

# CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA MICROFLORA EN SEMILLA DE

## Phaseolus vulgaris L.

C. DIAZ POLANCO\*

### INTRODUCCION

Muchos hongos y bacterias fitopatógenicos se transmiten por vía de la semilla. En caraotas (Phaseolus vulgaris) podemos citar entre muchos otros a Macrophomina phaseoli, Rhizoctonia solani e Isariopsis griseola (1, 10, 11, 14). La transmisión por semilla de estos hongos ha sido comprobada ampliamente bajo condiciones venezolanas (4, 8).

Algunos microorganismos patógenos y saprófitos, se pueden encontrar sólo en la superficie de la semilla, mezclados con residuos vegetales o suelo, tal es el caso de Fusarium solani f sp. phaseoli (13). Existen otros organismos que se encuentran en tejidos internos de la semilla y forman allí, no la asociación casual de los contaminantes externos, sino una relación más estrecha y por lo tanto mucho más peligrosa (1, 3, 16).

La mayoría de los organismos que han sido detectados sobre la semilla y aún en los tejidos interiores, son saprófitos. La presencia de estas poblaciones en tejidos de semilla certificada, parece indicar que forman parte de la microflora normal de la semilla (17, 18). Sin embargo, formando parte de esta microflora, pueden encontrarse también organismos patógenicos, los cuales causan daños considerables, tanto por reducir el rendimiento de los frutos atacados (número de granos por fruto), como por reducir el % de germinación de la semilla y también porque afectan el desarrollo de las plántulas que logran germinar (1, 2, 18).

En semilla almacenada, algunos de estos hongos y bacterias, aún no siendo patógenos, podrían contribuir a las bajas en % de germinación que comúnmente se aprecian cuando el período de almacenamiento es prolongado. Este efecto es sin duda mucho más grave en semilla que presente daños o resquebrajaduras en la cobertura infligidas durante el manejo del material (12).

Aquellos organismos que se encuentran en la parte exterior de la semilla, son fácilmente eliminables mediante tratamientos de la

\* Centro de Investigaciones Agronómicas. Maracaay, Venezuela.

superficie. Un problema mucho más grave se presenta con los que se encuentran establecidos en los tejidos internos del grano. Algunos intentos iniciales con diferentes tratamientos para eliminar o disminuir la densidad de estas poblaciones, han producido efectos de tridentes, ya que los tratamientos disminuían la viabilidad de la semilla (9).

Poca atención se ha prestado en Venezuela a este tema, tal vez por la falta de que se demuestre, sin lugar a dudas, el efecto de tridente que ocasionan algunos de estos microorganismos sobre la reserva nutritiva de la semilla y sobre la viabilidad del embrión.

Estos dos factores afectan no sólo la densidad de la población de plantas en una siembra agrícola, sino también el vigor y por lo tanto, el crecimiento inicial de las plántulas.

Este trabajo versa sobre tipos de organismos localizados en diferentes tejidos de semilla de (Phaseolus vulgaris) caraota venezolana. Intentamos atraer la atención de los profesionales sobre la necesidad de un control fitosanitario más estricto y cuidadoso en la producción de semilla certificada.

#### MATERIALES Y METODOS

Se tomaron lotes de semilla de caraota negra de diferentes variedades y procedencias; los detalles al respecto se dan a continuación:

<u>Lote No.</u>	<u>Variedad</u>	<u>Procedencia, Año</u>
I	Cubagua	Campo C.I.A., Maracay 1969. Campo con alta incidencia (70-75%) de <u>Rhizoctonia solani</u> .
II	Cubagua	Semilla certificada (ALGUSA) Vega del Orinoco (Cabruta), 1968.
III	Cubagua	Semilla registrada C.I.A., Maracay 1969.
IV	Coche	Semilla genética C.I.A., Maracay 1969.

En cada lote se separó la semilla con síntomas "anormales" evidentes de aquella aparentemente sana, tomándose datos por separado sobre peso, sintomatología y aspecto fitosanitario.

Se practicaron cultivos monocelulares, mediante selección de la célula apical del hifa, solo en aquellos aislamientos que se utilizaron posteriormente para pruebas de patogenicidad.

Por lo general, el total de microorganismos no es altamente diferente entre muestras de semilla sana y de semilla con síntomas. Una excepción notable es el caso del lote I, en donde la semilla con síntomas tiene 32% más organismos que la semilla sana. Son especialmente interesantes en ese material, la alta incidencia de Rhizoctonia solani y la ausencia de bacterias del género Pseudomonas en semillas con síntomas, (cuadro 3).

