

EFFECTO DE LOS METODOS DE COSECHA Y SECADO DE LA SEMILLA DE *Brachiaria dictyoneura* EN SU MICROFLORA Y CALIDAD (VIABILIDAD Y GERMINACION)

Rodrigo Torres *

Jilliam M. Lenne **

COMPENDIO

Se evaluó el efecto de los métodos de cosecha con sudado (cosecha manual pila horizontal sometida a 3 días de sudado, cosecha manual pila vertical a 3 días, 6 días y 9 días de sudado, cosecha manual pila apretada a 3 días de sudado), sin sudado (cosecha manual sin sudado, cosecha con combinada) y de la mezcla fungicida (Benlate + Difolatan) sobre microflora, viabilidad y germinación de las semillas de *Brachiaria dictyoneura*. Para la determinación de la viabilidad se utilizó el método topográfico del tetrazolio, en las pruebas de germinación se utilizaron cuatro técnicas para romper latencia de las semillas (H_2O , H_2SO_4 , KNO_3 y $H_2SO_4 + KNO_3$).

ABSTRACT

In this work, the effect of harvesting methods with sweating (manual harvesting horizontal pile exposed to 3 days sweating, manual harvesting vertical pile at 3, 6 and 9 days sweating, manual harvesting disturbed pile at 3 days sweating); without sweating (manual harvest without sweating, combine harvesting) and of a mixture of fungicides (Benlate and Difolatan) on the microflora, viability and germination of the seeds of *Brachiaria dictyoneura* was evaluated. In order to determine the viability the topographical method of tetrazolium was used, in the germination test four methods to break latency of seeds were used H_2O , H_2SO_4 , KNO_3 and $H_2SO_4 + KNO_3$.

* Estudiante de pre-grado. Universidad Nacional de Colombia. Palmira.

** Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT. A. A. 6713, Cali, Colombia.

1. INTRODUCCION

Las semillas representan un vehículo ideal para el movimiento de microorganismos los cuales pueden estar asociados con el exterior o interior de las semillas causando en algunos casos pérdidas cuantitativas, como reducción en la producción de semillas, y pérdidas cualitativas, como reducción en el vigor y germinación. Hasta la fecha no existían estudios específicos sobre el efecto de los métodos de cosecha y secado de las semillas de *Brachiaria dictyoneura* en su microflora y calidad, lo cual era indispensable, pues esta gramínea por su valor nutritivo, gran producción de semilla, facilidad de asociación con las leguminosas *Desmodium ovalifolium*, *D. canum*, *D. heterophyllum* y por su resistencia a la mayor plaga del género *Brachiaria* el mión o salivazo (*Aeneolamia reducta*), en Colombia es promisoría para la producción animal principalmente en zonas de baja fertilidad, suelos ácidos y con épocas prolongadas de invierno y verano como los Llanos Orientales.

Los patógenos fungosos de las semillas de gramíneas pertenecen a los géneros *Cercospora*, *Helminthosporium*, *Rhizoctonia*, *Piricularia*, *Fusarium*, *Nigrospora* (Stergios, 4) y *Drechslera* (Neergaard, 2); en semillas de *Brachiaria* se han aislado *Fusarium*, *Drechslera*, *Curvularia*, *Alternaria* y *Trichotecium* (Chagas y Oliveira, 1). La microflora de semillas de gramíneas también está constituida por los géneros *Phoma*, *Botrydiplodia*, *Penicillium*, *Rhizopus* y *Trichoderma*. La calidad de las semillas de *B. dictyoneura* varía según el tratamiento utilizado: con el método topográfico del tetrazolio la viabilidad fue del 75 o/o, mientras que con la mezcla de H_2SO_4 + KNO_3 la germinación fue del 21 o/o a los 200 días de post-cosecha (Ortiz y Ferguson, 3).

Los objetivos del trabajo fueron estudiar el efecto de los métodos de cosecha y secado sobre la microflora y calidad de las semillas de *Brachiaria dictyoneura*; evaluar el efecto de la mezcla fungicida (Benlate + Difolatan), durante el tiempo de sudado de las inflorescencias, sobre la microflora y calidad y evaluar cuatro tratamientos para romper latencia de las semillas de *B. dictyoneura*.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.1. Sitio de producción y cosecha de semillas.

El Centro de Investigación Agropecuaria (ICA-CIAT) Carimagua, se encuentra localizado en los Llanos Orientales de Colombia, a 320 km al Este de Villavicencio, cerca al límite entre el Departamento del Meta y la Comisaría del Vichada a $4\frac{1}{2}^{\circ}$ de latitud norte y $71\frac{1}{2}^{\circ}$ de longitud oeste. La precipitación promedio anual es de 2 100 mm. La temperatura promedio de 26°C , la zona se encuentra a una altura de 175 m sobre el nivel del mar.

