

**UNIVERSIDAD FEDERAL DE PELOTAS**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL**  
**PROGRAMA DE POS-GRADUACIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE**  
**SEMILLAS**



**Disertación**

**Detección e Identificación de Patógenos en Semillas de Soja**

**Diana Soledad Bado Esquivel**

**Pelotas, 2017**

**Diana Soledad Bado Esquivel**

**Detección e identificación de patógenos en semillas de soja**

Disertación presentada al Programa de Pos-Graduación en Ciencia y Tecnología de Semillas de la Universidad Federal de Pelotas, como parte de las exigencias, para obtención del título de Máster Profesional.

Orientador: Ing. Agr. Dr. Géri Eduardo Meneghello  
Co-Orientador: Ing. Agr. Dra. Vanessa Nogueira Soares

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

E74d Esquivel, Diana Soledad Bado

Detecção e identificação de patógenos em sementes de soja / Diana Soledad Bado Esquivel ; Géri Eduardo Meneghello, orientador ; Vanessa Nogueira Soares, coorientadora. — Pelotas, 2017.

37 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Glycine max. 2. Fungos. 3. Germinação. 4. Bacterias. I. Meneghello, Géri Eduardo, orient. II. Soares, Vanessa Nogueira, coorient. III. Título.

CDD : 631.521

Diana Soledad Bado Esquivel

Detección e Identificación De Patógenos En Semillas De Soja

Disertación presentada, como un requisito parcial, para obtención del título de Máster Profesional, Pos-Graduación en Ciencia y Tecnología de Semillas, Facultad de Agronomía Eliseu Maciel, Universidad Federal de Pelotas.

Fecha defensa: julio de 2017

---

Ing. Agr. Dr. Géri Eduardo Meneghello  
(FAEM/UFPel)

---

Prof. Dr. Francisco Amaral Villela  
(FAEM/UFPel)

---

Prof. Dr. Tiago Zanatta Aumonde  
(FAEM/UFPel)

---

Dr. André de Oliveira Mendonça  
(FAEM/UFPel)

## DEDICATORIA

*A Dios*

*Por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.*

*A mis padres*

*Por acompañarme durante todo este arduo camino. Gracias a su sabiduría influyeron en mi la madurez para lograr todos los objetivos en la vida, es para ustedes esta tesis en agradecimiento por estar siempre conmigo.*

*Mis hijos, Alejandro y Emanuel*

*Por ser los pilares de mi vida el cual me motivan a seguir adelante.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Federal de Pelotas por aceptarme como alumna en su universidad.

A la Fundación Pro Sementes.

APROSEMP, por darme la oportunidad de brindarme apoyo para realizar esta maestría a través de convenios para profesionales de esta área.

INBIO, por aportar en esta maestría.

A mi orientador Geri Eduardo Meneghello.

A mis compañeros por ayudarme en todo momento.

A la Ing. Agrop. Marta Fernández, por su ayuda para que esta tesis pueda hacerse realidad.

A la Lic. Patricia Rodríguez por su apoyo incondicional.

## RESUMEN

BADO ESQUIVEL, Diana Soledad. **Detección e Identificación de Patógenos en Semillas de Soja.** 2017. Disertación (Máster ) – Programa de Pos-Graduación en Ciencia y Tecnología de Semillas, Facultad de Agronomía Eliseu Maciel, Universidad Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

La producción de soja ha cambiado completamente la agricultura paraguaya, en las dos últimas décadas y es uno de los cultivos de mayor importancia a nivel mundial por su gran cantidad de usos, derivado de su alto contenido de proteína y cantidad de aceite. Las enfermedades constituyen uno de los principales factores limitantes del cultivo de soja ya que disminuyen tanto el rendimiento como la calidad de las semillas. El objetivo del trabajo fue identificar patógenos asociado a las semillas de soja. La evaluación se realizó sobre semilla de cinco variedades de soja. Las semillas fueron sembradas en medio de cultivo PDA previa desinfección con hipoclorito de sodio al 1% y como testigo fue utilizada semilla sin desinfectar. Los microorganismos identificados en las muestras de semillas analizadas para ambos niveles de desinfección fueron: *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Cercospora* sp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., y bacterias. Mientras que en los tratamientos sin desinfectar se encontró *Trichoderma* spp. El porcentaje de germinación no dependieron de la presencia de patógenos en esas semillas, sino que del poder germinativo de las mismas.

**Palabras clave:** Patógeno, hongos, germinación, bacterias.

## RESUMO

BADO ESQUIVEI, Diana Soledad. **Detecção e Identificação de Patógenos em Sementes de Soja** 2017. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

A produção de soja mudou completamente a agricultura paraguaia nas últimas décadas. É um dos cultivos de maior importância em nível mundial em razão das diversas possibilidades de utilizações, em função do alto conteúdo de proteína e óleo nos grãos. Porém, as doenças se constituem em um dos principais fatores limitantes do cultivo de soja, pois diminuem tanto o rendimento como a qualidade das sementes. O objetivo do trabalho foi identificar os principais patógenos associados às sementes de soja. A avaliação foi realizada em sementes de cinco variedades de soja. As sementes foram semeadas em meio de PDA, previamente desinfestados com hipoclorito de sódio, na concentração de 1%, e como testemunha foi utilizada semente sem desinfetar. Os microrganismos identificados nas amostras de sementes analisadas para ambos os níveis de desinfecção foram: *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Cercospora* sp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., e bactérias. Nas amostras sem desinfecção de sementes também foi encontrado *Trichoderma* spp. A percentagem de germinação variou de zero a 0 a 100 %. Esta variação mostrou não ser dependente da presença de patógenos nas sementes, mas sim do poder germinativo das mesmas.

