

CALIDAD SANITARIA DE SEMILLAS DE SOYA PRODUCIDAS EN CUBA

José A. Fresneda Buides, Yakelin Hernández Fundora y José Rubén Sánchez Curiel

**Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT)
“Alejandro de Humboldt”. Ministerio de la Agricultura.**

RESUMEN

Como resultado de evaluaciones sanitarias de rutina, realizadas en un período de 20 años a 140 lotes de semillas Básicas, Registradas y Certificadas de soya (*Glycine max* (L.) Merr., se elaboró un listado de la micobiota diagnosticada, que fue clasificada según organismos saprofitos y/o de almacén y patógenos para el cultivo, a partir de lo cual fue valorada la potencialidad de daños a esperar. Junto a esto se evaluó la frecuencia con que aparecen los hongos en el conjunto de muestras y la incidencia promedio de estos en las muestras, con lo cual se constataron problemas objetivos con la calidad de la semilla producida, que por lo general proceden de las condiciones climáticas comunes en la región, lo que sugiere la adopción de medidas adicionales que permitan materiales de partida sanos.

Palabras claves: calidad, semillas, hongos patógenos.

SANITARY QUALITY OF SOYBEAN SEEDS PRODUCED IN CUBA

ABSTRACT

As result of routine sanitary assessments carried out in a 20 years period to Basic, Registered and Certified soybean [*Glycine max* (L.) Merr.], seeds was drawn up a list of fungi recorded, from which were valuated damages potentiality to be expected. Beside of that was studied appearance frequencies in the samples and average incidence of each fungus, as result of what were proven seed quality deficiencies, which could be produced by regional climatic conditions and suggest additional measures in order to get best seed quality.

Key words: quality, seeds, pathogen fungus.

INTRODUCCION

Con la ejecución de un extenso programa de investigaciones fueron introducidos y mejorados diversos genotipos de soya (*Glycine max* [L.] Merr., mediante el esfuerzo conjunto de varios institutos de investigaciones agrícolas cubanos. Eso permitió al país disponer de diversas variantes para asumir producciones en diferentes épocas de siembra y modalidades productivas.

De manera simultánea fueron iniciados estudios que permitieron evaluar y realizar ajustes productivos, con el fin de mejorar la calidad de las semillas a obtener y en particular lo que respecta a la calidad sanitaria de los lotes producidos bajo las condiciones edafo – climáticas de Cuba, el impacto de la micoflora asociada a la semilla sobre la germinación y la potencialidad de transmisión al cultivo subsiguiente, como fuente de inóculo primario.

La soya en el campo es infectada por un gran número de enfermedades fungosas y bacterianas, además de virosis y nematodos. Entre ellas las enfermedades causadas por hongos son consideradas muy importantes, no sólo debido a su mayor número, sino también por la magnitud de los daños causados, tanto en lo concerniente a los rendimientos como en lo que respecta a la calidad del producto (Henning, 1984).

La mayor parte de estos microorganismos encuentran en la semilla el principal vehículo para su diseminación y de esta forma acceder a nuevas áreas de cultivo: entonces, en cuanto las condiciones ambientales les sean propicias para su desarrollo podrán causar serios daños al cultivo.

El presente trabajo da a conocer los resultados obtenidos a lo largo de 20 años de evaluaciones rutinarias en cuanto a la micoflora fungosa alojada en semillas de soya y su vinculación con la germinación de estas.

MATERIALES Y METODOS

Entre los años 1984 y 2004 fueron evaluadas 140 muestras de semillas de soya procedentes de diferentes lotes producidos en categorías Básica, Registrada y Certificada: en todos los casos se empleó para la siembra la época de verano (Agosto – Octubre), de manera que la cosecha coincidiera con los meses de menores precipitaciones (Noviembre – Febrero) y temperaturas más bajas.

