



Scientia Agropecuaria

Web page: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop>

Facultad de Ciencias
Agropecuarias

Universidad Nacional de
Trujillo



RESEARCH ARTICLE

Molecular identification and prevalence of fungal contaminants in seeds of semi-annual crops

Identificación molecular y prevalencia de contaminantes fúngicos en semillas de cultivos semestrales

Manuel Alfonso Patiño-Moscoso¹; * ; Karen Viviana Osorio-Guerrero¹ ; Deisy Lorena Flórez-Gómez¹ ; Luisa Fernanda Sarmiento-Moreno¹ ; David Napoleón Vargas-Ramírez² 

¹ Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA, Sede Central, Departamento de Semillas. Km 14 vía Mosquera-Bogotá. Código Postal 250047. Colombia.

² Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA, Centro de Investigación Tibaitatá. Km 14 vía Mosquera-Bogotá. Código Postal 250047. Colombia.

* Corresponding author: mpatino@agrosavia.co (M. A. Patiño-Moscoso).

Received: 12 April 2023. Accepted: 16 August 2023. Published: 18 September 2023.

Abstract

Seed quality is affected by fungal contamination. These cause abortion, rot, or necrosis of the seed, as well as seedling damage that results in the development of diseases in later stages of growth. Their identification and characterization are essential to establish appropriate management. The objective of this work was to identify and determine the prevalence of fungal contaminants present in the seed of thirteen plant varieties of rice, soybean, corn, and forage sweet sorghum produced in the municipality of El Espinal, Tolima, Colombia. This research was carried out at the Tibaitatá Research Center of the Colombian Agricultural Research Corporation AGROSAVIA (Cundinamarca, Colombia) during the second semester of 2021. By means of a blotter test, fungal contaminants and their prevalence in germinated and non-germinated seeds were identified. A total of 65 fungal isolates were obtained, which were grouped into twenty-eight molecularly identified morphotypes (44 soybean, 5 rice, 7 sorghum and 9 corn). The genera *Diaporthe* and *Fusarium* were the ones with the highest total prevalence and in ungerminated seeds. The fungi found include possible pathogens such as *Fusarium* spp, *Curvularia* spp and *Diaporthe* spp. and saprophytic fungi such as *Penicillium* spp and *Aspergillus* spp. The isolates of *Fusarium equiseti* and *Diaporthe* sp. in soybean seed, *Curvularia penniseti* in rice seed, *Diaporthe melonis* in sorghum seed and *Fusarium verticillioides* in corn seed can be considered as potential seed-borne pathogens that caused a negative effect on germination capacity.

Keywords: plant health; seed quality; seed crops; pathogenic fungi; seedborne pathogens.

Resumen

La calidad de las semillas se ve afectada por la contaminación por hongos. Estos ocasionan el aborto, pudrición o necrosis de la semilla, así como el daño de las plántulas que resulta en el desarrollo de enfermedades en etapas posteriores del crecimiento. Su identificación y caracterización es esencial para establecer el manejo apropiado. El objetivo de este trabajo fue identificar y determinar la prevalencia de los contaminantes fúngicos presentes en la semilla de trece variedades vegetales de arroz, soya, maíz y sorgo dulce forrajero producidas en el municipio de El Espinal, Tolima, Colombia. Esta investigación se realizó en el Centro de Investigación Tibaitatá de la Corporación colombiana de investigación agropecuaria AGROSAVIA (Cundinamarca, Colombia) durante el segundo semestre del 2021. Por medio de un blotter test se identificaron los contaminantes fúngicos y su prevalencia en semilla germinada y sin germinar. Se obtuvieron en total 65 aislamientos de hongos que fueron agrupados en veintiocho morfotipos identificados molecularmente (soya 44, arroz 5, sorgo 7, maíz 9). Los géneros *Diaporthe* y *Fusarium* fueron los de mayor prevalencia total y en semillas sin germinar. Los hongos encontrados incluyen posibles patógenos como *Fusarium* spp, *Curvularia* spp y *Diaporthe* spp. y hongos saprófitos como *Penicillium* spp y *Aspergillus* spp. Los aislamientos de *Fusarium equiseti* y *Diaporthe* sp. en semilla soya, *Curvularia penniseti* en semilla de arroz, *Diaporthe melonis* en semilla de sorgo y *Fusarium verticillioides* en semilla de maíz pueden ser considerados como potenciales patógenos transmitidos por semilla que ocasionaron un efecto negativo en la capacidad germinativa.

Palabras clave: sanidad vegetal; calidad de las semillas; cultivos de semillas; hongos patógenos; patógenos transmitidos por semilla.

DOI: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2023.030>

Cite this article:

Patiño-Moscoso, M. A., Osorio-Guerrero, K. V., Flórez-Gómez, D. L., Sarmiento-Moreno, L. F., & Vargas-Ramírez, D. N. (2023). Identificación molecular y prevalencia de contaminantes fúngicos en semillas de cultivos semestrales. *Scientia Agropecuaria*, 14(3), 347-358.

1. Introducción

La semilla es uno de los factores tecnológicos de mayor importancia al ser considerada como el insumo básico en los sistemas de producción agrícola ligado directamente al potencial de rendimiento o productividad de los cultivos (Paliwal, 2001). Asimismo, son el producto final de los programas de fitomejoramiento, los cuales son exitosos solamente cuando ese producto puede llegar y ser efectivamente utilizado por los agricultores a través de un programa eficiente de producción que defina los objetivos y las necesidades específicas de quienes lo utilizan.

En los sistemas de semillas, la calidad entendida desde sus cuatro atributos (fisiológico, genético, sanitario y físico) es fundamental para su producción. Una semilla de baja calidad limita el rendimiento potencial, reduce la productividad (FAO, 2006) e incrementa el riesgo de plagas y patógenos, entre otros problemas; esto ligado a los procesos de obtención y distribución de semilla los cuales poseen elementos adicionales que incrementan la complejidad de estos procesos. Por ende, se requiere de lineamientos claros y definidos para producir semilla de calidad y en cantidad.

La calidad de las semillas se puede ver afectada directa e indirectamente por la contaminación por hongos. En el caso de los primeros dos grupos, las pérdidas causadas pueden ocurrir durante las etapas de desarrollo, almacenamiento o germinación. El daño resulta en la pérdida de la viabilidad de la semilla o en la infección de la plántula después de la germinación. Así mismo condiciones de alta humedad y temperatura en las etapas de cosecha y postcosecha aumentan la incidencia de hongos, que pueden aparecer en la fase de almacenamiento si la temperatura y la humedad no se mantienen adecuadamente (Amza, 2018).

La afectación directa se atribuye al crecimiento y desarrollo del hongo en la semilla y la producción de metabolitos como micotoxinas. Entre las reportadas con mayor frecuencia están las aflatoxinas, obtenidas principalmente del género *Aspergillus* y las ocratoxinas, producidas por *Aspergillus* y *Penicillium* (Omori et al., 2018).

La afectación indirecta está asociada con la transmisión y establecimiento de problemas fitosanitarios que generan reducción en la germinación y vigor de la semilla, o infección de la plántula posterior a la germinación que ocasiona pérdidas en la productividad (Amza, 2018). Desde un punto de vista económico, los hongos transmitidos por semillas se pueden clasificar en tres grupos: (a) patógenos de plantas que son transmitidos por semillas, los cuales

invaden la semilla durante su desarrollo o madurez, (b) hongos que reducen la calidad de las semillas y los granos, generalmente hongos saprófitos no especializados que invaden el grano maduro húmedo y (c) hongos que no generan efectos perjudiciales (Martín et al., 2022).

Un patógeno transmitido por semilla puede causar el aborto, la pudrición o necrosis de esta y la reducción o eliminación de la capacidad de germinación, así como el daño de las plántulas que resulta en el desarrollo de enfermedades en etapas posteriores del crecimiento por infección sistémica o local (Naqvi & Rehman, 2013, Goko et al., 2021; Hill et al., 2021).

Es así como en los últimos años, el panorama agrícola mundial ha enfrentado una preocupación creciente por la aparición y diseminación de enfermedades destructivas propagadas a través de las semillas (Martín et al., 2022). Este fenómeno subraya el papel crítico que desempeñan las semillas como posibles vectores para la transmisión de varios patógenos capaces de causar daños sustanciales a los cultivos. Esta diseminación ha llevado a riesgos más elevados, ya que estos patógenos encuentran nuevos entornos y hospederos en los que establecerse (Dell'Olmo et al., 2023). Una consecuencia particularmente preocupante de este fenómeno es el potencial de pérdidas de rendimiento de hasta un 50%, atribuidas a la actividad de hongos transmitidos por semillas responsables de provocar enfermedades fúngicas (Erasto et al., 2023). En este contexto, la identificación y caracterización de contaminantes fúngicos es un componente esencial del manejo enfocado a reducir la afectación en la calidad de semilla (Naqvi & Rehman, 2013).