**Palabras clave:** *Glycine max*, fungos, germinação, bactérias.

## ABSTRACT

Bado Esquivel, Diana Soledad. **Detection and Identification of Pathogens in Soybean Seeds** 2017. Thesis (Master Degree in Seed Science and Technology) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017..

Soybean production has completely changed Paraguayan agriculture in recent decades. It is one of the most important crops in the world due to the diverse possibilities of uses, due to the high content of protein, and oil in the grains. However, diseases constitute one of the main limiting factors of soybean cultivation, since they decrease both yield and seed quality. The objective of this study was to identify the main pathogens associated with soybean seeds. The evaluation was carried out on seeds of five soybean varieties. Seeds were sown in PDA medium previously disinfected with 1% sodium hypochlorite, and non-disinfected seeds were used as a control. The microorganisms identified in the seed samples analyzed for both disinfection levels were: *Fusarium* spp., *Alternaria* sp., *Cercospora* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., and bacteria. In the samples without seed disinfection, *Trichoderma* sp. The percentage of germination ranged from zero to 0 to 100%. This variation was not dependent on the presence of pathogens in the seeds, but rather on the seeds germinative potential.

**Keywords:** *Glycine max*, hongos, germination, bacteria.

## LISTA DE ILUSTRACIÓN

**Ilustración 1.** Mapa de Paraguay: Porcentaje de área de soja por departamento 15

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Incidencia de <i>Fusarium</i> spp. en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfestación con NaClO.....	20
<b>Tabla 2.</b> Incidencia de <i>Alternaria</i> spp. en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfestación con NaClO.....	21
<b>Tabla 3.</b> Incidencia de <i>Cercospora</i> spp. en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfestación con NaClO.....	21
<b>Tabla 4.</b> Incidencia de <i>Aspergillus</i> spp. en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfestación con NaClO.....	22
<b>Tabla 5.</b> Incidencia de <i>Penicillium</i> spp. en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfestación con NaClO.....	23
<b>Tabla 6.</b> Incidencia de <i>Trichoderma</i> spp. en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfestación con NaClO.....	24
<b>Tabla 7.</b> Incidencia de Bacteriosis en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfestación con NaClO. ....	25
<b>Tabla 8.</b> Incidencia de infección múltiple en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfestación con NaClO.....	25
<b>Tabla 9.</b> Germinación en semillas de 5 variedades de soja.....	27

## SUMARIO

1. INTRODUCCIÓN .....	12
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	14
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	17
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
4.1. Patógenos Identificados en la Semilla de Soja .....	19
4.1.1. Hongos de Campo .....	19
4.1.2. Hongos de Almacén .....	22
4.1.3. Bacteriosis e Infección Múltiple .....	24
4.2. Germinación de las Semillas .....	26
5. CONSIDERACIONES FINALES .....	28
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	29
APÉNDICE	

## 1. INTRODUCCIÓN

La extraordinaria expansión de la producción de soja en los últimos años ha cambiado globalmente la agricultura y ha tenido un fuerte impacto en los mercados internacionales de productos agrícolas. Paraguay es el cuarto exportador más grande de soja, después Argentina, Estados Unidos y Brasil, y es el sexto productor de esta oleaginosa. Exporta casi toda su producción, más del 70% lo vende en granos, y el resto lo hace en forma de aceite o harina, siendo sus mayores mercados la Unión Europea, Rusia, Turquía y Brasil, para granos. Los derivados como aceite y pellets, se exportan a países de Sudamérica y Asia. La soja pasó a ser el primer producto de exportación del país reemplazando al algodón y a la carne, y es el producto agrícola que genera más ingresos (IICA, 2017).

El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) previó un incremento del 1 % para el ciclo agrícola 2016/17 con una superficie total de producción de soja de 3,34 millones de hectáreas, respecto a la estimación del 2015/2016. Este incremento es marginal ya que se ha maximizado el área de producción en los principales departamentos productores del Paraguay (Itapúa, Alto Paraná, Canindeyú y Caaguazú. Hoy en día, el potencial de expansión de área se concentra en el departamento de San Pedro junto con Cordillera y Concepción (USDA, 2017).

Las enfermedades constituyen uno de los principales factores limitantes del cultivo de soja ya que disminuyen tanto el rendimiento como la calidad de las semillas. Más de 40 bacterias, hongos y virus pueden infestar a la semilla de soja en el mundo, sin embargo, son los hongos los principales causantes del deterioro de la semilla (WANG et al., 2004; IVANCOVICH; LAVILLA, 2015).

El daño por hongos ocurren con mayor frecuencia en climas cálidos y húmedos, así como con el retraso de la cosecha, teniendo un impacto devastador en la calidad y uso final de la soja (WANG et al., 2004).

Los principales hongos de campo asociados a la semilla de soja son: *Alternaria* spp., *Cercospora kikuchii*, *Cercospora sojina*, *Colletotrichum trumcatum*, Complejo *Diaporthe-Phomopsis sojiae*, *Fusarium* spp., *Peronospora*

*manshurica.*, *Macrophomina phaseolina* (NIK; ZAINUN, 1980; IVANCOVICH; LAVILLA, 2015).

En otros estudios, en semillas de soja, también fueron encontrados por NIK; ZAINUN (1980) y SHO VAN et al. (2008) fueron: *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Nigrospora*, *Nodulisporium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Curvularia*, *Trichoderma* y *Zygosporium*.

