

## Identificación de hongos presentes en la punta negra de trigo

### Identification of fungi in black point disease of wheat

Alice Chávez<sup>1\*</sup> y Mohan Kohli<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Cámara Paraguaya de Exportadores de Cereales y Oleaginosas (CAPECO), Centro de Investigación Hernando Bertoni, Caacupé. Paraguay.

<sup>2</sup> CAPECO, Av. Brasilia 840. Asunción. Paraguay.

\*Autor para correspondencia (alicerocio@hotmail.es).

Recibido: 28/10/2013; Aceptado: 22/11/2013.

#### RESUMEN

La punta negra de los granos de trigo se caracteriza por un oscurecimiento de la zona del embrión que impacta a la calidad de la harina de manera negativa y constituye un parámetro de penalización en el momento de la comercialización del grano. El Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología (INTN) ha establecido un límite sobre la presencia de granos con punta negra en el producto comercial. Considerando la importancia de este problema, se plantearon como objetivos determinar el porcentaje de granos con punta negra en las líneas y variedades de cuatro ensayos de trigo, identificar los patógenos asociados a la punta negra, y analizar la presencia de *Pyricularia* en la semilla. Fueron utilizadas 114 muestras de semillas provenientes de ensayos preliminares y finales del Programa de Investigación de Trigo de la cosecha 2012. Se seleccionaron 100 granos al azar y se cuantificó el porcentaje de granos con punta negra, luego se sembraron 3 a 5 granos de cada material, en placas de Petri sobre medio de cultivo PDA, las cuales se incubaron a 25°C por 6 días y posteriormente se identificaron las colonias. Todos los materiales genéticos estudiados presentaron infección de la punta negra en un rango de 1-8%. Se identificaron 11 géneros de hongos: *Curvularia*, *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Fusarium*, *Pyricularia*, *Drechslera*, *Nigrospora*, *Septoria*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, y *Melanospora*. Los géneros *Curvularia*, *Alternaria*, *Helminthosporium* y *Fusarium* fueron predominantes en la infección de punta negra en trigo en el Paraguay. *Pyricularia* fue identificada solo en seis de los 114 materiales estudiados.

#### ABSTRACT

The black point of wheat grains is characterized by darkening of the embryonic region of the kernels which negatively impacts the flour color and quality and is penalized at the commercial level. The National Institute of Technology, Normalization and Metrology (INTN) has established a limit on the percent of black pointed kernels to be commercialized nationally. Given the importance of this problem, the present study was designed to identify pathogens associated with the black point disease. There were analyzed the seed of 114 varieties and advanced genetic lines produced in 2012. On the other hand, the study was also utilized to determine the presence and importance of *Pyricularia* fungus as seed pathogen. One hundred grains were selected randomly and quantified for black point. Three to five of the infected grains of each material were seeded on the PDA culture medium in Petri dishes, which were incubated at 25°C for 6 days before identifying the colonies. All the genetic materials under study demonstrated between 1 and 8 percent of black point infection. In total 11 fungi belonging to the following genera were identified to be causing the black point in wheat grains: *Curvularia*, *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Fusarium*, *Pyricularia*, *Drechslera*, *Nigrospora*, *Septoria*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, and *Melanospora*. The pathogens *Curvularia*, *Alternaria*, *Helminthosporium* and *Fusarium*, were the most predominant fungi isolated from the black pointed kernels. The fungus *Pyricularia*, was identified only in six out of 114 samples studied.

**Key words:** Black pointed, wheat, fungi, pathogens.

**Palabras clave:** Hongos, patógenos, punta negra, trigo.

## INTRODUCCIÓN

El cultivo de trigo es uno de los principales cereales usado en la alimentación humana alrededor del mundo. Diferentes países utilizan su grano en la preparación de una diversidad de productos panificados. A nivel del consumidor, existe cierta preferencia para color, olor o sabor del producto que puede ser remunerado en el precio del producto y/o su rechazo.

