

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano

Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria

Ingeniería Agronómica



Proyecto Especial de Graduación

Identificación de hongos fitopatógenos y su efecto sobre la germinación de las semillas de *Sporobolus indicus* (L.) R. Br.

Estudiante

William Jafet Cabezas Escobar

Sandra Naomy Pérez Chang

Asesores

Rony Muñoz, M.Sc.

Carolina Avellaneda, Ph.D.

Honduras, Julio 2023

Autoridades

SERGIO RODRIGUEZ ROYO

Rector

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

CELIA O. TREJO RAMOS

Directora Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria

HUGO ZAVALA MEMBREÑO

Secretario General

Contenido

Índice de Cuadros.....	5
Índice de Figuras	6
Índice de Anexos	7
Resumen	8
Abstract	9
Introducción.....	10
Materiales y Métodos	13
Fase 1 Diagnóstico de Malezas.....	13
Localización del Experimento de Diagnóstico de Malezas.....	13
Porcentaje de Incidencia de <i>S. indicus</i>	14
Fase 2 Germinación de las Semillas de <i>S. Indicus</i>	14
Localización del Experimento de Germinación	14
Porcentaje de Germinación.....	14
Análisis Estadístico y Diseño Experimental	15
Fase 3 Identificación Morfológica de los Hongos Fitopatógenos.....	15
Localización del Experimento de Identificación Morfológica	15
Aislamiento de Hongo.....	15
Identificación de Hongos.....	16
Fase 4 Inoculación en <i>Sporobolus indicus</i>	16
Localización	16
Solución de Esporas	16
Porcentaje de Germinación de Esporas	17
Inoculación en el <i>S. indicus</i>	17
Resultados y Discusión.....	18

Fase 1 Diagnóstico de Malezas.....	18
Fase 2 Germinación de la Semilla de <i>Sporobolus indicus</i>	19
Fase 3 Identificación Morfológica de los Hongos Fitopatógenos.....	19
Fase 4 Inoculación en <i>Sporobolus indicus</i>	22
Conclusiones	24
Recomendaciones	25
Referencias.....	26
Anexos.....	29

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Malezas presentes en lote Zorrales uno, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.....	18
Cuadro 2 Evaluación del porcentaje de germinación de semillas de <i>Sporobolus indicus</i> con y sin infestación por hongos fitopatógenos, casa malla #2, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.....	19

Índice de Figuras

Figura 1 Ubicación del lote Zorrales uno en la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.	13
Figura 2 Características morfológicas del género <i>Fusarium</i> spp. asociados a la semilla de <i>Sporobolus indicus</i>	21
Figura 3 Esporas presentes en semillas recolectadas en el lote Zorrales. A) Esporas de <i>Bipolaris</i> spp. con y sin tubo germinativo observadas. B) Macroconidios de <i>Fusarium</i> spp.....	22
Figura 4 <i>Sintomatología de la infección de los hongos fitopatógeno en la inflorescencia de S. indicus, vista desde un estereoscopio</i>	22
Figura 5 Inoculación en <i>S. indicus</i> . A) Sintomatología. B) Espora encontrada en la semilla inoculada.	23

Índice de Anexos

Anexo A Germinación de las semillas infectadas y semillas sanas luego de 21 días después de la siembra.	29
Anexo B	30
Anexo C Crecimiento del hongo B en los diferentes medios de cultivos durante el periodo de 7 días de incubación	31
Anexo D Crecimiento del hongo C en los diferentes medios de cultivos durante el periodo de 7 días de incubación	32
Anexo E Crecimiento del hongo D en los diferentes medios de cultivos durante el periodo de 7 días de incubación	33
Anexo F Crecimiento del hongo E en los diferentes medios de cultivos durante el periodo de 7 días de incubación	34
Anexo G Casa malla ubicada donde se llevó a cabo la inoculación la Unidad de Investigación y Desarrollo de Cultivos de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.	35
Anexo H Desarrollo de la infección en la panoja de <i>S. indicus</i> durante 13 días.....	36
Anexo I Precipitación anual de enero a diciembre del año 2022 tomado por la estación climatológica ubicada en lote Zorrales de ganado de leche de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.....	37
Anexo J Temperatura Promedio de enero a diciembre del año 2022 tomado por la estación climatológica ubicada en lote Zorrales de ganado de leche de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.	38
Anexo K Humedad relativa de enero a diciembre del año 2022 tomado por la estación climatológica ubicada en lote Zorrales de ganado de leche de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.....	39

Resumen

El *Sporobolus indicus* L. es una de las malezas más diseminadas y de difícil control que crecen en regiones tropicales, subtropicales y templadas cálidas de todo el mundo. Los objetivos del estudio fueron estimar la población de *S. indicus* en los potreros del lote Zorrales uno, de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, mediante un diagnóstico en campo, además de evaluar los efectos sobre la germinación de la semilla de *S. indicus* contaminada con los agentes fitopatógenos e identificar los hongos que se encuentran en la inflorescencia de *S. indicus* mediante el reconocimiento de sus estructuras reproductivas y su morfología. Se realizó un muestreo en el potrero Zorrales uno para determinar el porcentaje de incidencia de *S. indicus*. En la siguiente etapa, se comparó el porcentaje de germinación de las semillas en presencia y ausencia de hongos. Se empleó un diseño completo al azar; con una prueba t-student para analizar las medias ($p \leq 0.05$). En la tercera fase, se identificaron los hongos presentes en la inflorescencia de la maleza a nivel de género. Por último, se infectó la espiga de *S. indicus* con una solución de *Bipolaris* spp. con una concentración de 1×10^6 esporas/mL para examinar la posible presencia del patógeno. En el lote Zorrales uno, se encontró que la maleza más prevalente es *S. indicus*, representando el 36.2% de la incidencia. Se observó diferencia significativa en el porcentaje de germinación de las semillas afectadas por hongos fitopatógenos en comparación con las semillas sanas. Además, se identificaron microorganismos fúngicos de los géneros *Fusarium* spp. y *Bipolaris* spp. en la inflorescencia de *Sporobolus indicus*.

Palabras clave: aislamiento, enfermedad, incidencia, maleza, poaceae

Abstract

Sporobolus indicus L. is one of the most widespread and difficult to control weeds growing in tropical, subtropical, and warm temperate regions of the world. The objectives of the study were to estimate the population of *S. indicus* in the paddocks of Zorrales I, plot of the Escuela Agrícola Pan Americana, Zamorano, by means of a field diagnosis, as well as to evaluate the effects on the germination of *S. indicus* seed contaminated with phytopathogens and to identify the fungi found in the inflorescence of *S. indicus* by recognizing their reproductive structures and morphology. Sampling was conducted in paddock Zorrales I to determine the percentage of incidence of *S. indicus*. In the next stage, the percentage of seed germination in the presence and absence of fungi was compared. A complete randomized design was employed; with a t-student test to analyze means ($p \leq 0.05$). In the third phase, fungi present on the weed inflorescence were identified to genus level. Finally, the spike of *S. indicus* was infected with a solution of *Bipolaris* spp. with a concentration of 1×10^6 spores/mL to examine the possible presence of the pathogen. In Zorrales lot one, the most prevalent weed was found to be *S. indicus*, representing 36.2% of the incidence. A significant difference was observed in the germination percentage of seeds affected by phytopathogenic fungi compared to healthy seeds. In addition, fungal microorganisms of the genera *Fusarium* spp. and *Bipolaris* spp. were identified in the inflorescence of *Sporobolus indicus*.

Keywords: disease, incidence, isolation, poaceae, weed

Introducción

La presencia de malezas en las pasturas sigue afectando a los potreros, interfiriendo en la producción normal de los pastos, disminuyendo la producción de la biomasa y otros efectos contraproducentes; principalmente debido a su impacto sobre el rendimiento, por lo tanto, las malezas se han considerado organismos indeseables. La causa de la proliferación de las malezas se da por el uso de especies forrajeras poco adaptadas a las condiciones del sitio, un mal establecimiento de la pastura o por sobrepastoreo (Aguilar y Nieuwenhuys 2009). El mismo artículo menciona que el factor que aumenta la incidencia de las malezas en las pasturas es el sobrepastoreo, ya que impide la recuperación de las plantas forrajeras, disminuyendo su follaje y permitiendo que la luz llegue al banco de semilla del suelo, activando la germinación de las malezas.