El objetivo de este trabajo fue identificar y determinar la prevalencia de los contaminantes fúngicos presentes en la semilla de trece variedades vegetales de cuatro especies agrícolas de interés comercial: arroz, soya, maíz y sorgo dulce forrajero producidas en el municipio de El Espinal, Tolima, Colombia.

2. Metodología

Lugar de estudio

Esta investigación se realizó en el 2021, en los Laboratorios de Microbiología Agrícola y Producción Vegetal del Centro de Investigación Tibaitatá de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA), ubicado en el municipio de Mosquera del departamento de Cundinamarca (Colombia), latitud N 4°41'43.1349", longitud W 74°12'18.7666", y altitud de 2600 m.

Material vegetal

Las semillas usadas para el experimento fueron obtenidas de los campos de multiplicación de semilla ubicados en El Espinal – Tolima durante el primer semestre del 2021 y correspondieron a trece variedades vegetales producidas en cuatro especies agrícolas de interés comercial: arroz (AGRVA1 y AGRVA2); soya (AGRVSY1, AGRVSY2, AGRVSY3, AGRVSY4, AGRVSY5, AGRVSY6 y AGRVSY7); maíz (AGRVM1, AGRVM2 y AGRVM3), y sorgo dulce forrajero (AGRVSRI).

Aislamiento y purificación de los patógenos

Por medio de un blotter test modificado (técnica de diagnóstico de patógenos en semillas) (Agarwal & Gaur, 1997; Tsedaley, 2015) se identificó, caracterizó y determinó la prevalencia de los contaminantes fúngicos presentes en la semilla. En recipientes plásticos herméticos de capacidad de 0,9 L con doble servilleta estéril (toallas absorbentes en Z 24 cm x 25 cm) se generaron condiciones de cámara húmeda con agua destilada estéril. Sobre la servilleta húmeda fueron dispuestas las semillas de cada material por separado con tres repeticiones por material, cada una con 50 semillas que constituyeron la muestra de evaluación. Las semillas dispuestas por recipiente fueron sometidas a condiciones de temperatura entre 25 °C ± 3 C y HR ~ 90% ± 5% por siete días (Ordon et al., 2009).

Siete días después del montaje de las cámaras húmedas se revisaron todos los recipientes con las muestras con el fin de observar el crecimiento micelial de hongos presentes en la semilla (Ordon et al., 2009). El micelio emergente sobre la superficie de las semillas fue sembrado posteriormente en medio PDA pH 4,5 (Ajustado con Ácido Láctico) o PDA + Cloranfenicol. Los aislamientos se incubaron en oscuridad a 25 °C durante 7 días. El micelio generado de los aislamientos de los tejidos se repicó en el mismo medio de cultivo.

Al finalizar el proceso de germinación en cámaras húmedas, siete días después de la siembra para todas las variedades (Ordon et al., 2009; Wain-Tassi et al., 2012; Chrapaćiené et al., 2022), se determinó el % de germinación total, % de semillas sanas, % de semillas sanas germinadas y % de prevalencia de hongos contaminantes diferenciado por género de hongo contaminante y semilla germinada o sin germinar (Ordon et al., 2009).

Identificación molecular

Los aislamientos puros fueron identificados molecularmente. Se realizó la extracción de ADN de acuerdo con la metodología propuesta por Griffith & Shaw (1998). Posteriormente, se realizó la amplifi-

cación por PCR con los primers ITS1F-ITS4 (ITS1F 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3' y ITS4 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'). Las secuencias resultantes fueron comparadas con la región ITS1-5.8S-ITS2 correspondiente de las secuencias de la base de datos GenBank del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI, 2022). Los biotipos de hongos aislados se conservaron en medio PDA a -4 °C (tres copias de cada aislamiento) y en Crioviales en solución de criopreservación (Glicerol 20 % y Peptona al 0,5 %) a -80 °C.

Análisis estadístico

Para la determinación de prevalencia de hongos contaminantes en semilla de las diferentes variedades se utilizó un diseño en bloques al azar con trece tratamientos (variedades) tres repeticiones y un recipiente con 50 semillas como unidad experimental. Se determinaron medidas de tendencia central y análisis multivariado con el programa R Studio® (R Core Team, 2020).

3. Resultados y discusión

Las variedades de arroz AGRVA1 y AGRVA2 y de maíz AGRVM2 y AGRVM3 presentaron porcentajes de germinación superiores al 90% y esta última mostró el mayor porcentaje de semillas sanas y semillas sanas germinadas. Los porcentajes de germinación más bajos se observaron en las soyas AGRVSY6, AGRVSY3 y AGRVSY4, estas dos últimas con porcentajes más bajos de semillas sanas y sanas germinadas. En general los porcentajes de semillas sanas sin germinar fueron inferiores al 8 % (Tabla 1).

Se obtuvieron en total 65 aislamientos de hongos que, por su morfología macroscópica, microscópica y signos en la semilla fueron agrupados en 28 morfotipos los cuales fueron identificados molecularmente (Tabla 2). En AGRVSY2 se obtuvieron 8 aislamientos. En sorgo (AGRVSRI) se encontraron 7 hongos. En AGRVSY3, AGRVSY4, AGRVSY5, AGRVSY6 y AGRVSY7 se aislaron 6 hongos de cada variedad. Del material AGRVA1 fueron aislados 2 hongos, mientras que de AGRVA2, AGRVSY1 y AGRVSY7 se obtuvieron 3 aislamientos. En los cultivares de maíz AGRVM3, AGRVM2 y AGRVM1 se hallaron entre 2 y 4 aislamientos (Anexos).

A partir del blotter test fue posible distinguir diferentes signos de afectación en la semilla de cada uno de estos materiales, como la presencia de estructuras reproductivas (conidióforos) del género *Aspergillus* (cabeza negra, verde claro) o el crecimiento de micelio de diferentes colores y morfologías de hongos filamentosos (Figura 1).

