

1998

30 ENE. 2006

## LA GLOBALIZACION DE LOS MERCADOS Y SU EFECTO EN EL MOVIMIENTO DE FITOPATOGENOS : CASO DE LAS SEMILLAS

*Benjamín Pineda-L. Laboratorio de sanidad de semillas, Unidad de recursos Genéticos CIAT, AA 6713 Cali, Valle (Col), E-Mail : b-pineda55@hotmail.com*

### INTRODUCCION

222265

**E**stamos viviendo una de las revoluciones más acelerada de la historia del hombre con temporáneo, la conversión del planeta en una aldea global, en donde « las fronteras son más virtuales que reales, o se han esfumado». Las comunicaciones (internet, viajes, contactos, etc.) han progresado tanto que han transformado profundamente la vivencia de hombre en el espacio y el tiempo, en otras palabras ha cambiado la estructura y funcionamiento de los espacios con una tendencia mundializadora permanente (cada día las distancias son más cortas, los gustos más homogéneos, las culturas más cercanas). El comercio e intercambio de mercancías ha flexibilizado los controles a la actividad empresarial y el mercado se ha convertido en regulador de las relaciones económicas, con la consiguiente internacionalización de las economías y la consolidación de un único mercado mundial en donde el riesgo de introducir patógenos y plagas a regiones en donde no existen como tales, es cada vez mayor.

Ante esta dinámica de cambio estructural en la cual el proceso ha «eliminado» las fronteras espaciales y temporales que antes evitaban o retardaban la diseminación de enfermedades y plagas de los cultivos, es indispensable fortalecer y fomentar actividades cuyo objetivo sea asegurar una acción internacional común y efectiva para prevenir la introducción y dispersión de plagas y patógenos de plantas y sus productos, y la promoción de medidas para su control. Particularmente en la producción, comercialización y uso de la semilla y/o materiales de propagación, insumos básicos y fundamentales de la agricultura, se debe poner especial atención toda vez que éstos sirven de vehículos de diseminación de fitopatógenos, que al no tener barreras reguladoras o de contención continuarán siendo la espada de Dámocles que pende sobre los cultivos que proveen de alimentos y materias primas a la humanidad, por cuanto las semillas son el medio más efectivo para la perpetuación y diseminación de los patógenos intra, inter cultivos, regiones, países y/o continentes.

Adicionalmente se debe entender una nueva lógica, basada en el rol estratégico que juegan la información y el conocimiento en la transformación de los espacios naturales en espacios del medio científico-técnico, y en los radicales cambios de los territorios de las naciones vistos ahora como espacios nacionales de la economía internacional en donde los problemas fitosanitarios de unos y otros pueden afectar la totalidad de la «aldea».



En este orden de ideas y para contribuir al conocimiento de quienes asisten al XIX Congreso de Fitopatología me referiré en adelante a las relaciones patógeno-semilla y a su metodología general de detección.

## 1. LA TRANSMISION DE PATOGENOS POR SEMILLAS

Una de las formas de perpetuación de las plantas en el espacio y en el tiempo es a través de sus semillas, evento que aprovechan para sus actividades biológicas los demás agentes (hongos, bacterias, virus, nematodos, insectos, el hombre, etc.) que conviven con ellas. Las semillas de las plantas tienen reservas alimenticias, poseen un gran potencial de protección, diseminación y reproducción que las hacen muy apetecibles para que otros organismos, particularmente los microscópicos, se asocien con ellas y aprovechen sus ventajas, existiendo una sincronía entre las actividades de uno y otro lado con efectos de beneficio mutuo o de deterioro, en el caso de organismos patogénicos.

No todos los organismos, virus, y otros agentes que se albergan en las semillas externa o internamente son patogénicos; solo aquellos que son capaces de desencadenar un proceso infeccioso (enfermedad), en la semilla misma o en la planta, se les considera como patógenos transmitidos por semilla; el resto puede ser microflora saprofítica o degradadora, o simplemente contaminante que no ocasiona ningún daño o beneficio.