Sporobolus indicus (L.) R. Br. pertenece a la subfamilia Chloridoideae de la familia Poaceae (Denham y Aliscioni 2011). El género *Sporobolus* es cosmopolita de unas 150 especies que crecen en regiones tropicales, subtropicales y templadas cálidas de todo el mundo (Richard et al. 2015). Se ha reportado esta maleza desde del sur de los Estados Unidos y el Caribe hasta Argentina y Chile, además pueden reproducirse en altitudes que llegan desde el nivel del mar hasta 3600 msnm (Giraldo-Cañas y Peterson 2009). Las plantas de *Sporobolus indicus* tienen un tamaño que oscila entre los 20 y 130 centímetros, sus vainas miden de 5 a 22 centímetros, mientras que las láminas tienen dimensiones de 10 a 26 centímetros de largo por 2 a 10 milímetros de ancho (Denham y Aliscioni 2011). Su Inflorescencia es una panícula de 20 a 35 cm de largo, 0.3 a 2.2 cm de ancho; estrecha, contraída, a veces incluida en la vaina superior; ramas primarias mayormente de 0.4 a 2.5 cm de largo, aprehendidas o extendidas (Peterson et al. 2004).

En Argentina y otros países de América Latina, el *Sporobolus indicus* es una de las especies más diseminadas y de difícil control (Padilla et al. 2012), posee características fisiológicas semejante a los pastos mejorados de gramíneas que tienen una particularidad al metabolismo fotosintético C4, por ende, las técnicas tradicionales no logran eliminarlo (Feldman y Refi 2006). El control de esta

maleza con herbicidas es limitado, debido a que no hay productos que sean selectivos cuando están entre poaceas, la alta incidencia de la maleza puede intoxicar al ganado debido a que causa ergotismo ya que en la inflorescencia se desarrollan hongos que producen toxinas (Pitty et al. 1996).

Se han realizado distintas prácticas para el control de esta maleza, demostrando que los métodos tradicionales como la corta o quema no disminuyen la población de *Sporobolus indicus*, al contrario, promueven la propagación o germinación de las semillas (Ferrell et al. 2006). Varias investigaciones muestran que el uso de labranza mínima con fertilización química redujo de manera significativa su presencia (Sardiñas et al. 2015). Además, se conoce que el uso de herbicidas es uno de los métodos más comunes para el control de *Sporobolus indicus* (Mislevy et al. 2002). El uso de atrazina después de dos o tres aplicaciones de MSMA (Sal monosódica del ácido metil arsénico) ha incrementado el control de esta maleza sin causar daño considerable al pasto mejorado (Nishimoto y Murdoch 1994).

El uso de algunos hongos podrían ser una herramienta potencial para el control de malezas ya que los hongos pueden afectar el crecimiento de la planta al eliminar o bloquear los nutrientes, la producción de toxinas de los hongos intervienen en la estructura y actividad metabólica de la planta (Rees et al. 1996). Sin embargo, las investigaciones sobre el control biológico se limitan debido a la poca información, restringiendo las opciones que se pueden adoptar para un manejo integral. Bo Bo et al. (2020) mencionan que para mitigar los desafíos asociados con las malezas en la agricultura sostenible y fomentar la creación de ecosistemas sostenibles, resulta imperativo incorporar agentes biológicos.

La aplicación inundativa de agentes biológicos implica aumentar los enemigos naturales de las plantas para poder controlarlas. Los patógenos de plantas son especialmente adecuados para este enfoque, ya que se pueden producir en laboratorio y liberar al entorno de manera similar a las aplicaciones de control químico, conocido como enfoque mico herbicida (Abbas et al. 2018). Los mico

herbicidas consisten en formulaciones de esporas y/o micelio de hongos que infectan plantas específicas, reduciendo su población sin impactos negativos en el medio ambiente (Zimdahl 2018).

Una investigación en Australia indica que por medio de un análisis de espaciadores internos transcritos (ITS) y subunidad grande (LSU) en el material vegetativo de *S. indicus* se encontraron 22 familias y 12 órdenes de hongos fitopatógenos que conviven en la maleza (Steinrucken et al. 2022). Las flores y semillas de *S. indicus* se infectan con frecuencia con el hongo *Bipolaris ravenelii* (Denham y Aliscioni 2011). *Bipolaris* spp. es un género de hongos ascomicetos de la familia Pleosporaceae, que incluye especies fitopatógenas que afectan una amplia variedad de plantas y cultivos en todo el mundo (Sivanesan 1987). La mayoría de las especies de este grupo taxonómico tienen una distribución ecológica amplia, y se pueden encontrar comúnmente en las hojas, tallos y raíces de diversos tipos de pastos, especialmente en la familia poaceae (Piontelli Laforet 2016).

Tomando en cuenta los antecedentes mencionados, este estudio tuvo los siguientes objetivos: Estimar la población de *Sporobolus indicus* en los potreros de ganado de leche mediante un diagnóstico en campo además, evaluar los efectos sobre la germinación de la semilla de *Sporobolus indicus* contaminada con los agentes fitopatógenos e identificar los organismos fitopatógenos que se encuentran en la inflorescencia de *Sporobolus indicus* mediante el reconocimiento de sus estructuras reproductivas y su morfología.

Materiales y Métodos

El estudio se dividió en cuatro fases. En la primera fase, se determinó el porcentaje de incidencia de *S. indicus* mediante un muestreo hecho en el potrero Zorral de ganado de leche. En la segunda fase, se evaluó el porcentaje de germinación de las semillas con y sin presencia de los hongos. En la tercera fase, se identificó a nivel de género los hongos encontrados en la inflorescencia de la maleza y finalmente, en la última fase se infectó la espiga de *S. indicus* con una solución de *Bipolaris* spp. con una concentración de 1×10^6 esporas/mL para poder observar la presencia del posible patógeno.

Fase 1 Diagnóstico de Malezas

Localización del Experimento de Diagnóstico de Malezas

La investigación se llevó a cabo en el municipio de San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras. El diagnóstico de malezas se realizó en septiembre en el lote Zorrales uno de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, a una altura de 840 msnm, con una temperatura promedio anual de 26 °C y una precipitación de 1100 mm anuales (Figura 1).

Figura 1

Ubicación del lote Zorrales uno en la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.



Porcentaje de Incidencia de *S. indicus*

La distribución de las unidades de muestreo dentro del lote Zorralles uno se realizó de forma sistemática. El sistema que se utilizó para el muestreo de las malezas es el conocido como “zigzag” por el método de los cuadrantes. Este consistió en colocar un cuadrado sobre la vegetación, para determinar la frecuencia de las diferentes malezas que se encuentra en el sitio. Se utilizó un cuadro con medidas internas de 1 m × 1 m para muestrear el lote. El cuadro se colocó en 10 puntos diferentes, se identificaron las malezas por su género y especie utilizando la guía fotográfica para la identificación de malezas: Parte 1 (Muñoz y Pitty 1995) y la guía fotográfica para la identificación de malezas: Parte 2 (Pitty y Molina R 1998), se estableció el porcentaje de incidencia utilizando la siguiente fórmula [1].

$$\text{Porcentaje de } \frac{\text{incidencia}}{\text{planta}} = \frac{\text{Número de plantas de la especie} \times 100}{\text{Número total de plantas de todas las especies}} \quad [1]$$

Fase 2 Germinación de las Semillas de *S. Indicus*

Localización del Experimento de Germinación

La germinación de las semillas se realizó en la casa malla #2 asignada al Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Se sembraron las semillas en dos bandejas de germinación o semillero de poliestireno que contienen 200 alvéolos, cada uno con una profundidad de 3.8 cm y el tamaño total de la bandeja es de 54 x 27 cm. Se utilizó un sustrato para la germinación de las semillas de la marca Pindstrup Plus Orange.

Porcentaje de Germinación

En el lote Zorralles uno se recolectaron semillas de la maleza *S. indicus* con y sin presencia de los fitopatógenos. Se evaluó el efecto de los hongos sobre la germinación bajo condiciones de casa malla mediante la aplicación de dos tratamientos con 100 repeticiones cada uno, la variable a medir fue el porcentaje de germinación. Las bandejas representaron los tratamientos, mientras que las celdas representan las repeticiones. En cada celda se colocaron 40 semillas y se evaluaron la cantidad de semillas germinadas hasta el día 21 después de la siembra.

Análisis Estadístico y Diseño Experimental

Para el análisis de los datos de germinación de las semillas *Sporobolus indicus* se empleó un diseño completo al azar (DCA), con dos tratamientos y 100 repeticiones por cada tratamiento, siendo un total de 200 unidades experimentales. El cual se analizó mediante la prueba T de Student, con un nivel de significancia de 0.05, empleando el programa "Statistical Analysis System" (SAS® Versión 9.4).

Fase 3 Identificación Morfológica de los Hongos Fitopatógenos

Localización del Experimento de Identificación Morfológica

La identificación de los hongos fitopatógenos se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.