Para cada lote se siguieron las reglas de muestreo establecidas por ISTA (1999). La germinación se evaluó sobre papel absorbente humedecido, empleando dos discos de papel absorbente humedecido por placa petri plástica de 10 cm. de diámetro; se emplearon 400

semillas por cada lote, 10 por placa, y las evaluaciones se realizaron a los 4 y 12 días de crecimiento (Mathur, Njala y Kongsdal, 2003).

Para la valoración de los microorganismos fungosos presentes se empleó el método de cámara húmeda descrito por Mathur y Kongsdal (2003), a temperatura constante de 25°C, en alternancia de 12/12 horas luz – oscuridad durante 7 días. Las evaluaciones de semillas se realizaron bajo microscopio estereo 60 X y para la determinación de los hongos encontrados se empleó un microscopio compuesto 100 X. Fueron utilizadas descripciones y claves elaboradas por Ellis (1971 y 1976), Singh y col. (1991), Hanlin y Tortorel (1995) y Mathur y Kongsdal (2003). Con los resultados obtenidos se elaboró un listado de microorganismos fungosos asociados a semillas de soya, que fueron clasificados en tres grupos: a) hongos saprofitos, b) hongos de almacén y c) hongos fitopatógenos.

Una vez tabulados los resultados se procedió a valorar el número de lotes en que aparece cada hongo (frecuencia), discerniendo entre hongos de almacén y/o saprofitos y parasíticos a partir de todas las muestras evaluadas y considerando:

- i los lotes cuya germinación fue inferior a 85 %.
- ii los lotes cuya germinación fue igual o superior al 85 %.
- iii todas las muestras evaluadas.

De igual manera se compararon los promedios de infección (incidencia) a partir de 40 muestras tomadas al azar en los de lotes de germinación inferior a 85 % y 40 muestras procedentes de los lotes de germinación superior a aquel rango.

Para representar en este trabajo la frecuencia e incidencia de los hongos en el cultivo se seleccionaron solo 12 géneros y especies tomando en cuenta su presencia repetitiva en las evaluaciones rutinarias realizadas.

RESULTADOS Y DISCUSION

A partir de los diagnósticos realizados en los 140 análisis rutinarios efectuados se confeccionó un listado de hongos (Tabla 1), en el cual se incluyen 32 géneros y 30 especies.

Tabla 1. Principales hongos asociados comúnmente a las semillas de soya producidas en Cuba.

Género	Especie	Importancia
Alternaria	alternata (Fr.) Keissler	1
	tenuissima (Fr.) Wiltsh.	1
Ascochyta	sp.	
Aspergillus	flavus Link ex Fr.	2
	niger van Tiegh.	2
	ochraceous Wilhelm	1
Botryodiplodia	theobromae Pat.	3
Botrytis	sp.	1
Cephalosporium	acremonium Corda	1
Cercospora	kikuchii (Mats. & Tomoy.) Gardner	3
	sojina Hara	3
Chaetomium	globosum Kunze ex Fr.	1
Cladosporium	cladosporioides (Fres.) de Vries	1
Colletotrichum	acutatum Simmonds	1
	dematium (Pers. ex Fr.) Crove	3
Corynespora	cassiicola (Berk. & Curt.) Wei	3
Curvularia	cymbopogonis (Dodge) Groves & Skolko	1
	lunata (Wakker) Boedijn	1
Dreschlera	spp.	1
Epicoccum	purpurascens Ehrenb. ex Schlecht.	1

