

**DETECCIÓN Y DIAGNÓSTICO DE PATÓGENOS  
ASOCIADOS A LA SEMILLA DE SOJA**

***(Glycine Max (L.) Merrill)***

**Sr. Bruni Francisco**

**Tutor: Ing. Agr. Guillermo G. Cordes**

AREA DE CONSOLIDACIÓN

SISTEMAS AGRÍCOLAS DE PRODUCCIÓN EXTENSIVOS

2015

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA.

## **Resumen**

En el presente trabajo, diferentes muestras de semillas de soja de la provincia de Córdoba fueron evaluadas mediante un ensayo de Blotter test. Se identificaron los distintos patógenos asociados a la semilla y mediante un análisis estadístico se correlacionó la frecuencia de estos patógenos y su efecto sobre el número de plántulas normales. Para finalizar, se muestran los resultados obtenidos.

### **Palabras Clave:**

Soja - Semilla de soja - Blotter test – Patógenos.

## Introducción

El cultivo de soja protagonizó a partir de 1970 una fuerte expansión que modificó profundamente la estructura de la producción agropecuaria y agroindustrial argentina. La cadena agroalimentaria de esta oleaginosa se ha proyectado como uno de los sectores más dinámicos y pujantes de la economía nacional, siendo hoy el principal cultivo en nuestro país con 20 millones de hectáreas sembradas y rendimientos promedios que superan los 27 qq/ha (SIIA, 2014). La Argentina es el primer exportador mundial de aceites y de harina de soja y el tercer exportador de grano.

En cuanto a la producción regional, la provincia de Córdoba presenta una gran superficie dedicada al cultivo de soja, ubicándose por detrás de Buenos Aires, con más de 5 millones de hectáreas sembradas y 15 millones de toneladas producidas (SIIA, 2014).

El potencial de rendimiento de este cultivo está influenciado por distintos factores como material genético, condiciones edafoclimáticas y manejo de organismos perjudiciales; estos últimos pueden producir mermas significativas en el rendimiento que deben ser contrarrestadas para aumentar la productividad.

Dentro de los organismos dañinos, las enfermedades constituyen uno de los principales factores limitantes del cultivo de soja ya que disminuyen tanto el rendimiento como la calidad de semilla (Prioletta, 2014).

El inóculo portado por las semillas puede dar origen a un progresivo desarrollo de la enfermedad en el campo y reducir así el valor comercial del cultivo, y si el lote de semillas es importado de otros lugares pueden introducir enfermedades en nuevas áreas, facilitando la dispersión de la enfermedad. Asimismo, la uniformidad en el material genético utilizado en Argentina predispone la ocurrencia de epifitias. (Universidad Nacional de Luján, 2015).

La semilla es considerada el insumo más importante en el ciclo productivo de un cultivo y su calidad está dada por los componentes físicos, fisiológicos, genéticos y sanitarios de la misma. Estos atributos son los que determinan la eficiencia de la semilla a campo, por lo que las medidas de manejo deben hacer foco en el cuidado de estos aspectos: la fiscalización y certificación

sanitaria de semillas, la selección de semillas que no presenten daño mecánico ni patógenos, rotación de cultivos, nutrición adecuada, uso de fungicidas y la regulación de la sembradora (densidad y profundidad de siembra); todos influyen y tienen como objetivo evitar la transmisión de los patógenos de la semilla a los órganos aéreos y disminuir el ataque de hongos presentes en el suelo.

La infección de la semilla puede provenir del lote, transporte o almacenamiento; y la misma puede ubicarse sobre o dentro de esta. Wan Zainun Nik (1980) reportó como principales patógenos que afectan a la soja a los siguientes hongos: *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum dematium*, *Diaporthe phaseolorum*, *Choanephora cucurbitarum*, *Fusarium equiseti*, *F. fusarioides*, *F. moniliforme*, *F. semitectum*, *Macrophomina phaseolina*, *Myrothecium roridum* y *Phoma sorghina*. Asimismo del proceso de identificación de microorganismos asociados a la semilla aislados: *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Nigrospora*, *odulisporium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Trichoderma* y *Zygosporium*.

