

Flora fúngica transportada por semilla de maní (*Arachis hypogaea* L.) en la Provincia de Córdoba, Argentina

Cavallo, A.R., R.J. Novo y C.W. Robledo

RESUMEN

La semilla de maní es sometida durante la cosecha a una serie de procedimientos que permiten la entrada de hongos que afectan su calidad. Cuando las condiciones son desfavorables para la germinación, la acción de los hongos produce reducción del "stand" de plantas.

Este trabajo tiene por finalidad identificar y cuantificar las especies de hongos que transporta la semilla de maní (*Arachis hypogaea* L.), de los tipos Runner y Valencia, procedentes de cinco localidades del área de cultivo de la provincia de Córdoba.

Rhizopus stolonifer, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium* spp., *Penicillium* sp. y en menor grado *Alternaria* sp., *Chaetomium* sp. y *Coniothirium* sp., aunque en diferentes proporciones, fueron las especies identificadas y con mayores niveles de presencia en ambos tipos y en las distintas localidades

Palabras clave: Hongos transportados, semilla, maní, *Arachis hypogaea* L

Cavallo, A.R., R.J. Novo and C.W. Robledo, 1994. Fungi transported by peanut seed (*Arachis hypogaea* L.) in Córdoba province, Argentina Agriscientia XI : 43-48.

SUMMARY

During the harvest, the peanut seed is subject to a series of procedures that allow the entrance of fungi, that affect its quality. When conditions are unfavourable to germination, the activity of this fungi produces a decrease of the stand of plants.

The purpose of this work is to identify the fungi species transported by peanut seed (*Arachis hypogaea* L.) of the Runner and Valencia types proceeding of five localities of the cultivation area in the province of Córdoba, Argentina.

Rhizopus stolonifer, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium* spp., *Penicillium* sp. and in low grade *Alternaria* sp., *Chaetomium* sp. y *Coniothirium* sp., though in different proportions, were the identified species showing higher levels of presence in both varieties in the different localities.

Key words: Transported fungi, seeds, peanut, *Arachis hypogaea* L

A.R. Cavallo, R.J. Novo y C.W. Robledo. Facultad de Ciencias Agropecuarias. U.N.C. C.C. 509, 5000 Córdoba. R.A.

INTRODUCCIÓN

El maní (*Arachis hypogaea* L.) comenzó a cultivarse en el centro de la Provincia de Córdoba a principios de siglo. En los últimos años, la zona de cultivo se extendió hacia el sur, donde las condiciones ambientales y de suelo son diferentes.

El maní tipo Runner, de porte rastrojero y alto rendimiento, fue desplazando a los tradicionales Spanish y Valencia, a partir de 1982 (Giandana, E., 1990).

Debido a que presentan ciclo largo, los Runner deben sembrarse cuando las condiciones de humedad y temperatura del suelo aun no son las óptimas, por esto la germinación se retrasa generando condiciones que facilitan la acción de los hongos, causando pérdidas de semillas y plántulas que en muchos casos obligan a resembrar (Iraozqui *et al.*, 1991).

Por otro lado, las operaciones de cosecha someten a la semilla a traumatismos que facilitan la entrada de hongos de almacenamiento, los que afectan seriamente su calidad. (Frezzi, M., 1967).

Es importante destacar que la semilla que se utiliza tiene dos orígenes. La más importante en volumen es la que los productores guardan de un año para otro aprovechando la autogamia de esta especie. La segunda, y menos importante por su cuantía, es la producida por semilleros multiplicadores. Los controles de calidad y sanidad de la semilla son escasos, por lo tanto el uso de curasemillas antes de la siembra, a fin de disminuir los efectos nocivos causados por los hongos transportados por la misma, es una medida a la que se puede recurrir a fin de disminuir las fallas de germinación. Para esto es necesario conocer las especies de hongos que se encuentran involucrados en el deterioro de la semilla a fin de implementar un correcto programa de control.