Fusarium	equiseti (Corda) Sacc.	3
	moniliforme Sheldon	3
	oxysporum Schlecht ex Fr.	3
	semitectum Berk. & Rav.	3
	solani (Mart.) Sacc.	3
Macrophomina	phaseolina (Tassi) Goid.	3
Monilia	sp.	1
Mucor	sp.	1
Myrothecium	roridum Tode ex Fr.	3
Nigrospora	sp.	1
Penicillium	spp.	1
Periconia	sp.	1
Peronospora	manshurica (Naum.) Syd.	3
Pestalotia	sp.	1
Phoma	sp.	1
Phomopsis	sojae Lehman	3
Rhizoctonia	solani Kühn	3
Rhizopus	stolonifer (Ehrenb. ex Fr.) Lind	1
Sclerotium	rolfsii Sacc.	3
Stemphylium	sp.	1
Trichotecium	roseum (Pers.) Link ex Gray	1
Verticillium	sp.	1

(1: Contaminante, 2: Hongo de almacén y 3: Patógeno que causa comúnmente enfermedad en la soya).

De manera coincidente con otros autores (Neergaard, 1979; Richardson, 1979 y 1981, Henning, 1984 y 2003), se registra un conjunto de microorganismos que no merecen atención prioritaria por no ser de importancia económica para el cultivo en el campo o las semillas en almacenamiento, los cuales son señalados como contaminantes y/o saprofitos.

Los daños causados por hongos de almacén representan de manera general un problema económico importante para las semillas de soya en todo el mundo (Lazzari y Barreto, 2003), dado que pueden colonizarlas durante la cosecha, transporte, secado y almacenamiento. Bajo las condiciones de Cuba los hongos más comunes pertenecen a los géneros *Cladosporium* (Fig. 1), *Aspergillus* y *Penicillium*, en orden de incidencia y frecuencia.

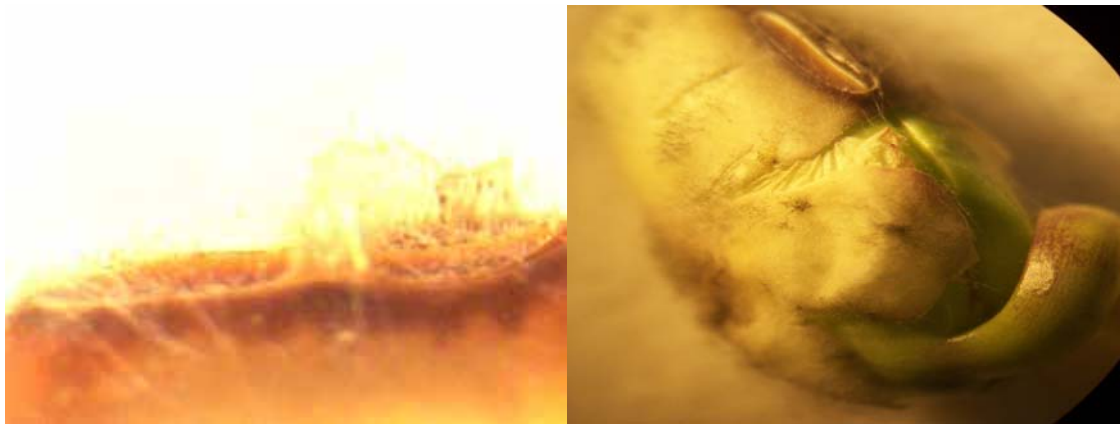


Figura 1. *Cladosporium* sp. alojado en el hilum y sobre la testa.

Los factores principales que favorecen su desarrollo antes y después de la cosecha son la humedad, la temperatura y el tiempo (Krzyzanowski y França Neto, 2003). Humedades superiores a 15 % y temperaturas de 25 a 35° C son ideales para el crecimiento de estos hongos y se presentan de manera común al momento de efectuar la cosecha bajo nuestras condiciones ambientales, aún en los meses de franco invierno, por lo que es probable que la infección se produzca en un corto período. Conocer estas posibilidades es de vital importancia pues entonces es posible predecir problemas futuros y tomar medidas preventivas para contrarrestar los posibles daños.

Diversos patógenos que dañan las plantas de soya durante su crecimiento pueden afectar también la calidad de las semillas, así encontramos con mayor frecuencia *Phomopsis* sp., *Cercospora kikuchii*, *Fusarium* spp. y *Colletotrichum truncatum*, entre otros.