Sinclair y Backman (1989) indicaron como géneros de patógenos de relevancia en semilla de soja a: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cercospora*, *Chaetomium*, *Choanephora*, *Cladosporium*, *Diplodia*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Pestalotia*, *Pythium*, *Rhizopus*, *Sclerotinia* y *Thielavia*.

De acuerdo a lo mencionado es importante determinar e identificar los patógenos asociados a la semilla de soja y evaluar la influencia y su efecto sobre la germinación, ya que estos son responsables de disminuir tanto la germinación como el vigor, repercutiendo en el número final de plantas establecidas.

## **Hipótesis**

La presencia de patógenos asociados a la semilla de soja afecta la germinación de la misma.

## **Objetivo**

- Determinar la presencia de patógenos en la semilla de soja.
- Correlacionar la presencia de microorganismos en la semilla de soja con el número de plántulas normales.

## Materiales y métodos

En el ensayo se utilizó semilla de soja de la variedad N5009 de Nidera, de mayor difusión en el mercado. Se utilizaron 31 muestras de semilla de diferentes lotes de producción de la provincia de Córdoba (Tabla 1), con diferente porcentaje de poder germinativo (PG) (94 a 58%). Estas fueron obtenidas del archivo de muestras del Laboratorio de Semilla de la EEA INTA Manfredi (RNCyFS 708/I).

Tabla 1. Listado de muestras de semilla de soja con los resultados del análisis de poder germinativo (PG) utilizados en el ensayo, provistas por la EEA INTA Manfredi

Muestra	Variedad	Origen	Resultados		
			Normales	Anormales	Muertas
D 37	N 5009	Oncativo	94	3	3
D 92	N 5009	Oliva	93	3	4
D 10	N 5009	Oncativo	92	3	5
D 139	N 5009	Córdoba	91	3	6
D 109	N 5009	Oncativo	90	3	7
D 30	N 5009	Oncativo	89	4	7
D 80	N 5009	Oliva	89	3	8
D 49	N 5009	Oliva	88	5	7
D 122	N 5009	Oncativo	88	4	8
D 140	N 5009	Córdoba	87	5	8
D 152	N 5009	Colazo	87	5	8
D 24	N 5009	Oncativo	86	5	9
D 143	N 5009	Córdoba	86	5	9
D 149	N 5009	Oliva	86	5	9
D 127	N 5009	Oncativo	85	5	10
D 161	N 5009	Colonia Garzón	85	5	10
D 51	N 5009	Oncativo	83	6	11
D 137	N 5009	Oliva	83	6	11
D 141	N 5009	Matorrales	83	7	10
D 27	N 5009	Oliva	82	5	13
D 176	N 5009	Oncativo	82	7	11
D 124	N 5009	Oncativo	76	10	14
D 23	N 5009	Oncativo	74	10	16
D 147	N 5009	Oliva	73	8	19
D 166	N 5009	Oncativo	73	8	19
D 146	N 5009	Oncativo	72	16	12
D 130	N 5009	Oncativo	70	10	20
D 129	N 5009	Oliva	69	7	24
D 131	N 5009	Oncativo	68	13	19
D 22	N 5009	Oncativo	64	6	30
D 25	N 5009	Oncativo	58	10	32

Para el análisis sanitario, se siguieron los lineamientos determinados por ISTA para evaluar la calidad sanitaria de semillas, realizando un Blotter test

(International Seed Testing Association, 2003). Este constó de 2 tratamientos, uno con desinfección previa de las semillas con hipoclorito de sodio al 1% y otro sin desinfección de la misma. En cada tratamiento se efectuaron 3 repeticiones de 100 semillas.

Se hicieron lecturas periódicas para determinar la presencia de patógenos, discriminando en primera instancia entre bacterias y hongos. Ante la presencia de hongos se procedió a la identificación de los mismos a nivel de género mediante la observación de la sintomatología y signo.

En aquellos patógenos que no fue posible su determinación mediante el síntoma y signo en el Blotter test, se realizaron aislamientos para corroborar y determinar con exactitud el género al que pertenecen. Es importante destacar que tanto en el momento del armado de los Blotter test como en la identificación de patógenos, se trabajó bajo condiciones de asepsia.