Existe otro grupo de hongos, principalmente especies del género *Aspergillus* y *Penicilium*, que incrementan su población durante el almacenamiento si las condiciones ambientales son favorables. Ambos géneros pueden producir micotoxinas que son nocivas para los seres humanos, y en animales reducen la palatabilidad, pudiendo causar diversos trastornos orgánicos, hasta incluso la muerte (SHOVAN et al.,2008; UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJÁN, 2015).

El objetivo de este trabajo fue detectar e identificar patógenos en semillas de soja con y sin desinfección, provenientes de variedades evaluadas dentro del programa de mejoramiento de soja del Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El cultivo de soja es uno de los cultivos de mayor importancia a nivel mundial por su gran cantidad de usos, derivado de su alto contenido de proteína (38 %) y cantidad de aceite (18 %). Hoy en día, la mayoría de las sojas del mundo son procesadas o trituradas como harina de soja y aceite, sin embargo, se estima que apenas el 2% de la producción es consumida directamente por los seres humanos como alimento (OCHOA et al., 2011; HARTMAN et al., 2011).

La producción de soja ha cambiado completamente la agricultura paraguaya, en las dos últimas décadas. El área dedicada a este cultivo se ha triplicado, creciendo constantemente a una tasa promedio de 6 % al año. Actualmente cubre el 80% de las tierras agrícolas, de las cuales, se estima que el 75 % de la tierra cultivada es propiedad de los productores mientras que el 25 % de la tierra se alquila (USDA, 2015).

Durante el ciclo agrícola 2014/2015, la superficie sembrada en Paraguay fue de 3,26 millones de hectárea, 8,15 millones de toneladas métricas de producción y un rendimiento 2,50 toneladas métricas por hectárea, sin embargo, para el año 2015/2016 datos preliminares arrojaron una superficie sembrada de 3,3 millones de hectárea, 9,2 millones de toneladas métricas de producción y un rendimiento de 2,8 toneladas métricas por hectárea, así mismo para el 2016/2017 se proyecta una superficie sembrada de 3,46 millones de hectárea, 9,17 millones de toneladas métricas de producción y un rendimiento 2,65 toneladas métricas por hectárea (USDA, 2017).

La zona de producción agrícola se encuentra ubicada principalmente en el este y sureste de Paraguay (Figura 1), en todos los departamentos al este del río Paraguay (USDA, 2015).



**Ilustración 1.** Mapa de Paraguay: Porcentaje de área de soja por departamento

Los patógenos transmitidos por semillas representan una amenaza grave para el establecimiento de las plántulas. Se ha reportado que más de 40 especies de hongos fitopatógenos, bacterias y virus pueden infectar a la semilla de soja causando diversas enfermedades, dando lugar a importantes pérdidas económicas, reduciendo el rendimiento y deteriorando la calidad de las semillas (WALCOTT, 2003; MEDIC-PAP et al., 2007).

Dentro del complejo de patógenos que presenta la semilla de soja, los hongos son los más importantes por las enfermedades que causan al cultivo. Los principales patógenos que afectan a la calidad de la semilla son: *Phomopsis* spp., *Colletotrichum dematium* var. *truncatan*, *Cercospora kikuchii*, *Cercospora sojina*, *Peronospora manshurica*, *Sclerotinia sclerotium*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium* spp. (EMBRAPA, 1995; SILLON, 2016). Otros géneros fúngicos de menor importancia y que también se encuentra pero en menor

frecuencia en la semilla de soja son *Rhizopus* spp., *Cladosporium* spp., *Alternaria* spp., *Rhizoctonia* spp., *Curvularia* spp. (SILLON; MUÑOZ, 2011).

Las principales causas de la disminución de la germinación durante el almacenamiento, además del deterioro fisiológico, son los efectos adversos provocados por los hongos del género *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. (EMBRAPA, 1995).

Estos hongos pueden causar pérdidas de rendimiento y/o disminución de la calidad comercial del grano. Además, si la semilla infectado se destina a nuevas siembras, los resultados serán lotes con un menor número de plantas y/o con plantas débiles que luego toleran menos la acción de otros patógenos o los efectos de factores ambientales adversos.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Semillas del Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria (IPTA) ubicado en el Distrito de Capitán Miranda Departamento de Itapúa. El periodo de ejecución fue entre los meses de noviembre del 2016 hasta febrero de 2017.

Se utilizaron semillas de soja correspondiente a cinco variedades: A - 4910, A - 59, Aurora, SOJAPAR R19 y R24, procedentes del Programa de Mejoramiento de Soja del IPTA – Capitán Miranda. Las semillas fueron desinfestadas con una solución de NaClO al 1% durante un minuto, posteriormente enjuagadas 3 veces con agua destilada estéril y secadas sobre papel filtro estéril; mientras que otro grupo de semillas no fueron desinfestadas. Fueron sembradas 10 semillas por placa Petri sobre medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) siguiendo la metodología descrita por el ISTA 1966 y NASIR, 2003.

Las placas se incubaron a 25 ° C ( $\pm$  2 ° C) en ciclo alterno de 12 horas luz/oscuridad durante 5-7 días (RATHOD et al., 2012; NASIR, 2003).

Se cuantificó el número de semillas infectadas por patógenos y el porcentaje de germinación de las semillas.