Aislamiento de Hongo

Se recolectaron semillas de *S. indicus* infectadas para aislar los hongos fitopatógenos y realizar su debida identificación, para eso se esterilizó el material de cristalería, que incluye beaker, tubos de ensayo, bisturí, probeta etc., mediante una autoclave a 120°C y a 15 PSI durante 30 minutos. Para desinfectar la superficie de la cámara de flujo se utilizó alcohol étílico al 70% para realizar los aislamientos del patógeno.

Con el fin de reducir los contaminantes de superficie que pudieran interferir con el aislamiento del patógeno, se utilizó hipoclorito de sodio al 3%, en el cual se sumergieron las semillas durante tres segundos, finalmente, se enjuagó dos veces con agua destilada estéril durante un minuto cada uno. Las semillas se secaron en papel filtro estéril y se sembró cuatro semillas en cinco medios de agar papa dextrosa (PDA) y se incubó a 27°C hasta observar crecimiento micelial.

Al tercer día se aislaron individualmente todos los crecimientos fúngicos diferentes presentes en los medios PDA para su posterior reaislamiento en siete diferentes medios de cultivos: Medio completo para hongos, agar dextrosa, agar avena, agar harina de maíz de dextrosa, agar Sabouraud, agar de verdura V8 y agar papa dextrosa. Luego se incubaron en las mismas condiciones hasta observar

crecimiento y esporulación; esto con el fin de visualizar las características macroscópicas de los hongos en diversos medios para facilitar su identificación.

Identificación de Hongos

Para la identificación morfológica de los hongos aislados, se examinaron las características macroscópicas y microscópicas de los crecimientos fúngicos como: color, forma, micelio, tipo de hifas y la clase de esporas ((Barnett y Hunter 1998). Para la observación de estructuras reproductivas se realizaron montajes con el material vegetativo y con los aislamientos en los medios artificiales. Para ello se retiró una pequeña porción de la muestra fúngica del medio con el bisturí o se tomó la semilla infectada y se colocó en un portaobjetos, se agregó una gota de solución de azul de lactofenol y se cubrió la muestra con un cubreobjetos, posteriormente se observó en el microscopio.

Fase 4 Inoculación en *Sporobolus indicus*

Localización

La inoculación de los hongos fitopatógenos en *S. indicus* se realizó en la casa malla #9 de la Unidad de Investigación y Desarrollo de Cultivos de Zamorano.

Solución de Esporas

Se tomó una muestra de 40 g de semillas infectadas con los hongos, se colocó en un Erlenmeyer y posteriormente se adicionó 356 mL de agua destilada estéril y 4 mL Tween 20 al 1%. Finalmente se homogenizó en el agitador orbital a 1500 rpm por 24 horas.

Se empleó una cámara de Neubauer para llevar a cabo la enumeración de las esporas. Para ello, se utilizó una micropipeta con 10 μ L de la solución. Con el uso del microscopio se identificó el primer cuadro grande de la cámara en 10 \times y luego los pequeños cuadros del centro en 40 \times , donde se eligieron 9 celdas de las cuales se contó las esporas de *Bipolaris* spp. para determinar su concentración [2].

$$\frac{\text{Esporas}}{\text{mL}} = \frac{\left(\frac{\text{total de esporas}}{\text{número de cuadros}} \right) \times \text{factor de dilución}}{0.000004} \quad [2]$$

Dando como resultado una concentración de 1×10^6 esporas/mL.

Porcentaje de Germinación de Esporas

Para determinar el porcentaje de germinación de la solución de esporas, se inoculó 10 μ L de la suspensión de esporas en el medio Agar Agua (AA), y se incubó por 48 horas a 27°C de temperatura. Posteriormente se observó en microscopio a 40 \times , se tomaron 10 puntos al azar para determinar el porcentaje de germinación [3].

$$\%germinación: \frac{\text{Total de esporas germinadas}}{\text{Total de esporas}} \quad [3]$$

Se consideró una espora germinada cuando esta presentó el tubo germinativo.

Inoculación en el *S. indicus*.

Se recolectó macollas de *S. indicus* sanas que presentaban indicios de floración, cada macolla se sembró en un macetero bajo condiciones de casa malla, obteniendo una cantidad de 12 plantas en total. Se inocularon las plantas cuando estas presentaron semillas con la suspensión de esporas de *Bipolaris* spp. a una concentración de 1×10^6 mL en agua destilada con Tween 20 al 1 %.

La aplicación de los agentes patógenos se llevó a cabo en la mañana cuando la temperatura alcanzaba los 20°C y la humedad relativa era del 80%. Según Benaouali et al. (2014) los hongos tienen una preferencia por ambientes con niveles de humedad relativa entre el 74% y el 80%, y temperaturas que oscilan entre los 23°C y los 28°C. Se asperjaron las espigas completamente hasta que se observara una película de agua en el material vegetativo. A partir de ese momento, se reguló la temperatura y humedad utilizando un ventilador nebulizador y riego por nebulización, manteniendo las condiciones óptimas para el crecimiento durante un período de 16 horas para facilitar la germinación de las esporas y promover la infección. Se observó la presencia de síntomas cada dos días durante dos semanas. Se recolecto el material infectado al finalizar la segunda semana y se observó las esporas presentes en el material infectado.

Resultados y Discusión

Fase 1 Diagnóstico de Malezas

Las malezas presentes son especies adaptadas y capaces de sobrevivir debido a su crecimiento rastrero, poca palatabilidad, capacidad de producir semillas con latencia, sistema radicular profundo, tallos resistentes y fibrosos que permiten soportar la presión del ganado. Se encontraron 18 especies de malezas en el lote. La mayor incidencia la obtuvo *Sporobolus indicus* con un 36.2%. Resultados similares obtuvieron Muñoz G y Muñoz K (2017) quienes realizaron un muestreo en uno de los lotes de Zorrales donde la mayor incidencia la obtuvo *S. indicus* con un 39%. La persistencia de esta maleza se debe a su capacidad para producir grandes cantidades de semillas con un mínimo de 11,000 semilla/planta con capacidad de presentar dormancia con una viabilidad cerca de los dos años (Padilla et al. 2013) (Cuadro 1).

Cuadro 1

Malezas presentes en lote Zorrales uno, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Familia	Nombre científico	Nombre común	Incidencia %
Acanthaceae	<i>Blechum pyramidatum</i>	Alambrito, mazorquilla	3.4
Amaranthaceae	<i>Amaranthus spinosus</i>	Amaranto	0.9
	<i>Achyranthes aspera</i>	Rabo de gato	4.3
Asteraceae	<i>Eclipta prostrata</i>	Botoncillo	2.6
	<i>Pseudelephantopus spicatus</i>	Oreja de coche	7.8
	<i>Calyptocarpus wendlandii</i>	Cachito, cuernecillos	1.7
Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i>	Coyolillo, coquito	7.8
Fabaceae	<i>Mimosa pudica</i>	Dormilona	2.6
Malvaceae	<i>Sida acuta</i>	Malva	18.1
	<i>Abutilon crispum</i>	Monancillo blanco	2.6
Onagraceae	<i>Ludwigia octovalvis</i>	Hierba de clavo, calavera	2.6
Phyllanthaceae	<i>Phyllanthus urinaria</i>	Chancapiedra, flor escondida	0.9
Poaceae	<i>Sporobolus indicus</i>	Pitilla, Cola de ratón	36.2
	<i>Eleusine indica</i>	Pata gallina	0.9
	<i>Paspalum notatum</i>	Pasto bahía	1.7
Solanaceae	<i>Solanum americanum</i>	Quelite mora, verbena	0.9
	<i>Solanum mammosum</i>	Chichigua, ubre de vaca	4.3
	<i>Physalis peruviana</i>	Uchuva	0.9

Fase 2 Germinación de la Semilla de *Sporobolus indicus*

Transcurridos 21 días desde la siembra de las semillas, se observó diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos de germinación de semillas sanas y las semillas infectadas (Cuadro 2). *Sporobolus indicus* puede llegar a producir hasta 45,000 semillas por planta, sin embargo, la germinación natural de esta semilla suele ser inferior al 9% (Sellers et al. 2020). Lo que difiere a los resultados hallados en nuestro estudio, que muestra un 15% de germinación en un ambiente controlado.

La presencia de los hongos en las semillas causó una disminución significativa en el porcentaje de germinación, obteniendo un 1.6%. Luttrell (1976) demostró que la presencia de *Bipolaris ravenelii* en las semillas de *S. indicus*, causante de una enfermedad de lesión local en la cual la infección se limita a los ovarios de la semilla. Lo que podría causar que afecte la germinación de las semillas expuestas al hongo.

