 6-50 X. *Curvularia* sp., *Fusarium* sp. and *Helminthosporium* sp. were the fungal agents recorded during all experimental period. The highest infection ($x = 23,96 \%$) for the 12 months was caused by *Curvularia* sp. As fungal incidence was predominantly reduced by the storage period, a severe infection on seed germination and viability was not considered.

Additional index words: *Fungi, Panicum maximum cv. Likoni, seeds storage*

Un factor de gran importancia en el establecimiento de praderas de buena calidad a nivel mundial lo constituye la semilla sana. No obstante, muchas de las simientes contienen patógenos que pueden destruirlas e impedir su germinación, ocasionando problemas en el momento de sembrar y establecer el pasto; además estas sirven de vehículo de propagación y diseminación de los patógenos en nuevas áreas como fuente de inóculo primario.

Los hongos patógenos de las semillas de gramíneas son diversos, lo cual está dado por el considerable rango de especies que las afectan, tales como carbones, cornezuelos, etc. (Lenné, 1984). En ese sentido sobresalen cerca de 115 combinaciones de agentes fungosos del género *Drechslera* y los hospederos específicos de estas plantas (Noble y Richardson, citados por Chagas y Oliveira, 1983).

Tomando como base lo anterior y la importancia que le concede la literatura especializada a los agentes causales de enfermedades en los productos almacenados, esta investigación tuvo como objetivo identificar los géneros de hongos asociados a las semillas de *Panicum maximum* cv. Likoni, su comportamiento durante el período de almacenamiento y su posible relación con los porcentajes de germinación y viabilidad de dichas simientes.

MATERIALES Y METODOS

Procedimiento, diseño y mediciones. Las simientes utilizadas para desarrollar el experimento fueron recolectadas de un campo de semilla básica de *P. maximum* cv. Likoni (ubicado en la EEPF "Indio Hatuey"), el cual se cosechó en el mes de octubre de 1993. Estas fueron almacenadas al

ambiente en sacos de yute en un local techado, acorde con las normas establecidas en el país para el almacenaje, después de un adecuado proceso de secado.

Del lote de semillas almacenadas se tomaron 400 mensualmente (llenas), a partir de una muestra aleatoria de las diferentes partes del saco (superior, media e inferior), las cuales fueron analizadas a través del método del papel de filtro (Blotter Test) para determinar los hongos asociados a estas (ISTA, 1985). Para ello se utilizó un diseño totalmente aleatorizado con cuatro réplicas de 100 semillas cada una, las cuales se sembraron en grupos de diez en placas Petri plásticas (nueve cerca de la periferia y una en el centro) sobre dos láminas de papel de filtro esterilizado humedecido con agua destilada (también esterilizada); seguidamente se incubaron durante 7 días en un cuarto climatizado cuya temperatura oscilaba entre 25 y 28°C, con ciclos alternos de luz y oscuridad de 12 horas cada uno; para la iluminación se emplearon lámparas fluorescentes con dos bombillas de 40 W. A partir del séptimo mes se alteraron dichas condiciones, ya que se cambió el cuarto climatizado.

Al octavo día se procedió al conteo de los hongos sobre las semillas bajo un estereoscopio con aumento de 6-50 X, con el fin de determinar su por ciento de infección durante todos los meses de almacenamiento, incluyendo el momento de recién cosechadas las simientes (0 mes).

La identificación de los hongos se realizó con la ayuda de la clave propuesta por Barnett y Hunter (1972).

Además, se realizaron las pruebas de germinación y viabilidad (según lo normado por ISTA, 1985), pero solo a los 0, 3, 9 y 12 meses de almacenamiento de las semillas.

RESULTADOS

En las semillas del cv. Likoni sometidas a análisis patológico se detectaron 14 géneros fungosos, de los cuales solo 3 las afectaron durante todo el año de almacenamiento: *Curvularia sp.*, *Fusarium sp.* y *Helminthosporium sp.*, con un por ciento de infección promedio de 23,96; 13,21 y 6,65 respectivamente; estos dos últimos produjeron además los más altos valores de infección en el mes 0 (tabla 1).