**Incidencia de Patógeno** = (Numero de semillas infectadas / Numero de semillas sembradas)\*100

**Porcentaje de Germinación** = (semillas germinado / número total de semillas en prueba) \*100

La identificación se realizó a nivel de género considerando algunas características morfológicas como coloración y tipo de crecimiento micelial en el medio de cultivo PDA, así como la forma de los conidios usando un microscopio compuesto a una magnificación de 40X.

El ensayo fue realizado bajo un diseño completamente al azar en arreglo factorial con 10 tratamientos que incluyeron a cinco variedades de soja y dos niveles de desinfestación correspondientes a semillas desinfestadas y sin

desinfestar. Los datos obtenidos fueron analizados mediante análisis de varianza y las medias comparadas con la prueba de Tukey al 5 % utilizando el programa estadístico InfoStat.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Patógenos Identificados en la Semilla de Soja

Los patógenos identificados en semillas de soja tanto sin desinfestar como desinfestadas fueron: *Fusarium* spp, *Alternaria* spp, *Cercospora* sp., *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp., y bacterias (Apéndice 1 a, b, c, d, e y g). En el caso del género *Trichoderma* spp., este solo se presentó en semillas sin desinfestar en la variedad R-19 (Apéndice 1 f). En otros casos, se observó infecciones causadas por dos o más patógenos, a las cuales se le denominó como infecciones múltiples. Los géneros identificados fueron divididos en tres grupos, los cuales se presenta a continuación:

#### 4.1.1. Hongos de Campo

En las tablas 1,2 y 3 se presentan la incidencia de *Fusarium* spp, *Alternaria* spp. y *Cercospora* sp. en semillas de cinco variedades de soja. Para la incidencia de *Fusarium* sp. se observa diferencias altamente significativas (5%) para los factores variedad, desinfección y la interacción variedad por desinfección.

Para el factor variedad la similar incidencia se presentó para la variedad R-19 que no difería del A – 59 con desinfestación de semillas con un 15,00 y A-4910 no difería de R 24 sin desinfestar con 42,5% de incidencia. Para el factor desinfección, los valores más altos correspondieron a los tratamientos sin desinfestación de semillas en comparación con el tratamiento con desinfestación que tuvieron los valores más bajos.

**Tabla 1.** Incidencia de *Fusarium* spp. en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfestación con NaClO.

Cultivar	Desinfestación		Média
	Con	Sin	
A-59	7,5 abA	0,0 cA	3,75
A-4910	0,0 bB	42,5 aA	21,25
Aurora	0,0 bB	10,0 bcA	5,00
R-19	15,0 aA	12,5 bcA	13,75
R-24	0,0 bB	26,8 abA	13,40
Média	4,50	18,36	
CV (%)		52,72	
Causas de Variación	GL	Valor de F calculado	Prob(F)
Variedad	4	4,56	**
Desinfección	1	21,26	**
Var. x Desinf.	4	9,56	**
Error	27	-	

\*Medias seguidas de la misma letra, minúscula en las columnas y mayúsculas en la línea, no difieren entre sí al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

\*\* Significativo al 5%

Para la incidencia de *Alternaria* spp. se observaron diferencias significativas para los factores variedad y desinfestación, no se observó diferencias significativas para la interacción (Tabla 2). Para el factor variedad, la mayor incidencia se presentó en la variedad R-19, sin embargo no hubo diferencias significativas entre las demás variedades. Para el factor desinfestación, los valores más altos correspondieron a los tratamientos sin desinfestación .

En el caso de *Cercospora* sp para el factor variedad los valores más altos corresponden a la variedad R-19, no habiendo diferencias entre las demás variedades.

**Tabla 2.** Incidencia de *Alternaria* spp. en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfestación con NaClO.

Cultivar	Desinfestación		Média
	Con	Sin	
A-59	7,50	27,50 ns	17,50 b
A-4910	0,00	37,50	18,75 b
Aurora	7,50	17,50	12,50 b
R-19	40,00	67,50	53,75 a
R-24	0,00	40,00	20,00 b
Média	11,00 B	38,00 A	
CV (%)		34,91	
Causas de Variación	GL	Valor de F calculado	Prob(F)
FC variedad	4	11,18	**
FC desinfección	1	37,00	**
FC var. x desinf.	4	1,57	
Error	27	-	

\*Medias seguidas de la misma letra, minúscula en las columnas y mayúsculas en la línea, no difieren entre sí al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

\*\* Significativo al 5%, ns: no significativo

Los hongos que se presentan con mayor incidencia y prevalencia en las semillas de soja son *Fusarium* spp., *Phomopsis* spp. y *Cercospora kikuchii* y son los principales causantes de la reducción en la germinación (INIA, 2016).

Es importante mencionar que dichos hongos detienen su actividad cuando la semilla se almacena, ya que necesitan cerca del 95% de humedad relativa del aire para desarrollarse (RUBIO, 1996 citado por INIA 2016).

**Tabla 3.** Incidencia de *Cercospora* spp. en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfestación con NaClO.

Cultivar	Desinfestación		Média
	Con	Sin	
A-59	0,00	0,00 ns	0,00 b
A-4910	0,00	0,00	0,00 b
Aurora	0,00	0,00	0,00 b
R-19	15,00	5,00	10,00 a
R-24	0,00	0,00	0,00 b
Média	3,00	0,00	

#### 4.1.2. Hongos de Almacén

En las tablas 4 y 5 se presenta la incidencia causada por los hongos de almacenamiento en semillas de cinco variedades de soja. Para los tres hongos identificados, *Aspergillus* spp y *Penicillium* spp, se observa diferencias significativas (5%) para el factor variedad, se observa diferencias para los factores desinfestación y la interacción (Tabla 3, 4 y 5). Para *Trichoderma* spp no hubo efecto significativo para ni uno de los dos factores.