Para el proceso de determinación de patógenos asociados a la semilla se utilizó el siguiente instrumental:

- Lupas y microscopios
- Agujas y pinzas histológicas
- Cajas de Petri, cubre y portaobjetos
- Bolsas, bandejas y servilletas esterilizadas
- Hipoclorito de sodio al 1%

Todas las variables evaluadas fueron analizadas por medio del análisis de varianza utilizando el programa InfoStat (2011). Se probaron los supuestos del ANOVA y la distribución normal de las variables a través de la prueba de Shapiro-Wilks (modificado). Para la determinación del efecto de los microorganismos encontrados sobre la semilla se realizó el Análisis de correlación de Pearson.

## Resultados

Del análisis de la varianza, ANOVA, (Tabla 2) se observó que hubo diferencias significativas entre las distintas muestras de semillas, respecto al poder germinativo. En el caso de las muestras que fueron desinfectadas, el Poder germinativo se situó entre 57,33% y 96,67%; mientras que en aquellas donde no se desinfectó la semilla el poder germinativo se ubicó entre 40% y 96,67%.

Tabla 2. Resultado del Análisis de la varianza de ensayo de poder germinativo para muestras de soja.

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Poder Germinativo	186	0,69	0,52	13,12

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	32149,44	63	510,31	4,21	<0,0001
Muestra	31952,97	61	523,82	4,32	<0,0001
Rep.	196,46	2	98,23	0,81	0,4468
Error	14776,2	122	121,12		
Total	46925,64	185			

Respecto a la determinación de microorganismos asociados a la semilla tanto en los tratamientos que se realizó la desinfección como en los que no se desinfectó, se encontraron: bacterias, *Alternaria spp.*, *Aspergillus spp.*, *Cercospora kikuchii*, *Cladosporium spp.*, *Fusarium spp.*, *Phoma spp.*, *Phomopsis spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Epicoccum spp.*, *Helminthosporium spp.* Mientras que en los tratamientos sin desinfección de semilla además se encontraron *Rhizopus spp.*, *Penicillium spp.*, *Acremonium spp.* y *Trichoderma spp.*

En los tratamientos en los que se utilizó el hipoclorito de sodio, los patógenos más frecuentes fueron *Fusarium spp.* (Foto 1), *Rhizoctonia spp.*(Foto 2), *Cercospora kikuchii* y las bacterias.



Foto 1. Fotografía obtenida con microscopio de luz donde se observan conidios de *Fusarium* sobre semilla de soja

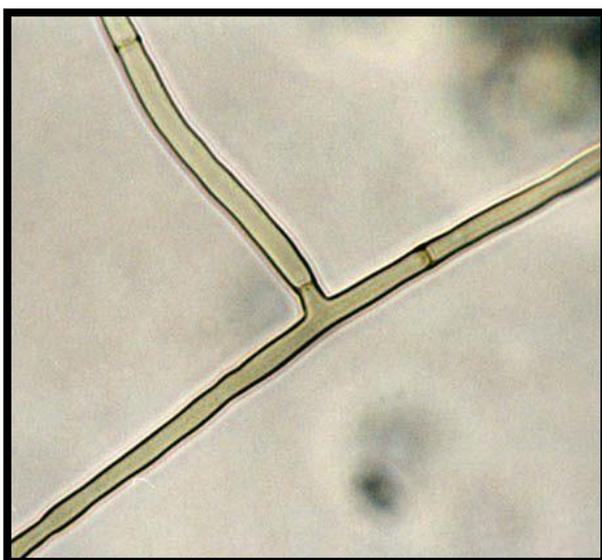


Foto 2. Hifa característica de *Rhizoctonia* (foto de otra autoría)

En 26 de los 31 lotes analizados se encontró *Fusarium spp* (83.87%), *Rhizoctonia spp* apareció en 28 lotes (90.32%) y *Cercospora kikuchii* (Foto 3) se observó en el 77,42% de las muestras (24 de 31).



Foto 3. Semilla de soja con la típica coloración púrpura de *Cercospora kikuchii*

Para el caso de bacterias, la presencia de las mismas fue del 90.32%, estando presente en 28 de las muestras analizadas (Foto 4).