Tal vez uno de los signos mas visibles en las semillas es la mancha púrpura, causada por *Cercospora kikuchii* (Fig. 2), aunque no todas las semillas infectadas presentan las manchas características. El hongo coloniza además vainas, peciolo, tallos y hojas a las que también les confiere dicha coloración y tiende a producir encrespamiento y defoliación al final del ciclo del cultivo, con lo cual reduce la productividad. Sin embargo, la tasa de transmisión del patógeno es bastante baja, por lo que no muestra efecto negativo sobre la calidad de las semillas.

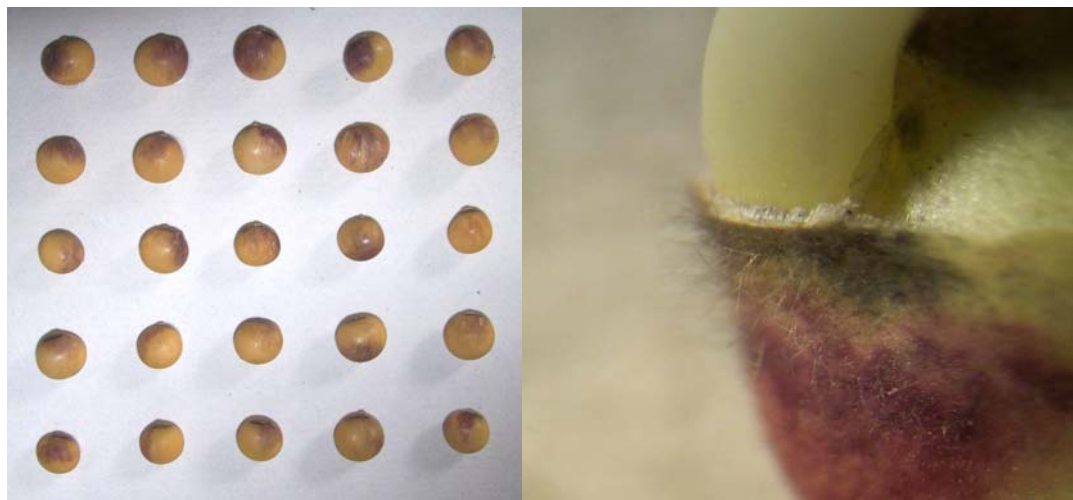


Fig.2. Mancha púrpura y *C. kikuhii* sobre semillas.

También *Cercospora sojina* puede causar lesiones de coloración cenizo – verdosas en el tegumento de las semillas, las cuales se rajan con frecuencia. Es importante la transmisión del hongo a la nueva plantación donde produce la mancha “ojo de rana” en la etapa cercana a la floración, de color castaño - cenizo y bordes enrojecidos, que disminuye área fotosintética activa en la planta.

Por su parte *Phomopsis sojae* (Fig. 3) aparece en la mayor parte de las áreas sembradas de soya sin causar daños sobresalientes al rendimiento, pero es importante en cuanto a la reducción de la calidad de las semillas (Hennings, 2003), particularmente cuando ocurren periodos de lluvias vinculados a altas