Para el género *Aspergillus* spp., la mayor incidencia se presentó en la variedad Aurora con un 51,25 %, que no difirió de A-59 (50%) con desinfestación. (Tabla 4) sin embargo no hubo diferencias significativas entre las demás variedades. En el caso de *Penicillium* spp., la mayor incidencia se registró en la variedad A-59 con un 17,5 %, al igual que para *Aspergillus*, no se observa diferencias para las demás variedades (Tabla 5).

Para el caso de *Trichoderma* spp., este género solo fue observado en la variedad R-19 con el tratamiento sin desinfestación superficial de semillas con NaClO con un 10 % de incidencia (Tabla 6).

**Tabla 4.** Incidencia de *Aspergillus* spp. en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfestación con NaClO.

Cultivar	Desinfestación		Média
	Con	Sin	
A-59	50,00	37,00	43,50 a
A-4910	0,00	7,50	3,75 b
Aurora	52,50	50,00	51,25 a
R-19	15,00	0,00	7,50 b
R-24	0,00	6,75	3,38 b
Média	23,50	20,25	
CV (%)		43,94	
Causas de Variación	GL	Valor de F calculado	Prob(F)
FC variedad	4	17,00	**
FC desinfección	1	0,38	
FC var. x desinf.	4	0,84	
Error	27	-	

\*Medias seguidas de la misma letra minúscula en las columnas y mayúsculas en la línea, no difieren entre sí al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

\*\* Significativo al 5%, ns: no significativo

Este género se ha venido estudiado por muchos años por su capacidad como agente de control biológico de otros géneros fúngicos como: *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium* spp., *Pythium* spp., entre otros (ELAD et al., 1980; CHET; BAKER, 1981; SIVAN et al., 1987; HOWELL, 2002) y sus propiedades antagonistas se basan en la activación de múltiples mecanismos de acción que incluyen la competencia por el sustrato, antibiosis, parasitismo e inducción de resistencia sistémica en las plantas (BENÍTEZ et al., 2004; KUMAR et al., 2005; DJONOVIC et al., 2006). Su presencia en semillas resultaría benéfica, ya que disminuiría la presencia de hongos patógenos, especialmente las de suelo.

**Tabla 5.** Incidencia de *Penicillium* spp. en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfección con NaClO.

Cultivar	Desinfección		Média
	Con	Sin	
A-59	10,00	25,00 a	17,50 a
A-4910	0,00	0,00 b	0,00 b
Aurora	0,00	2,50 b	1,25 b
R-19	7,50	0,00 b	3,75 b
R-24	0,00	6,67 b	3,34 b
Média	3,50	6,83	
CV (%)		79,02	
Causas de Variación	GL	Valor de F calculado	Prob(F)
FC variedad	4	5,85	**
FC desinfección	1	1,65	
FC var. x desinf.	4	2,03	
Error	27	-	

\*Medias seguidas de la misma letra minúscula en las columnas y mayúsculas en la línea, no difieren entre sí al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

\*\* Significativo al 5%, ns: no significativo

El deterioro de las semillas por hongos de almacenamiento (*Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp.) se incrementa cuando la humedad relativa del aire (HR) presente en la masa de semillas supera el 75 por ciento. Con esa HR, la humedad de equilibrio de la semilla es 14 % a 15°C de temperatura del aire (GONZÁLEZ; ROSSI, 2016).

**Tabla 6.** Incidencia de *Trichoderma* spp. en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfestación con NaClO.

Cultivar	Desinfestación		Média
	Con	Sin	
A-59	0,00 ns	0,00 ns	0,00
A-4910	0,00	0,00	0,00
Aurora	0,00	0,00	0,00
R-19	0,00	10,00	5,00
R-24	0,00	0,00	0,00
Média	0,00	2,00	

#### 4.1.3. Bacteriosis e Infección Múltiple

En las Tablas 7 y 8 se observa la incidencia por bacterias e infección múltiple (semillas colonizadas en forma conjunta por dos o más patógenos) en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfestación. En el caso de la incidencia causada por bacterias se observa diferencias significativas (5%) para los factores variedad, incidencia y la interacción. Para el factor variedad, la mayor incidencia se observa en las variedades A-9910 y R-24 con un 100 y 85 % de incidencia. En el caso del factor desinfestación, los valores más altos se observa en el tratamiento con desinfestación de semillas (Tabla 7).

Debido a que algunas bacterias como *Xanthomonas campestris* pv. *glycines* (pústula bacteriana), *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* (tizón bacteriano) y *P. s.* pv. *tabaci* (quemado) son vehiculizadas por las semillas de soja y que enfermedades bacterianas han sido observadas reiteradamente en algunos lotes, sería conveniente tenerlas en consideración (RIDAO, 2003). En un trabajo desarrollado para determinar microorganismos asociados a la semilla de soja BRUNI (2015), concluye que tanto en los tratamientos donde se realizó la desinfestación de semillas como en los que no se desinfestó, se encontraron bacterias; siendo mayor su presencia (90,32%) en semillas previamente desinfestadas con hipoclorito de sodio.