2.2. Métodos de cosecha.

Para la cosecha de las semillas de *B. dictyoneura* se dispuso de 20 días. Los métodos empleados fueron: cosecha combinada, cosecha manual sin sudado, cosecha manual pila horizontal a 3 días, cosecha manual pila vertical a 3 días, cosecha vertical pila vertical a 6 días, cosecha manual pila vertical a 9 días, cosecha manual pila apretada, cada una con dos repeticiones. Las pilas se trataron con fungicidas (Benlate + Difolatan) pero a solo 80 cm de su longitud.

En el sudado se apilaron las inflorescencias para contribuir a su maduración y favorecer el desprendimiento natural de las espiguillas; se hicieron apilamientos a 3, 6 y 9 días de sudado.

El método de secado utilizado fue el natural, exponiendo las semillas al sol por espacio de dos días.

2.3. Pruebas fitopatológicas.

Después de la trilla de las inflorescencias se tomaron 2.000 semillas de cada uno de los métodos de cosecha, con y sin fungicida, para determinar los microorganismos asociados con las semillas de *B. dictyoneura*, por cada tratamiento se hicieron 4 repeticiones, cada repetición constó de 400 semillas dividida en cuatro grupos. En cada caja petri con PDA se sembraron 10 semillas, se incubaron a 26°C durante tres días. Los cultivos puros se enviaron al "Commonwealth Mycological Institute" para las respectivas identificaciones.

2.4. Pruebas de viabilidad.

Se utilizó el método topográfico del tetrazolio. La prueba se efectuó sobre dos repeticiones de 50 semillas cada una, tomadas al azar de la fracción

de semilla pura. Las cariósides libres se ablandaron durante dos y media horas sobre papel germinador humedecido, luego se envolvieron y se empa-cararon en bolsas plásticas. Las cariósides ablandadas se bisectaron longitu-dinalmente, una mitad se mantuvo en agua mientras se cortaban todas, lue-go se colocaron en la solución de tetrazolio al 5 o/o y se llevaron a un hor-no a 40°C durante dos y media a tres horas, después se hizo la extracción de la solución lavando varias veces con agua. De acuerdo con las estructuras coloreadas se determinó la viabilidad.

2.5. Pruebas de germinación.

En las pruebas de germinación cada tratamiento constó de cuatro repeti-ciones, cada una de 100 semillas; se utilizaron H_2O , H_2SO_4 , KNO_3 , $H_2SO_4 + KNO_3$. En el tratamiento con H_2SO_4 40 o/o se escarificaron las semi-llas durante 20 minutos, luego se colocaron las semillas sobre papel Anchor humedecido con agua. Para el tratamiento con KNO_3 0.2 o/o se humede-ció el sustrato. Las cajas plásticas se llevaron a un germinador "Hoffman", en el cual la temperatura osciló entre 35°C durante ocho horas (con luz) y 20°C durante 16 horas (sin luz). Las lecturas se realizaron a los 7, 14 y 21 días; para las evaluaciones se utilizó el manual para las pruebas de germina-ción del ISTA (1979).

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Reconocimiento de hongos y bacterias.

De las muestras de semilla de *B. dictyoneura* cosechadas en Carimagua se aislaron los géneros de los hongos *Botrydiplovia*, *Curvularia*, *Cladosporium*, *Eupenicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Nigrospora*, *Paecilomyces*, *Papulaspora*, *Penicillium*, *Pestalotiopsis*, *Phialophora*, *Phoma*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus*, *Thielaviopsis*, *Trichoderma* y una levadura. Las bacterias aisladas pertene-cieron a los géneros *Enterobacter*, *Erwinia* y *Pseudomonas*.

3.2. Efecto de los métodos de cosecha en la microflora.

Los métodos de cosecha y fungicida (Benlate + Difolatan) tuvieron efec-to sobre la población total de hongos (Cuadros 1 y 2) y bacterias (Cuadros 3 y 4). En los tratamientos sin fungicida la población fungosa mostró dife-rencias significativas con los mismos tratamientos pero con aplicación de fungicida. El mayor tiempo de sudado de las semillas no fue factor determi-nante en el incremento de la población fungosa total. En los métodos de cosecha donde se registró mayor control de la población fungosa fueron : cosecha con combinada con fungicida; cosecha manual pila apretada (3 días) con fungicida; cosecha manual con fungicida y cosecha manual pila