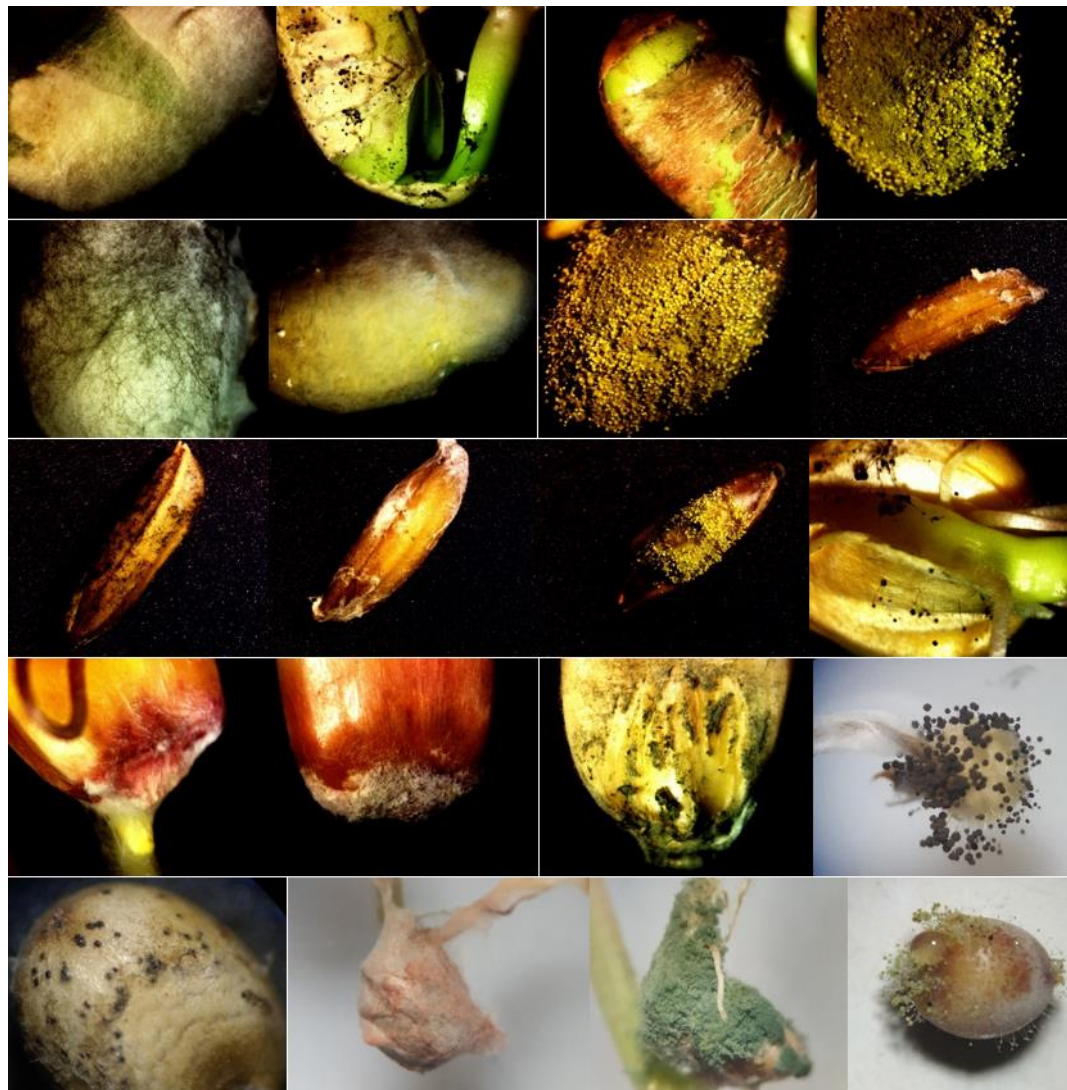


Figura 1. Presencia de hongos filamentosos contaminantes en semillas de soya, arroz, sorgo y maíz. De izquierda a derecha y de arriba abajo: *Fusarium equiseti* en soya, *Aspergillus awamori* en soya, *Diaporthe* sp. en soya, *Aspergillus flavus* en soya, *Lasiodiplodia theobromae* en soya, *Fusarium equiseti* en soya, *Aspergillus flavus* en soya, *Fusarium oxysporum* en arroz, *Curvularia penniseti* en arroz, *Fusarium proliferatum* en arroz, *Aspergillus flavus* en arroz, *Aspergillus niger* en maíz, *Fusarium verticillioides* en maíz, *Fusarium verticillioides* en maíz, *Penicillium* sp. en maíz, *Aspergillus niger* en sorgo, *Curvularia lunata* en sorgo, *Diaporthe melonis* en sorgo, *Talaromyces pinophilus* en sorgo, *Aspergillus flavus* en sorgo.

Soya

En semilla de soya se identificaron 8 especies de hongos filamentosos. *Fusarium equiseti* y *Diaporthe* sp. fueron las más frecuentes en cada uno de los materiales evaluados y las de mayor prevalencia en semillas sin germinar. Algunas especies como *A. awamori* estuvieron presentes en la semilla de todos los materiales, pero presentaron un porcentaje de prevalencia bajo en semillas sin germinar con respecto a otros hongos (Tabla 3).

Los resultados encontrados en la semilla de soya analizada son similares a otros estudios donde se relacionan a las especies *Aspergillus* spp. *Fusarium equiseti*, *Diaporthe longicolla* y *Penicillium citrinum*

como las más frecuentes (Fresneda et al., 2009; Escamilla et al., 2019).

Fue posible evidenciar que en los tres cultivares de soya existe una relación directamente proporcional entre la prevalencia de especies de *Fusarium* y de *Diaporthe*. Esto es similar a los hallazgos de Gally (2006) que indica que *Fusarium equiseti* ha sido reportado junto con otras especies de este género como *F. solani*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum* y *F. graminearum* en la zona pampeana de Argentina, las cuales se encuentran asociadas a *Diaporthe/Phomopsis*. En el presente estudio se identificó más de una especie del género *Diaporthe* en semilla de soya. Esto concuerda con Nishmitha

et al. (2021) quienes reportan que en soya, *P. phaseolorum*, *P. longicolla*, *P. eres* y *P. helianthi* pueden infectar con éxito y causar lesiones. Se encontró que los patógenos del género *Fusarium* tienden a presentar una mayor prevalencia en las semillas no germinadas. Esto sugiere que su presencia puede afectar la calidad fisiológica de la semilla de soya. Lo anterior es señalado por Formento et al. (2016) quienes encontraron varias especies de *Fusarium* en las semillas de soya las cuales ocasionaron podredumbre y muerte de la

semilla, y determinaron una correlación negativa y significativa entre la germinación y la incidencia de *Fusarium*. Los bajos resultados de germinación de semilla (< 70%) se asocian con la mayor prevalencia de *Fusarium equiseti*. Esto concuerda con Fresneda et al. (2009), quienes encontraron que el género *Fusarium* se incrementa en la semilla con germinaciones por debajo de 85%, pues en soya es considerado el hongo que produce mayor número de pudriciones, asociado a altas temperaturas y alta humedad al final del ciclo del cultivo.

Tabla 1

Porcentaje de semillas sanas (germinadas y no germinadas) en trece variedades vegetales producidas de arroz, maíz, soya y sorgo

Variedad	Promedio de germinación (%)	Promedio de semillas sanas (%)	Promedio semillas sanas germinadas (%)	Promedio de semillas sanas sin germinar (%)
Arroz				
AGRVA1	93,3 ± 3,0	49,0 ± 3,7	47,6 ± 4,6	1,3 ± 1,2
AGRVA2	98,0 ± 3,5	36,0 ± 7,7	36,0 ± 7,7	0,0 ± 0,0
Maíz				
AGRVM1	82,6 ± 1,9	38,1 ± 6,6	37,5 ± 7,5	0,6 ± 1,0
AGRVM2	96,5 ± 2,5	43,5 ± 3,0	43,5 ± 3,0	0,0 ± 0,0
AGRVM3	93,4 ± 1,1	61,0 ± 6,1	59,6 ± 7,4	1,3 ± 2,3
Sorgo				
AGRVSRI	76,7 ± 23,3	14,2 ± 7,3	13,9 ± 7,4	0,3 ± 0,8
Soya				
AGRVSY2	54 ± 17,9	18,5 ± 15,2	18,5 ± 15,2	0,0 ± 0,0
AGRVSY6	43 ± 5,5	20,6 ± 2,1	17,8 ± 2,5	2,8 ± 2,4
AGRVSY3	32 ± 3,8	6,7 ± 4,6	6,7 ± 4,6	0,0 ± 0,0
AGRVSY4	20 ± 11,8	19,0 ± 10,8	11,1 ± 6,3	7,8 ± 7,8
AGRVSY5	62 ± 4,0	39,6 ± 5,1	35,7 ± 4,0	3,9 ± 1,8
AGRVSY1	69 ± 13,2	24,9 ± 5,4	19,6 ± 8,1	5,3 ± 4,2
AGRVSY7	67 ± 9,0	27,3 ± 18,0	24,7 ± 16,0	2,7 ± 3,1

Tabla 2

Resultados de identidad en GenBank de secuencias ITS del ADNr de hongos aislados de semillas

Morfotipo	Especie de procedencia	Identidad en GenBank	Identidad	Tamaño (pb)	Accesión
D01	Soya	<i>Aspergillus awamori</i>	100,00%	559	KX621965.1
D02	Soya	<i>Aspergillus awamori</i>	100,00%	559	KX621965.1
D03	Soya	<i>Fusarium equiseti</i>	99,78%	530	KU565733.1
D04	Soya	<i>Fusarium proliferatum</i>	99,56%	536	KY848358.1
D05	Soya	<i>Diaporthe longicolla</i>	93,77%	585	MT012104.1
D06	Soya	<i>Diaporthe</i> sp.	99,22%	653	MG976358.1
D07	Soya	<i>Aspergillus flavus</i>	100,00%	552	HQ122936.1
D08	Soya	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	99,79%	520	MT075442.1
D09	Soya	<i>Diaporthe</i> sp.	99,41%	653	MG976346.1
D10	Soya	<i>Fusarium equiseti</i>	100,00%	485	MF993089.1
D11	Soya	<i>Diaporthe</i> sp.	99,18%	486	KF466206.1
D12	Soya	<i>Fusarium proliferatum</i>	99,58%	555	MK817049.1
D13	Sorgo	<i>Diaporthe melonis</i>	86,73%	602	MT422108.1
D14	Sorgo	<i>Aspergillus flavus</i>	100,00%	565	LC106118.1
D15	Sorgo	<i>Talaromyces pinophilus</i>	100,00%	584	MK336630.1
D16	Sorgo	<i>Aspergillus niger</i>	100,00%	568	MN474007.1
D17	Sorgo	<i>Penicillium polonicum</i>	100,00%	578	MT487786.1
D18	Sorgo	<i>Curvularia lunata</i>	100,00%	684	MK204512.1
D19	Arroz	<i>Aspergillus flavus</i>	100,00%	563	MT528892.1
D20	Arroz	<i>Fusarium culmorum</i>	100,00%	506	MK226295.1
D21	Arroz	<i>Fusarium oxysporum</i>	100,00%	511	MN988760.1
D22	Arroz	<i>Fusarium proliferatum</i>	100,00%	553	MT123028.1
D23	Maíz	<i>Aspergillus niger</i>	99,62%	597	MH855928.1
D24	Maíz	<i>Penicillium</i> sp.	99,60%	575	MN093874.1
D25	Maíz	<i>Fusarium verticillioides</i>	99,78%	520	MK790050.1
D26	Maíz	<i>Talaromyces pinophilus</i>	86,34%	576	MK646032.1
D27	Soya	<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i>	99,57%	531	MN887200.1
D28	Arroz	<i>Curvularia penniseti</i>	99,80%	571	MH858447.1