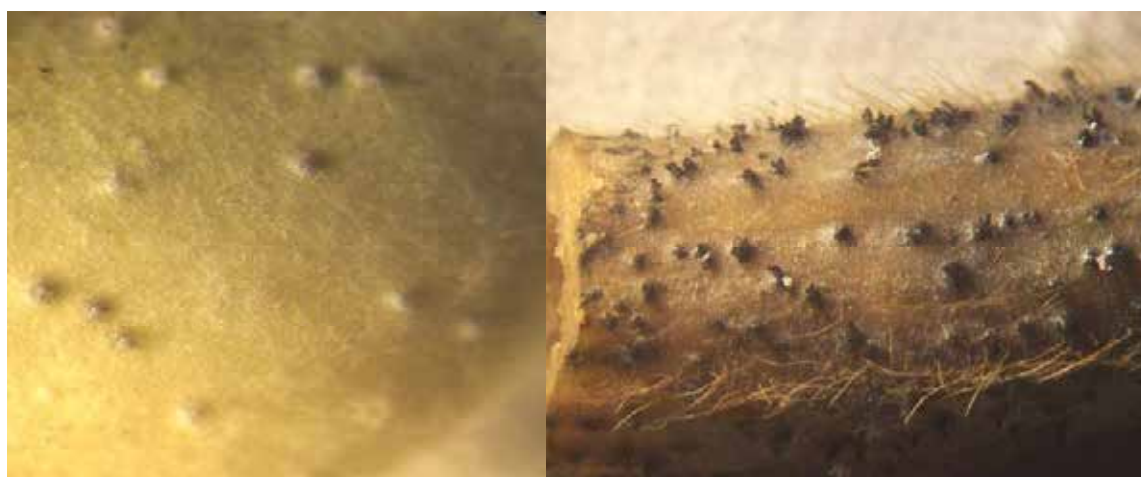


Fig. 3. *Phomopsis sojae* sobre semilla y una porción del tallo

temperaturas en la fase de maduración, lo que es frecuente bajo nuestras condiciones climáticas.

Se pone de manifiesto hacia el final del ciclo de la planta y se caracteriza por la aparición de puntuaciones lineales (picnidios) en los tallos y peciolos; las semillas infectadas muestran después de la incubación un micelio blanco y compacto sobre la superficie, bajo el cual se pueden apreciar los picnidios.

Coincidiendo con varios autores (Neergaard, 1979; Hennings, 2003) consideramos que *Fusarium semitectum*, aun cuando normalmente se le ha dado condición de patógeno débil o saprofítico, asume en este caso categoría de fitopatógeno pues la causa principal de disminución de la germinación en los ensayos de laboratorio. Este hongo encuentra sus mejores oportunidades en las semillas que sufrieron algún grado de deterioro durante las etapas de secado en campo – colecta – procesamiento, así como se destaca en la micoflora que crece sobre las plantas en fase de senescencia. A pesar de que llega a colonizar los cotiledones de las plántulas anormales no produce enfermedad en campo.

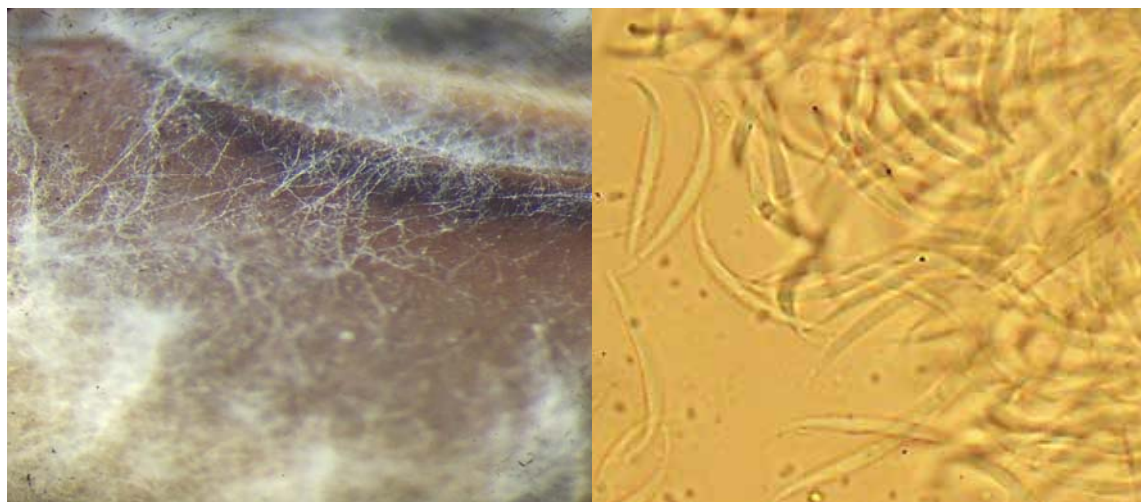


Fig. 4. *Fusarium* spp. sobre semilla y conidios del hongo.