La microflora con potencial patogénico presente en las semillas, externa o internamente, suele ocasionar infección en cualquier parte de ésta; reduciendo la germinación o produciendo plántulas enfermas, según sea el tipo de asociación que exista entre el agente biológico y la semilla.

Las leguminosas y gramíneas constituyen dos de las familias de Angiospermas más importantes para la agricultura y cuyas semillas son la base para el establecimiento de los cultivos. Los cereales (gramíneas) como el arroz, cebada, maíz, trigo, sorgo, etc., representan más del 90 % de las semillas utilizadas para cultivo; leguminosas como la soya, el frijol, el maní, la lenteja, el garbanzo son fuentes de proteína vegetal para la alimentación y también se propagan por semillas.

## ASOCIACION PATOGENO-SEMILLA

Los patógenos asociados con las semillas suelen encontrarse en ellas ocasionando infección o simplemente como contaminantes (infestación). En caso de infección el patógeno se encuentra en forma activa, internamente embebido en los tejidos de la semilla, esto es en proceso de establecimiento parasítico; mientras que en el caso de infestación, éste es portado en forma pasiva ya sea adherido a las cubiertas de las semillas, en residuos de cosechas, fructificaciones del patógeno o en partículas de suelo contaminado, mezclados con la semilla (contaminación concomitan-



te).

Una semilla es un óvulo fertilizado y maduro que contiene una planta embriónica, reserva de alimento (endospermo y cotiledones) y tejidos de protección (testa, cubiertas), componentes estos que son susceptibles de ser invadidos o colonizados por agentes biológicos oportunistas que forman parte de sistemas biológicos naturales.

### **Infección.**

La microflora presente en las semillas suele ocasionar infección, ya sea en la testa, en los cotiledones o en el eje embrionario; puede reducir la germinabilidad de la semilla al momento de la siembra o producir plantas enfermas a partir del inóculo primario presente, ya sea interna o externamente.

Un patógeno puede invadir de manera restringida una parte o tejido específico de la semilla, o hacerlo en forma generalizada en diferentes partes de ésta. La localización del inóculo dentro de la semilla depende del tipo de patógeno, modo y época de infección, condiciones ambientales durante el proceso infectivo, la variedad y muchos factores mas.

La infección de la semilla puede ocurrir en el embrión, endospermo, perispermo, cotiledones, cubiertas de la semilla, pericarpio y glumas

#### **- En el embrión**

El embrión es el resultado de la fertilización de una oosfera por un gameto masculino y esta construido por uno o más cotiledones, una plúmula, el hipocótilo y la radícula. Puede ser infectado por hongos, bacterias y virus. En el caso de hongos es frecuente encontrar *Alternaria* spp., *Colletotrichum* spp., *Dreschlera* spp., *Fusarium* spp., *Pyricularia* spp., *Micosphaerella* spp., *Ustilago* spp; en bacterias *Curtobacterium* spp., *Pseudomonas* spp., *Xanthomonas* spp., y en virus el del mosaico común del frijol, el del mosaico de la soya, el del mosaico sureño del frijol, el del mosaico achaparrado del maíz (Maize Dwarf Mosaic Virus), entre otros.

#### **- En los tejidos de reserva (endospermo, perispermo, cotiledones)**

En las leguminosas, el endospermo es una capa de células delgada que rodea los cotiledones que son parte del embrión. Las semillas de las gramíneas están constituidas por el endospermo o tejido de reserva, la aleurona y un cotiledón generalmente pequeño, comparado con los de las leguminosas.

Los patógenos que afectan perispermo, endospermo o cotiledones generalmente son los mismos que afectan el embrión, ya sean hongos, bacterias o virus.

#### **- En las cubiertas de la semilla y pericarpio**

En la testa o cubierta de las semillas se encuentran estructuras como el hilum, el micropilo, el



rafe, la chalaza y otras. Sus tejidos están constituidos por distintas capas así: cutícula, células malpígianas (palisada), esclerénquima y parénquima, u otros tejidos según el tipo de semilla. El micropilo constituye una puerta de entrada de los microorganismos (principalmente bacterias), de la misma manera que el hilum, puesto que al absorber agua durante la germinación facilitan la penetración de los patógenos mezclados con ella.

