

Primer reporte de *Fusarium thapsinum* Klittick y sus efectos en las inflorescencias del pasto aguja en Yaracuy, Venezuela

First report of *Fusarium thapsinum* Klittick affecting switchgrass inflorescences in state of Yaracuy, Venezuela

Jorge A. Borges Durán

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA Yaracuy), San Felipe, Venezuela.
Correo electrónico: jborges@inia.gob.ve

RESUMEN

En el presente trabajo, se señala por primera vez en Venezuela, el efecto de *Fusarium thapsinum* en las inflorescencias del pasto *Brachiaria humidicola*, en el municipio Manuel Monge, estado Yaracuy. Los síntomas caracterizados por espiguillas rojizas cubiertas con un moho polvoriento, impiden la viabilidad de la semilla debido a la malformación de sus estructuras internas. Observaciones realizadas a partir del micelio esporulado de las colonias aisladas, permitieron evidenciar la presencia de un micelio hialino septado y algunos macroconidios hialinos con el característico pie basal, generalmente con cinco septos bien definidos, entre 31-50 μm de longitud y 2,5-3,5 μm de ancho. Microconidios en cadenas, abundantes, hialinos y de forma ovalada sin septación. Ausencia total de clamidosporas y formación de colonias con pigmentación amarilla concéntrica en el fondo del medio papa-dextrosa-agar (PDA). Además, se evaluó el diámetro del pedúnculo floral, longitud de la inflorescencia, longitud de la espiguilla y el número de espiguillas/inflorescencia como indicadores diferenciales de la patología entre plantas sanas y afectadas, encontrándose diferencias significativas entre los grupos de plantas para las tres primeras variables, lo cual corrobora la naturaleza sistémica del patógeno en cuestión. Se concluyó que la presencia de este hongo en inflorescencias del pasto aguja, impide la formación de semillas para la renovación natural de la pastura, y la posible producción de micotoxinas, que puede representar una amenaza para la salud de los animales.

Palabras clave: *Brachiaria humidicola* (Rendle), patógeno de semillas, gramíneas, espiguilla.

ABSTRACT

Fusarium thapsinum is reported for the first time affecting *Brachiaria humidicola* inflorescences at Manuel Monge municipality, Yaracuy state, Venezuela. The disease is characterized by the presence of a grayish powdery mildew covering spikelets, which turn reddish and fail to produce seeds due to malformation of their internal structures. On PDA, the isolates presented characteristic concentric dark yellow pigmentation. Observations of sporulated mycelium from isolated colonies allowed to evidence the presence of hyaline septate mycelium and some hyaline macroconidia with characteristic basal foot, generally with five well-defined septa, between 31-50 μm in length and 2,5-3,5 μm width. Microconidia in chains, in abundance, hyaline and oval-shaped without septation. Total absence of chlamydospores and formation of yellow pigmented concentric colonies in the potato-dextrose-agar medium (PDA). It was also evaluated flower stem diameter, inflorescence length, spikelet length and number of spikelets/inflorescence, finding significant differences among groups of plants for the first three variables, which supports the systemic nature of the pathogen detected. It was concluded that the presence of this fungus in inflorescences of switchgrass prevents the formation of seeds for natural regeneration of pasture and possible mycotoxin production could represent a threat to animal health.

Key words: *Brachiaria humidicola* (Rendle), pathogen seeds, grasses, spikelets.

INTRODUCCIÓN

El género *Brachiaria* incluye cerca de 100 especies distribuidas en regiones tropicales del mundo, con diferencias morfológicas y fenológicas. En Venezuela, este género y sus diversas especies se encuentran ampliamente distribuidas en los sistemas de producción pecuarios (Vergara-López y Araujo-Febres, 2006).

Actualmente, Brasil es considerado como el mayor productor, consumidor y exportador de semillas de pastos, donde una importante parte de las semillas forrajeras comercializadas, tanto en sus mercados internos como externos, pertenecen al género *Brachiaria*. En este sentido, la sustentabilidad de los sistemas de producción de semillas de estas gramíneas se encuentran amenazadas por la incidencia de patógenos, los cuales pueden reducir la productividad y la calidad del producto (Marchi *et al.*, 2008).

En brachiarias, las enfermedades y plagas presentan pocos problemas concretos en cultivos para semilla; sin embargo, existen reportes que confirman la presencia de patógenos llevados en las semillas. En Brasil, el cornezuelo (*Claviceps sulcata*) reduce el rendimiento y con su exudado pegajoso, reduce la eficiencia de recuperación de la semilla de *B. decumbens*, especialmente si el cultivo es tardío (Fernandes *et al.*, 1992).