El problema conocido como punta negra del trigo se caracteriza por causar un oscurecimiento de la zona del embrión que en ocasiones puede extenderse hacia la hendidura dejando el grano completamente ennegrecido (García et al. 2012). Según Hanson y Christensen citados por Mellado et al. (1990), el problema generalmente es más severo en zonas donde se producen precipitaciones durante el periodo de maduración de la semilla. Este problema afecta el grano de la mayoría de las variedades de trigo; y según el CIMMYT, es causado por hongos de los géneros *Alternaria*, *Helminthosporium* y *Fusarium* (Kohli et al. 2012).

Aunque la punta negra no influye en la producción final ni en el contenido de proteína, su presencia en los granos cosechados reduce su valor comercial. La harina obtenida presenta malas cualidades culinarias, y a menudo color y olor desagradables (Rodríguez et al. 2009). De acuerdo con la Norma Paraguaya de comercialización de trigo (INTN, 2005), la presencia de granos con punta negra constituye un parámetro de penalización, estableciendo como máximo entre 0,1 y 0,3% de granos con punta negra.

Los objetivos de este trabajo fueron: determinar el porcentaje de granos con punta negra en las líneas y variedades de cuatro ensayos de trigo, identificar los patógenos asociados a la punta negra a nivel nacional y analizar la presencia de *Pyricularia*, causante del Brusone, en la semilla.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en el Laboratorio de Patología de Hortalizas del Centro de Investigación Hernando Bertoni (CIHB), ubicado en la ciudad de Caacupé, Departamento de Cordillera, durante los meses de mayo y junio de 2013.

### Selección de granos de trigo con punta negra

Cuatro ensayos de trigo compuestos por 114 líneas avanzadas y variedades (REG-13, INT Y-13 y PTAY-13, con treinta materiales cada uno y PTBY-13 con 24 materiales) fueron utilizados para estudiar la presencia de punta negra en los granos de trigo. Las semillas para los ensayos fueron obtenidas de dos orígenes diferentes:

Campo Experimental Yhovy, Canindeyú y Centro de Investigación Capitán Miranda, Itapúa.

Se seleccionaron al azar cien semillas de cada material para determinar el porcentaje de granos con la punta negra. De los granos que presentaban la característica de punta negra (**Figura 1**), se seleccionaron tres a cinco granos de cada material para ser analizados en medio de cultivo en el laboratorio.



**Figura 1.** Distintos grados de punta negra en los granos de trigo.

### Siembra de granos

Bajo cámara de flujo laminar, los granos con punta negra fueron desinfectados siguiendo el protocolo establecido por French y Hebert (1980), el cual consiste en lo siguiente: primero la sumersión de los granos en alcohol al 70%, durante treinta segundos, a continuación sumersión en una solución de hipoclorito de sodio en la proporción 1:3 durante un minuto, y posterior lavado tres veces con agua destilada; seguido por el secado sobre papel absorbente.

Una vez secos los granos, se procedió a la siembra, en placas de Petri con medio de cultivo PDA (Papa, Dextrosa, Agar); estas placas fueron incubadas a 25°C, durante 6 días. La identificación de las colonias se llevó a cabo utilizando un esteroscopio y un microscopio; seis días después de la siembra, y posteriormente cada siete días, hasta identificar totalmente las mismas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Incidencia de la punta negra

Los materiales genéticos estudiados presentaron una gran variabilidad entre sí, en cuanto a la presencia de punta negra, con un rango de entre 1-8%. Los materiales en los ensayos avanzados (REG13 e INTY13) presentaron un rango menor de infección en comparación con los ensayos preliminares (PTAY13 y PTBY13). El rango y el porcentaje promedio de granos con punta negra en los ensayos estudiados es presentado en la **Tabla 1**.

**Tabla 1.** Rango de infección y promedio de granos con punta negra en los diferentes ensayos.

Ensayo	Nº de materiales	Rango de infección (%)	Promedio (%)
REG13	30	2-5	3,2
INTY13	30	2-5	3,75
PTAY13	30	1-8	4,13
PTBY13	24	1-6	3,5

De las 114 líneas y variedades analizadas, la mayoría presentó porcentajes de entre 2 y 5% de punta negra y sólo tres materiales (2 en el ensayo PTAY13 y uno en el ensayo PTBY13) presentaron infección menor al 2%. Considerando que la Norma Paraguaya de comercialización de trigo (INTN 2005), la presencia de granos con punta negra mayores a 0,3% es rechazable en el comercio, todos los materiales estudiados sobrepasaron este límite.