La microflora que afecta la testa es numerosa e incluye principalemte hongos de los géneros *Alternaria*, *Macrophomina*, *Ascochyta*, *Dreschlera*, *Colletotrichum*, *Diaporthe*, *Fusarium*, *Pyricularia*, *Peronospora*., *Plasmopara*, *Sclerophthora*, *Sclerotinia*, *Ustilago*, *Verticillium*, etc. Las bacterias más frecuentes corresponden a : *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Curtobacterium*, y *Bacillus*.

La transmisión de virus en las cubiertas de las semillas es poco común, algunos virus cuya transmisión es no embrionica podrían incluirse aquí, caso del TMV y del «Tomato spotted wilt virus»

#### **-En las glumas.**

Las glumas son las brácteas u hojas exteriores de cada una de las espiguillas de las gramíneas; son estructuras que suelen encontrarse afectadas por hongos de los géneros *Dreschlera*, *Pyricularia*, *Cochliobolus*, *Curvularia*, cuyas hifas se desarrollan dentro de las células del parénquima y el esclerénquima de la lemma y la palea.

#### **Infestación**

Este fenómeno se presenta cuando el patógeno es portado en forma pasiva ya sea adherido a las cubiertas de las semillas o mezclados con ellas. Los patógenos mezclados con las semillas (contaminación concomitante) en forma de propágulos (esclerocios, estromas, hifas) o como suelo infestado o residuos de cosechas pueden infectar las plántulas en emergencia o aún en estados posteriores de desarrollo, puesto que el patógeno y la semilla son colocados en el suelo y si las condiciones son favorables se puede iniciar la infección.

La infestación es uno de los medios más importantes de acarreo de patógenos sin que exista una relación biológica activa entre el patógeno y la semilla. Generalmente ocurre durante la recolección, o durante las actividades de post-cosecha y beneficio.

#### **TIPOS DE TRANSMISION DE PATOGENOS POR SEMILLAS**

La transmisión de patógenos por semillas se refiere al paso del inóculo desde una semilla infectada o infestada una planta. Se consideran patógenos transmitidos por semilla solo aquellos que son capaces de causar enfermedad o de iniciar una epidemia en una población de plantas.



Los mecanismos de transmisión por semilla varían con el hospedante y el patógeno y son gobernadas por reacciones específicas de la interacción hospedante-patógeno. Cualquier parte de la semilla puede ser infectada.

**Transmisión sistémica.**

Ocurre transmisión sistémica cuando en las plantas derivadas de las semillas infectadas o infestadas se inicia una enfermedad con características sistémicas con expresión de síntomas como consecuencia del desarrollo o activación del patógeno contenido en ellas.

Los patógenos portados sistémicamente en las semillas pueden ser transmitidos desde el embrión, endosperma, cotiledones o cubiertas infectadas o desde la testa contaminada. Si el embrión se encuentra infectado siempre resulta infección sistémica en las plantas. El patógeno se activa cuando comienza el proceso de germinación y continúan actuando en la medida en que la planta crece y pueden expresar síntomas en diferentes estados del desarrollo de las plantas, como ocurre con *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* y *X. campestris* pv. *fuscans*, en frijol.

**Transmisión no sistémica.**

Hay transmisión por semilla en forma no sistémica cuando hay infección en pre o postemergencia de plántulas o en plantas en desarrollo, como consecuencia del inóculo establecido en el suelo que ha sido acarreado por las semillas superficialmente.

La infección no embriónica ocasionalmente conduce a afección sistémica. Estudios realizados con *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* indican que las bacterias penetran a los cotiledones durante la germinación de la semilla, pues esta se hincha rápidamente con el agua de imbibición produciéndose grietas en la epidermis a través de las cuales la bacteria se introduce y suele ocasionar infección a las plántulas.