**Tabla 7.** Incidencia de Bacteriosis en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfección con NaClO.

Cultivar	Desinfección		Média
	Con	Sin	
A-59	17,50 bA	0,00 aB	8,75
A-4910	100,00 aA	0,00 aB	50,00
Aurora	12,50 bA	0,00 aA	6,25
R-19	7,50 bA	0,00 aA	3,75
R-24	85,00 aA	3,25 aB	44,13
Média	44,50	0,65	
CV (%)		42,49	
Causas de Variación	GL	Valor de F calculado	Prob(F)
FC variedad	4	38,62	**
FC desinfección	1	183,06	**
FC var. x desinf.	4	36,12	**
Error	27	-	

\*Medias seguidas de la misma letra minúscula en las columnas y mayúsculas en la línea, no difieren entre sí al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

\*\* Significativo al 5%

**Tabla 8.** Incidencia de infección múltiple en semillas de cinco variedades de soja con y sin desinfección con NaClO.

Cultivar	Desinfección		Média
	Con	Sin	
A-59	7,50	10,00 ns	8,75 ab
A-4910	0,00	10,00	5,00 b
Aurora	27,50	20,00	23,75 a
R-19	0,00	5,00	2,50 b
R-24	15,00	16,75	15,88 b
Média	10,00	11,35	
CV (%)		65,25	
Causas de Variación	GL	Valor de F calculado	Prob(F)
FC variedad	4	3,78	**
FC desinfección	1	0,35	
FC var. x desinf.	4	0,51	
Error	27	-	

\*Medias seguidas de la misma letra minúscula en las columnas y mayúsculas en la línea, no difieren entre sí al 5% de probabilidad por la prueba de Tukey.

\*\* Significativo al 5%, ns: no significativo

Para el caso de la infección múltiple se observó diferencias estadísticas significativas (5%) solo para el factor variedad, no habiendo diferencias para los demás factores. La variedad con mayor incidencia de patógenos fue R-24 con un 23,8 % de incidencia seguido por la variedad R-19 con un 15,9 % (Tabla 8).

En un trabajo realizado con microorganismos asociados a la semilla de soja tanto en los tratamientos donde se realizó la desinfestación 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, BRUNI (2015),. Mientras que en los tratamientos sin desinfección de semilla además se encontraron *Rhizopus* spp., *Penicillium* spp., *Acremonium* spp. y *Trichoderma* spp.

En otro estudio CORDES et al. (2015) mencionan que los microorganismos identificados en las muestras analizadas fueron: *Alternaria* spp, *Aspergillus* spp, *Cercospora kikuchii*, *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Phoma* spp., *Phomopsis* spp., *Rhizoctonia* spp., *Epicoccum* spp, *Curvularia* spp, *Rhizopus* spp., *Penicillium* spp., y Bacterias (género *Pseudomonas* y *Bacillus*). Semillas facilitan el transporte y dispersión de patógenos, y en forma interna la semilla le brinda al patógeno protección ante situaciones adversas, BERNAL-MUÑOZ et al.2000.

#### 4.2. Germinación de las Semillas

En la Tabla 9 se presenta el porcentaje de germinación de cinco variedades de semilla de soja, donde se observa diferencias significativas para los factores variedad e incidencia y para la interacción (5%). Para el factor variedad, el A-4910 obtuvo nula germinación (0%). Para el factor desinfestación los valores se observó con el tratamiento de semilla con desinfestación (0; 87,5; 90 y 100 %). Para el factor variedad por desinfestación, se observó que la variedad R-24 se comportó diferente en el tratamiento de semilla con y sin desinfestar (87,5 y 100 %).

Se puede destacar que la misma se encontraba con un poder germinativo de malo a bueno, en el caso de la variedad A-9910 el poder germinativo es malo (0 %), y para el caso de las variedades R-24 y A-59 el poder germinativo sería bueno (87,5 al 100 %) (Tabla 9).

**Tabla 9.** Germinación en semillas de 5 variedades de soja

<b>Variedad</b>	<b>Con</b>	<b>Sin</b>
R19	100 Aa	100 Aa
A 59	90 Bb	100 Aa
R-24	87 Bb	100 Aa
Aurora	100 A	100
A - 4910	0 Ac	0 Ab

Los patógenos presentes en la semilla, son responsables de disminuir su germinación y vigor, facilitando también la dispersión de enfermedades (CORDES et al., 2015).

## 5. CONSIDERACIONES FINALES

Los patógenos presentes en las semillas constituyen uno de los principales factores limitantes del cultivo de soja ya que disminuyen tanto el rendimiento como la calidad comercial de las semillas. Una de las medidas de control a ser empleado es el uso de semillas de alto vigor y poder germinativo ya que favorece la obtención de plantas sanas y vigorosas; asimismo evita la introducción de inóculo de patógenos a lotes donde no se hallen presentes. Otra estrategia de manejo y tal vez la más importante es el uso de funguicidas ya sea como curasemillas para aquellos patógenos de suelo o de aplicación foliar para aquellas enfermedades de fin de ciclo y/o para mejorar la calidad de los granos cosechados.

Los principales patógenos identificados en semillas de soja tanto sin desinfestar como desinfestadas fueron: *Fusarium* spp, *Alternaria* spp, *Cercospora* sp., *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp., y Bacterias.

*Trichoderma* spp., estuvo presentó solo en semillas sin desinfestar (R-19)

También fueron observadas semillas colonizadas en forma conjunta por dos o más patógenos, a la cual se le denomino infección múltiple.

La desinfestación superficial de semillas con hipoclorito de sodio obtuvo el menor porcentaje de infección por patógenos que las semillas no desinfestadas.