Otras especies de *Fusarium* (*F. equiseti*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum* y *F. solani*) son también importantes pues causan pudriciones de semillas y muerte de las plántulas, pero en inferior magnitud.

La antracnosis, causada principalmente por *Colletotrichum dematium* var. *truncata* (= *C. truncatun*) se manifiesta sobre las semillas como lesiones con puntuaciones negras (acérvulos), en las cuales se observa gran número de setas largas y oscuras (Fig. 5). La enfermedad aparece desde las fases iniciales de desarrollo de la plántula y ataca las hojas, tallos y ramas

con igual sintomatología. De esta manera el hongo puede causar deterioro en las semillas, muerte de plántulas e infección sistémica en planta adultas y se hace patente de manera muy dañina cuando ocurren lluvias, la densidad de la población es excesiva y/o se atrasa la cosecha.



Fig.5. Avérvulos de *C. dematium* y planta invadida por *S. rolfii*.

Otros hongos como *Peronospora manshurica* (moho azul), *Macrophomina phaseolina* (podredumbre negra de las raíces), *Rhizoctonia solani* (damping-off y podredumbre en parches), *Myrothecium roridum* (manchas de Myrothecium), *Corynespora cassiicola* (podredumbre blanca y podredumbre radicular) y *Sclerotium rolfii* (marchitamiento), aparecen eventualmente en semillas, pero no dejan de ser importantes como fuentes de inóculo, de las cuales pueden desarrollarse epifitias bajo condiciones favorables así como afectar desde el ángulo sanitario el suelo.

Al valorar la frecuencia con que se presentan los hongos en las muestras (Tabla 2) se encontró que entre los contaminantes y/o saprofitos se destacaron los del género *Cladosporium* hasta en el 90 % de los lotes sometidos a análisis, con independencia del nivel de germinación de las semillas. En orden descendente le siguieron los géneros *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Rhizopus*. Aunque todas las cifras registradas excedieron el 50 % del total, lo común en todos estos microorganismos es que siempre fue mayor el número de muestras contaminadas si la germinación era inferior a 85 %.

Por lo general *Cladosporium* se encontró de manera preferente en el hilum de las semillas (Fig. 1), pero también otros hongos encuentran albergue en ese sitio, lo cual debe ser tomado en cuenta para las tácticas de acondicionamiento de semillas.

Tabla 2. Porcentajes de muestras afectadas por hongos (frecuencia).

GERMINACIÓN HONGOS	> 85 % (100 muestras)	< 85 % (40 muestras)	Total (140 muestras)
<i>Alternaria</i> spp.	80,0	78,0	78,5
<i>Aspergillus</i> spp.	77,5	56,0	62,1
<i>Cladosporium</i> sp.	90,0	82,0	84,3
<i>Penicillium</i> spp.	77,5	61,0	65,7
<i>Rhizopus</i> sp.	42,5	32,0	34,3
<i>Cercospora kikuchii</i>	15,0	49,0	39,3
<i>Colletotrichum dematium</i>	40,0	20,0	25,7
<i>Fusarium semitectum</i>	92,5	88,0	89,3
<i>Fusarium</i> spp.	40,0	44,0	50,0
<i>Macrophomina phaseolina</i>	0,5	9,0	6,4
<i>Phomopsis sojae</i>	42,5	17,0	24,3