Los hongos que acompañan a la semilla de maní Valencia han sido estudiados para la zona de Manfredi, Provincia de Córdoba, Argentina. Frezzi (1960 y 1967) los agrupó entre los que causan podredumbre de cajas y marchitez de plantas (*Fusarium* sp., *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Thielaviopsis* sp., *Verticillium* sp.), y los denominados "mohos" que deterioran los cotiledones y el eje embrionario impidiendo la germinación (*Rhizopus* sp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* sp., etc.).

Por su parte, Neergaard (1977) indicó que *Rhizopus* sp., *Aspergillus niger* y *Fusarium* spp., fueron especies detectadas en semilla de maní procedentes de Argentina, señalando que produjeron un 15% de disminución de la germinación.

Se conoce que *Rhizopus* sp., *A. niger*, *A. flavus*, *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp. fueron los hongos de mayor importancia transportados por semilla de ma-

ni en Malawi, África (Mercer y Kisyombe, 1978) y en Brasil (Moraes, S., 1987).

A su vez Horne (1989), indicó que muchos hongos habitantes del suelo pueden transformarse en patógenos de la semilla de maní y causar "damping off" de pre y post emergencia. Tal es el caso de *Rhizopus* spp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* spp., *Pythium* spp., etc., los cuales pueden ser transportados por la semilla.

Rhizopus sp. es considerado responsable de decaimiento de semillas, pudrición de plántulas y deterioro de semilla en almacenamiento (Sriwastrava y Saksena, 1974). Se ha comprobado además, que *R. stolonifer* una vez que se ha establecido puede provocar decaimiento de la semilla aun en condiciones de baja humedad (Porter *et al.*, 1982). Este género fue dominante tanto sobre semillas visiblemente sanas como en semillas con síntomas de pudrición (Bell, D., 1966; Mercer y Kisyombe 1978).

El grupo *Aspergillus flavus* comprende más de diez especies del género, de las cuales *A. flavus* y *A. parasiticus* son las más importantes para maní (Gibson y Clinton, 1953; Raper y Fennell, 1965). Estos causan lesiones necróticas en los cotiledones y el embrión, sobre las cuales se presentan luego masas de esporas verde amarillentas. Las plántulas sobrevivientes a menudo pierden las raíces secundarias (Jackson y Bell, 1969; Chohan y Gupta, 1970).

Aspergillus niger también fue citado como agente causal de enfermedades de semillas en germinación y de plántulas. Las semillas infectadas se ablandan y una masa de esporas oscuras emerge de ellas (Gupta y Chohan, 1970). Joffé (1972) observó que *A. niger* se comportó como una de las 5 especies dominantes sobre semilla de maní en Israel. Jackson (1962) mencionó que los cultivares tipo Runner son extremadamente susceptibles a la infección por *A. niger* y Hsi (1966) informó que los tipo Valencia son muy susceptibles.

Otro género que ha sido reportado como presente en semilla de maní es *Fusarium* spp. Jackson y Bell (1969) señalaron que el clima húmedo y fresco después de la siembra predispone a la colonización por este hongo, siendo rápidamente invadido el embrión, por lo que las plántulas detienen su crecimiento, la emergencia se hace lenta, reduciéndose el stand de plantas. Sin embargo, Porter *et al.* (1982) señalaron que la importancia económica de los daños producidos por este género en maní es baja.

Si bien los trabajos de Frezzi (1960 y 1967) son muy importantes en su aspecto referido a los hongos que acompañan a la semilla de maní y al deterioro que esta puede sufrir a causa de los mismos, las condiciones ambientales en las que se desarro-

lla el cultivo y el tipo de maní han cambiado y no se han descrito ni cuantificado las especies de hongos transportados por semillas, para esta nueva situación, lo que imposibilita planificar objetivamente medidas de control.

El objetivo de este trabajo fue identificar y cuantificar la frecuencia con que se presentan los distintos hongos transportados en muestras de semillas de maní de los cultivares Virginia y Valencia, provenientes de distintas localidades del área de cultivo de la Provincia de Córdoba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con muestras de maní de los tipos Runner y Valencia de distintas procedencias, tal como se observa en la Tabla 1.