Los hongos *Alternaria sp.*, *Botrytis sp.*, *Cladosporium sp.*, *Doratomyces sp.*, *Mucor sp.*, *Nigrospora sp.*, *Phoma sp.* y *Phomopsis sp.* se presentaron de forma irregular, con los más bajos valores de infección sobre las semillas. *Penicillium sp.* y *Rhizopus sp.* aparecieron con mayor regularidad, pero con por cientos también bajos. *Aspergillus sp.* se presentó más regularmente que los anteriores (solo dejó de aparecer en el mes 0 y al primer mes) y con un por ciento de infección superior (aunque bajo); además, su menor valor de afectación se halló a los 2 meses y el mayor a los 12 meses. Por otra parte, fue el hongo que siguió en orden a los tres que más afectaron las simientes del pasto en estudio (tabla 1).

La afectación producida por los agentes fungosos sobre las semillas analizadas tuvo una tendencia descendente a medida que transcurrió el período de almacenamiento (fig. 1).

Los resultados de las pruebas de germinación y viabilidad de las simientes se muestran en la tabla 2.

DISCUSION

Los hongos que se encontraron durante todo el período experimental fueron los mismos que se citan como patógenos de dichas semillas (Richardson, 1979); además coinciden con los más comúnmente hallados por Chagas y Oliveira (1983) en *P. maximum*.

En el caso de las especies del género *Drechslera* (= *Helminthosporium*), según Neegaard (1979), estas han demostrado una notable afinidad por las gramíneas, por lo que se caracterizan como patógenos de las simientes de esa familia.

Chalut y Perris (1994) encontraron que *Alternaria sp.*, *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Penicillium sp.* y *Phoma sp.* afectaban las semillas de *Panicum coloratum* cv. Makarikariense, *P. maximum* cv. Gatton y *P. maximum*, lo que coincide con los resultados de este experimento. *Alternaria sp.* fue hallado también por Chagas y Oliveira (1983) en *P. maximum*.

Fusarium sp. se presentó en mayor cuantía en el mes 0, ya que es uno de los patógenos más frecuentes en el campo y afecta mayormente a las espículas de esta planta (Delgado y Alonso, 1991).

Aspergillus sp. no se presentó en los meses 0 y 1, pero sí en el 12, debido a que es un hongo típico del almacén (Lenné, 1984), que aparece a medida que avanza el período de almacenamiento, por lo que manifestó el mayor valor de afectación en este mes. En el caso de *Helminthosporium sp.*, a partir del mes 3 disminuyeron sus por cientos de infección, pues este es un patógeno que proviene del campo, por lo que a medida que transcurren los meses de almacenamiento se mantiene en las semillas como parte de su microflora, aunque no es un agente típico del almacén.

La irregularidad con que se presentó la mayoría de los hongos y sus bajos por cientos de infección, así como su tendencia descendente a medida que transcurrió el experimento, pudieran estar muy relacionadas con la variación de las condiciones del cuarto climatizado (falta de humedad en las placas principalmente) y el cambio de este a partir del séptimo mes, lo que provocó el escaso crecimiento y desarrollo de dichos microorganismos.

Los altos valores de infección durante el mes 0, causados por los tres agentes fungosos que se presentaron durante todo el período experimental, ocurrieron debido a que estos hongos provienen del campo y ese es el momento en que manifiestan su mayor presencia. Por ejemplo, *Helminthosporium sp.* es capaz de provocar un 35 % de infección y distribuirse en un 75 % del área bajo estas condiciones antes de almacenar las semillas (Bernal y Díaz, 1988).

Los resultados de las pruebas de germinación y viabilidad realizados en este ensayo (tabla 2) indicaron que estos parámetros no fueron afectados por el porcentaje de infección causado por los hongos, lo que pudo estar influenciado por su comportamiento descendente durante el experimento. Además, dichos valores están acordes con los obtenidos en las diferentes investigaciones realizadas con estas semillas bajo las condiciones de almacenamiento al ambiente. Por ejemplo, González y Mendoza (1994) observaron un comportamiento similar de estos parámetros en semillas de *P. maximum* CIH-3.