Por otra parte, entre los hongos que causan daños directamente en semillas o en el cultivo subsecuente se destacan los del genero *Fusarium* y en orden decreciente le siguen *Cercospora kikuchii*, *Colletotrichum truncatum* y *Phomopsis sojae*, con los cuales el número de muestras afectadas tiende a ser mayor cuando la germinacion esta por debajo de 85 %, a excepción del caso de

Cercospora kikuchii que decrece cuando es baja la germinación, probablemente debido a que el hongo tiende a ser enmascarado por otros microorganismos de crecimiento más explosivo. De todas maneras, los porcentajes de muestras en que aparecen son altos y llevan a pensar que aún bajo las condiciones de invierno en esta área geográfica, existen factores favorables para el desarrollo de las enfermedades fungosas.

En lo que respecta a la incidencia (Tabla 3), en ambos grupos de germinacion se mantienen en buena medida las proporciones en que aparecen los hongos; los que atacan durante almacenamiento y/o son saprofiticos (*Alternaria* y *Aspergillus*), aparecen en porcentajes similares, así también de los hongos parasiticos *C. kikuchii*, *C. dematium* y *M. phaseolina*

alcanzaron valores muy cercanos en ambos grupos, independientemente de la calidad germinativa de las muestras.

Tabla 3. Porcentajes de infección (incidencia) promedio de patógenos.

GERMINACIÓN HONGOS	> 85 % (40 muestras)	< 85 % (40 muestras)
<i>Alternaria</i> spp.	3,0	2,3
<i>Aspergillus</i> spp.	5,4	5,5
<i>Cladosporium</i> sp.	38,8	61,1
<i>Penicillium</i> spp.	15,8	7,5
<i>Rhizopus</i> sp.	3,7	0,9
<i>Cercospora kikuchii</i>	2,1	1,9
<i>Colletotrichum dematium</i>	0,8	0,8
<i>Fusarium semitectum</i>	11,4	2,9
<i>Fusarium</i> spp.	3,5	0,7
<i>Macrophomina phaseolina</i>	0,08	0,06
<i>Peronospora manshurica</i>	2,5	0,08
<i>Phomopsis sojae</i>	3,7	1,7

Por su parte *Penicillium* y *Rhizopus* se duplican en las muestras que tienen peor germinación, mientras que por el contrario *Cladosporium*, hongo importante de almacén, decrece de manera ostensible en esas mismas muestras. En las semillas, al igual que en el suelo, se hace mas drástica la lucha por la subsistencia y tienden a predominar en un período dado aquellos microorganismos mejor dotados para luchar por el sustrato, bien sea por preponderancia (*Rhizopus*) o por antibiosis (*Penicillium*), lo cual puede ser una explicación a lo ocurrido.

Mas aún, los hongos géneros *Peronospora*, *Phomopsis* y *Fusarium* se incrementan en las semillas de menos de 85 % de germinación, con particular importancia para este último, entre los que se destaca *F. semitectum*, el cual es considerado en la semilla de soya como el hongo que produce mayor número de pudriciones, lo cual puede estar relacionado con afectaciones físicas (estrías, arrugamientos generales o en el lado opuesto al hilum, cansancio físico de los tegumentos), que se producen por alta temperatura y alta humedad al final del ciclo del cultivo (Hernández y col., 2009), así como producto del ataque de insectos.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En la microflora epifítica albergada en semillas de soya producidas en Cuba fueron diagnosticados 32 géneros y 30 especies de hongos.

Entre estos hongos se distinguen aquellos que pueden tener repercusión económica al afectar semillas almacenadas, en la fase de germinación o en el cultivo en crecimiento, a diferencia de los que son simplemente contaminantes.

Son potencialmente peligrosos los hongos de los géneros *Botryodiplodia*, *Cercospora*, *Colletotrichum*, *Corynespora*, *Fusarium*, *Macrophomina*, *Myrothecium*, *Peronospora*, *Phomopsis*, *Rhizoctonia* y *Sclerotium*, los cuales deben ser vigilados, pues a partir del inoculo presente puede surgir una epifitía en cuanto las condiciones les sean favorables.