Foto 4. Bacteriosis húmeda con zooglyphs características sobre semilla de soja (foto de otra autoría)

No obstante, en aquellos tratamientos en los que no se desinfectó la semilla, se presentaron en mayor número *Rhizopus spp.* (Foto 5), *Aspergillus spp.* (Foto 6) y *Fusarium spp.* Se contabilizaron 24 muestras que presentaron

*Rhizopus spp.* (74.42%), 27 muestras para *Aspergillus spp* (87.09%) y 29 muestras para *Fusarium spp.* (93.54%).

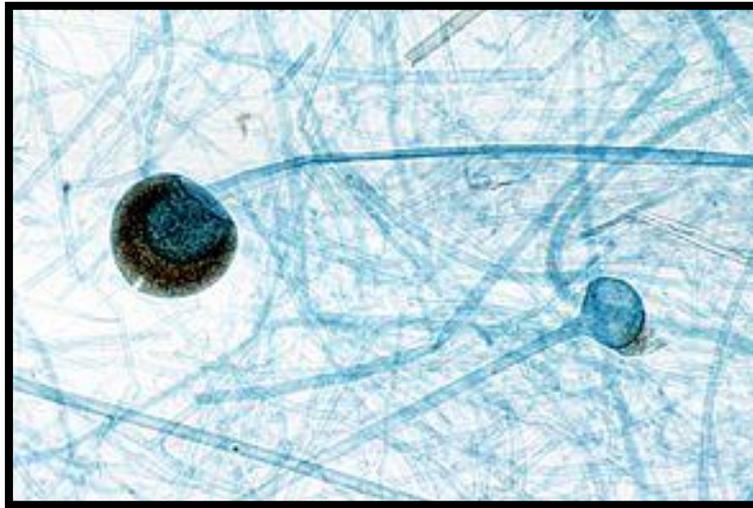


Foto 5. Esporangio de *Rhizopus* conteniendo esporas

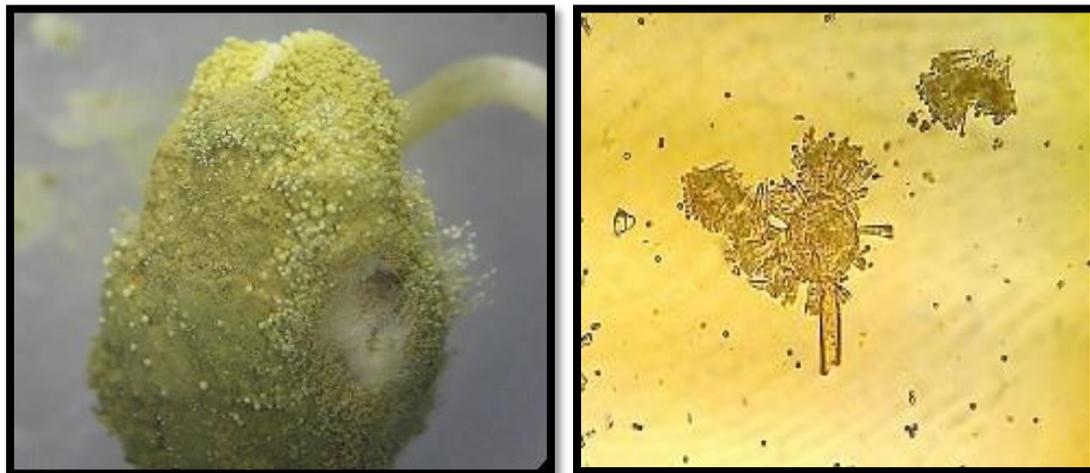


Foto 3. Fotografía de lupa donde se observa una semilla de soja colonizada completamente por *Aspergillus* (izquierda) y fotografía con microscopio electrónico de esporas del mismo género (derecha)

Del análisis de correlación entre las variables de presencia de patógenos y la variable número de plántulas normales, para ambos tratamientos (con desinfección previa y sin desinfección), se observaron valores de correlación negativa altamente significativa para *Fusarium spp* y la presencia de bacterias, arrojando valores de -0.58 y -0.33 respectivamente (Tabla 3.)