Por otra parte, el alto porcentaje de infección de punta negra también es una señal de alerta para la mortandad de las plantas después de la germinación resultando en un bajo stand de plantas en el campo (Watkins, citado por García et al. 2012). En la Tabla 2 se presenta el número de materiales por ensayo, y el porcentaje de semillas con punta negra de los mismos.

**Tabla 2.** Número de materiales por ensayo de acuerdo al porcentaje de granos con punta negra.

Porcentaje de granos con punta negra	Número de materiales por ensayo			
	REG13 n=30	INTY13 n=30	PTAY13 n=30	PTBY13 n=24
< 2	-	-	2	1
2 – 3	19	17	6	12
4 – 5	11	13	15	10
> 5	-	-	7	1

### Géneros de hongos identificados

En este estudio se identificaron de 11 géneros de hongos. En orden de frecuencia de identificación, ellos son *Curvularia* sp., *Alternaria* sp., *Helminthosporium* sp., *Fusarium* sp., *Pyricularia* sp., *Drechslera* sp., *Nigrospora* sp., *Septoria* sp., *Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp., y *Melanospora* sp.; estos dos últimos considerados saprófitos de restos vegetales en el suelo o en semillas (Hanlin 1990). Así también se observó la presencia de bacterias en algunos materiales de los ensayos REG13 y PTAY13 (Tabla 3).

De los géneros identificados, *Alternaria*, *Drechslera*, *Fusarium*, *Helminthosporium* y *Pyricularia* se consideran fitopatógenos de importancia para el trigo. Si bien *Curvularia* sp. es frecuentemente encontrada como especie saprófita, en el Brasil, se describen una amplia gama de enfermedades afectando diversos cultivos como maíz, trigo, arroz, sorgo, cebada y centeno (Ferreira, 2010).

Así también en Entre Ríos, Argentina, Schutt y Formento (2011), determinaron que la especie *Curvularia lunata* es un patógeno del trigo que ocasiona manchas foliares fácilmente confundidas con otras enfermedades y es transportado por semillas. Este género presentó un alto porcentaje de infección, y fue identificado en la mayoría de los materiales evaluados, como se puede observar en la Tabla 4. En el presente estudio, el género *Curvularia* fue identificado causando el alto grado de infección en los granos con punta negra. Por esta razón, será importante determinar la patogenicidad de *Curvularia* en Paraguay y también identificar la especie involucrada con la presencia de punta negra. En la Tabla 4 se detallan el número de materiales y el rango del porcentaje de infección de los principales fitopatógenos causantes de la punta negra en trigo en el Paraguay.

**Tabla 3.** Géneros de hongos identificados y porcentaje de infección de los mismos en los granos de trigo. Ciclo 2012.

Géneros identificados	Porcentaje de infección en los granos			
	REG13	INTY13	PTAY13	PTBY13
<i>Curvularia</i> sp.	15,09	55,96	49,52	52,87
<i>Alternaria</i> sp.	39,62	25,68	15,23	12,64
<i>Helminthosporium</i> sp.	-	48,62	-	45,97
<i>Fusarium</i> spp.	7,54	2,75	5,71	6,89
<i>Pyricularia</i> sp.	-	0,91	2,85	1,14
<i>Drechslera</i> sp.	7,54	0,91	2,85	-
<i>Nigrospora</i> sp.	-	0,91	-	1,14
<i>Septoria</i> sp.	-	0,91	-	-
<i>Cladosporium</i> sp.	-	0,91	-	-
<i>Chaetomium</i> sp.	1,9	0,91	-	-
<i>Melanospora</i> sp.	1,88	-	1,90	-