Los organismos saprofiticos o parasíticos débiles aparecen en más del 50 % de las muestras evaluadas, independientemente de su calidad germinativa, mientras que aquellos potencialmente peligrosos si bien no alcanzan esa magnitud son encontrados en porcentajes altos.

Respecto a la incidencia se destacan hongos como *Cladosporium* (importante en almacenamiento) y *Fusarium* (importante en la fase germinativa), que tienden a estar favorecidos por factores climáticos desfavorables del área geográfica, aún en condiciones invernales.

La producción de semillas bajo condiciones climáticas tropicales requiere del empleo de medidas especiales, por ello, a partir de los resultados obtenidos, sería conveniente la realización de ensayos para el control o disminución del inoculo alojado en semillas, mediante tratamientos con sustancias fungicidas bien en precosecha o bien presiembra, de manera que se garantice el mejor estado sanitario posible.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ellis, M. B. (1971): Dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey. England. 698 pp.
- Ellis, M. B. (1976): More dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey. England. 507 pp.
- Hanlin, R. T. y O. Tortoler (1995): Géneros ilustrados de Ascomycetes. Ed. Botánica S, A. Barquisimeto. Venezuela. 279 pp. ISBN 87 –7026 – 3175.
- Henning, A. A. (1984): Patología de semillas. Diagnostico completo de qualidade de semente de soja. EMBRAPA-CNPSO. Londrina. Circular Tecnica No. 9. pg. 44 – 52.

- Henning, A. A.(2003): Patologia de sementes. Novas Tecnologías em Sementes. Encontro Tecnico N0. 6. COODETEC. Bayer Crop Science. Cascavel. Brasil. Pg. 90 – 110.
- Hernández, Y.; J. Fresneda y J. R. Sánchez, (2009): Valoración de la calidad de semillas de 6 variedades de soya [*Glycine max* (L.) Merr.]. Resúmenes. XII Jornada Científica del INIFAT.
- Krzyzanowski, F. C. y J. B. França Neto (2003): Agregando valor á sementes atraves do controle de qualidade. Novas Tecnologías em Sementes. Encontro Tecnico N0. 6. COODETEC. Bayer Crop Science. Cascavel. Brasil, 77 – 89.
- Lazzari, F. A. y F. A. Barreto (2003): Influencia do teor de umidade e da tempertura na qualidade fisiologica de sementes de soja. Novas Tecnologías em Sementes. Encontro Tecnico N0. 6. COODETEC. Bayer Crop Science. Cascavel. Brasil, 70 – 76.
- Mathur, S. B. y O. Kongsdal (2003): Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi. International Seed Testing Association (ISTA). First Edition. Danish Government International Seed Pathology Institute for Underdeveloped Countries, Copenhagen, Denmark 425 pp.
- Mathur, S. B., M. Njala y O. Kongsdal (2003): An illustrated handbook on normal and abnormal seedlings of tropical and subtropical crops. Danish Government International Seed Pathology Institute for Underdeveloped Countries, Copenhagen, Denmark. 101 pp.
- Neergaard, P. (1979): Seed pathology. 2nd. Edition. London, England. The McMillan Press Association. II Vol. 11 pp.
- Richardson, M. J. (1979): An annotated list of seed-borne diseases. 3rd. Edition, Kew, Surrey. England. Commonwealth Mycological Institute, 320 pag.
- Richardson, M. J. (1981): Supplement to an annotated list of seed-borne diseases. 3rd. Edition. Zurich. International Seed Testing Association. 78 pp.
- Singh, K.: J. C. Frisvad, U. Thrane y S. B. Mathur (1991): An illustrated manual on identification of some seed-borne Aspergilli, Fusaria, Penicillia and their mycotoxins, Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries. Copenhagen. Denmark. 132 pp.