Cuadro 2

Evaluación del porcentaje de germinación de semillas de Sporobolus indicus con y sin infestación por hongos fitopatógenos, casa malla #2, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.

Tratamiento	Germinación (%) \pm EE
Semilla sana	15 \pm 1.16
Semilla infectada	1.6 \pm 0.31
Valor t	11.34
Pr > t	<0.0001

Nota. EE: Error estándar

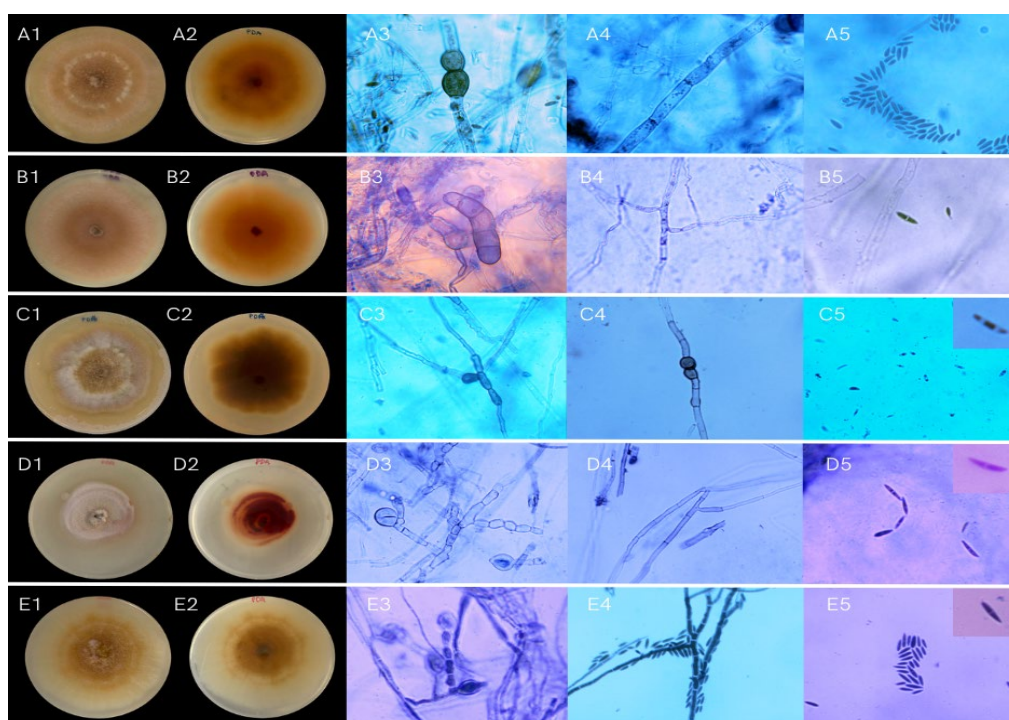
Fase 3 Identificación Morfológica de los Hongos Fitopatógenos

Después de un período de incubación de 7 días, se identificó el género de los cinco hongos aislados y se determinó que pertenecían al género *Fusarium* spp. (Figura 2). Este hallazgo coincide con los resultados obtenidos por Steinrucken et al. (2022), que mediante un análisis fitogenético reportaron presencia de *Fusarium* spp. en el material vegetativo de *S. indicus*.

La identificación del género se realizó utilizando técnicas microbiológicas que se observó por medio de microscopio las estructuras reproductivas como son las hifas, conidios y esporas. Para la evaluación de las características morfológicas de las colonias, se seleccionó el medio de agar papa dextrosa (PDA), donde se observó que la elevación fue tipo plana, presentando un borde y forma filamentosa para los cinco aislamientos obtenidos, coincidiendo con el estudio realizado , los colores presentes en el medio varían entre blanco, rosa y anaranjado (Figura 2 A1-A2, B1-B2, C1-C2, D1-D2, E1-E2), coincidiendo con colores reportados por Leslie y Summerell (2006), además anillos de color blanco en la figura A1 y anaranjado en la figura E1. Presentó hifas hialinas septadas (Figura 2 A4, B4, C4, D4, E4) que concuerdan con las observaciones que realizó Benadolf (2010) para la identificación de especies de *Fusarium*. Se visualizaron clamidosporas de forma simple, en parejas o en cadena (Figura 2 A3, B3, C3, D3, E3) las cuales son comunes en el género *Fusarium* según Tapia y Amaro (2014). Los microconidios son pequeños y presentaron en forma fusiformes o en forma de banana u ovoides. Algunos de ellos pueden presentar un septo (Figura 2 B5, C5, D5, E5), mientras que otros no (Figura 2 A5), como se menciona en el estudio realizado por Rentería-Martínez et al. (2018)

Figura 2

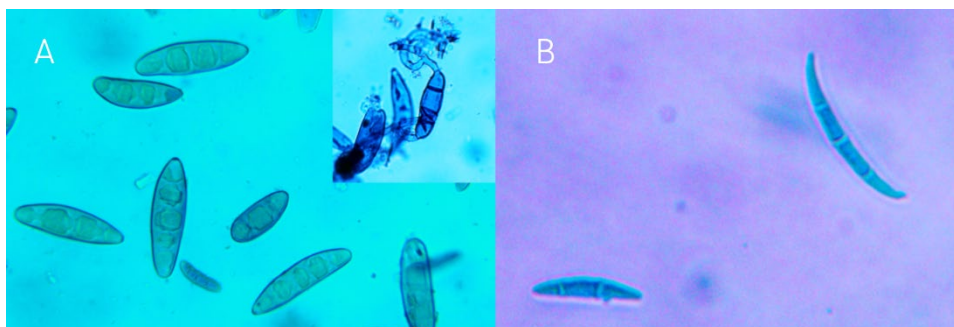
Características morfológicas del género Fusarium spp. asociados a la semilla de Sporobolus indicus
 (A1-A2, B1-B2, C1-C2, D1-D2, E1-E2) Cultivo de 6 días en PDA; (A3, B3, C3, D3, E3) Clamidospora; A4,
 B4, C4, D4, E4) Hifas hialinas septadas; (A5, B5, C5, D5, E5) Microconidios.



Por otro lado, se prepararon montajes en placas temporales utilizando las semillas infectadas previamente recolectadas. Durante el análisis microscópico, se encontró esporas pertenecientes al género *Bipolaris* y del género *Fusarium* (Figura 3). Los conidios del género *Bipolaris* en su mayoría son curvados, en forma de canoa, fusoides u obclavados, raramente rectos, 3-14-distoseptados (normalmente más de 6), germinan por producción de uno o dos tubos germinativos por células polares (Manamgoda et al. 2014), coincidiendo con las esporas encontradas en las placas temporales de la semilla infectada (Figura 3A). Los estudios de Pardo (1998), Sisterna (1987) y Steinrucken et al. (2022) demostraron la presencia del hongo *Bipolaris* spp. que invade las inflorescencias de *S. indicus* y otros tipos de pastos, generando colonias esponjosas de color que va desde el café oliváceo hasta el negro.

Figura 3

Esporas presentes en semillas recolectadas en el lote Zorrales. A) Esporas de Bipolaris spp. con y sin tubo germinativo observadas. B) Macroconidios de Fusarium spp.



Fase 4 Inoculación en *Sporobolus indicus*

A partir de las inoculaciones realizadas en plantas sanas de una solución de esporas de *Bipolaris* spp. a partir de la muestra del lote Zorrales, con una concentración de 1×10^6 esporas/mL y una tasa de germinación del 19.59%, se obtuvieron tres plantas que mostraron sintomatología (Figura 5A) de 12 plantas. Se observó presencia de la infección en el séptimo día, en donde se percibió en las inflorescencias una capa densa, suave, de aspecto aterciopelado, pardo verdoso oscura (Figura 4), tal y como es descrita por Sisterna (1987).