Las localidades elegidas representan a las distintas regiones del área manisera de Córdoba. De cada localidad se tomó una muestra aleatoria simple, por cultivar, de semilla destinada a siembra conformada por cinco repeticiones de 40 semillas cada una. El tamaño de la muestra se determinó en base al uso de las Curvas Características Operativas —OCC— (Montgomery, D., 1991), fijando un nivel de potencia $\beta = 0.8$. Cada repetición se colocó en una bandeja de germinación, la que constituyó una unidad experimental.

Las semillas se desinfectaron superficialmente con hipoclorito de sodio 1,5 % durante dos minutos y se enjuagaron dos veces con agua destilada y se sembraron sobre papel de filtro humedecido (Blotter test modificado). Se incubaron durante 7 días en una cámara de germinación a $27 \pm 2^\circ\text{C}$ con ciclos

de 12 horas de luz cercana a ultravioleta (NUV) y 12 horas de oscuridad (De Tempe y Binnerts, 1979).

Por la distancia de siembra empleada, la infección entre semillas vecinas fue baja. Sin embargo, en los casos en que algún hongo de crecimiento rápido provocó infección secundaria en otras semillas, se registraron solamente los puntos de infección. (Neergaard, P., 1977).

Los hongos se clasificaron a través de las técnicas comúnmente usadas en micología, con la ayuda de claves. (Barnet y Hunter, 1965; Booth, C., 1971; Malone y Musket, 1964; Ellis, M., 1971, Raper y Fennell, 1965).

Se registró el número de colonias de hongos sobre semillas germinadas y no germinadas, como frecuencia absoluta y relativa de los distintos géneros. Se consideraron germinadas las semillas que mostraron la radícula emergida.

Para determinar estadísticamente la incidencia de los distintos hongos en el área de estudio y sobre los distintos cultivares de maní, los resultados de la experiencia se analizaron mediante el "Test de Independencia para Tablas Multifactoriales" (Sokal y Rolf, 1979) que posibilita probar la siguiente hipótesis: los hongos transportados no afectan uniformemente a la semilla de un lote, cualquiera sea su tipo, y no se distribuyen regularmente en toda el área de cultivo de maní.

Para analizar la relación entre los factores localidad de procedencia (L), tipo (T) y número de colonias (N) de cada especie de hongo transportados por semillas, se trabajó con el estadístico G de independencia entre los tres factores ($L * T * N$), cuya distribución es Chi-cuadrado con 67 g l. para nuestro problema. Se fijó el error tipo I en 0,05.

Tabla 1. Características de las muestras de semilla de maní analizadas.

Tipo	Cultivar	Localidad de procedencia
Runner	Florman INTA	Etruria Ucacha General Cabrera Manfredi Río Tercero
Valencia	Colorado Irradiado	Etruria Ucacha General Cabrera Manfredi Río Tercero

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del análisis de las tablas 2, 3 y 4 se desprende que las especies predominantes transportadas por semillas de maní de los tipos Runner y Valencia fueron: *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium* spp, *Penicillium* sp., coincidiendo con lo observado por diversos autores (Frezzi, M., 1960 y 1967; Neergard, P., 1977, Moraes, S., 1987 y Horne, C., 1989) y en menor grado *Alternaria* sp., *Chaetomium* sp. y *Coniothirium* sp.

Rhizopus stolonifer se mostró fuertemente invasor cubriendo la semilla e impidiendo el crecimiento de otros hongos. Se observó que causa una severa necrosis del tejido invadido, el cual se presenta deshidratado y de color castaño. Se lo visualizó creciendo externamente a la semilla y en la parte interna de los cotiledones. Estas observaciones concuerdan con lo reportado por Bell (1966), Frezzi

(1967), Srivastava y Saksena (1974) y Mercer y Kisyombe (1978).

Este hongo, que fue señalado como responsable de la reducción de la germinación por Clinton (1962), Bell (1966), Neergaard (1977) y Mercer y Kisyombe (1978), en nuestra experiencia fue encontrado predominantemente en semillas que no alcanzaron a germinar en las muestras de Runner e indistintamente en germinadas o no en las tipo Valencia.