**Tabla 4.** Número de materiales y rango del porcentaje de infección de los principales fitopatógenos identificados.

Ensayo		Porcentaje de la infección de patógenos					
		<i>Alternaria</i>	<i>Helminthosporium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Pyricularia</i>	<i>Curvularia</i>	<i>Drechslera</i>
REG13	n	18	0	4	0	7	3
	Rango	50-100	---	50-100	---	50-100	50-100
INTY13	n	19	28	3	1	13	1
	Rango	25-100	25-100	25-33	25	25-100	33
PTAY13	n	16	4	3	4	23	3
	Rango	25-100	25-100	33-67	25-50	33-100	25-33
PTBY13	n	7	17	4	1	20	0
	Rango	50-67	25-100	25-100	33	25-100	-

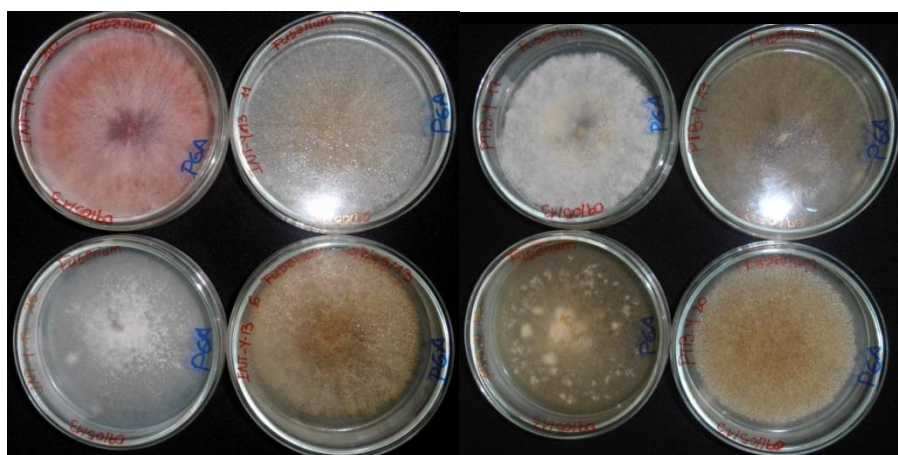
n= Número de materiales en los que se observó.

La alta frecuencia de *Alternaria* sp. y *Helminthosporium* sp., concuerda con lo mencionado por Mellado et al. (1990) y Rodríguez et al. (2009). Quienes señalaron que el hongo más frecuentemente aislado en granos de trigo con punta negra es *Alternaria*, siendo la especie *A. alternata* la más predominante, seguida en orden de importancia por *Helminthosporium* sp.

*Fusarium* sp., fue identificado en 14 materiales; con gran variabilidad en cuanto al color y textura de las colonias (Figura 2). Debido a la importancia que este hongo representa para el trigo nacional, sus muestras fueron remitidas al Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT) de la Universidad Nacional de Asunción (UNA) para su identificación a nivel de especie.

Las especies identificadas en las muestras fueron principalmente *Fusarium graminearum*, *F. avenaceum*, *F. semitectum* y *F. verticilloides*.

Considerando la transmisión de *Pyricularia* por la semilla (Goulart y Paiva, 1990, 1993), un alto grado de presencia del dicho patógeno en la semilla con punta negra puede crear situaciones preocupantes durante el ciclo del cultivo y requiriendo medidas especiales de control. Sin embargo, la presencia del hongo *Pyricularia*, fue de nivel muy bajo y en escaso número de materiales en comparación con los demás patógenos, ya que fue observado en un total de solo seis materiales de los ensayos INTY13, PTAY13 y PTBY13, no así en el REG13 que es el ensayo más avanzado.



**Figura 2.** Colonias de *Fusarium* sp. observadas en la punta negra de diferentes materiales.

## CONCLUSIÓN

El porcentaje de granos con punta negra en trigo analizados en las 114 muestras varió entre uno y ocho por ciento. Los géneros de hongos identificados fueron: *Curvularia* sp., *Alternaria* sp., *Helminthosporium* sp.,

*Fusarium* sp., *Magnaporthe* sp., *Drechslera* sp., *Nigrospora* sp., *Septoria* sp., *Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp. y *Melanospora* sp.

Los géneros *Curvularia*, *Alternaria*, *Helminthosporium* y *Fusarium* fueron identificados como los más

predominantes, como agentes causales de la punta negra del grano de trigo en el Paraguay.