La transmisión por semilla en forma no sistémica, es muy común y ocurre por semilla infectada, semilla contaminada superficialmente o por patógenos mezclados con las semillas. La semilla infectada en el embrión puede conducir a infección localizada no sistémica. Las hifas de *Colletotrichum lindemutianum* por ejemplo se encuentran en el embrión y cubiertas de la semilla y una vez que se ha iniciado la germinación pueden ocasionar lesiones en las hojas verdaderas y más tarde en tallos y peciolo sin llegar a afectar la totalidad de la planta.

La semilla infectada en las cubiertas generalmente conduce a infección no sistémica que afecta a los cotiledones y las plántulas jóvenes o simplemente no permite la germinación.

La semilla contaminada superficialmente puede producir plántulas sana, pero el inóculo puede permanecer viable en el suelo y causar infección más tarde durante el desarrollo de la planta.

Los patógenos mezclados con las semillas (contaminación concomitante) en forma de



propágulos (esclerocios, estromas, hifas, esporodoquios, etc.) o como suelo infestado o residuos de cosechas, conducen a infección no sistémica. El patógeno y la semilla son colocados en el suelo y pueden infectar la planta en cualquier estado de desarrollo de la planta.

### **PATOGENOS TRANSMITIDOS POR SEMILLA**

La gran mayoría de patógenos que se encuentran en la semilla son los mismos que han afectado la planta madre durante su desarrollo y que, de una u otra manera, se establecen en esta importante estructura reproductiva. Generalmente las infecciones ocurren bajo condiciones de campo por cuanto es el lugar en donde normalmente crecen los cultivos y en donde las plantas interactúan con los demás componentes del ecosistema, *verbi gracia*: microorganismos, virus, insectos, etc.

Hongos. Los hongos asociados con semillas se pueden dividir en dos grupos: los que afectan la planta en el campo y aquellos que actúan durante el almacenamiento (Mohos de almacén).

Hongos de campo. Estos son hongos que invaden las semillas durante su fase de desarrollo en las plantas madres o después de que han alcanzado su madurez y permanecen adheridas a éstas. Dichos organismos pueden descolorar o manchar las semillas y debilitar u ocasionar la muerte del embrión, además de producir compuestos tóxicos al hombre y los animales. Generalmente reducen el porcentaje de germinación

Hongos de almacenamiento. Ocurren durante el almacenamiento de las semillas, pero también pueden provenir del campo, sobre todo cuando se hacen cosechas tardías o cuando al momento de la cosecha se han presentado condiciones adversas para el secamiento normal de las semillas. Los hongos de almacenamiento comprenden especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*.

Los requerimientos básicos para el desarrollo de mohos de almacén son similares a los de otros organismos vivos -alimento, agua, temperatura favorable, atmósfera adecuada y tiempo. La velocidad a la cual se desarrollaran sobre un lote de semillas dependerá sobre todo de las condiciones previas al almacenamiento: la infección inicial, la cantidad de semillas rajadas o cuya cubierta presenta fisuras, la presencia de residuos, el estado del embrión, la presencia, número y actividades de insectos y ácaros, para nombrar solamente algunos de los factores que contribuyen al desarrollo de los hongos en almacenamiento.

La humedad relativa mínima para el crecimiento de hongos de granos almacenados a su temperatura óptima de crecimiento (27-30EC) oscila entre el 68% y 85% para especies del género *Aspergillus* (*A. halophilicus*, *A. restrictus*, *A. glaucus*, *A. candidus*, *A. ochraceus*, *A. flavus*) y 80-90 % para las del género *Penicillium*.

Otro factor importante a considerar es el contenido mínimo de humedad de la semilla para desa-



rollo de los hongos en almacenamiento, factor que esta correlacionado con la especie de planta y con la del hongo. En General para *Aspergillus* esta comprendida entre 12 y 19% , para *Penicillium* entre el 16 y 19%.

Hongos saprofiticos o degradadores. Normalmente sobre las semillas se observan con cierta frecuencia hongos saprofiticos o degradadores cuya función es iniciar el proceso de degradación de la materia orgánica para completar el ciclo de mineralización de la misma. Ocurren en semillas sobremaduras o no cosechadas en madurez fisiológica.