Cuadro 1

Efecto de los métodos de cosecha y fungicida (Benlate + Difolatan) sobre la población fungosa presente en semillas de *B. dictyoneura* (Anova)

Fuente de variación	Gl	F. calculado	F. tabulado
Rep.	1	0.38	0.5488 NS
Trat. (cosecha por fungicida)	13	15.70	0.0001 **
Rep. por tratamiento	13	0.28	0.9773 NS
Secado	1	19.37	0.0009 **
Tratamiento por secado	13	4.82	0.0058 **

Diferencia significativa al 5 o/o
 NS Diferencia no significativa
 ** Diferencia altamente significativa

Gl Grado de libertad
 Rep. Repetición
 Trat. Tratamiento

Cuadro 2

Efecto de los métodos de cosecha y fungicida (Benlate + Difolatan) sobre la población fungosa presente en semillas de *B. dictyoneura* (Duncan)

Tratamiento	Promedio	Grupo
C. manual F ⁻	1114.3	A
C. con combinada F ⁻	1072.8	AB
CMP vertical (6 días) F ⁻	1050.8	AB
CMP vertical (9 días) F ⁻	991.5	ABC
CMP vertical (3 días) F ⁻	966.8	BC
CMP horizontal (3 días) F ⁻	849.5	CD
CMP apretada (3 días) F ⁻	819.0	D
CMP vertical (6 días) F ⁺	358.5	E
CMP vertical (3 días) F ⁺	325.5	E
CMP vertical (9 días) F ⁺	286.0	EF
CMP horizontal (3 días) F ⁺	224.8	EFG
C. manual F ⁺	181.0	FG
CMP apretada (3 días) F ⁺	140.5	G
C. con combinada F ⁺	125.5	G

C. cosecha
 CMP cosecha manual pila
 E⁻ tratamiento sin fungicida

F⁺ tratamiento con fungicida (Benlate + Difolatan).
 Tratamientos con igual letra no son significativamente diferentes.

Cuadro 3

Efecto de los métodos de cosecha y fungicida (Benlate + Difolatan) sobre la población bacteriana presente en semillas de *B. dictyoneura*

Fuente de variación	Gl	F. calculado	F. tabulado
Rep.	1	0.02	0.8840 NS
Tratamiento (cosecha por fungicida)	13	7.67	0.0007 **
Rep. por tratamiento	13	0.85	0.6024 NS
Secado	1	10.50	0.0071 **
Tratamiento por secado	13	6.73	0.0013 **

Cuadro 4

Efecto de los métodos de cosecha y fungicida (Benlate + Difolatan) sobre la población bacteriana presente en semillas de *B. dictyoneura* (Duncan)

Tratamiento	Promedio	Grupo
CMP horizontal (3 días) F ⁺	1187.8	A
CMP vertical (3 días) F ⁺	1043.5	AB
CMP vertical (6 días) F ⁺	792.5	BC
CMP apretada (3 días) F ⁺	788.5	C
C. con combinada F ⁺	723.0	C
CMP vertical (9 días) F ⁺	705.5	C
C. manual F ⁺	690.0	C
CMP vertical (3 días) F ⁻	593.5	CD
CMP horizontal (3 días) F ⁻	560.8	CD
C. con combinada F ⁻	560.0	CD
CMP vertical (6 días) F ⁻	559.5	CD
CMP apretada (3 días) F ⁻	559.5	CD
CMP vertical (9 días) F ⁻	551.0	CD
C. manual F ⁻	357.8	D

horizontal (3 días) con fungicida.

En la población bacteriana hubo efecto altamente significativo debido a la interacción método de cosecha por fungicida. El mayor tiempo de sudado no tuvo efecto en el incremento de sus poblaciones. El fungicida (Benlate + Difolatan) fue un factor que favoreció el desarrollo de la población bacteriana, al disminuir la competencia de la población fungosa. De acuerdo con el análisis global la menor población bacteriana se observó en la cosecha manual sin fungicida.