El grupo *Aspergillus flavus* se presentó colonizando los cotiledones, el eje embrionario y todas las partes de la plántula. Produjo zonas necróticas de las cuales emergía una masa pulverulenta que adoptó coloraciones que fueron del amarillo-verdoso al castaño claro-grisáceo. Cuando infectó la punta de la radícula, ésta detuvo su crecimiento y no se formaron raíces secundarias. Estas observaciones coinciden con las efectuadas por Gibson y Clinton (1953), Jackson y Bell (1969), Chohan y Gupta (1968) y Neergaard (1977).

Aspergillus niger se encontró infectando todas las partes de la semilla y la plántula. Se observaron las fructificaciones características de color castaño oscuro y consistencia pulverulenta. Este resultado concuerda con el obtenido por Joffé (1972), Neergaard (1977), Mercer y Kisyombe (1978) y Moráes (1987) quienes lo mencionaron como una de las especies predominantes en semilla de maní.

Este género se presentó tanto en Runner como en Valencia, consideradas por Jackson (1962) y Hsi (1966) como altamente susceptibles.

Se individualizaron tres especies diferentes de *Fusarium* sp., una de las cuales se identificó como *F. equisetii*.

Las semillas infectadas se presentaron cubiertas por una masa micelial algodonosa blanquecina o

rosada. En los Runner impidió la germinación en la mayoría de los casos, coincidiendo con lo expresado por Jackson y Bell (1969) quienes señalaron que estos hongos invaden rápidamente el embrión deteniendo su crecimiento.

Penicillium sp., *Alternaria* sp., *Chaetomium* sp. y *Coniothirium* sp. se presentaron ocasionalmente, los dos últimos solamente sobre semillas Valencia.

Si bien las especies predominantes son las mismas, se comprobó que la frecuencia de colonias totales y de cada uno de los hongos transportados fue en general alto, pero diferente sobre los distintos tipos y localidades de procedencia, lo cual se manifiesta por la falta de independencia encontrada entre los tres factores analizados.

Se observó mayor nivel de infección en las semillas de tipo Runner. Esta observación es particularmente interesante, ya que éstas son de germinación lenta y en caso de presentarse condiciones ambientales adversas para la germinación, este período se alarga y la acción de los hongos puede producir los problemas mencionados por Irazoqui *et al.* (1991) en relación al incremento de la pérdida de plántulas en el campo por acción de los hongos.

CONCLUSIONES

Las especies predominantes transportadas por semillas de maní de los tipos Runner y Valencia son: *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium* spp, *Penicillium* sp. y en menor grado *Alternaria* sp., *Chaetomium* sp. y *Coniothirium*.

Rhizopus stolonifer muestra ser fuertemente invasor cubriendo la semilla e impidiendo el crecimiento de otros hongos. Causa severa necrosis del tejido invadido.

Tabla 2. Frecuencia promedio de colonias sobre semilla de maní Runner para cada localidad analizada.

PROCEDENCIA	ETRURIA			UCACHA			GRAL. CABRERA			RÍO TERCERO			MANFREDI		
	G	NG	T	G	NG	T	G	NG	T	G	NG	T	G	NG	T
1. <i>Rhizopus stolonifer</i>	15.5	47.0	62.5	0.0	18.5	18.5	2.5	26.0	28.5	3.0	56.0	59.0	8.0	51.5	59.5
2. <i>Aspergillus favus</i>	13.0	48.0	61.0	4.5	46.0	50.5	0.0	1.0	1.0	4.5	35.5	40.0	4.0	29.5	33.5
3. <i>Aspergillus niger</i>	2.0	57.0	59.0	4.0	39.0	43.0	1.0	3.5	4.5	8.0	7.5	15.5	8.0	41.5	49.5
4. <i>Fusarium</i> spp.	3.0	1.5	4.5	1.0	4.0	5.0				0.0	38.0	38.0			
5. <i>Penicillium</i> sp.							3.5	9.5	13.0	3.5	15.0	18.5	2.5	4.5	7.0
6. <i>Alternaria</i> sp.							2.0	6.5	8.5						
Total	33.5	153.5	187.0	9.5	107.5	117.0	9.0	46.5	55.5	19.0	152.0	171.0	22.5	127.0	149.5

G germinadas. NG: no germinadas. T: total.