Se ha reportado en el país la presencia de *Drechslera* spp., *F. moniliforme*, *Curvularia* sp. y *Phoma* sp. como microorganismos saprófitos de la semilla de *B. decumbens* (Caruso y Subero, 2001).

Durante los meses de floración de este pasto (junio – agosto), se presentó en forma epifitótica, una patología en inflorescencias del pasto aguja, caracterizada por la presencia de un moho grisáceo que cubre las espiguillas que la conforman, lo cual impide la formación y desarrollo de las semillas. En función de esto, se realizó un análisis fitopatológico para identificar el hongo asociado a esta sintomatología y establecer su patogenicidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las observaciones fueron realizadas en las unidades de producción ubicadas en el municipio

Manuel Monge del estado Yaracuy, zona caracterizada como bosque seco tropical (Bs-T) de acuerdo a la clasificación de zonas de vida de Holdridge (1967), con potreros establecidos con el pasto *B. humidicola*, destinados al pastoreo, durante el periodo de floración y maduración de las semillas.

En el campo se realizó la descripción de los síntomas en las inflorescencias y se midieron al azar, en 50 plantas, las siguientes variables morfológicas: diámetro del pedúnculo floral (DPF), longitud total de la inflorescencia (LTI), longitud de la espiguilla (LE) y el número de espiguillas/ inflorescencia (NE/I), tanto en inflorescencias afectadas como sanas. Se colectaron muestras de las inflorescencias, con presencia de moho gris y coloración rojiza en las espiguillas, que fueron debidamente trasladadas al laboratorio para su posterior análisis.

En el laboratorio se observaron con lupa algunas de las inflorescencias colectadas con el fin de detectar la presencia de signos del patógeno. Se tomaron al azar algunas inflorescencias, las cuales se colocaron en una cápsula petri con agua destilada y se mantuvieron en agitación durante 3 min para desprender las estructuras fúngicas presentes. A partir de la solución resultante se realizaron diluciones seriadas (1:10) de donde posteriormente, se tomó una alícuota (100 µl), se prepararon láminas portaobjetos para ser observadas con el microscopio óptico y se utilizó un objetivo micrométrico para la medición de los conidios.

Simultáneamente se tomó otra muestra de inflorescencias afectadas, las cuales fueron desinfectadas en una solución de hipoclorito de sodio al 3% (concentración comercial) durante 5 min en agitación y posteriormente enjuagadas en agua destilada estéril; se sometieron a condiciones de cámara húmeda para promover la formación de nuevas estructuras fúngicas. Transcurridas 72 h, se realizaron impresiones en cinta adhesiva transparente y se prepararon láminas empleando lactofenol y azul de eosina como tinciones contrastantes para ser observadas con el microscopio óptico. Otra muestra de espiguillas afectadas fue desinfectada y sembrada en cajas de petri contentivas del medio papa dextrosa agar (PDA Merck), las cuales fueron colocadas en incubación bajo fotoperiodo 12 horas luz -12 horas oscuridad y con temperatura ambiente de 25±2 °C durante 7 días; posteriormente,

se realizaron observaciones para evaluar las características morfológicas de la colonia.

Para la caracterización de las estructuras e identificación de la especie, se emplearon las descripciones señaladas por Seifert (2000), Summerell *et al.* (2003) y Carrillo (2003).

El registro de las variables morfológicas fue tabulado y sometido a un análisis de varianza, empleando la prueba de rango estudentizado de Tukey para la separación de medias, con el uso del programa estadístico InfoStat/Profesional v2.0 (2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sintomatología observada en campo

La principal característica observada en campo fue la presencia de un moho compacto de color gris cubriendo la inflorescencia. Las espiguillas se tornaban entre rojizas y purpúreas, limitándose el desarrollo normal de la inflorescencia por falta de elongación de las mismas (Figura 1).

Se observó malformación del tejido en el interior de las espiguillas, por lo que no existe formación de semilla. Tanto el pedúnculo floral como el

raquis se tornaron de color rojizo. En el resto de la morfología de las plantas no se observaron cambios, ni daños. Sin embargo, se pudo comprobar el estado sistémico de esta afección al evidenciarse los síntomas en inflorescencias que aún no habían emergido de la vaina floral, así como en varias inflorescencias provenientes de una misma planta.

En observaciones con la lupa estereoscópica se evidenció la aglomeración de las espiguillas que conforman el racimo, incluyendo en algunos casos, la aglomeración de dos o más racimos debido a la alta proliferación de estructuras fúngicas (Figura 2).