Figura 4

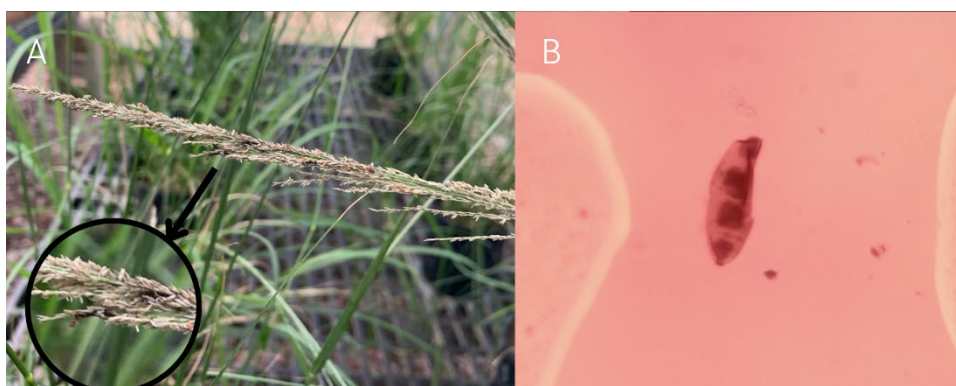
*Sintomatología de la infección de los hongos fitopatógeno en la inflorescencia de *S. indicus*, vista desde un estereoscopio.*



Se obtuvo una muestra del tejido vegetal infectado, la cual fue transportada al laboratorio con el propósito de realizar la observación de esporas presentes en la infección. Se verificó que las esporas presentes en la solución utilizada coinciden con las esporas encontradas en la inoculación en la semilla de planta (Figura 5B), lo que podemos inducir que la presencia de este hongo puede llegar a causar daños en la semilla.

Figura 5

Inoculación en S. indicus. A) Sintomatología. B) Espora encontrada en la semilla inoculada.



Conclusiones

A partir del diagnóstico en campo, se determinó que la maleza con mayor incidencia es *Sporobolus indicus* con un 36.2% en el lote de Zorrales uno de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.

Se presentó una reducción significativa en el porcentaje de germinación de las semillas afectadas por la presencia de hongos fitopatógenos en comparación con las semillas sanas.

Se identificaron microorganismos fúngicos de los géneros *Fusarium* spp. y *Bipolaris* spp. en la inflorescencia de *Sporobolus indicus*.

Recomendaciones

Realizar la inoculación de la solución de esporas *Bipolaris* spp. en *S. indicus* en una instalación que permita un control preciso y constante de la temperatura y la humedad relativa a lo largo de todo el proceso de infección.

Efectuar un estudio molecular mediante el empleo de métodos de secuenciación de ADN, con el propósito de identificar las especies de hongos *Fusarium* spp. que se encuentran en la estructura floral de *S. indicus*.

Aislar el género *Bipolaris* spp. en medio de cultivo jugo V8 para obtener un mejor crecimiento micelial para lograr la esporulación, para así realizar todos los pasos del postulado de Koch.

Referencias

- Abbas T, Zahir ZA, Naveed M, Kremer RJ. 2018. Limitations of Existing Weed Control Practices Necessitate Development of Alternative Techniques Based on Biological Approaches. En: Vol. 147. [sin lugar]: Elsevier. p. 239–280 (Advances in Agronomy).
- Aguilar A, Nieuwenhuys A. 2009. Manejo integral de malezas en pasturas. 1ª ed. Managua, Nicaragua.: CATIE (Serie técnica; vol. 90). ISBN: 978-99924-968-0-0.
- Barnett HL, Hunter BB. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. 4th. St. Paul Minn.: APS Press. xxii, 218. ISBN: 0890541922.
- Benadolf D. 2010. Fusarium. Revista Chilena de Infectología. 27(4):327–328. <https://www.scielo.cl/pdf/rci/v27n4/art07.pdf>.
- Benaouali H, Hamini-Kadar N, Bouras A, Benichou SL, M. Kihal J-EH. 2014. Isolation, pathogenicity test and physicochemical studies of *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici*. Advances in Environmental Biology. 8(10):36–49. https://www.researchgate.net/publication/280445975_Isolation_pathogenicity_test_and_physicochemical_studies_of_Fusarium_oxysporum_fsp_radicis_lycopersici.
- Bo Bo A, Khaitov B, Umurzokov M, Min Cho K, Woong Park K, Sup Cho J. 2020. Biological Control Using Plant Pathogens in Weed Management. Weed & Turfgrass Science. 9(1):11–19. <http://www.weedturf.org/view/N0260090102.pdf>.
- Denham S, Aliscioni S. 2011. El Complejo *Sporobolus Indicus* (Poaceae, Chloridoideae, Zoysieae) En La Argentina. Darwiniana. 49(1):32–42. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0011-67932011000100004.
- Feldman S, Refi R. 2006. Cambios en la composición florística de un pastizal pampeano bajo diferentes prácticas de manejo. Ciencia e Investigación Agraria. 3(2):109–116. https://www.researchgate.net/publication/28127141_Cambios_en_la_composicion_floristica_de_un_pastizal_pampeano_bajo_diferentes_practicas_de_manejo.
- Ferrell JA, Adjei MB, Mullahey JJ, P MP. 2006. Smutgrass Control in Perennial Grass Pasture. IFAS Extension. 1–4. http://www.floridacattleranch.org/ifas_smutgrass.pdf.
- Giraldo-Cañas D, Peterson P. 2009. Revisión de las especies del género *Sporobolus* (poaceae: chloridoideae: sporobolinae) del noroeste de Sudamérica: Perú, Ecuador, Colombia y Venezuela. Caldasia. 31(2):41–76. <https://repository.si.edu/bitstream/handle/10088/7867/SPOROBOLUS-Poaceae-NW-South-America-CALDASIA-2009-31-1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Leslie JF, Summerell BA. 2006. The Fusarium Laboratory Manual. [sin lugar]: Wiley. ISBN: 9780813819198.
- Luttrell ES. 1976. Ovarian Infection of *Sporobolus poiretii* by *Bipolaris ravenelii*. Phytopathology. 66(3):260. doi:10.1094/Phyto-66-260.
- Manamgoda DS, Rossman AY, Castlebury LA, Crous PW, Madrid H, Chukeatirote E, Hyde KD. 2014. The genus *Bipolaris*. Stud Mycol. 79:221–288. eng. doi:10.1016/j.simyco.2014.10.002.

- Mislevy P, Martin F, Hall D. 2002. West Indian Dropseed/Giant Smutgrass (*Sporobolus indicus* var. *pyramidalis*) Control in Bahiagrass (*Paspalum notatum*) Pastures. Weed Science Society of America. 16(4):707–711. <https://www.jstor.org/stable/3989140>.
- Muñoz G, Muñoz K. 2017. Elaboración de un plan de manejo integrado de malezas en los lotes de vocación agrícola y pecuaria de Zamorano, Honduras [Proyecto Especial de Graduación]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano; [consultado el 17 de jul. de 2023]. <https://bdigital.zamorano.edu/items/79ae81be-c2fa-4611-b55d-64c8705500b0>.
- Muñoz RF, Pitty A. 1995. Guía fotográfica para la identificación de malezas. El Zamorano, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana. volumes (Publicación DPV-EAP; #516). ISBN: 188599513X.
- Nishimoto RK, Murdoch CL. 1994. Smutgrass (*Sporobolus Indicus*) Control in Bermudagrass (*Cynodon dactylon*) Turf with Triazine-MSMA Applications. Weed technol. 8(4):836–839. doi:10.1017/S0890037X00028773.
- Padilla C, Sardiñas Y, Febles G, Curbelo F. 2012. Comportamiento del área forrajera de guinea (*Panicum maximum* Jacq vc. Likoni) según la población de espartillo (*Sporobolus indicus* L.). Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 46(1):91–95. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193024313015>.
- Padilla C, Sardiñas Y, Febles G, Fraga N. 2013. Estrategias para el control de la degradación en pastizales invadidos por *Sporobolus indicus* (L) R. Br. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 47(2):113–117. <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193028751001.pdf>.
- Pardo V. 1998. *Bipolaris ravenelii* (curtis) shoemaker (hyphornycetes, dernatiaceae) nuevo registro para la flora de hongos fitoparásitos de colombia. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín. 51(1):257–260.
- Peterson P, Valdés-Reyna J, Ortíz-Díaz J. 2004. *Sporobolus* (Poaceae: chloridoideae: cynodonteae: zoysieae: sporobolinae) from northeastern México. The Botanical Research Institute of Texas. 21(2):553–589. https://www.jstor.org/stable/pdf/41968294.pdf?refreqid=excelsior%3A3a5d9fcf8d198398c3611c44cb748e1&ab_segments=&origin=&initiator=&acceptTC=1.
- Piontelli Laforet E. 2016. Especies oportunistas de importancia clínica de los géneros *Bipolaris* Shoemaker y *Curvularia* Boedijn: su caracterización bajo los nuevos criterios taxonómicos. Bol. Micol. 30(2). doi:10.22370/bolmicol.2015.30.2.348.
- Pitty A, Molina R A. 1998. Guía fotográfica para la identificación de malezas: Parte 2. Zamorano: Zamorano Academic Press. 136 p. (Publicación DPV-EAP; no. 660). ISBN: 1885995474.
- Pitty A, Muñoz R, Barletta H. 1996. Guía practica para el manejo de malezas. 2da reimpresión corregida. Zamorano, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana. 222 p. ISBN: 1885995091.
- Rees N, Quimby P, Mullin B. 1996. Section I: Biological control of weeds. Western Society of Weed Science. 1–19. <https://library.ndsu.edu/ir/bitstream/handle/10365/2854/1201re96.pdf?sequence=1>.
- Rentería-Martínez ME, Guerra-Camacho MÁ, Ochoa-Meza A, Moreno-Salazar SF, Del Meza-Moller AC, Guzmán-Ortiz JM. 2018. Descripción y comparación entre morfotipos de *Fusarium brachygibbosum*, *F. falciforme* y *F. oxysporum* patogénicos en sandía cultivada en Sonora, México. RMF. 37(1). doi:10.18781/R.MEX.FIT.1808-1.