Tabla 3. Frecuencia de colonias sobre semillas tipo Valencia para cada localidad analizada.

PROCEDENCIA	ETRURIA			UCACHA			GRAL. CABRERA			RIO TERCERO			MANFREDI			
	Hongos	G	NG	T	G	NG	T	G	NG	T	G	NG	T	G	NG	T
1. <i>Rhizopus stolonifer</i>	16.5	5.5	22.0	3.5	6.5	10.0	14.0	9.0	23.0	9.5	22.0	31.5	24.5	29.0	53.5	
2. <i>Aspergillus flavus</i>	4.5	9.5	14.0	37.0	13.5	50.5				10.0	9.5	19.5	9.5	10.5	20.0	
3. <i>Aspergillus niger</i>	16.5	3.0	19.5	27.0	19.0	46.0	7.5	3.0	7.5	0.0	1.0	1.0	26.0	32.5	58.5	
4. <i>Fusarium</i> spp.	11.0	1.0	12.0	36.0	16.0	52.0				0.0	2.0	2.0				
5. <i>Penicillium</i> sp.	27.5	3.0	30.5	4.0	1.5	5.5				6.5	3.0	9.5	2.5	2.0	4.5	
6. <i>Alternaria</i> sp.							8.0	2.0	10.0							
7. <i>Chaetomium</i> sp.				3.0	0.5	3.5										
8. <i>Coniothirium</i> sp.				4.0	0.0	4.0										
Total	76.0	22.0	98.0	114.5	57.0	171.5	29.5	14.0	43.5	26.0	37.5	63.5	62.5	74.0	136.5	

G: germinadas. NG: no germinadas. T: total.

El grupo *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger* infectan todas las partes de la semilla y la plántula.

Se identifican tres especies diferentes de *Fusarium* spp. Ocasionalmente se presentan *Penicillium* sp., *Alternaria* sp., *Chaetomium* sp. y *Coniothirium* sp., los dos últimos solamente sobre semillas Valencia.

El nivel de infección es alto en ambos tipos, pero Runner es más afectado. La localidad de procedencia de la muestra, por su parte, condiciona la frecuencia y composición de la flora que acompaña a la semilla. Por lo tanto, antes de encarar cualquier

medida de control, es necesario conocer la naturaleza e intensidad de infección a la semilla de modo de garantizar la efectividad de los tratamientos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a CONICOR, Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Córdoba y al INTA (PROMACOR) por haber subsidiado la presente investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- Barnett, H. L. & B.B. Hunter, 1965. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Burgess Publishing Company. 225 pp.
- Bell, D. K., 1966. Fungi from hypocotils and senescent cotyledons of peanut from fungicide treated seed planted in two soils. Plant Dis. Repr. 50: 162-166.
- Booth, C., 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. England. 237 pp.
- Chohan, V. K. S. & V. K. Gupta, 1968. Aflaroot, a new disease of groundnut caused by *Aspergillus flavus*. In: Patee, 1982. Peanut Science and Technology. 396 pp.
- Conover, W.J., 1980. Practical Nonparametric Statistics. John Wiley and Sons Ed. 493p.
- De Tempe J. & J. Binnerts, 1979. Introduction to Methods of Seed Health Testing. Seed Sci. and Technology 12:601-638.
- Ellis, M. B., 1971. Dematiaceous Hyphomycetes Commonwealth Mycological Institute. England. 595 pp
- Frezzi, M.J., 1960. Enfermedades del Maní en la Provincia de Córdoba, (Argentina). RIA XIV (2): 113-155

Tabla 4. Frecuencia promedio de colonias sobre semilla de maní Runner y Valencia.