La variación de germinación de las semillas en los tratamientos sin desinfestar como desinfestadas se debió al poder germinativo de la semilla y no a los patógenos identificados.

Se recomienda hacer tratamiento químico de las semillas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENÍTEZ, T; RINCÓN, AM; LIMÓN, MC; CODÓN, AC. 2004. **Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains.**

BERNAL-MUÑOZ, R; RODRÍGUEZ-VALLEJO, J; ESTRADA-GÓMEZ, A; HERNÁNDEZ-LIVERA, A; GATICA-VÁSZQUEZ, M. 2000. **Micoflora asociada a la semilla de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.)..**

BRUNI, F. 2015. **Detección y diagnóstico de patógenos asociados a la semilla de soja (*Glycine Max (L.) Merrill*).** Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Cordoba. Cordoba, Argentina.

CHET, H; BAKER, R. 1981. **Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*.**

CORDES, GG; PEREZ, AA; FESSIA, AJ; MAGNINO, LE; MUÑOZ, JO. 2015. **Identificación de patógenos en semilla de soja e influencia de los mismos en su calidad (en línea).** Disponible en: <http://inta.gob.ar/documentos/identificacion-de-patogenos-en-semilla-de-soja-e-influencia-de-los-mismos-en-su-calidad>>. Consultado en: 25 marzo 2017.

ELAD, Y; CHET, I; KATAN, J. 1980. ***Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfii* and *Rhizoctonia solani*.**

DJONOVIC, S; POZO, MJ; KENERLEY, CM. 2006. **Tvbgn3, a  $\beta$ -1, 6-glucanase from the biocontrol fungus *Trichoderma virens*, is involved in mycoparasitism and control of *Pythium ultimum*.**

EMBRAPA (Empresa Brasileña de Investigación Agropecuaria, Centro Nacional de Investigación sobre la Soja). 1995. **El cultivo de la soja en los trópicos: mejoramiento y producción.** Colección FAO: Producción y Protección Vegetal, N° 27.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). 2007. **Future expansion of soybean 2005 -2014 / Implications for food security, sustainable rural development and agricultural policies in the countries of Mercosur and Bolivia**. Santiago, October 2007

HARTMAN, GL; WEST, ED; HERMAN, TK. 2011. **Crops that feed the World 2. Soybean—worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests**. Food Security, 3(1):5-17.

HOWELL, CR. 2002. **Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp.** Phytopathology, 92(2): 177-180.

GONZÁLEZ, S; ROSSI, C. 2016. **Problemas de calidad de semillas de soja. Zafra 2015-2016 (en línea)**. Consultado Febrero, 21. Disponible en: [www.inia.uy/.../Calidad%20de%20soja%202015-16%20\\_aportes%20de%20INI A.pdf](http://www.inia.uy/.../Calidad%20de%20soja%202015-16%20_aportes%20de%20INI%20A.pdf)

IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). **Soja (en línea)**. Disponible en: <http://www.iica.org.py/observatorio/soja.htm>. Consultado en: 19 Febrero 2017

IVANCOVICH, A; LAVILLA, M. 2015. **Problemas sanitarios relacionados a la germinación de la semilla de soja**. INTA-Pergamino, 4 p.

ISTA. 1966. **International rules of seed testing**. International seed testing Association 31:1-152.

KUMAR, B; DUBEY, RC; MAHESHWARI, DK. 2005. **Biocontrol of *Macrophomina phaseolina*: prospects and constraints. Microbial diversity: current perspectives and potential applications**. IK International Pvt Ltd, New Delhi, 471-492.

MEDIĆ-PAP, S; MILOŠEVIĆ, M; JASNIĆ, S. 2007.

NASIR, N. 2003. Pakistan journal of plant pathology, 2(2):114-118. **Detecting seed borne fungi of soybean by different incubation methods.** NIK, W; ZAINUN, W. 1980. **Seed-borne fungi of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) and their control.** Pertanika, 3(2):125-132.

OCHOA, XM; CANTÚA, JA; MONTOYA, L; AGUILERA, NA. 2011. **Guía para producir soya en el sur de Sonora.** CENEB-CIRNO-INIFAP. Campo Experimental Norman Borlaug. Obregón, Sonora, México. Folleto para Productores Núm. 41. 32 p.

RATHOD, LR; JADHAV, MD; MANE, SK; MULEY, SM; DESHMUKH, PS. 2012. **Seed borne mycoflora of legume seeds.**

RIDAO, A. (2003). **Patología e importancia epidemiológica de las semillas en el desarrollo de enfermedades de la soja.** Argentina: Facultad de Ciencias Agrarias-UNMDP-INTA.

GONALES, S; ROSSI, C. 2016. **Problemas de calidad de semillas de soja. Zafra 2015-2016 (en línea).** Disponible en: [www.inia.uy/.../Calidad%20de%20soja%20201516%20\\_aportes%20de%20INIA.pdf](http://www.inia.uy/.../Calidad%20de%20soja%20201516%20_aportes%20de%20INIA.pdf). Consultado en: 25 marzo 2017.

SHOVAN, LR; BHUIYAN, MKA; SULTANA, N; BEGUM, JÁ; PERVEZ, Z. (2008). **Prevalence of fungi associated with soybean seeds and pathogenicity tests of the major seed-borne pathogens.** International Journal of Sustainable Crop Production, 3(4):24-33.

SILLON, M; MUÑOZ, R. 2011. **Las enfermedades de la soja y su importancia en los países del Mercosur.** ISBN 978-950-504-616-4. Editorial Hemisferio Sur S.A. 1º edición, 2011. 332 pp.