Al realizar cortes transversales a las espiguillas, se observó la completa malformación del tejido interno sin poder diferenciarse sus estructuras reproductivas.

En los resultados comparativos entre variables morfológicas evaluadas en las plantas (ver Cuadro), se encontraron diferencias significativas para DPF y altamente significativas para LTI y LE, lo que permite inferir un posible efecto negativo en la emisión de la inflorescencia, y durante la diferenciación de las estructuras reproductivas de la espiguilla, con la consecuente inhabilitación del flósculo para la formación de semillas viables.



Figura 1. Sintomatología observada en inflorescencias de *Brachiaria humidicola* en campo.



Figura 2. Espiguillas sanas (izquierda) y afectadas (derecha) por *Fusarium thapsinum*, vistas en lupa estereoscópica (10X).

Cuadro. Variables morfológicas observadas entre plantas de *Brachiaria humidicola* con inflorescencias sanas y afectadas, en el estado Yaracuy, Venezuela.

| Inflorescencias | Variables | | | |
|-----------------|-------------|-------------|-------------|------------|
| | DPF* (cm) | LTI** (cm) | LE** (mm) | NE/I |
| Sanas | 1,2 a ± 0,2 | 4,8 a ± 0,6 | 4,3 a ± 0,6 | 17,3 ± 2,1 |
| Afectadas | 0,8 b ± 0,2 | 2,7 b ± 0,7 | 2,3 b ± 0,3 | 16,1 ± 2,7 |
| CV (%) | | | | |
| Sanas | 20,2 | 12,1 | 13,1 | 12,2 |
| Afectadas | 31,9 | 24,9 | 14,4 | 16,7 |

DPF: Diámetro del pedúnculo floral; LTI: Longitud total de la inflorescencia; LE: Longitud de las espiguillas; NE/I: Número de espiguillas/inflorescencia; CV: Coeficiente de variación.

Valores en una misma columna con letras distintas difieren estadísticamente ($P \leq 0,05$)* y ($P < 0,0001$)**, según prueba de Tukey.

Al respecto, Fernandes *et al.* (1992) hallaron reducciones importantes tanto en la productividad de las plantas en los campos afectados, como en la calidad de la semilla de *Brachiaria* sp., con alta incidencia de *C. sulcata*; tal comportamiento también podría esperarse en este caso.

Observaciones del patógeno

En observaciones directas a láminas preparadas con la suspensión de esporas, se señalaron

abundantes macroconidios, característicos del género *Fusarium*. En las impresiones realizadas a las espiguillas sometidas a condiciones de cámara húmeda, se pudo mostrar la presencia de monofialides, de las cuales se originaban microconidios en cadenas.

En el cultivo PDA se detectó la formación de una colonia blanca algodonosa superficialmente, mientras que en el fondo se observó una pigmentación amarilla-naranja de forma concéntrica (Figura 3).

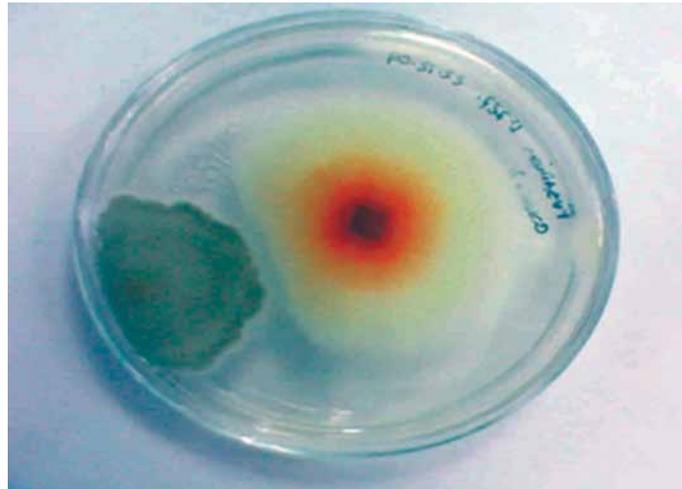


Figura 3. Pigmentación amarilla-naranja concéntrica de colonia de *Fusarium thapsinum* formada en fondo de medio PDA.

En las láminas preparadas a partir del micelio esporulado de las colonias y revisadas bajo el microscopio óptico, se evidenció la presencia de micelio hialino septado y macroconidios hialinos, con el característico pie basal, generalmente, con cinco septos bien definidos, entre 31-50 μm de longitud y 2,5-3,5 μm de ancho (Figura 4). Microconidios en cadenas o dispersos, abundantes, de forma ovalada e hialinos, sin septación. Ausencia total de clamidosporas tanto en el cultivo PDA como en el material sometido a cámara húmeda.