Tabla 3
Prevalencia (en %) de hongos aislados en semilla de trece variedades vegetales de arroz, maíz, soya y sorgo

Hongo contaminante	Especie						
	soya (<i>Glycine max</i>)						
	AGRVSY1	AGRVSY2	AGRVSY3	AGRVSY4	AGRVSY5	AGRVSY6	AGRVSY7
<i>A. awamori</i>	1,9 ± 3,3	1,3 ± 1,1	7,3 ± 4,9	1,3 ± 1,1	11,1 ± 4,4	5,4 ± 2,1	3,3 ± 4,2
<i>A. flavus</i>	0,6 ± 1,1	1,3 ± 1,1	19,8 ± 6,8	1,3 ± 2,3	5,9 ± 2,0	9,5 ± 4,8	-
<i>A. niger</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. lunata</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. penniseti</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>D. longicolla</i>	11,2 ± 5,9	4,6 ± 1,2	-	-	13,5 ± 5,3	9,0 ± 8,7	-
<i>D. melonis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Diaporthe</i> sp.	-	39,7 ± 8,0	-	29,4 ± 10,2	9,7 ± 3,5	24,6 ± 9,0	-
<i>F. culmorum</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>F. equiseti</i>	39 ± 12,1	22,9 ± 2,7	27,9 ± 8,1	36,6 ± 10,1	9,9 ± 5,5	21,9 ± 4,6	62,7 ± 8,2
<i>F. oxysporum</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>F. proliferatum</i>	-	-	19,9 ± 8,8	6,5 ± 4,9	-	-	5,3 ± 3,1
<i>F. verticillioides</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. pseudotheobromae</i>	-	-	18,6 ± 8,4	-	-	-	-
<i>L. theobromae</i>	22,3 ± 9,0	11,7 ± 2,5	-	1,3 ± 2,3	10,4 ± 0,6	11,8 ± 5,5	1,3 ± 2,3
<i>P. polonicum</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-
<i>Talaromyces pinophilus</i>	-	-	-	-	-	-	-

Hongo contaminante	Especie					
	arroz (<i>Oryza sativa</i>)		sorgo (<i>Sorghum bicolor</i>)		maíz (<i>Zea mays</i> L.)	
	AGRVA1	AGRVA2	AGRVSR1	AGRVM1	AGRVM2	AGRVM3
<i>A. awamori</i>	-	-	-	-	-	19,2 ± 8,0
<i>A. flavus</i>	-	0,7 ± 1,2	28,5 ± 3,5	-	-	-
<i>A. niger</i>	-	-	1,3 ± 2,2	-	2,8 ± 1,2	-
<i>C. lunata</i>	-	-	2,0 ± 0,1	-	-	-
<i>C. penniseti</i>	44,3 ± 5,9	-	-	-	-	-
<i>D. longicolla</i>	-	-	-	-	-	-
<i>D. melonis</i>	-	-	35,7 ± 3,3	-	-	-
<i>Diaporthe</i> sp.	-	-	-	-	-	-
<i>F. culmorum</i>	-	52,5 ± 10,3	-	-	-	-
<i>F. equiseti</i>	-	-	-	-	-	-
<i>F. oxysporum</i>	6,7 ± 3,0	-	-	-	-	-
<i>F. proliferatum</i>	-	10,8 ± 5,0	-	-	-	-
<i>F. verticillioides</i>	-	-	-	33,9 ± 6,3	44,9 ± 8,9	-
<i>L. pseudotheobromae</i>	-	-	-	-	-	-
<i>L. theobromae</i>	-	-	-	-	-	-
<i>P. polonicum</i>	-	-	9,3 ± 6,2	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp.	-	-	-	11,6 ± 0,9	8,9 ± 10,0	19,9 ± 2,0
<i>Talaromyces pinophilus</i>	-	-	14,6 ± 12,3	9,8 ± 4,4	-	-

La prevalencia de *Diaporthe* en las semillas de soya no germinadas es similar a lo expuesto por Wallen & Seaman (2011), Petrović et al. (2018) y Lavilla (2019), quienes señalan que las especies de este género afectan negativamente la germinación y la calidad de la semilla, en consecuencia, se generan pérdidas severas en rendimiento. Esto es soportado por Sánchez et al. (2015), quienes señalan que *Diaporthe* spp es uno de los causantes de varias enfermedades en zonas productoras de soya, este género unido con *Phomopsis* constituyen un complejo fúngico que generan enfermedades y pérdidas en cultivos de soya.

Arroz

Se identificaron 5 especies de hongos filamentosos en la semilla de los dos materiales de arroz. Los mayores porcentajes de prevalencia, los ocuparon *Curvularia penniseti* y *Fusarium culmorum*. Sin

embargo, estos presentaron una baja prevalencia en semillas sin germinar, situación que puede ser explicada por la existencia de mayor tejido vegetal susceptible expuesto a la acción de los hongos en la semilla germinada (Tabla 3).

La mayor prevalencia de los géneros *Fusarium* y *Curvularia* en semilla de arroz, concuerda con lo reportado por Kwaloe et al. (2018), quien indica que *Fusarium equiseti*, *Fusarium moniliforme*, *Verticillium cinnabarinum* y *Curvularia inaequalis* son las de mayor incidencia en semillas de arroz. Los resultados concuerdan con estudios previos que reportan a *Fusarium* spp. como las segundas especies más prevalentes en semillas de arroz después de *R. solani*, estas especies están asociadas con la pudrición de plántulas en el 50% de los casos (Gaire et al., 2023).

Las especies *F. proliferatum* y *F. culmorum* encontradas en la semilla analizada, han sido reportadas

como patógenos transmitidos por semilla de arroz, sin embargo, en este estudio no se vio afectada la calidad fisiológica de estas (Chinchilla et al., 2020). Dentro del grupo de especies conocidas como complejo *F. fujikuroi*, se identificó únicamente la presencia de *F. proliferatum* en las semillas de arroz. Investigaciones previas han demostrado que entre las especies de este complejo presentes en las semillas de arroz (FFSC), se encuentran *F. andiyazi*, *F. fujikuroi*, *F. proliferatum* y *F. verticillioides*, las cuales están asociadas con la enfermedad conocida como Bakanae en el arroz. Esta enfermedad puede tener un impacto negativo en la capacidad de germinación de las semillas (Jiang et al., 2020).

El aislamiento de *Curvularia penniseti* encontrado se trata de un patógeno transmitido por semilla de arroz. Su presencia puede resultar determinante en la aprobación o rechazo de un lote de producción de semilla (Barrios & Pérez, 2005). Se ha reportado la presencia de *C. penniseti* en semilla de arroz, provocando marchitez del semillero, manchas en las hojas, coloración negruzca del grano, marchitez de la panícula y manchado del grano (Neninger et al., 2003).

La baja prevalencia total y en semillas no germinadas de arroz de *Aspergillus flavus*, indica que se trata de un hongo saprófito y no un hongo patógeno que afecta la calidad fisiológica de la semilla. Sin embargo, existe reportes de este hongo como patógeno de semilla (Quintana, 2010).

Probablemente la afectación por los hongos encontrados en estas semillas esté asociada a las características genéticas y físicas de los arroces evaluados; los cuales probablemente presentan algún grado de tolerancia al ataque de estos hongos en la etapa de germinación (Chinchilla et al., 2020).

Sorgo

En el cultivar de sorgo se identificaron 6 especies de hongos filamentosos. El mayor porcentaje de prevalencia total y en semillas no germinadas lo ocupó *Diaporthe melonis*. En contraste, *Aspergillus flavus* tuvo una prevalencia total alta pero su frecuencia en semillas no germinadas fue menor al 1% (Tabla 3).