Cuadro 3. Abundancia de microorganismos aislados de semilla de Phaseolus vulgaris L. a/

Lote	Semilla	Fusa- riumb/ Fusarium	Hongos sapró- fitos c/ Fitos	I.gri- seola I. griseola	R.so- lani R. solani	M.pha- seoli M. phaseoli	Pseu- domo- nas Pseudomonas	Bacte- rias no identif. Bacterias no identificadas
I	Sanas	22	1	2	0	2	9	8
	con síntomas	29	1	1	34	1	0	12
II	Sanas	14	7	0	0	1	9	17
	Con síntomas	18	4	0	1	0	7	16
III	Sanas	15	3	2	0	0	5	14
	Con síntomas	9	6	2	4	0	6	15
IV	Sanas	12	11	1	0	0	10	14
	Con síntomas	10	4	0	0	1	8	12

a/ Las cifras expresan porcentajes promedios de aislamientos obtenidos de 150 semillas sanas y 150 con síntomas por cada lote.

b/ La columna de Fusarium incluye formas de las especies F. oxysporium, F. roseum, F. solani y algunos aislamientos sin identificar a especie.

c/ La columna de hongos sopráfitos incluye aislamientos de los géneros Aspergillus, Curvularia, Mucor, Rhizopus y Stemphilium Además de algunos hongos que no pudieron ser identificados a género.

Podemos apreciar que diferentes hongos tiende a poblar diferentes tejidos de la semilla (Cuadro 4). Notamos que especies de género Fusarium se concentran en el integumento superficial (i), hilum (H) y en los cotiledones (C). F. oxysporium y Fusarium sp. se encuentran en lesiones cotiledonares (LC) y superficiales (Li) de la semilla, siempre en asociación con daños causados por Rhizoctonia solani.

Otros hongos saprófitos se aislaron en la mayoría de los casos del integumento superficial y del hilum del material muestreado, aunque se encontraron en algunos casos asociados a lesiones en el integumento superficial y en los cotiledones (Li y LC respectivamente). Al patógeno Isariopsis griseola no se le encontró en semilla procedente de las vegas del Orinoco (Lote II), aislándose el organismo de los otros lotes muestreados. Este hongo se localiza en el integumento (i) e hilum (H) de la semilla en forma de esporas sin germinar o recién germinada, pero sin causar necrosis del tejido.

Macrophomina phaseoli se localizó en cotiledones y embriones casi siempre asociado con daños leves, que presentan una coloración amarillenta o crema, la cual a veces podría pasar desapercibida, ya que el hongo no causa síntomas apreciables en el integumento exterior de la semilla.

Rhizoctonia solani se encontró con mayor frecuencia en daños externos o en lesiones cotiledonares. En muchos casos, los daños externos están relacionados con la infección de cotiledón, y con frecuencia se apreciaron incrustaciones miceliales de tipo esclerótico de R. solani, sobre el integumento exterior de la semilla. En algunas oportunidades, estas lesiones exteriores se extendían a los tejidos cotiledonares (Cuadro 4). Se comprobó la patogenicidad sobre plántulas de los aislamientos de Rhizoctonia solani, Macrophomina phaseoli, Isariopsis griseola.

Pruebas de patogenicidad realizadas con 3 aislamientos del género Pseudomonas, 2 aislamientos de bacterias no identificadas, así como 2 de Fusarium oxysporium y 1 de F. roseum dieron resultados negativos.

De 3 aislamientos de Fusarium solani probados sobre plántulas de caraota, 1 resultó ser patogénico.