- Richard GA, Pensiero JF, Cerino MC, Galati BG, Gutiérrez HF. 2015. Reproductive Biology of *Sporobolus phleoides* Hack. (Poaceae), an endemic halophyte grass of Argentina. *Plant Syst Evol.* 301(7):1937–1945. doi:10.1007/s00606-015-1206-1.
- Sardiñas Y, Varela M, Padilla C, Torres V, Noda A, Fraga N. 2015. Control de *Sporobolus indicus* L (R) Br. (espartillo) y rehabilitación de un pastizal de *Megathyrsus maximus* (guinea Likoni) en estado de deterioro. *Avances en Investigación Agropecuaria.* 19(2):35–49. 0188789-0.
- Sellers B, Rana N, Dias JLCdS, Devkota P. 2020. Smutgrass Control in Perennial Grass Pastures. *EDIS.* 2020(6). doi:10.32473/edis-aa261-2020.
- Sisterna M. 1987. Especies Graminícolas de los Géneros *Drechslera*, *Bipolaris* y *Exserohilum* en Argentina. *Turrialba.* 37(1):45–51. <https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/11059/A0786e01-07.pdf?sequence=1>.
- Sivanesan A. 1987. Graminicolous species of *bipolaris*, *curvularia*, *drechslera*, *exserohilum* and their teleomorphs. Wallingford, Oxon: C.A.B International. 261 p. (Mycological papers; no. 158). ISBN: 9780851985879.
- Steinrucken TV, Vitelli JS, Holdom DG, Tan YP. 2022. The diversity of microfungi associated with grasses in the *Sporobolus indicus* complex in Queensland, Australia. *Front. Fungal Biol.* 3. doi:10.3389/ffunb.2022.956837.
- Tapia C, Amaro J. 2014. Género *Fusarium*. *Revista Chilena de Infectología.* 31(1):85–86. <https://www.scielo.cl/pdf/rci/v31n1/art12.pdf>.
- Zimdahl RL. 2018. Biological Weed Control. En: Zimdahl RL, editor. *Fundamentals of Weed Science.* 5ª ed. s. e.: Elsevier. p. 359–389.

Anexos

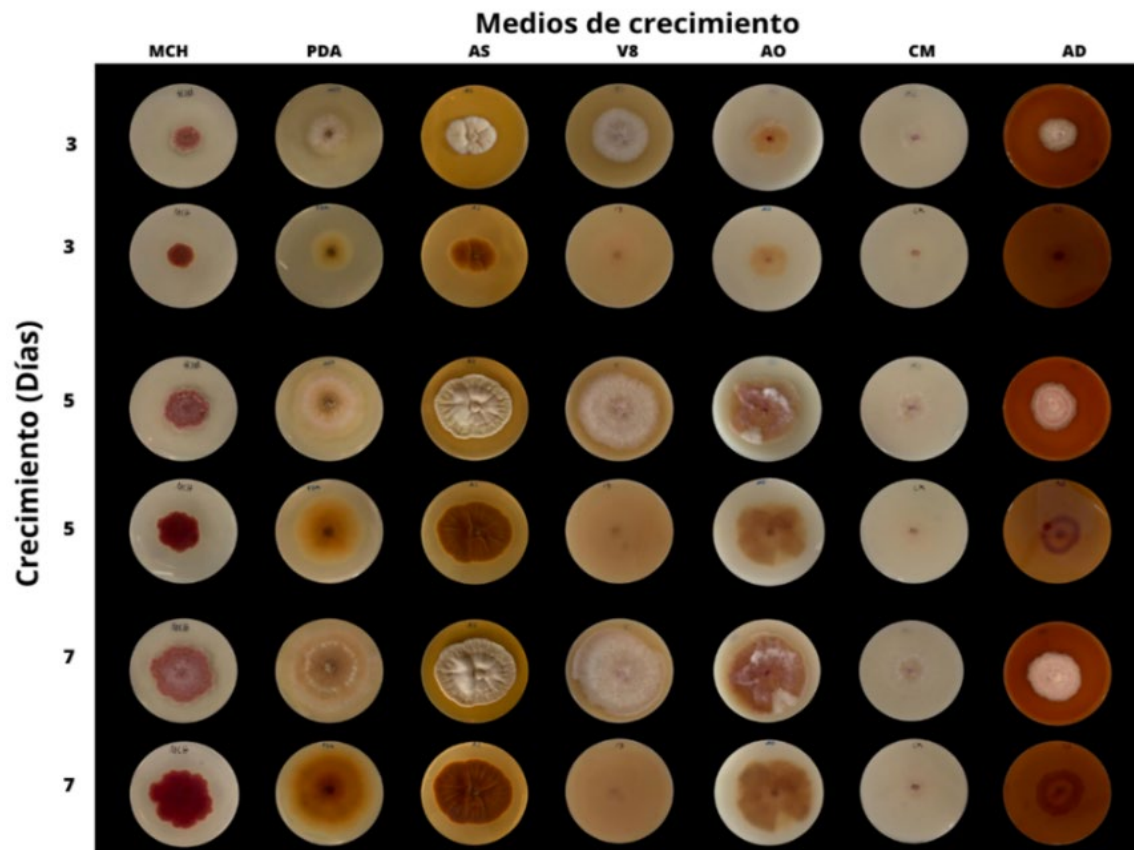
Anexo A

Germinación de las semillas infectadas y semillas sanas luego de 21 días después de la siembra.



Anexo B

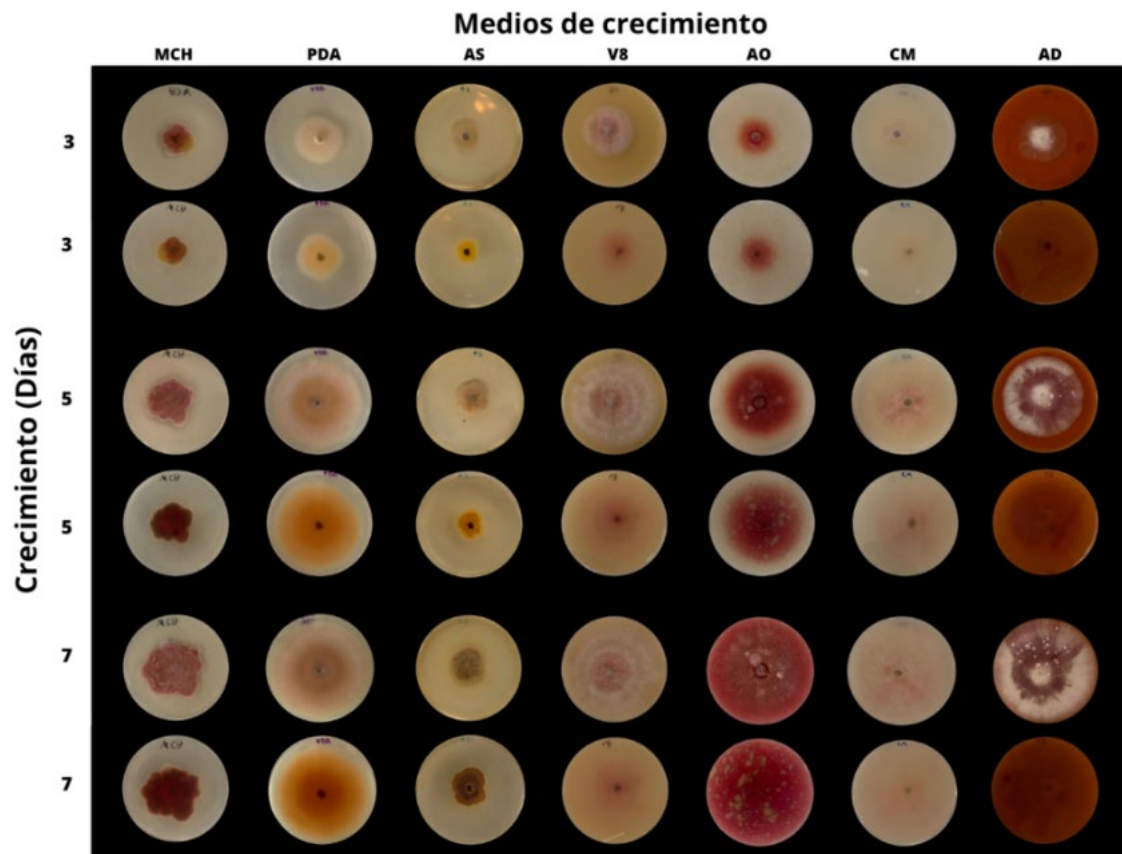
Crecimiento del hongo A en los diferentes medios de cultivos durante el periodo de 7 días de incubación.