Los géneros *Penicillium*, *Aspergillus* y *Curvularia* encontrados en la semilla analizada han sido previamente reportados (Islam et al., 2009), sin embargo, no se encuentran reportes de *D. melonis* afectando semilla ni plantas de sorgo (*Sorghum bicolor*).

La mayor prevalencia de *D. melonis* en semillas no germinadas sugiere que puede afectar el desarrollo de plántulas normales. Varias especies de *Diaporthe* se asocian con la presencia de chancros en tallos,

manchas foliares e incluso la muerte de estas plantas, por lo que se generan daños económicos considerables (Gao et al., 2017). Debido a que el complejo fúngico *Diaporthe/Phomopsis* posee un amplio rango de plantas hospederas, es posible que se trate de un patógeno transmitido por semilla.

Durante el aislamiento se evidenciaron presencia de chancros rojizos en la radícula, presentando cierta variabilidad en relación con los dos morfotipos encontrados de la especie *D. melonis*. Grijalba & Ridao (2014) confirman que el complejo *Diaporthe/Phomopsis* generalmente se distingue por presentar variaciones morfológicas en sus colonias, ya sea por la formación, el color, el tamaño de los estromas, la velocidad de crecimiento micelar o forma de las ascosporas. Lo anterior también es descrito por Gao et al. (2017) quien señala que el género *Diaporthe* es parafilético.

Aspergillus flavus, no afectó el potencial germinativo de las semillas de sorgo. Este microorganismo ha sido reconocido como productor de aflatoxinas, que son perjudiciales en plantas y animales. Probablemente la concentración de metabolitos secundarios como aflatoxinas toxigénicas no fue lo suficientemente alta para afectar la calidad fisiológica en términos de germinación y vigor de plántulas (Divakara et al., 2017).

La baja incidencia de *Curvularia lunata* en la semilla es contrastante con lo señalado por varios autores, quienes reportan a *C. lunata* como el patógeno con mayor prevalencia en las semillas de sorgo causando una disminución de hasta el 25,3 % de la germinación (Prom, 2004; Girish et al., 2011; Hidayat & Ramadhani, 2019). Probablemente la presencia de este hongo se deba a la ocurrencia de condiciones de altas temperaturas y alta humedad durante la fase de llenado de grano (Montes-García et al., 2010).

Talaromyces pinophilus no ha sido asociado como patógeno en semilla de sorgo, y en este estudio se demostró que tiene mayor prevalencia en semillas germinadas, sin embargo, se ha relacionado en cultivos de trigo *Triticum aestivum* como estimulante del crecimiento y por su capacidad de fitorremediación (El-Shahir et al., 2021).

Maíz

Finalmente, en los tres cultivares de maíz evaluados fueron predominantes *Penicillium sp* y *Fusarium verticillioides*. Este último caracterizado por ser el de mayor prevalencia en semillas germinadas y no germinadas (Tabla 3).

De los hongos encontrados en las semillas evaluadas son los usualmente reportados en otros casos de estudio junto con *Alternaria alternata* y *Fusarium*

moniliforme (Basak & Lee, 2002). Los resultados presentados concuerdan con Hernández-Delgado et al. (2007) quienes encontraron que tanto en los maíces de grano amarillo como blanco se presenta la mayor incidencia de ataques por hongos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*; mientras que en campo la prevalencia de *Fusarium* tiende a ser superior. Al igual que en el presente trabajo la concentración en la semilla de estos tres tipos de hongos varía con el genotipo.

La mayor prevalencia de *F. verticillioides* en los tres materiales de maíz evaluados probablemente se deba a que durante los periodos tempranos de la infección, el hongo adquiera una fase biótrofa lo que lo convierte en un patógeno capaz de sobrevivir como endófito en la semilla y en el tallo de las plantas sin causar daños visibles (Bucio et al., 2001; Luzón et al., 2007). Esto soporta los estudios de Uribe-Cortés et al. (2020) quienes encontraron cepas del género *Fusarium* (*Fusarium subglutinans*, *F. temperatum* y *F. verticillioides*) en grano de maíz asintomáticos. Esto indicaría que *Fusarium* es un tipo de hongo con la capacidad de generar cierta coexistencia con la semilla y que la selección visual

de los granos no es suficiente para determinar la presencia o ausencia del patógeno.

La transmisión de *F. verticillioides* a la semilla pudo haberse dado por la presencia del patógeno en los campos de multiplicación. La infección por *F. verticillioides*, pudo haberse ocasionado desde la fase de plántula, dada la capacidad de supervivencia del hongo y haberse trasladado a otras partes de la planta incluida la mazorca o en el periodo de floración por acumulación de cepas infecciosas en la inflorescencia femenina. Otra posibilidad de infección son los daños mecánicos ocasionados principalmente por insectos como lepidópteros, trips y crisomélidos como *Diabrotica* sp (de la Torre-Hernández et al., 2014).

Se debe prestar especial atención a los hongos productores de micotoxinas presentes en la semilla como *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Reportes previos indican que sembrar semillas infectadas con hongos patógenos productores de micotoxinas contribuye al inóculo de hongos micotoxigénicos en el suelo, los cuales luego contaminan el grano cosechado con diversas micotoxinas en el siguiente ciclo de producción (Erasto et al., 2023).

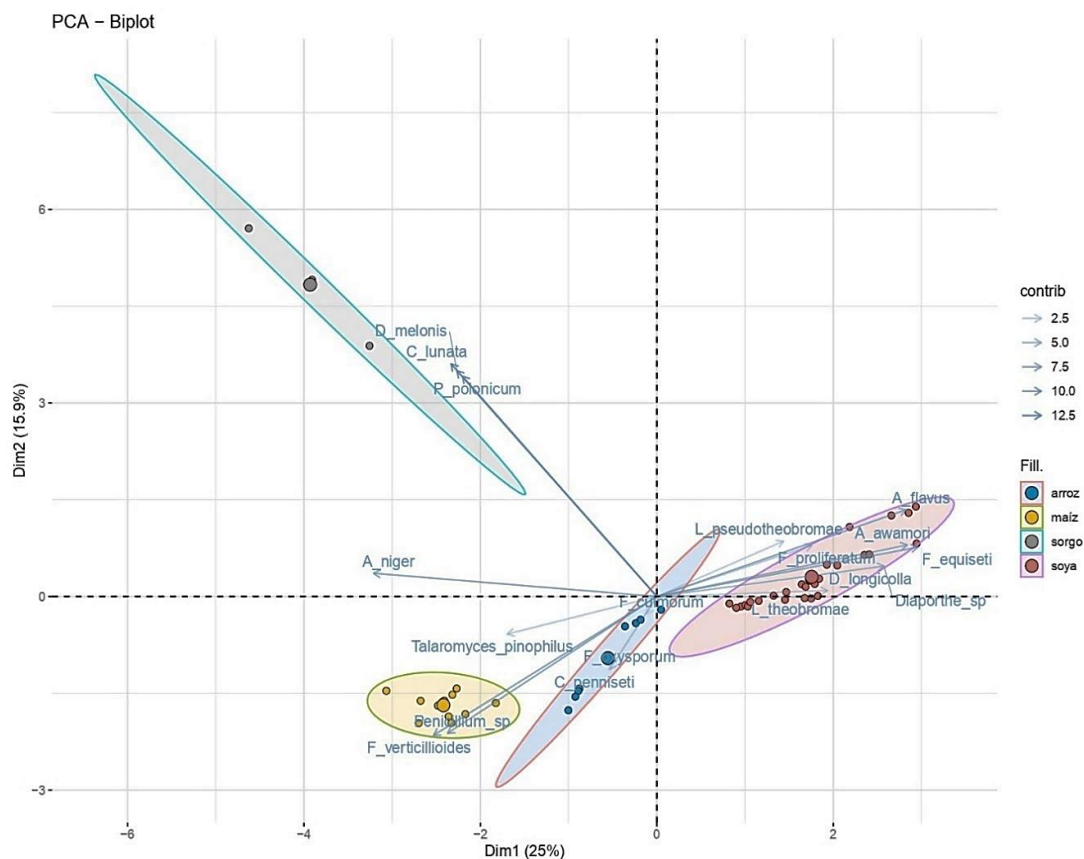


Figura 2. Análisis de componentes principales de variables de prevalencia de hongos contaminantes encontrados en semilla de trece variedades vegetales de arroz, maíz, soya y sorgo.

Los resultados del análisis de componentes principales se presentaron en un BiPlot (Figura 2). La agrupación de las muestras en diferentes regiones dentro del BiPlot indica que existen patrones de similitud y diferenciación en términos de la calidad sanitaria de las semillas. La variabilidad observada entre las muestras parece estar influenciada por la presencia y prevalencia de especies de hongos específicos para cada cultivo evaluado (Martín et al., 2022).