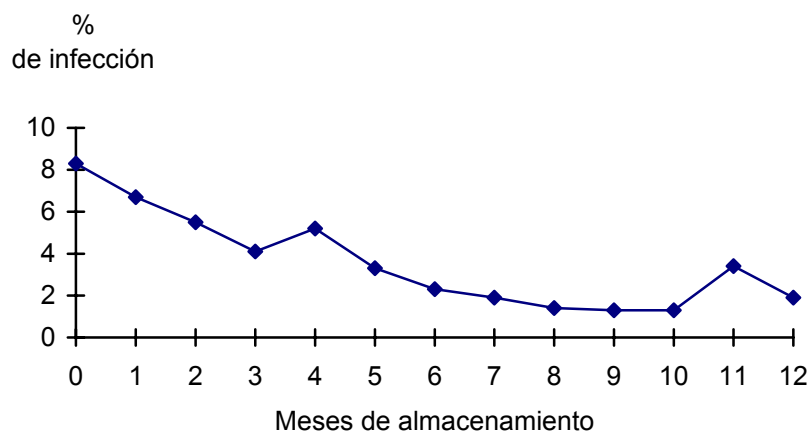


Fig. 1. Comportamiento de los hongos a través del período experimental.

Un aspecto preocupante fue la presencia y el porcentaje de infección causado por *Fusarium sp.*, microorganismo que según Nath, Neegaard y Mathus (1970) posee una gran diversidad de especies capaces de causar Damping off en las plántulas, así como pudrición de las raíces en la guinea y otros pastos y cereales, lo que indica la necesidad de continuar evaluando su comportamiento en futuros experimentos.

Un detalle importante fue la ausencia de *Tilletia spp.* en las semillas de esta planta, patógeno que es capaz de afectar un 70 % de las espículas y distribuirse en un 80 % del área bajo condiciones de campo, según Bernal y Díaz (1988); sin embargo, esto no significa que no se encuentre en su interior, pues dicho hongo se cita como uno de los principales patógenos de estas simientes (Richardson, 1979).

Por último, es válido destacar que en este experimento, al igual que en el realizado por Alonso, Delgado y Sánchez (1996), se hallaron los hongos responsables de la micotoxicosis en los animales (*Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.*) citados por Anon (1990); por ello, es importante continuar el estudio de su comportamiento en sucesivas investigaciones, ya que la guinea es altamente preferida por el ganado vacuno.

De acuerdo con los resultados del presente trabajo, se puede concluir que de los hongos detectados en las semillas analizadas, solo tres se presentaron durante todo el año de almacenamiento: *Curvularia sp.*, *Fusarium sp.* y *Helminthosporium sp.*, los cuales a su vez son los que se citan entre los principales patógenos de dichas simientes. De estos el primero fue el que manifestó el mayor por ciento de infección promedio al concluir el período experimental (23,96). Los niveles de infección causados por los diferentes géneros fungosos no ocasionaron afectaciones sobre la germinación y la viabilidad de las semillas del cv. Likoni almacenadas al ambiente.

Tabla 1. Porcentaje de infección causado por los diferentes géneros de hongos sobre las semillas de guinea likoni durante el almacenaje.

Géneros fungosos	Meses de almacenamiento (x mensual/hongo)													x Anual/ hongo
	0 Oct. 1993	1 Nov. 1993	2 Dic.	3 Enero	4 Feb.	5 Marzo	6 Abril	7 Mayo	8 Junio	9 Julio	10 Agosto	11 Sept.	12 Oct.	
1	0	0,2	0	0	0,2	0	0	0,5	0,5	0	0,2	0,2	0	0,15
2	0	0	0,2	1,2	1,7	5,0	6,2	2,2	5,5	4,7	2,7	6,5	10,0	3,55
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0,2	0,03
4	0,5	3,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0,34
5	31,2	32,7	46,2	43,2	47,7	27,2	20,7	19,0	9,5	6,0	5,7	19,7	2,2	23,96
6	1,7	1,2	0	0	0	0	0	1,2	0,2	0	0	0	0	0,34
7	64,2	39,5	11,5	2,0	6,7	3,2	2,5	1,5	2,2	3,7	5,5	17,7	11,2	13,21
8	19,7	12,5	19,0	11,2	8,5	7,0	1,7	1,0	1,5	1,7	0,2	2,0	0,2	6,65
9	0	1,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0,2	0,13
10	0	0,5	0	0	0	0	0	0,7	0	0,2	0	0	2,2	0,28
11	0	0	0	0	7,0	0,2	1,7	0,5	0	0,2	2,5	1,2	0,7	1,09
12	0	3,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,25
13	0	0	0	0	0	3,2	0	0	0	0	0	0	0	0,25
14	0	0	1,0	1,0	1,5	0,2	0,2	0,7	0	1,5	0,7	0,7	0,2	0,61