Nota. MCH: Medio Completo para Hongos; PDA: Papa dextrosa Agar; AS: Agar Sabouraud; V8: Agar con jugo V8; AO: Agar avena; CM: Agar harina de maíz de dextrosa; AD: Agar Dextrosa.

Anexo C

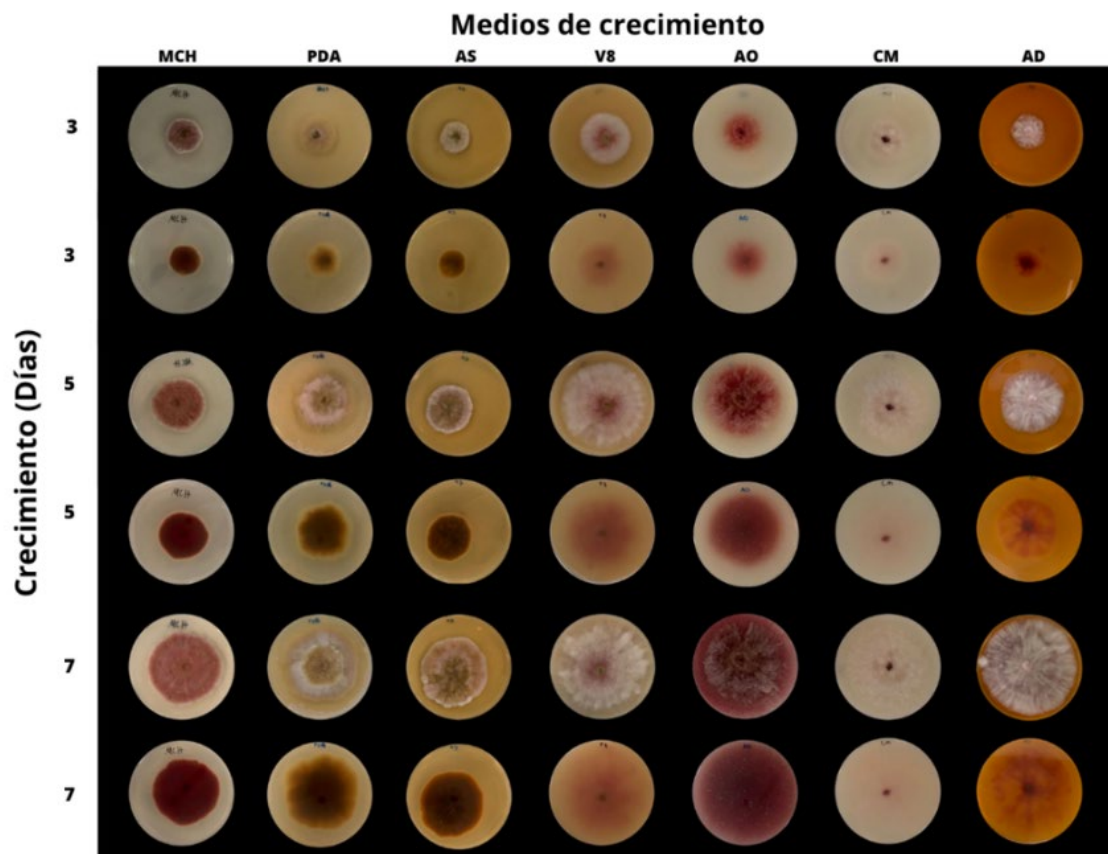
Crecimiento del hongo B en los diferentes medios de cultivos durante el periodo de 7 días de incubación



Nota. MCH: Medio Completo para Hongos; PDA: Papa dextrosa Agar; AS: Agar Sabouraud; V8: Agar con jugo V8; AO: Agar avena; CM: Agar harina de maíz de dextrosa; AD: Agar Dextrosa.

Anexo D

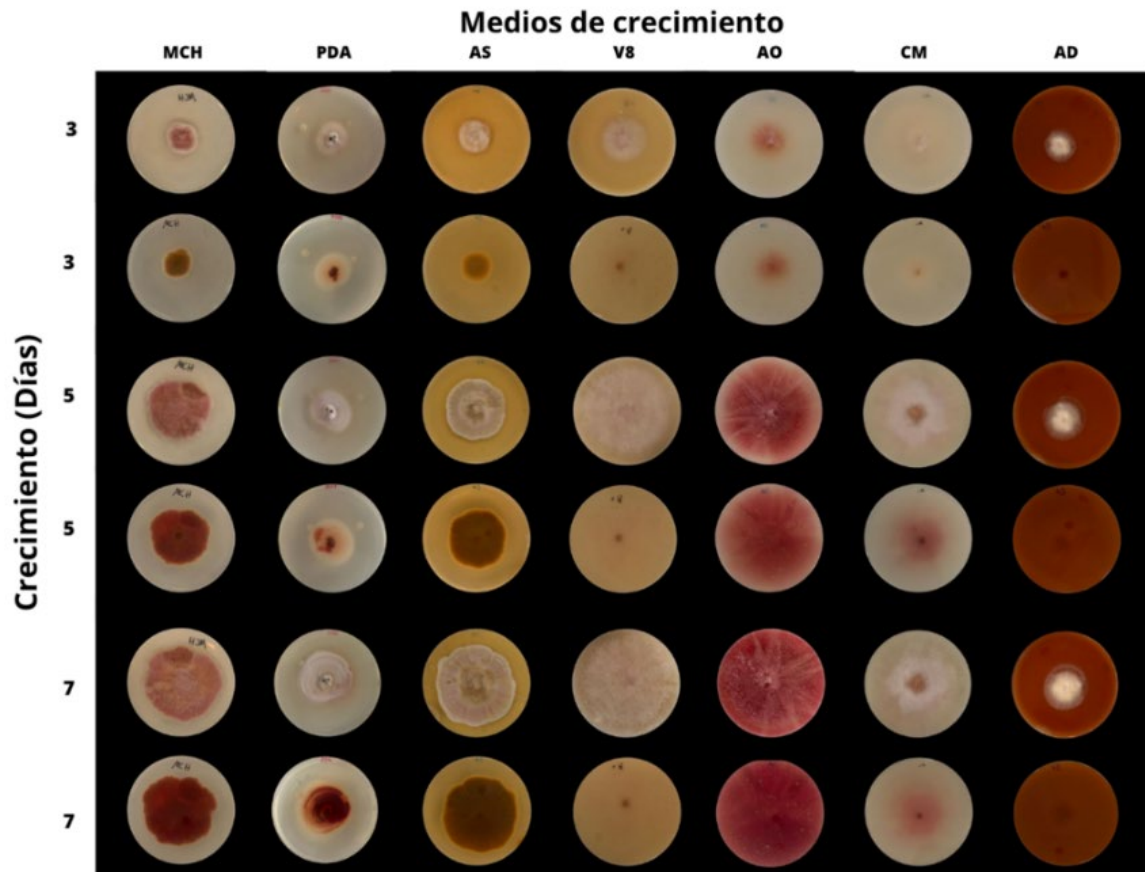
Crecimiento del hongo C en los diferentes medios de cultivos durante el periodo de 7 días de incubación



Nota. MCH: Medio Completo para Hongos; PDA: Papa dextrosa Agar; AS: Agar Sabouraud; V8: Agar con jugo V8; AO: Agar avena; CM: Agar harina de maíz de dextrosa; AD: Agar Dextrosa.