La prevalencia y el grado de infección de hongos dependen en gran medida de las condiciones ambientales durante el desarrollo de las semillas. En general, la humedad prolongada durante la maduración de la semilla aumenta la incidencia de estas enfermedades. Las diferencias en las condiciones climáticas, las fechas de siembra y cosecha, la densidad de siembra y la infestación de insectos pueden influir significativamente. Así mismo, es evidente que existen variaciones considerables entre semillas de diferentes variedades con respecto a la susceptibilidad de la infección por hongos (Martín et al., 2022).

Este estudio en general permitió identificar hongos contaminantes presentes en semillas. Las especies de hongos encontradas incluyen posibles patógenos que afectan la capacidad germinativa de la semilla y hongos saprófitos que son contaminantes habituales en las etapas de post-cosecha y almacenamiento. Las especies identificadas y los valores de prevalencia reportados, pueden servir como referencia para otros estudios complementarios enfocados en estudios relacionados con el aseguramiento de la calidad en las semillas.

4. Conclusiones

Las especies *Fusarium equiseti* y *Diaporthe* sp. en semilla soya, *Curvularia penniseti* en semilla de arroz, *Diaporthe melonis* en semilla de sorgo y *Fusarium verticillioides* en semilla de maíz, se pueden considerar como patógenos transmitidos por semilla que ocasionan un efecto negativo en la capacidad germinativa.

La mayor o menor afectación por patógenos en semilla puede estar asociada a las características genéticas y físicas de los materiales. Es así como la semilla de las variedades de arroz AGRVA1 y de maíz AGRVM1 presentaron la menor contaminación por hongos, dado el recubrimiento y dureza de la testa de las semillas.

La prevalencia de hongos en semilla almacenada puede convertirse en una condición relevante para tener en cuenta, principalmente sobre los cuidados necesarios en almacenamiento. Las condiciones no

propicias de humedad y temperatura, benefician la proliferación de hongos en etapa de almacenamiento e incrementa la posibilidad de que los patógenos se transfieran a campo y repercutan en la salud animal o humana dependiendo del destino de la cosecha.

Es necesario evaluar el grado de patogenicidad de estos aislamientos y posteriormente evaluar tratamientos físicos o químicos para lograr una reducción significativa de los niveles iniciales en las poblaciones de los hongos. Sin embargo, más allá de la desinfección de semillas, esta debe implementarse junto con otras estrategias preventivas como buenas prácticas agrícolas (limpieza, almacenamiento y manipulación de semillas), buenas prácticas de manipulación y análisis de riesgos.

Agradecimientos

Al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA) por su participación y financiación de esta investigación, bajo el marco del proyecto ID 1001876 "Conservación y producción de semilla y material vegetal de calidad para las Ofertas Tecnológicas corporativas de AGROSAVIA con el fin de activar procesos de escalamiento y vinculación comercial (Fase II)".

ORCID

M. A. Patiño-Moscoso <https://orcid.org/0000-0001-6147-032X>

K. V. Osorio-Guerrero <https://orcid.org/0000-0002-9252-9993>

D. L. Flórez-Gómez <https://orcid.org/0000-0003-3676-7564>

L. F. Sarmiento-Moreno <https://orcid.org/0000-0002-1083-0898>

D. N. Vargas-Ramírez <https://orcid.org/0000-0001-7645-6256>

Referencias bibliográficas

- Agarwal, V. K., & Gaur, A. (1997). Seed health tests: Seedborne diseases. En: Principles of seed technology. 2da Ed. Agarwal, V. K., Sinclair, J. B. Ed. CRC Press, Florida, Estados Unidos, p. 121-130.
- Amza, J. (2018). Seed borne fungi; food spoilage, negative impact, and their management: A review. *Rev. Food Science and Quality Management*, 81, 70-79.
- Barrios, L. M., & Pérez I. O. (2005). Nuevos registros de hongos en semillas de *Oryza sativa* en Cuba. *Rev. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, 75, 64-67.
- Basak, A. B., & Lee, M. W. (2002). Prevalence and transmission of seed-borne fungi of maize grown in a farm of Korea. *Rev. Mycobiology*, 30(1), 47-50. <https://doi.org/10.4489/myco.2002.30.1.047>
- Bucio, C., Cabriales, J., & Guzmán, D. (2001). Producción de Aalatoxinas en maíz in vitro. *Rev. Mex. Fitopatol.*, 19(2), 218-222.
- Chinchilla, G., Blanco, M., & Castro, Ó. (2020). Identificación molecular morfológica de las especies de *Fusarium* spp., asociadas al cultivo de pimienta negra (*Piper nigrum*) en Sarapiquí y Guatuso en Costa Rica. *Rev. Agronomía Costarricense*, 44(2), 9-30. <https://doi.org/10.15517/rac.v44i2.43087>
- Chrapacienė, S., Rasiukevičiūtė, N., & Valiuškaitė, A. (2022). Control of Seed-Borne Fungi by Selected Essential Oils. *Rev. Horticulturae*, 8(3), 220. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8030220>