Todas estas características morfológicas coinciden con las señaladas para la especie *F. thapsinum* Klittich en la literatura (Klittich *et al.*, 1997).

F. thapsinum se encuentra establecido dentro de la sección Liseola, la cual agrupa y caracteriza aquellas especies de *Fusarium* que producen microconidias en cadenas y en falsas cabezas, así como macroconidias, pero que no producen clamidosporas (Wollenweber y Reinking, 1935).

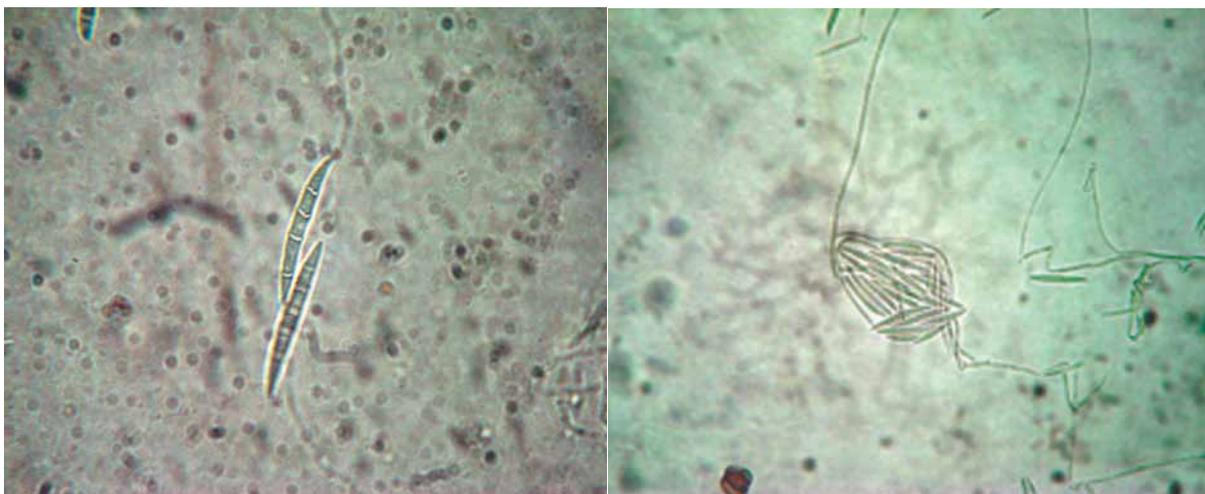


Figura 4. Macroconidios de *Fusarium thapsinum* (40X).

Esta especie es morfológicamente similar a *F. moniliforme* (= *F. verticillioides*), pero difiere en cuanto a morfología de las colonias (esta especie produce, en medio agarificado, una pigmentación amarillo oscuro), rangos de patogenicidad en plantas y perfil de producción de toxinas (Leslie *et al.*, 2005).

F. thapsinum ha sido reportada ampliamente como patógeno de la semilla del sorgo en Egipto, África del Sur, Filipinas, Tailandia y en nueve de los estados que conforman los EE. UU. (Klittich *et al.*, 1997). En Venezuela, *F. thapsinum* fue aislado y caracterizado a partir de semillas de sorgo (González *et al.*, 2003).

El efecto de *Fusarium* sobre la germinación de la semilla ha sido estudiado ampliamente por Prom *et al.* (2003) y Prom (2004), encontrando en ambos trabajos una reducción significativa en la tasa de germinación en ocho cultivares de sorgo y una correlación negativa importante, entre la germinación de la semilla y el patógeno en cuestión.

Aunque en el presente trabajo no se evaluó directamente el efecto de *F. thapsinum* sobre la germinación de la semilla de *B. humidicola*, se presume un efecto similar al reportado en sorgo, debido al daño causado en el tejido interno que conforma la espícula, donde se debería llevar a cabo la fecundación y formación de la semilla.

Otro aspecto importante a considerar con lo estudiado en este trabajo, es que se ha reportado a *F. thapsinum* como una especie productora de micotoxinas. Leslie *et al.* (2005), encontraron que cinco de las especies de *Fusarium* que conforman la sección *Liseola* son productoras de micotoxinas, y particularmente *F. thapsinum* produce altos niveles de moniliformina y bajas cantidades de fumonisinas.