Tabla 3. Análisis de correlación entre el N° de plántulas normales y la presencia de patógenos en semilla de soja

Variable	Variable	Pearson	p-valor
Número de Plántulas Normales	<b><i>Fusarium spp.</i></b>	<b>-0,58</b>	<b>&lt;0,0001</b>
	<b>Bacteriosis</b>	<b>-0,33</b>	<b>&lt;0,0001</b>
	<i>Alternartia spp.</i>	-0,03	0,6094
	<i>Aspergillus spp.</i>	0,07	0,3295
	<i>Cercospora kikuchii</i>	-0,06	0,3873
	<i>Cladosporium spp.</i>	0	0,9537
	<i>Phoma spp.</i>	-0,02	0,6967
	<i>Phomopsis spp.</i>	-0,15	0,0325
	<i>Rhizoctonia spp.</i>	0,03	0,6344
	<i>Epicoccum spp.</i>	0,07	0,3215
	<i>Helminthosporium spp.</i>	0,03	0,5934

Realizando el análisis de correlación entre la variable número de plántulas normales y la variable presencia de patógenos, en los tratamientos con desinfección de semillas, *Fusarium spp.* y los géneros bacterianos nuevamente se correlacionaron negativamente y altamente significativamente con el número de plántulas normales (-0.63 y -0.52) . La presencia de *Phoma spp.* y *Alternaria spp.* presentaron una baja correlación negativa con el número de plántulas normales. Esta ultima correlación es significativa al p-valor <0.05. (Tabla 4.)

Tabla 4. Análisis de correlación entre el N° de plántulas normales y la presencia de patógenos en semilla de soja con tratamiento de hipoclorito de sodio al 1%.

Variable	Variable	Pearson	p-valor
Numero de Plántulas Normales	<b><i>Fusarium spp.</i></b>	<b>-0,63</b>	<b>&lt;0,0001</b>
	<b>Bacteriosis</b>	<b>-0,52</b>	<b>&lt;0,0001</b>
	<b><i>Alternaria spp.</i></b>	<b>-0,26</b>	<b>0,0111</b>
	<i>Aspergillus spp.</i>	-0,05	0,6144
	<i>Cercospora kikuchii</i>	-0,08	0,4508
	<i>Cladosporium spp.</i>	0	>0,9999
	<b><i>Phoma spp.</i></b>	<b>-0,23</b>	<b>0,0299</b>
	<i>Phomopsis spp.</i>	-0,13	0,2113
	<i>Rhizoctonia spp.</i>	-0,12	0,2592
	<i>Epicoccum spp.</i>	0,14	0,1968
	<i>Helminthosporium spp.</i>	-0,09	0,3898

Al realizar el análisis de correlación para los tratamientos sin desinfección previa de la semilla, *Fusarium spp.*, *Rhizopus spp.* y las bacterias presentaron correlaciones negativas altamente significativas con el número de plántulas normales (-0.57, -0.55 y -0.37 respectivamente). Asimismo *Penicillium*, se correlacionó de manera negativa con el número de plántulas normales, con menor índice de correlación y menor significancia respecto a los géneros anteriormente mencionados (p-valor <0.05). (Tabla 5.)

Tabla 5. Análisis de correlación entre el N° de plántulas normales y la presencia de patógenos en semilla de soja sin tratamiento.

Variable	Variables	Pearson	p-valor
Numero de Plántulas Normales	<b><i>Fusarium spp.</i></b>	<b>-0,57</b>	<b>&lt;0,0001</b>
	<b>Bacteriosis</b>	<b>-0,37</b>	<b>0,0002</b>
	<b><i>Rhizopus spp.</i></b>	<b>-0,55</b>	<b>&lt;0,0001</b>
	<i>Aspergillus spp.</i>	0,22	0,0309
	<i>Cercospora kikuchii</i>	-0,05	0,6083
	<i>Cladosporium spp.</i>	0,02	0,8604
	<i>Phoma spp.</i>	0,05	0,6422
	<i>Phomopsis spp.</i>	-0,14	0,1729
	<i>Rhizoctonia spp.</i>	0,03	0,7674
	<i>Epicoccum spp.</i>	0	>0,9999
	<i>Helminthosporium spp.</i>	0,08	0,467
	<i>Alternaria spp.</i>	0,07	0,4896
	<b><i>Penicillium spp.</i></b>	<b>-0,24</b>	<b>0,0191</b>
	<i>Acremonium spp.</i>	0	>0,9999
	<i>Trichoderma spp.</i>	0	>0,9999