Hongos	Runner			Valencia		
	G	NG	T	G	NG	T
1. <i>Rhizopus stolonifer</i>	5.8	39.8	45.6	13.6	14.4	28.0
2. <i>Aspergillus flavus</i>	4.1	36.0	41.1	16.8	8.6	25.4
3. <i>Aspergillus niger</i>	7.7	29.7	37.4	13.0	11.5	24.5
4. <i>Fusarium</i> spp.	0.8	8.7	9.5	9.4	3.8	13.2
5. <i>Penicillium</i> sp.	1.9	5.8	7.7	8.1	1.9	10.0
6. <i>Alternaria</i> sp.	2.0	6.5	8.5	8.0	2.0	10.0
7. <i>Chaetomium</i> sp.	-	-	-	3.0	0.5	3.5
8. <i>Coniothirium</i> sp.	-	-	-	4.0	0.0	4.0
Total	22.5	131.6	147.8	75.9	42.7	118.6

G: germinadas. NG: no germinadas. T: total.

- Frezzi, M. J., 1967. La semilla de maní y sus problemas. IDIA-INTA 238:1-28.
- Giandana, E., 1990. Informe sobre estado actual del cultivo y programas de Investigación. Reunión sobre mejoramiento genético y manejo del cultivo de maní. INTA-Manfredi.
- Gibson, I. A. S. & P.K.S. Clinton, 1953. Preemergence seedbed losses in groundnuts at Urambo, Tanganika Territory. In Pateo, 1982. Peanut Science and Technology. p. 399.
- Gupta, V.K. & J.S. Chohan, 1970. Seed borne fungi and seed health testing in relation to seedling diseases of groundnut. Indian Phytopathol. 23: 622-625.
- Horne, C.W., 1989. Ground work for Decision: Developing recommendations for plant disease control. Plant disease 73(12): 943-948.
- Hsi, D. C. H., 1966. Observation of an outbreak of *Aspergillus crown rot* of Valencia peanuts in New Mexico. Plant Dis. Repr. 50: 175-177.
- Irazoqui, C. F.; C. E. Ledesma.; R. Pedelini; N. Actis y D. Stante, 1991. Evaluación de fungicidas curasemillas en maní (*Arachis hypogaea* L.) Resúmenes 6ª Jornada Nacional de Maní. Gral. Cabrera, Córdoba. pp. 27-28.
- Jackson C. R. & D. K. Bell, 1969. Diseases of peanut caused by fungi. In: Pateo, 1982. Peanut Science and Technology, p. 401.
- Jackson, C. R., 1962. *Aspergillus crown rot* in Georgia. Plant Dis. Repr. 46-888-892.
- Joffe A. Z., 1972. *Aspergillus niger* in groundnut y groundnut soil in Israel. Oleagineux 27:489.
- Malone, L. P. & A. E. Musket, 1964. Seed borne fungi. Description of 77 fungus species. Proc. Int. Seed Test. Assoc. 29:176.
- Mercer, P. C. y C. T. Kisyombe, 1978. The fungal flora of groundnuts kernels in Malawi and the effects of seed-dressing. PANS 24(1):35-42.
- Montgomery, D.C., 1991. Design and Analysis of Experiments. Third Edition. John Willey and Sons. 664 pp.
- Moraes, S. A., 1987. Testes de sanidade de sementes de amendoim. En Soave, J. y Wetzel, M. M. V. S. Patologia de Sementes. Abrates, Fundación Cargill. Campinas, Brasil.
- Neergaard, P., 1977. Seed Pathology. The Mac Millan Press Ltd. London. England. 877 pp.
- Porter, D. M ; D.H. Smith & R. Rodríguez Kabana, 1982. Peanut plant disease. In: Pateo, H. G. Peanut Science and Technology. Cap. X. p. 326.
- Raper, K. B. & D.I. Fennell, 1965. The Genus Fusarium. Williams and Wilkins Company. Baltimore MD. 686 pp.
- Sokal, R. y F. J. Rohlf, 1979). Biometría. H. Blume Editores. Madrid.
- Srivastava S. N. & H. K. Saksena, 1974. Fungi associated with groundnut pods and seeds, their nature and control. In Pateo, 1982 Peanut Science and Technology. p. 375.