En este sentido, la fumonisina ha sido comprobada como causante de daño hepático severo en becerros (Osweiler *et al.*, 1993) y vacas en producción, acompañado también de disminución en la producción láctea por bajo consumo de alimentos (Díaz *et al.*, 2000). Se hace hincapié en este tema debido a que el hongo fue encontrado en pasturas de *B. humidicola* destinadas al pastoreo de becerros y vacas en producción, lo cual representa una amenaza silente a la salud del rebaño.

CONCLUSIONES

En Venezuela, se registra por primera vez el *F. thapsinum* como agente causal del moho gris en inflorescencias del pasto *B. humidicola*, con un consecuente efecto negativo en la formación de semillas viables que permitan la renovación natural de la pastura, así como la posibilidad de ser una amenaza latente a la salud animal debido a su capacidad para producir micotoxinas.

AGRADECIMIENTO

A la MSc. Thamara Rojas, curadora del Herbario Micológico "Albert S. Muller" (VIA) del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-CENIAP), por las orientaciones dadas para la identificación de la especie.

LITERATURA CITADA

- Carrillo L. 2003. Los hongos de los alimentos y forrajes. Ediciones Universidad Nacional de Salta, Argentina. ISBN 987-9381-19-X. 128 p.
- Caruso D. y L.J. Subero. 2001. Micoflora presente en semilla de pasto barrera (*Brachiaria decumbens* S.). Fitopatol. Venez. 14(2):68 (Resumen).
- Díaz D.E., B.A. Hopkins, L.M. Leonard, W.M. Hagler Jr. and L.W. Whitlow. 2000. Effect of fumonisin on lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. 83 (Abstr.):1.171.
- Fernandes C.D., A.T.F. Fernandes y J.L. Bezerra. 1992. "Mela" das sementes de *Brachiaria*: uma nova doença para o Brasil. Fitopatol. Bras. 17(2):218 (Resumo).
- González M.S., D. Carusso, L. Da Silva y R. Navas. 2003. Caracterización de *Fusarium nygamai* de semillas y plántulas de maíz y *Fusarium thapsinum* de semillas de sorgo. XVIII Congreso Venezolano de Fitopatología. Maracay.12-14/11/03 (Resumen).
- Holdridge L.R. 1967. Life zone ecology. Tropical Science Center. San José, Costa Rica.
- InfoStat, 2002. InfoStat profesional. Software versión 2.0. Estadística y diseño. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

- Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina Klittick C.J., J.F. Leslie, P.E. Nelson and W.F.O. Marasas. 1997. *Fusarium thapsinum* (*Gibberella thapsina*): a new species in section *Liseola* from sorghum. *Mycologia* 89(4):643-652.
- Leslie J.F., K.A. Zeller, S.C. Lamprecht, J.P. Rheeder and W.F.O. Marasas. 2005. Toxicity, pathogenicity and genetic differentiation of five species of *Fusarium* from sorghum and millet. *Phytopathology* 95:275-283.
- Marchi C.E., C.D. Fernandes, F. Anache y L. Rodríguez F. 2008. Progreso e controle da mela-das-sementes (*Claviceps maximensis*) de *Brachiaria brizantha*. *Summa Phytopathol., Botucatu* 34(3):241-247.
- Oswiler G.D., M.E. Kehrlí, J.R. Stabel, J.R. Thurston, P.F. Ross and T.M. Wilson. 1993. Effects of fumonisin-contaminated corn screenings on growth and health of feeder calves. *J. Anim. Sci.* 71:459-466.
- Prom L.K. 2004. The effects of *Fusarium thapsinum*, *Curvularia lunata* and their combination on sorghum germination and seed mycoflora. *Journal of New Seeds* 6(1):39-49.
- Prom L.K., R.D. Waniska, A.I. Kollo and W.L. Rooney. 2003. Response of eight sorghum cultivars inoculated with *Fusarium thapsinum*, *Curvularia lunata*, and a mixture of the two fungi. *Crop Protection* 22(4):623-628.
- Seifert K. 2000. *Fusarium* Interactive Key. Agriculture and Agri-Food Canada. Disponible en: <http://res.agr.ca/brd/fusarium/>
- Summerell B.A., B. Salleh and J.F. Leslie. 2003. A utilitarian approach to *Fusarium* identification. *Plant Dis.* 87(2):117-128.
- Vergara-López J. y O. Araujo-Febres. 2006. Producción, composición química y degradabilidad ruminal *in situ* de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick en el bosque seco tropical. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XVI, N° 3*, pp. 239-248.
- Wollenweber H. W. and O.A. Reinking. 1935. Die fusarien, ihre beschreibung, schadwirkung und bekämpfung. Citado por Leslie *et al.* (7).