El hongo *Pyricularia*, fue identificado solo en seis de las 114 muestras analizadas, con un rango de infección de entre 25 y 50%. Esta baja infección del hongo identificado representa que su transmisión por la semilla es aún un problema menor en el país.

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Andrea Arrúa (CEMIT-UNA) por la identificación de especies de *Fusarium*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ferreira, L. 2010. Caracterização de isolados de *Curvularia* spp. endofíticos de milho (*Zea mays* L.) por parâmetros morfológicos e moleculares. (en línea). UFPR. Consultado 20 oct.2013. Disponible en:<http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/24194/LISANDRA%20SANTOS%20FERREIRA%20150710ve rsao%20que%20foi%20impresssa.pdf;jsessionid=BB6A2A72BF00BC9A32B83557E17F0743?sequence=1>
- French, ER; Hebert, TT. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. San José, CR, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. 289 p.
- García, C; Palmero, D; De Cara, M; Cruz, A; González, M. 2012. Microbiota asociada a la enfermedad punta negra del trigo duro. Efectos del riego, el abonado nitrogenado y la variedad cultivada en la incidencia de la enfermedad. (en línea). ITEA. 108 (3): 343-356. Consultado 6 jun. 2013. Disponible en: <http://www.aidaitea.org/aidaitea/files/itea/revistas/2012/1083/%2834356%29%20V1321%20ITEA%20108-3.pdf>
- Goulart, ACP; Paiva, F de A. 1990. Transmissão de *Pyricularia oryzae* através de sementes de trigo (*Triticum aestivum*). Fitopatologia Brasileira. 15(4): 359-362.
- Goulart, ACP; Paiva, F de A. 1993. Eficiência do tratamento químico de sementes de trigo no controle de *Helminthosporium sativum* y *Pyricularia oryzae*. 1993. Summa Phytopatologica. 19(3-4):199-202.
- IPTA/CAPECO/INBIO (Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria/Camara Paraguaya de Exportadores de Cereales y Oleaginosas/Instituto de Biotecnología Agrícola, PY). 2012. Guía práctica para el manejo y la producción de Trigo. Eds. Kohli, M; Cabrera, G; Cubilla, L. 52 p.
- Hanlin, RT. 1990. Illustrated genera of Ascomycetes. APS Pres.
- Mellado, M; France, A; Matus, I. 1990. Efecto de fungicidas sobre el problema Punta Negra en trigo de primavera (*Triticum aestivum* L.), sembrado en suelos regados de la zona centro sur de Chile. (en línea). Agri. Técn. (Chile). 50(1): 71-75. Consultado 6 jun. 2013. Disponible en: [http://www.chileanjar.cl/files/V5011A11\\_es.pdf](http://www.chileanjar.cl/files/V5011A11_es.pdf)
- INTN (Instituto Nacional de Tecnología Normalización y Metrología). 2005. Norma Paraguaya (NP 23 009 85 Granos Comerciales, Trigo). In: IPTA/CAPECO/INBIO (Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria/Camara Paraguaya de Exportadores de Cereales y Oleaginosas/Instituto de Biotecnología Agrícola, PY). 2012. Guía práctica para el manejo y la producción de Trigo. Eds. Kohli, M; Cabrera, G; Cubilla, L. 52 p.
- Rodríguez, C; Iglesias, C; Nieto-Taladriz, M; Palmero, D. 2009. La enfermedad de la punta negra del trigo. (en línea). Agricultura. 118-121. Consultado 19 oct. 2013. Disponible en: [http://oa.upm.es/15517/1/INVE\\_MEM\\_2009\\_128470.pdf](http://oa.upm.es/15517/1/INVE_MEM_2009_128470.pdf)
- Schutt, LS; Formento, A. 2011. Caracterización de síntomas foliares en trigo ocasionados por *Curvularia lunata*. (en línea). INTA. Consultado 20 oct. 2013. Disponible en: <http://agrolluvia.com/wp-content/uploads/2011/05/CARACTERIZACION-DE-SINTOMAS-FOLIARES-EN-TRIGO-OCASIONADOS-POR-CURVULARIA-LUNATA.pdf>