### **Bacterias**

Las bacterias son organismos procarióticos que carecen de clorofila y se multiplican por fisión binaria. Existen varios géneros de bacterias que afectan las plantas, entre los cuales se en destacan *Agrobacterium*, *Curtobacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* y *Xanthomonas* , alguna de ellas transmisibles por semilla.

Las bacterias *Xanthomonas campestris* pv *phaseoli* (Smith) Dye y *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola* (Burk) Young et al representan dos de los patógenos de mayor incidencia en las regiones productoras de frijol; la primera en zonas de alta temperatura y humedad y la segunda en áreas con 16 a 20 C de temperatura.

### **Virus y viroides**

Se estima que por lo menos el 20% de los virus que afectan a las plantas son transmisibles por semilla, siendo más exitosa la transmisión si ocurre infección sistémica antes de floración, si hay invasión del óvulo o los gametos, si no se inactivan los virus durante el desarrollo de la semilla o si pueden sobrevivir cuando éstas se secan o almacenan.

En frijol el BCMV, el BSMV, el virus del mosaico del pepino, el virus del mosaico de la soya (SoyMV) son transmitidos por semilla.

Los viroides como el PSTV («Potato Spindle Tuber Viroid») y el del achaparramiento del crisantemo se registran como transmitidos por semilla.

### **Nematodos**

Son organismos pertenecientes al reino animal, conocidos como gusanos alambres. Son muy pequeños, no segmentados, viven en el suelo, en el agua o parasitando las plantas.

Se han registrado como transmitidos por semilla los géneros *Anguina*, *Aphelenchoides*,



Ditylenchus, Heterodera, Radinaphelenchus.

## 2. DETECCION DE PATOGENOS EN SEMILLAS PRIVATE

Las semillas son estructuras complejas de la planta, responsables de la perpetuación de la especie en el espacio y en el tiempo, se encuentran biológicamente en reposo y contienen un embrión activo, esto es viviente y por lo tanto con actividad metabólica. Por sus reservas de almidón, proteínas, grasas vegetales y otros compuestos, son fuente de alimento de microorganismos, insectos, animales superiores, hombre, etc.

Desde el punto de vista agrícola la semilla es un insumo fundamental para el establecimiento de los cultivos. Para obtener buenas cosechas se requiere que posea calidad total, esto es que confluyan en ella la calidad genética, la fisiológica, la física y la sanitaria. Para determinar el grado de excelencia de las semillas los analistas aplican diferentes procedimientos, según el tipo de componente a verificar. En el caso particular de la determinación de la calidad sanitaria se requieren métodos de detección para los microorganismos (saprófitos o parásitos) y virus se que encuentran asociados con ellas.

Las pruebas de sanidad guardan relación estrecha con las políticas de la actividad de producción de semillas, su comercialización, su mejoramiento e intercambio internacional de germoplasma, y pretenden:

- . Evaluar el estado de sanidad antes de la siembra
- . Certificar
- . Determinar métodos y evaluar efectividad de los tratamientos a aplicar
- . Examinar el germoplasma para conservación e intercambio
- . Determinar la calidad en almacenamiento o para consumo

Una vez definido el propósito de las pruebas, se procede a establecer la metodología a seguir, puesto que para cada caso se establecen los procedimientos respectivos.

Las pruebas deben cumplir tres requisitos básicos, según P. Neergard:

- . Producir información confiable pertinente al comportamiento de campo y a los requerimientos cuarentenarios
- . Los resultados deben ser reproducidos dentro de los límites estadísticos establecidos
- . El tiempo, las labores y el equipo para ejecutar las pruebas deben mantenerse dentro de límites económicos.



## **METODOLOGIA PARA EL ANALISIS DE LA SANIDAD DE LAS SEMILLAS**

La metodología a seguir para determinar el estatus fitosanitario de las semillas utiliza diferentes métodos de detección de patógenos, según la clase y tipo de microorganismo a detectar (parásito obligado o facultativo, saprófitos), sus características en cuanto al tipo de relación que exista con las semillas (infección, infestación, concomitancia) o el nivel de precisión que requieran las pruebas. La selección de un método determinado depende del propósito de la prueba y de los objetivos del análisis de la sanidad de la semilla.