SILLON, M. 2016. **Manual de reconocimiento de hongos del suelo y la semilla en soja (en línea)**. Disponible en: <https://www.syngenta.com.ar/file/8151/download?token=ofn7SZLi>.

Consultado en: 19 Febrero 2017.

SIVAN, A; UCKO, O; CHET, I. 1987. **Biological control of *Fusarium* crown rot of tomato by *Trichoderma harzianum* under field conditions**. Plant Disease, 71(7): 587-592.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJÁN. 2015. **Patología Vegetal - Enfermedades en Semilla de Soja**. Disponible en: <http://www.patologiavegetal.unlu.edu.ar/?q=node/46>. Consultado 19 Febrero 2017.

USDA (United States Department of Agriculture). 2015. Oilseeds and Products Annual (Online). Available in: [https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Oilseeds%20and%20Products%20Annual\\_Buenos%20Aires\\_Paraguay\\_2-13-2015.pdf](https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Oilseeds%20and%20Products%20Annual_Buenos%20Aires_Paraguay_2-13-2015.pdf).

Consulted February 11, 2017.

USDA (United States Department of Agriculture). 2017. World Agricultural Production (Online). Available in: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>. Consulted February 11, 2017.

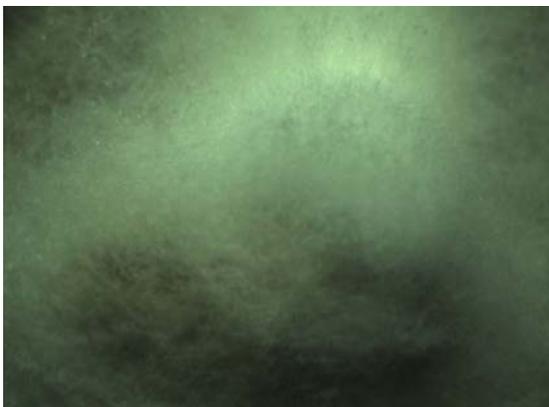
WALCOTT, RR. 2003. **Detection of seedborne pathogens**. HortTechnology, 13(1):40-47.

WANG, D; DOWELL, FE; RAM, MS; SCHAPAUGH, WT. 2004. **Classification of fungal-damaged soybean seeds using near-infrared spectroscopy**. International journal of food properties, 7(1):75-82.

## **APÉNDICE**

**Apéndice 1.** Patógenos identificados en las semillas de soja.

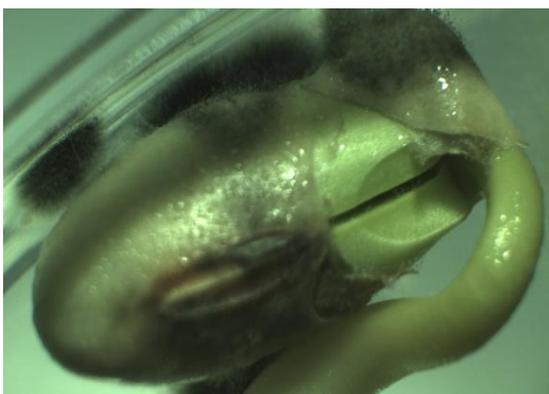
**A.** Semillas con micelio de *Fusarium* spp.



Macroconidios de *Fusarium* spp.



**B.** Semilla con crecimiento micelial de *Alternaria* spp.



Conidios de *Alternaria* spp.

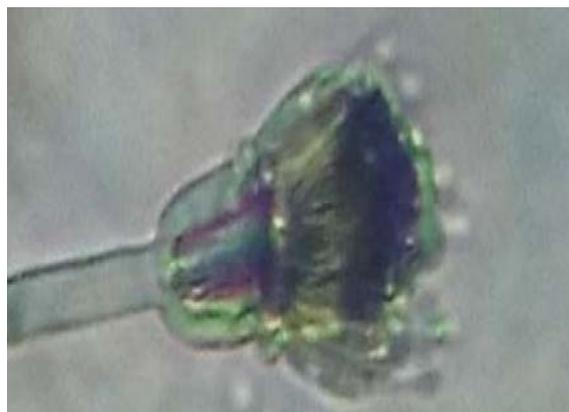


C. Semilla colonizada por 2 especies de *Aspergillus* *Aspergillus* spp.



D. Crecimiento de *Penicillium* spp. en semilla *Penicillium* sp.

*Penicillium* sp.



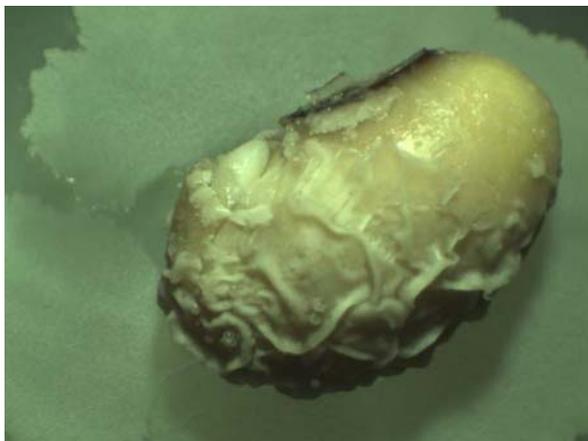
**E.** Semilla de soja con la típica coloración púrpura de *Cercospora* s.



**F.** Crecimiento de *Trichoderma* sp. en semilla



**G.** Bacteriosis



**Apéndice 2.** Germinación de las semillas