1- *Alternaria sp.*

2- *Aspergillus sp.*

3- *Botrytis sp.*

4- *Cladosporium sp.*

5- *Curvularia sp.*

6- *Doratomyces sp.*

7- *Fusarium sp.*

8- *Helminthosporium sp.*

9- *Mucor sp.*

10- *Nigrospora sp.*

11- *Penicillium sp.*

12- *Phoma sp.*

13- *Phomopsis sp.*

14- *Rhizopus sp.*

Tabla 2. Germinación y viabilidad de las semillas de *Panicum maximum* cv. Likoni (%).

Parámetros	Meses de almacenamiento				
	0	3	6	9	12
Germinación	2	10,5	40,5	54,2	51,5
Viabilidad	91,5	91,0	66,7	67,2	63,8

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la valiosa orientación brindada para ejecutar ensayos de este tipo al Dr. José A. Fresneda Buides y al Ing. Pedro Oliva Rodríguez del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt", así como la eficaz labor de los técnicos Vivian Ruz Díaz, Osmany Galindo Rodríguez, y en especial Jaime Docazal Hernández, durante el montaje de las pruebas realizadas a las semillas y el procesamiento de los datos experimentales.

REFERENCIAS

- ALONSO, O.; DELGADO, A. & SANCHEZ, SARAY. 1996. Hongos asociados a las semillas de una leguminosa tropical (*Leucaena leucocephala* cv. Perú). **Pastos y Forrajes**. 19:161
- ANON. 1990. Las micotoxinas en los trópicos. **Correo Fitosanitario**. 1:12
- BARNETT, H.L. & HUNTER, B.S. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. 3era. ed. Burgess Publishing Company. 241 p.
- BERNAL, BLANCA & DIAZ, J.A. 1988. Incidencia y distribución de las principales enfermedades fungosas de pastos y forrajes en dos estaciones de La Habana. **Cienc. Téc. Agric. Protección de plantas**. 11:99
- CHAGAS, D. & OLIVEIRA, DELMA P. 1983. Fungos asociados a sementes de Gramíneas e Leguminosas forrageiras. **Fitopatología Brasileira**. 8:131
- CHALUAT, MADIA M. de & PERRIS, S. 1994. Hongos patógenos en semillas de especies forrajeras tropicales. **Pasturas Tropicales**. 16 (1):41
- DELGADO, A. & ALONSO, O. 1991. Insectos y patógenos más frecuentes en las semillas de pastos. Formas de disminuir sus daños. Conferencia para el Curso de Postgrado "Producción de semillas de pastos". EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba (Mimeo)
- GONZALEZ, YOLANDA & MENDOZA, F. 1994. Comportamiento de la germinación y la viabilidad en semillas de *Panicum maximum* CIH-3 durante el almacenamiento. **Pastos y Forrajes**. 17:131
- ISTA. 1985. International Rules for Seed Testing. **Seed Science and Technology**. 18:329
- LENNE, JILL. 1984. Patógenos en semillas de plantas forrajeras tropicales. Significancia, detección y manejo. En: Memoria del Primer Curso Internacional sobre colección, evaluación de germoplasma y producción de semillas forrajeras tropicales. GREDPAC-IDIAP, Panamá. p. 143
- NATH, H.; NEEGAARD, P. & MATHUS, S.B. 1970. Identification of *Fusarium* species on seeds as they occur in Blotter Test. **Proc. Int. Seed. Test. Ass.** 35 (1)
- NEEGAARD, P. 1979. Seed Pathology. MacMillan Press State University Ltda., UK. Vol. 1, 1181 p.
- RICHARDSON, M.J. 1979. An annotated list of seed-borne diseases. Third Edition. Commonwealth Micological Institute, England-ISTA, Switzerland. p. 147

Recibido el 20 de octubre de 1996