- Dell'Olmo, E., Tiberini, A., & Sigillo, L. (2023). Leguminous Seedborne Pathogens: Seed Health and Sustainable Crop Management. *Plants*, 12(10), 2040. <https://doi.org/10.3390/plants12102040>
- Divakara, S., Aiyaz, M., Chandra, N., & Chandra, S. (2017). Effect of toxigenic *Aspergillus flavus* and aflatoxins on seed quality parameters of Sorghum bicolor (L.) Moench. *Rev. Microbial Biosystems*, 2(1), 1-8. <https://doi.org/10.21608/MB.2017.5252>
- El-Shahir, A. A., El-Tayeh, N. A., Ali, O. M., Abdel Latef, A. A. H., & Loutfy, N. (2021). The Effect of endophytic *Talaromyces pinophilus* on Growth, absorption, and accumulation of heavy metals of Triticum aestivum grown on sandy soil amended by Sewage Sludge. *Plants*, 10(12), 2659. <https://doi.org/10.3390/plants10122659>
- Escamilla, D., Rosso, M. L., & Zhang, B. (2019). Identification of fungi associated with soybeans and effective seed disinfection treatments. *Rev. Food Science and Nutrition*, 7(10), 3194-3205. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1166>
- Erasto, R., Kilasi, N., & Madege, R. R. (2023). Prevalence and Management of Phytopathogenic Seed-Borne Fungi of Maize. *Seeds*, 2(1), 30-42. <https://doi.org/10.3390/seeds2010003>
- Fresneda, J. A., Hernández Fundora, Y. K., Sánchez Curiel, J. R. (2009). Calidad sanitaria de semillas de soya producidas en Cuba. *Rev. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT)*, 33, 15-27.
- Formento, A. N., Mainez, H. J., Penco, R., Scandiani, M. M., & Carmona, M. A. (2016). Calidad sanitaria de las semillas de soja 2016 y su efecto sobre el poder germinativo. *Serie Extensión INTA Paraná*, 79, 81-89.
- Gally, T. (2006). Enfermedades de las semillas de soja en Argentina. *Rev. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, 78, 86-90.
- Gaire, S.P., Zhou, X-G., Zhou, Y., Shi, J. & Jo, Y-K. (2023). Identification and distribution of fungal pathogens associated with seedling blight of rice in the southern United States. *Plant Pathology*, 72, 76-88. Available from: <https://doi.org/10.1111/ppa.1364>
- Gao, Y., Liu, F., Duan, W., Crous, P. W., & Cai, L. (2017). Diaporthe is paraphyletic. *Rev. IMA Fungus*, 8, 153-187. <https://doi.org/10.5598/IMAFUNGUS.2017.08.01.11>
- Girish, G. A., Baig, M. M., Kodaru, A. & Chakrabarty, S. K. (2011). Curvularia species detected in sorghum seeds collected from Marathwada region of Maharashtra. *Indian Journal of Plant Protection*, 39(4): 299-303.
- Goko, M. L., Murimwa, J. C., Gasura, E., Rugare, J. T., & Ngadze, E. (2021). Identification and characterization of seed-borne fungal pathogens associated with maize (*Zea mays* L.). *Rev. International Journal of Microbiology*, 2021, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2021/6702856>
- Griffith, G. W., & Shaw, D. S. (1998). Polymorphisms in *Phytophthora infestans*: Four mitochondrial haplotypes are detected after PCR amplification of DNA from pure cultures or from host lesions. *Rev. Applied and Environmental Microbiology*, 64(10), 4007-4014. <https://doi.org/10.1128/aem.64.10.4007-4014.1998>
- Grijalba, P., & Ridaó, A. (2014). Tasa de crecimiento y patogenicidad de aislamientos de *Diaporthe phaseolorum* var. caulivora. *Rev. Internacional de Botánica Experimental*, 83, 325-332.
- Hernández-Delgado, S., Reyes-López, M. Á., García-Olivares, J. G., Mayek-Pérez, N., & Reyes-Méndez, C. A. (2007). Incidencia de Hongos potencialmente toxigenos en maíz (*Zea mays* L.) almacenado y cultivado en el norte de Tamaulipas, México. *Rev. Mex. Fitopatol.*, 25(2), 127-133.
- Hidayat, I., & Ramadhani, I. (2019). Phylogenetic Study of Curvularia on Sorghum from Indonesia Based on ITS rDNA Sequence. *Rev. Mikologi Indonesia*, 3(2), 118-124. <https://doi.org/10.46638/JMI.V3I2.64>
- Hill, R., Llewellyn, T., Downes, E., Oddy, J., MacIntosh, C., Kallow, S., Panis, B., Dickie, J. B., & Gaya, E. (2021). Seed banks as incidental fungi banks: fungal endophyte diversity in stored seeds of banana wild relatives. *Rev. Front. in Microbiol.*, 12, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.643731>
- R Core Team. (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.r-project.org/>.
- Islam, S. M. M., Masum, M. M. I., & Fakir, M. G. A. (2009). Prevalence of seed-borne fungi in sorghum of different locations of Bangladesh. *Rev. Sci. Res. and Essays*, 4(3), 176-179. <https://doi.org/10.5897/SRE.9000767>
- Jiang, H., Wu, N., Jin, S., Ahmed, T., Wang, H., Li, B., Wu, X., Bao, Y., Liu, F., & Zhang, J.-Z. (2021). Identification of Rice Seed-Derived Fusarium spp. and Development of LAMP Assay against Fusarium Fujikuroi. *Pathogens*, 10(1), 1. <https://dx.doi.org/10.3390/pathogens10010001>
- Kwaloe, A. D., Msuya, D. G., Nchimbi-Msolla, S., Tokpah, D. P., & Luther, Z. (2018). Incidence of seed borne fungi in farm saved rice seeds, quality declared seed and certified seed in Morogoro Region in Tanzania. *Rev. Plant Breeding and Crop Science*, 10(7), 162-168. <https://doi.org/10.5897/jpbcsc2017.0700>
- Lavilla, M. (2019). Relación entre la cosecha demorada de soja y la presencia de patógenos en las semillas y en los rastrojos. *Rev. Agriscientia*, 39, 153-159.
- Luzón, O., Chavarri, M., Mazzani, C., Barrientos, V., & Alezones, J. (2007). Principales mohos y micotoxinas asociados a granos de maíz de los estados Guárico, Portuguesa y Yaracuy, Venezuela. *Rev. Fitopatol. Venez.* 20(1), 25-30.
- Martín, I., Gálvez, L., Guasch, L., & Palmero, D. (2022). Fungal Pathogens and Seed Storage in the Dry State. *Plants*, 11(22), 3167. <https://doi.org/10.3390/plants11223167>
- Montes-García, N., Prom, L. K., Montes-Rodríguez, N., García-Gracia, M. Á., Pecina-Quintero, V., & Díaz-Franco, A. (2010). Efecto de fungicidas sistémicos en el control de la microbiota parasítica del grano de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Rev. Mex. Fitopatolo.*, 28(2), 156-158.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2022). National Library of Medicine. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
- Naqvi, S. D. Y., & Rehman, N. (2013). Intensity of seed-borne fungi in farm saved seeds of oil and cereals Prevalence of major seed-borne fungal diseases on pea nut, pearl millet and sorghum in different region of Eritrea. 1ra Ed. Ed. Lambert Academic Publishing, República de Moldavia, Europa, p.100.
- Neninger, L. H., Hidalgo, E. I., Barrios, L. M., & Pueyo, M. (2003). Hongos presentes en semillas de arroz (*Oryza sativa* L.) en Cuba. *Fitosanidad*, 7(3), 7-11.
- Nishmitha K., Dubey S. C., & Kamil D. (2022). Diversity analysis of different Diaporthe (Phomopsis) species and development of molecular marker to identify quarantine important species *Phomopsis phaseolorum*. 3 *Biotech*, 12(1), 31. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-03075-1>
- Omori, A. M., Sataque, E. Y., Gozzi, J., Tiemi, M., Pelegrinelli, M. H. & Ono, M. A. (2018). Detection of Fusarium verticillioides by PCR-ELISA based on FUM21 gene. *Rev. Food Microbiology*, 73, 160-167. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.020>
- Ordon, F., Habekuss, A., Kastirr, U., Rabenstein, F. & Kühne, T. (2009). Virus resistance in cereals: Sources of resistance, genetics, and breeding. *Rev. Phytopathology*, 157(9), 535-545. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2009.01540.x>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2006). Seed and seed quality: Technical information for FAO Emergency staff. FAO Seed and plant genetic resources service. 1ra Ed. Ed. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia, p.47.
- Paliwal, R. L., Granados, G., Lafitte, H. R. & Violic, A. D. (2001). El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción. 1ra Ed. Ed. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia.

Petrović, K., Riccioni, L., Đorđević, V., Balešević-Tubić, S., Miladinović, J., Čeran, M., & Rajković, D. (2018). Diaporthe pseudolongicolla: The new pathogen on soybean seed in Serbia. *Rev. Ratar. Povrt.*, 55(2), 103-109. <https://doi.org/10.5937/RATPOV55-18582>

de la Torre-Hernández, M. E., Sánchez-Rangel, D., Galeana-Sánchez, E. & Plasencia-de la Parra, J., (2014). Fumonisin-Síntesis y función en la interacción Fusarium verticillioides-maíz. *Rev. Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 17(1), 77-91.

Prom, L. K. (2004). The effects of *Fusarium thapsinum*, *Curvularia lunata*, and their combination on sorghum germination and seed mycoflora. *Rev. New Seeds*, 6(1), 39-49. https://doi.org/10.1300/J153v06n01_03

Quintana, L. (2010). Evaluación de la sanidad de semilla de arroz (*Oryza sativa* L.) en Paraguay. *Revista sobre estudios e investigaciones del saber académico*, 4, 17-20.

Sánchez, M. C., Ridao, A. D. C., & Colavita, M. L. (2015). *Diaporthe caulivora*: agente causal de cancro del tallo predominante en cultivos de soja del sudeste bonaerense. *Fave. Revista FAVE-Ciencias Agrarias*, 14(2), 1-20.

Tsedaley, B. (2015). Review on seed health tests and detection methods of seedborne diseases. *Rev. Biology, Agriculture and Healthcare*. 5(5), 176-184.

Uribe-Cortés, T. B., Silva-Rojas, H. V., Mendoza-Onofre, L. E., Velázquez-Cruz, C., & Rebollar-Alviter, Á. (2020). Identificación de especies de Fusarium aisladas de semillas sintomáticas y asintomáticas de maíz con base en el gen TEF-1α. *Rev. fitotecnia mexicana*, 43(1), 79-88. <https://doi.org/10.35196/rfm.2020.179>

Wain-Tassi, A. L., Santos, J. F., Cássia Panizzi, R. & Vieira, R. D. (2012). Seed-borne pathogens and electrical conductivity of soybean seeds. *Rev. Scientia Agricola*, 69(1), 19-25. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162012000100004>

Wallen, V. R., & Seaman, W. L. (2011). Seed infection of soybean by *Diaporthe phaseolorum* and its influence on host development. *Rev. Canadian of Botany*, 41(1), 13-21. <https://doi.org/10.1139/B63-002>

Anexos

Anexo 1

Prevalencia de hongos aislados en semillas de soja (*Glycine max*) variedades AGRVSY1, AGRVSY2, AGRVSY3