La correlación entre la presencia de bacterias y el número de plántulas normales aumentó con la desinfección de semillas casi en un 30%. De manera similar, la correlación entre *Fusarium spp.* y número de plántulas normales aumentó con la desinfección de semilla, pero su incremento fue menor. En lo que respecta a *Rhizopus spp.*, este patógeno no tuvo incidencia en el número de plántulas normales cuando la semilla fue desinfectada. Entonces, se podría suponer que tanto las bacterias como *Fusarium spp.*, se ven favorecidos por la desinfección de semillas, ya que no tienen que competir con otros patógenos para lograr colonizar la semilla.

## Conclusiones

La mayoría de los microorganismos identificados en la semilla de soja en ambos tratamientos son considerados patógenos de importancia en el cultivo, algunos produciendo mayores daños que otros.

De los microorganismos encontrados en asociación con la semilla, sólo presentaron efecto negativo y significativo sobre el número de plantas normales *Fusarium spp.*, *Rhizopus spp.* y las bacterias cuando la semilla no fue desinfectada previamente. Sin embargo, cuando la semilla se desinfectó, solamente *Fusarium spp.* y las bacterias presentaron correlación negativa con el número de plántulas normales. Esto indica claramente que *Rhizopus spp.* se encontró por fuera de la semilla mientras que *Fusarium spp.* y las bacterias tienen que estar infectando a la misma.

La aparición del resto de los patógenos mencionados, a pesar de no tener efecto sobre el número de plantas normales, es importante debido a que son fuente de inóculo en la producción de enfermedades con incidencia en el rendimiento.

Sería conveniente continuar con el diagnóstico y detección de patógenos en semilla de soja para obtener mayor información respecto a cuáles son los patógenos más perjudiciales y frecuentes, y así aplicar diferentes acciones de manejo que permitan disminuir la incidencia de estos, permitiendo reducir los problemas en la germinación de la semilla y además conseguir una mayor productividad en esta oleaginosa.

## **Agradecimientos**

A los integrantes del laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba Ing. Agr. Cordes Guillermo, Ing. Agr. Perez Alejandro, Sr. Fessia Alfredo, Sra Magnino Laura, Ing. Agr. Morano Gonzalo, por formar parte de este trabajo a lo largo de todo su trayecto.

## Bibliografía

- InfoStat. 2011. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- International rules for seed testing. 2003. I.S.T.A.(International Seed Testing Association). Zurich, Suiza.
- Fessia, A. 2015. Guía para la identificación de enfermedades de Sorgo, Maíz, Avena, Cebada, Centeno, Trigo y otras variedades de interés económico.
- Prioletta, S M. 2014. Enfermedades de las semillas en Soja. INTA Barrow. Disponible en:  
<http://inta.gob.ar/documentos/enfermedades-en-las-semillas-de-soja-1/> (en línea). Consultado 01/07/2015
- Sinclair, J. B., and Backman, P.A. 1989. Compendium of Soybean Diseases. 3rd ed. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. 106 pp.
- Sistema Integrado de Información Agropecuaria (SIIA) 2014. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Presidencia de la Nación. Disponible en:  
<http://www.sii.gov.ar/apps/sii/estimaciones/estima2.php> (en línea). Consultado 20/06/2015)
- Universidad Nacional de Luján. 2015. Patología Vegetal - Enfermedades en Semilla de Soja. Disponible en:  
<http://www.patologiavegetal.unlu.edu.ar/?q=node/46> (en línea). Consultado 10/06/2015
- Wan Zainun Nik. 1980. Seed-borne Fungi of Soybean (Glycine Max (L.) Merrill) and their control. Disponible en:  
<http://psasir.upm.edu.my> (en línea). Consultado 12/06/2015