### **Detección de hongos**

Examen de semillas secas. Se efectúa mediante la observación de las semillas a simple vista o con lentes de bajo aumento; generalmente es posible visualizar decoloraciones, anormalidades morfológicas, presencia de fructificaciones de patógenos mezcladas con las semillas. También es posible hacer observaciones con estereo-microscopio o con fuentes de luz cercana a ultravioleta. Examen de semillas imbibidas en agua. En esta metodología se imbiben las semillas en agua para facilitar el desarrollo de cierto tipo de hongos.

Enjuagado de semillas. Se procede realizando el lavado de las semillas y centrifugando el líquido de enjuague para facilitar las observaciones.

Incubación de semillas. Es el método más utilizado en análisis de sanidad de las semillas y se aplica mediante el método del papel de filtro (Blotter test) o mediante la utilización de medios de cultivo (Agar-Plate test).

Observación de síntomas en plántulas (Seedling- Symptom test). En esta metodología se induce la germinación de las semilla en papel toalla, papel de filtro, en tubos de ensayo con medio de cultivo o en suelo estéril.

Otros métodos. Se pueden aplicar otras técnicas de análisis como la fluorescencia, histopatología, conteo de embriones y embebido en hidróxido de sodio, según las necesidades

### **Detección de virus y viroides**

Observación visual de semillas secas. Es posible detectar decoloraciones, reducción del tamaño y deformación de semillas afectadas.

Pruebas biológicas. Comprenden la observación de síntomas en plántulas, pruebas de patogenicidad y uso de plantas indicadoras

Pruebas bioquímicas. Se aplican técnicas de serología, microprecipitina, difusión en geles, ELISA, electroforesis, PCR, aglutinación (cloroplastos, latex), anticuerpos marcados e inmunofluorescencia, entre otras.

Observaciones con microscopio electrónico: se utiliza tinción negativa, inmunoelectrónica (ISEM y decorado), cortes ultrafinos para visualizar partículas, inclusiones o cambios histológicos o citológicos.



Detección de nematodos. Se puede realizar mediante examen visual de semillas secas, semillas imbibidas en agua o por la extracción de nematodos a partir de tejidos afectados o de suelo mezclado con las semillas..

## REFERENCIAS

Agarwal, V.K., and J.B. Sinclair. 1987. Principles of Seed Pathology. Vol. I and II. CRC. Academic Press, Boca Ratón, Florida.

Alburquerque, F., Boisier, S., Lira, L., Medina V., J., Santos, M., Ssilveira, L., y Varela B., E. 1997. Globalización y gestión del desarrollo regional, perspectivas latinoamericanas. Edit Univalle, Cali. 238pp

Angulo, N., F y Arcila M. Belen. 1989. Factores que limitan la productividad del frijol voluble en Nariño. ICA. Regional 5. Informe Técnico #59. 22p

Christensen, C., M.. 1972. Microflora and Seed Deterioration. in: E. H.Roberts (Ed). 1972. Viability of seeds. Syracuse University Press. p 60-93

CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 1989. Bean Production Problems in the Tropic. 2nd Ed. Schwartz, H.F. and Pastor-Corrales, M.A. (eds), Cali, Colombia. 726 p.

Ellis, M.A., Galvez, G. y Sinclair J.B. 1976. Hongos Internamente Portados por la Semilla y Calidad de la Semilla de Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cosechado en fincas de pequeños agricultores en cuatro departamentos de Colombia. Noticias Fitopatológicas 5(2): 79-82.

Neergard, P. 1977. Seed Pathology (Vol I). 839 pp. Halsted Book a division of John Wiley & sons, New York.

Pacheco, C.C. 1989. Importancia de la Patología de Semillas para los Programas de Semillas. Fitopatología Colombiana. 13: 20-30.