Cuadro 4

Localización de Microorganismos en Diferentes

Tejidos de la Semilla 1/

	L O T E S							
	I		II		III		IV	
	con santo	mas	con santo	mas	con santo	mas	con santo	mas
<u>Aspergillus</u> spp.	-	-	i	-	-	LC	i,H	i
<u>Curvularia</u> spp	-	i	-	-	i	i	-	-
<u>Fusarium oxysporium</u>	i	i,LC, Li	i,H	H,LC	i	i	i,H	-
<u>Fusarium roseum</u>	C	-	-	-	-	-	C,H	i
<u>F. solani</u>	I,H	H	i	H,LC	i,H	-	-	-
<u>Fusarium</u> spp.	i	LC,i	i	-	i	-	i,H	i
<u>Isariopsis gri- seola</u>	i,C	H	-	-	i,H	H	H	-
<u>Macrophomina phaseoli</u>	C, LC	LE	LC	-	-	-	-	LE
<u>Mucor</u> spp.	i,H	-	-	i	-	-	i,H	H
<u>Penicillium</u> sp	-	-	i,C,H	-	-	-	-	-
<u>Pseudomonas</u> spp.	i,H,C	-	i,C	i,H	i,H	i	i,C	i,H
<u>Rhizoctonia solani</u>	-	i,C, LC,Li	-	LC	-	LC, Li,i	-	-
<u>Rhizopus</u> spp.	-	H	i	-	-	i	i	-
<u>Stemphilium</u> sp.	-	-	-	C,H	-	-	-	-
Bacterias no Identificadas	i,H	LC,i	i,H,C	i,LC	i,C,H	LC,Li	H,C	i,C
Hongos no iden- tificados	-	Li	i,H	-	-	LC	i,H	i

1/ Los símbolos utilizados significan lo siguiente:

- i = Integumento superficial pigmentado de la semilla.
- C = Cotiledón
- H = Hilum
- E = Embrión
- L = Precediendo alguna de las letras anteriores, indica presencia de lesiones necróticas.

## D I S C U S I O N

Los síntomas externos observados en la semilla, especialmente incrustaciones miceliarias externas, lesiones producidas por hundimientos y coloración anormal del integumento, están asociados a la presencia de Rhizoctonia solani.

Debe notarse que la actividad saprofitica en tejido previamente necrosado por Rhizoctonia solani, es desempeñada por la acción de especies del género Fusarium. Correspondiendo a mayor abundancia de biotipos de este género, la menor actividad de otros hongos y bacterias saprofiticos. Esto parece indicar que la sucesión ecológica del tejido invadido por Rhizoctonia solani, está íntimamente ligada a la actividad de especies del género Fusarium, especialmente a formas saprofiticas de F. oxysporium.

Los aislamientos de bacterias fluorescentes saprofiticas del género Pseudomonas por lo contrario, según se observó en experimentos iniciales, poseen cierta actividad fungistática con respecto a los aislamientos de Rhizoctonia solani. Este hecho podría explicar su ausencia de semilla con alta densidad de población de Rhizoctonia.

Existen variaciones en cuanto a poblaciones de microorganismos y la zona geográfica de donde provienen los lotes de semilla muestreada. Esto es especialmente importante en lo relativo a patógenos.

Isariopsis griseola pudo aislarse de todos los lotes, excepto del correspondiente a la semilla proveniente de Cabruta, (Orinoco) encontrándose en dicho lote una baja densidad de población de Rhizoctonia solani y Macrophomina solani (1%). Estos resultados parecen indicar que las condiciones ecológicas y climatológicas de esa región del Orinoco, no favorecen -a lo menos por ahora- la proliferación de patógenos del follaje tan típicamente característico de la zona central del país, aunque sí permiten la subsistencia de poblaciones bajas de patógenos facultativos que comúnmente habitan el suelo.

Existen pruebas de que estas poblaciones permanecerán bajas en el futuro, cuando aumenten tanto el tráfico de semillas como la superficie dedicada al cultivo.

Especial cuidado deberá tenerse con Macrophomina phaseoli, un patógeno facultativo habitante de ciertos nichos específicos en la microflora del suelo, transmisible por semillas en donde puede no causar síntomas apreciables, abundante en zonas secas

y en siembras bajo riego, polífago entre cuyos hospedantes están tanto la caraota como el algodón y que por estas razones, podría adquirir importancia en la región de Cabruta con el correr del tiempo.

En este sentido, se recomienda un control fitosanitario cuidadoso sobre la semilla, que procediendo de otros lugares, vaya a introducirse en el área de las vegas del Orinoco. Esta sería una medida profiláctica, tendiente a preservar la zona del Orinoco, libre de problemas fitopatológicos graves por mayor tiempo.

Por otra parte Rhizoctonia solani, quien tiene en lo relativo a hospedantes y supervivencia en el suelo ciertas semejanzas a Macrophomina phaseoli, prolifera con mayor éxito bajo condiciones de alta humedad ambiental, lo cual determina que las posibilidades de su diseminación exitosa en la zona del Orinoco, sean probablemente menores que las de M. phaseoli. Aún así, la introducción en la zona de poblaciones moderadas de ambos patógenos, contribuiría a aumentar la diseminación de ellos. Sugerimos muestreo fitopatológico previo de la semilla que va a ser utilizada en el Orinoco, o usar en siembras futuras, parte de la semilla anteriormente producida allí.