Anexo E

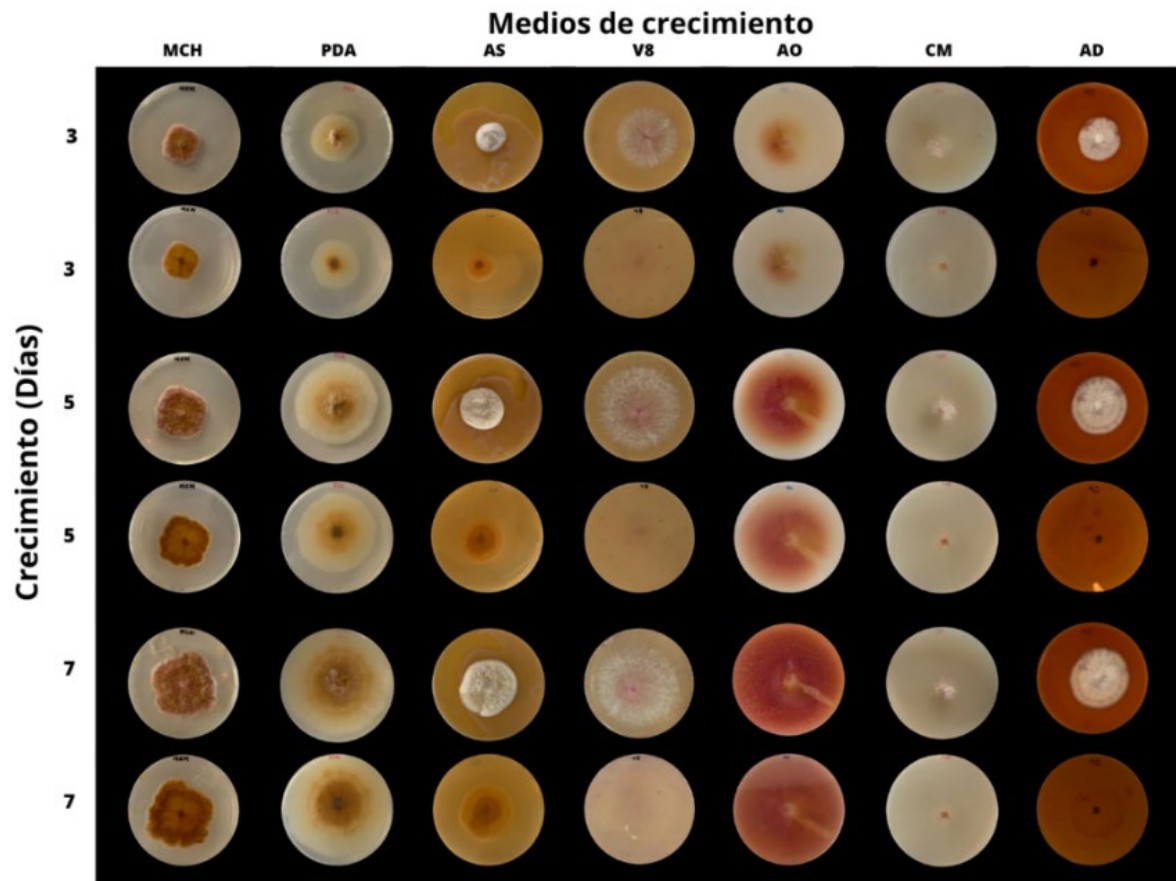
Crecimiento del hongo D en los diferentes medios de cultivos durante el periodo de 7 días de incubación



Nota. MCH: Medio Completo para Hongos; PDA: Papa dextrosa Agar; AS: Agar Sabouraud; V8: Agar con jugo V8; AO: Agar avena; CM: Agar harina de maíz de dextrosa; AD: Agar Dextrosa.

Anexo F

Crecimiento del hongo E en los diferentes medios de cultivos durante el periodo de 7 días de incubación



Nota. MCH: Medio Completo para Hongos; PDA: Papa dextrosa Agar; AS: Agar Sabouraud; V8: Agar con jugo V8; AO:

Agar avena; CM: Agar harina de maíz de dextrosa; AD: Agar Dextrosa.

Anexo G

Casa malla ubicada donde se llevó a cabo la inoculación la Unidad de Investigación y Desarrollo de Cultivos de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.



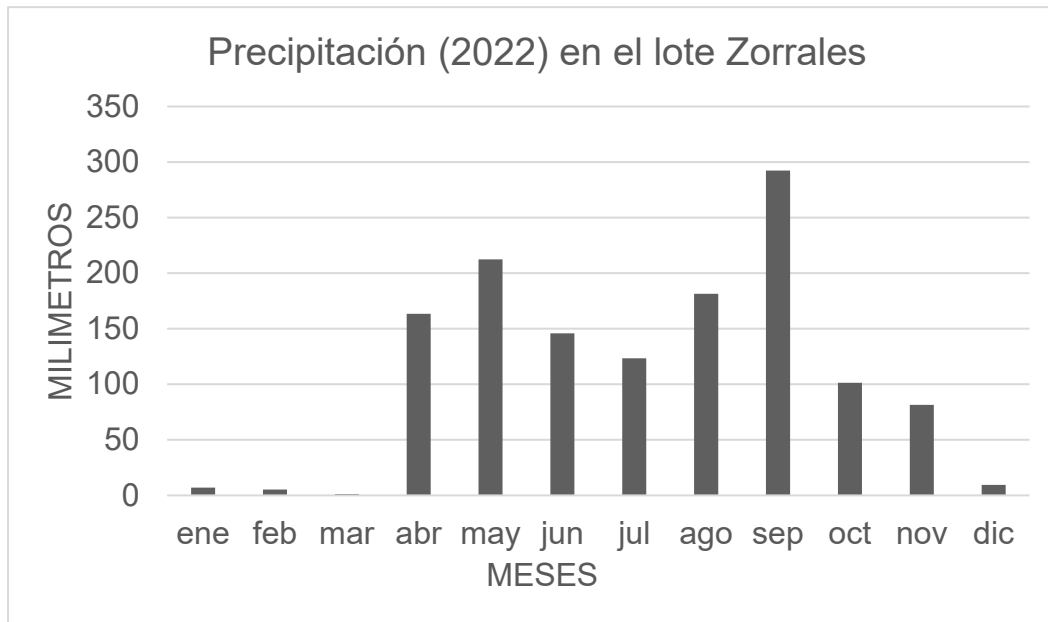
Anexo H

Desarrollo de la infección en la panoja de S. indicus durante 13 días



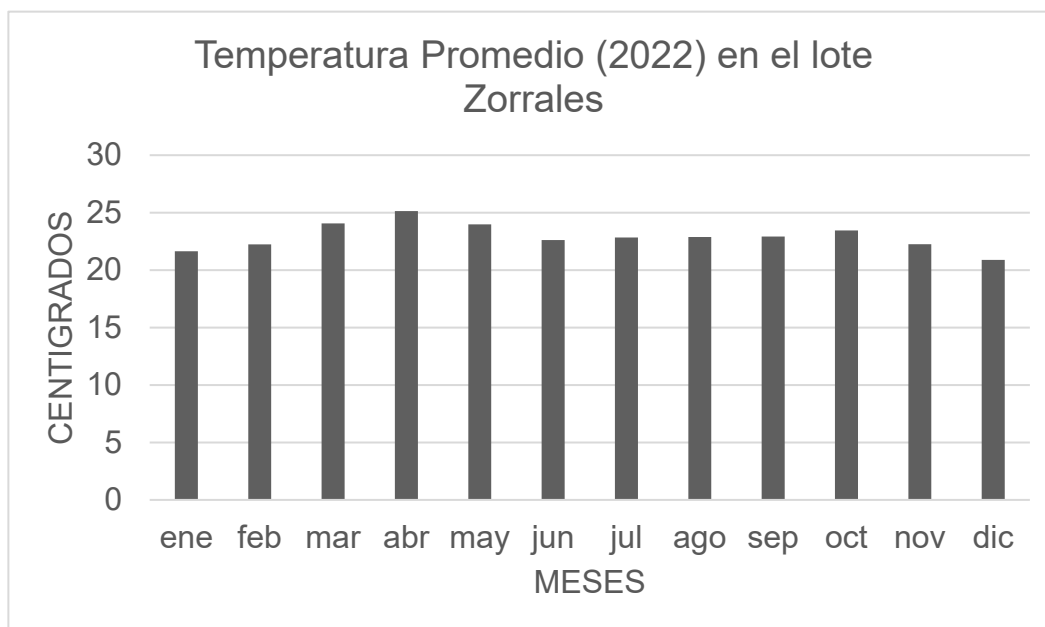
Anexo I

Precipitación anual de enero a diciembre del año 2022 tomado por la estación climatológica ubicada en lote Zorrales de ganado de leche de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano



Anexo J

Temperatura Promedio de enero a diciembre del año 2022 tomado por la estación climatológica ubicada en lote Zorrales de ganado de leche de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.



Anexo K

Humedad relativa de enero a diciembre del año 2022 tomado por la estación climatológica ubicada en lote Zorrales de ganado de leche de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.