Especie hongo	Prevalencia (%)	Prevalencia semillas germinadas (%)	Prevalencia semillas no germinadas (%)
AGRVSY1			
<i>Fusarium equiseti</i>	31,7 ± 10,4	17,2 ± 12,8	14,5 ± 6,5
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	22,3 ± 9,0	17,6 ± 11,4	4,7 ± 4,2
<i>Diaporthe longicolla</i>	11,2 ± 5,9	10,6 ± 4,7	0,7 ± 1,2
<i>Fusarium equiseti</i>	7,3 ± 5,8	3,9 ± 4,0	3,3 ± 3,1
<i>Aspergillus flavus</i>	0,6 ± 1,1	0,6 ± 1,1	0,0 ± 0,0
<i>Aspergillus awamori</i>	1,9 ± 3,3	1,3 ± 2,2	0,6 ± 1,1
AGRVSY2			
<i>Diaporthe sp.</i>	22,9 ± 4,4	7,2 ± 2,4	15,7 ± 2,1
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	10,4 ± 3,9	2,6 ± 2,2	7,8 ± 1,7
<i>Fusarium equiseti</i>	22,9 ± 2,7	21,0 ± 4,6	1,9 ± 1,9
<i>Diaporthe longicolla</i>	4,6 ± 1,2	4,6 ± 1,2	0,0 ± 0,0
<i>Aspergillus awamori</i>	1,3 ± 1,1	1,3 ± 1,1	0,7 ± 1,2
<i>Diaporthe sp.</i>	16,8 ± 11,5	7,2 ± 7,0	9,6 ± 8,1
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	1,3 ± 1,1	0,0 ± 0,0	1,3 ± 1,1
<i>Aspergillus flavus</i>	1,3 ± 1,1	1,3 ± 1,1	0,0 ± 0,0
AGRVSY3			
<i>Aspergillus awamori</i>	7,3 ± 4,9	6,6 ± 4,1	0,7 ± 1,1
<i>Fusarium equiseti</i>	12,0 ± 11,2	10,0 ± 8,0	2,0 ± 3,5
<i>Fusarium proliferatum</i>	19,9 ± 8,8	6,6 ± 2,9	13,3 ± 11,4
<i>Fusarium equiseti</i>	15,9 ± 5,0	2,0 ± 0,0	13,9 ± 5,1
<i>Aspergillus flavus</i>	19,8 ± 6,8	13,2 ± 4,9	6,6 ± 3,1
<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i>	18,6 ± 8,4	3,3 ± 1,2	15,2 ± 8,1

Anexo 2

Prevalencia de hongos aislados en semillas de soja (*Glycine max*) variedades AGRVSY4, AGRVSY5, AGRVSY6, AGRVSY7

Especie hongo	Prevalencia (%)	Prevalencia semillas germinadas (%)	Prevalencia semillas no germinadas (%)
AGRVSY4			
<i>Aspergillus awamori</i>	1,3 ± 1,1	0,7 ± 1,1	0,7 ± 1,1
<i>Fusarium proliferatum</i>	6,5 ± 4,9	0,7 ± 1,1	0,7 ± 1,1
<i>Diaporthe sp.</i>	29,4 ± 10,2	2,0 ± 3,4	27,5 ± 9,0
<i>Fusarium equiseti</i>	36,6 ± 10,1	5,9 ± 3,4	30,7 ± 9,9
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	1,3 ± 2,3	0,0 ± 0,0	1,3 ± 2,3
<i>Aspergillus flavus</i>	1,3 ± 2,3	0,0 ± 0,0	1,3 ± 2,3
<i>Virus</i>	4,6 ± 4,9	2,0 ± 2,0	2,6 ± 4,5
AGRVSY5			
<i>Diaporthe longicolla</i>	13,5 ± 5,3	5,8 ± 3,6	7,8 ± 1,6
<i>Aspergillus awamori</i>	11,1 ± 4,4	10,5 ± 4,8	0,7 ± 1,2
<i>Fusarium equiseti</i>	9,9 ± 5,5	2,6 ± 1,0	7,3 ± 6,4
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	10,4 ± 0,6	7,2 ± 2,4	3,2 ± 2,9
<i>Diaporthe sp.</i>	9,7 ± 3,5	8,3 ± 4,5	1,3 ± 1,2
<i>Aspergillus flavus</i>	5,9 ± 2,0	2,6 ± 1,2	3,2 ± 1,1

AGRVS6			
<i>Diaporthe sp.</i>	24,6 ± 9,0	8,2 ± 3,5	15,8 ± 6,7
<i>Aspergillus awamori</i>	5,4 ± 2,1	5,4 ± 2,1	0,0 ± 0,0
<i>Aspergillus flavus</i>	9,5 ± 4,8	8,2 ± 3,4	1,3 ± 2,3
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	11,8 ± 5,5	3,5 ± 1,3	8,3 ± 4,3
<i>Fusarium equiseti</i>	21,9 ± 4,6	10,3 ± 5,5	11,6 ± 0,9
<i>Diaporthe longicolla</i>	9,0 ± 8,7	8,4 ± 9,5	2,8 ± 3,3
AGRVS7			
<i>Fusarium equiseti</i>	34,7 ± 14,7	32,7 ± 15,3	2,0 ± 2,0
<i>Fusarium equiseti</i>	23,3 ± 7,6	4,7 ± 8,1	18,7 ± 1,2
<i>Fusarium proliferatum</i>	5,3 ± 3,1	1,3 ± 1,2	4,0 ± 2,0
<i>Aspergillus awamori</i>	3,3 ± 4,2	3,3 ± 4,2	0,0 ± 0,0
<i>Fusarium equiseti</i>	4,7 ± 2,3	3,3 ± 3,1	1,3 ± 1,2
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	1,3 ± 2,3	0,7 ± 1,2	0,7 ± 1,2

Anexo 3Prevalencia de hongos aislados en semillas de arroz (*Oryza sativa*)

Especie de hongo	Prevalencia (%)	Prevalencia en semillas germinadas (%)	Prevalencia en semillas no germinadas (%)
AGRVA1			
<i>Fusarium oxysporum</i>	6,7 ± 3,0	4,7 ± 1,1	2,0 ± 2,0
<i>Curvularia penniseti</i>	44,3 ± 5,9	41,0 ± 7,0	3,3 ± 1,1
AGRVA2			
<i>Fusarium proliferatum</i>	10,8 ± 5,0	9,5 ± 3,0	1,3 ± 2,3
<i>Fusarium culmorum</i>	52,5 ± 10,3	52,5 ± 10,3	0,0 ± 0,0
<i>Aspergillus flavus</i>	0,7 ± 1,2	0,0 ± 0,0	0,7 ± 1,2

Anexo 4Prevalencia de hongos aislados en semillas de sorgo (*Sorghum bicolor*)

Especie de hongo	Prevalencia (%)	Prevalencia en semillas germinadas (%)	Prevalencia en semillas no germinadas (%)
AGRVS1			
<i>Penicillium polonicum</i>	9,3 ± 6,2	8,7 ± 5,1	0,7 ± 1,2
<i>Aspergillus flavus</i>	28,5 ± 3,5	21,2 ± 0,8	7,3 ± 3,2
<i>Curvularia lunata</i>	2,0 ± 0,1	0,7 ± 1,2	1,3 ± 1,1
<i>Aspergillus niger</i>	1,3 ± 2,2	0,6 ± 1,1	0,6 ± 1,1
<i>Talaromyces pinophilus</i>	14,6 ± 12,3	11,4 ± 10,3	3,3 ± 3,0
<i>Diaporthe melonis</i>	33,7 ± 4,5	15,9 ± 5,1	17,8 ± 7,9
<i>Diaporthe melonis</i>	2,0 ± 2,0	1,3 ± 2,3	0,6 ± 1,1

Anexo 5Prevalencia de hongos aislados en semillas de maíz (*Zea mays* L.)

Especie de hongos	Prevalencia (%)	Prevalencia en semillas germinadas (%)	Prevalencia en semillas no germinadas (%)
AGRVM1			
<i>Fusarium verticillioides</i>	2,9 ± 2,0	2,3 ± 1,0	0,6 ± 1,0
<i>Fusarium verticillioides</i>	26,1 ± 7,9	22,6 ± 6,5	3,5 ± 1,8
<i>Penicillium sp.</i>	11,6 ± 0,9	11,0 ± 1,9	0,6 ± 1,0
<i>Talaromyces pinophilus</i>	9,8 ± 4,4	9,3 ± 3,6	0,6 ± 1,0
AGRVM2			
<i>Aspergillus niger</i>	2,8 ± 1,2	2,8 ± 1,2	0,0 ± 0,0
<i>Fusarium verticillioides</i>	44,9 ± 8,9	41,4 ± 8,2	2,8 ± 1,3
<i>Penicillium sp.</i>	8,9 ± 10,0	8,9 ± 10,0	0,0 ± 0,0
AGRVM3			
<i>Fusarium verticillioides</i>	19,2 ± 8,0	15,9 ± 8,6	3,3 ± 1,1
<i>Penicillium sp.</i>	19,9 ± 2,0	17,9 ± 2,2	2,0 ± 2,0