#### R E S U M E N

Aislamientos practicados de semilla "certificada" o registrada de caraotas (Phaseolus vulgaris L.) procedentes del centro del país y de las vegas inundables del Orinoco (Cabruta), indicaron ciertas diferencias en cuanto a poblaciones componentes de la microflora de la semilla.

Se da información con respecto a la localización de algunos microorganismos en diferentes partes morfológicas de la semilla muestreada, determinándose además que ciertas formas del género Fusarium, participan activamente en la sucesión ecológica de tejidos de semilla, previamente invadidos por Rhizoctonia solani.

En lo relativo a Cabruta, se ofrece aquí información objetiva que tiende a confirmar lo adecuado del uso del área geográfica mencionada, como zona productora de semilla certificada. Esta zona posee condiciones ecológicas que favorecen en estos momentos, la producción de semilla fitosanitariamente aceptable para tal denominación.

Existe allí sin embargo, el peligro de la diseminación de Macrophomina phaseoli; en este trabajo se dan recomendaciones que tienden a preservar esa zona del Orinoco, libre de problemas fitopatológicos por mayor tiempo.

BIBLIOGRAFIA

1. ANDRUS, C.F. Seed transmission of Macrophomina phaseoli Phytopathology 28: 620-634, 1938.
2. CHORIN, M. y HALFON. - Meiri - Losses caused by Rhizoctonia solani borne on bean seed. Plant Disease Report 46-790-791, 1962.
3. CROSIER, W.F.; NATTI, J.J. y D.C. CROSIER. Occurrence of Rhizoctonia spp. in seed of small grams and other plant. Phytopathology 57:808 (resumen), 1967.
4. DIAZ POLANCO, C.; E. DE ARMAS y A. BARRIOS. La mancha angular de la caraota, producida por Isariopsis griseola en la cuenca del Lago de Valencia. Agr. Tropical 14: 261-275, 1965.
5. ----- Cercospora kekuchii, nuevo patógeno de la soya en Venezuela. Agron. Trop. 16: 213-221, 1966.
6. ----- y J. RENAUD C. Hongos transmitibles por semilla en leguminosas. V Seminario Panamericano de Semillas, Documentos 2a. Parte Maracay, 1966.
7. ----- Formas de Fusarium sp. presentes en semilla de Phaseolus vulgaris y Glycine max en Venezuela. VI Reunión de la Soc. Am. de Fitopatología, Sec. del Caribe. Compendios pag. 27. Maracay, 1966.
8. ----- Virulencia de Cepas de Rhizoctonia solani obtenidos de semilla de caraotas (P. vulgaris) Agronomía Tropical 18: 475-479, 1968.
9. GONZALEZ, J.A. y J. RENAUD C. Pruebas de desinfección de semillas de caraotas. Jornadas Agronómicas, 1968.
10. KENDRIK, J.B. Seed transmission of Fusarium Yellows of beans. Phytopathology 24:1139, 1942.
11. LEACH, CHARLES y M. PIERPOINT. Seed transmission of Rhizoctonia solani in Phaseolus vulgaris y P. lunatus. Plant Disease Reporter, 40:907, 1956.

12. LOPEZ, L.C. y C.M. CHRISTENZEN. Invasion of and damage to bean seed by storage fungi. Plant disease Reporter 46: 785-789, 1962.
13. NASH, SHIRLEY y W.C. SNYDER. Dissemination of the root-rot Fusarium with bean seed. Phytopathology 54: 880, 1964.
14. OROZCO SARRIA, S.H. y C. CARDONA A. Evidence of seed transmission of angular leaf spot of bean. Phytopathology 43: 159, 1959.
15. RODRIGUEZ LANDAETA, A. Análisis y Certificación Fitopatológica de semillas. Revista de la Facultad de Agronomía (Maracay) 4: 29-66, 1968.
16. SAKSTON, W.R. Sclerotium bataticola on cowpea seed (Vigna sinensis). Plant Disease Reprtr. 53: 438-439, 1969.
17. SCHARATHOST, W.C. y H.J. WALTERS. Microorganisms on seeds and plants of certified beans. Phytopathology 43: 483, 1953.
18. ----- Bacteria and fungi in seeds and plants of certified bean varieties. Phytopathology 44: 588-592, 1954.

RRG