3.3. Efecto del no secado de las semillas sobre su microflora.

3.3.1. Hongos.

Antes del secado, se presentaron un total de 16 especies diferentes de hongos y una levadura (sin identificar). Los hongos aislados fueron: *Cladosporium oxysporum*, *Curvularia pallescens*, *Fusarium acuminatum*, *Botryodiplodia theobromae*, *Nigrospora sacchari*, *Paecilomyces* sp, *Phoma sorghina*, *Curvularia trifolii*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor hiemalis*, *Fusarium pallidroseum*, *Thielaviopsis* sp, *Fusarium oxysporum*, *Eupenicillium* sp, *Rhizoctonia* sp., *Rhizoctonia* sp, *Rhizoctonia zeae* (Cuadros 5 y 6). Fue claro el efecto del no secado de las semillas de *B. dictyoneura* pues se desarrolló más cantidad de colonias de microorganismos al verse favorecidos por la humedad presente en las semillas. El hongo que apareció en mayor cantidad antes del secado fue *C. oxysporum* con 4 939 colonias, registrándose su mayor población en la cosecha manual sin fungicida (1 185 colonias, 14.8 o/o de contaminación) mientras que su menor población se observó en la cosecha manual pila apretada con fungicida (19 colonias, 2.3 o/o de contaminación). El género *Rhizoctonia* fue el que menos se observó antes del secado de las semillas.

3.3.2. Bacterias.

En cuanto a la población bacteriana, antes del secado se aislaron *Enterobacter cloacae*, *Erwinia herbicola* y *Pseudomonas* sp. *Enterobacter*, con 11 653 colonias, se observó en mayor cantidad en la cosecha manual pila horizontal con fungicida con 1 966 colonias lo que correspondió a un 24.5 o/o de contaminación; mientras que su menor población ocurrió en la cosecha manual sin fungicida (166 colonias, 20.7 o/o de contaminación). Antes del secado del método de cosecha donde se observó mayor cantidad total de microorganismos fue en la cosecha manual pila horizontal con fungicida con 4 297 colonias, 3 569 de las cuales correspondieron a bacterias y 728 a hongos; la mayor población total de microorganismos se observó en la cosecha manual pila apretada con fungicida con 1 858 colonias correspon-

Cuadro 5

Número total* de microorganismos asociados con la semilla de *B. dictyoneura* antes del secado, según los métodos de cosecha

Cosecha x Fungicida	<i>Curvularia pallens</i>	<i>Thielavopsis</i> sp.	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Paeclomyces</i> sp.	<i>Fusarium acuminatum</i>	<i>Curvularia trifolii</i>	<i>Phoma sorghina</i>	<i>Cladosporium oxysporum</i>	<i>Mucor hiemalis</i>	<i>Nigrospora sacchari</i>	<i>Fusarium pallidoseum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Rhizoctonia</i> sp. (bucleado)	<i>Rhizoctonia zeae</i>	<i>Botryodiplodia theobromae</i>	<i>Eupenicillium</i> sp.	TOTAL HONGOS	<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Enterobacter cloacae</i>	Levadura	TOTAL BACTERIA	TOTAL MICROORGANISMOS
Combinada F ⁻	661	0	2	490	928	0	0	193	30	250	0	0	0	0	179	0	2733	130	0	710	0	840	3573
Manual F ⁻	183	0	103	143	105	285	0	1185	44	289	0	0	0	0	466	0	2783	93	0	166	0	259	3042
Manual pila H F ⁻	519	0	33	47	33	69	0	716	37	115	0	0	0	0	282	0	1851	693	0	458	0	1151	3002
Manual pila H F ⁺	257	0	0	133	133	12	0	73	34	22	0	0	0	0	64	0	728	1603	0	1866	0	3569	4297
Manual pila V F ⁻	187	4	17	0	337	0	0	945	0	312	0	0	0	0	304	0	2111	307	0	946	0	1253	3364
Manual pila V 3 días F ⁻	169	0	3	0	283	0	0	103	0	224	0	0	0	0	145	0	927	1559	0	1441	0	3000	3927
Manual pila V 6 días F ⁻	438	0	46	0	188	87	0	938	4	254	0	0	0	0	336	0	2291	285	0	597	0	882	3173
Manual pila V 6 días F ⁺	127	0	0	251	52	35	0	122	0	47	0	0	0	0	185	0	819	590	0	1131	0	1727	2546
Manual pila V F ⁻	437	0	103	40	465	3	0	273	0	65	0	0	0	0	656	0	2042	417	0	1080	0	1497	3539
Manual pila V 9 días F ⁺	117	0	17	7	233	10	0	81	1	23	0	1	1	1	79	0	571	389	0	1269	9	1658	2229
Pila apretada F ⁻	460	0	1	16	34	17	772	291	4	6	7	2	1	0	27	0	1638	393	1	725	0	1119	2757
Pila apretada F ⁺	75	0	1	0	43	7	76	19	0	6	0	0	0	0	52	2	281	411	2	1164	1	1577	1858
TOTAL	3630	4	326	1127	2834	525	848	4939	154	1593	7	3	2	1	2780	2	18775	6870	3	11653	10	18532	37307

* Número total de colonias asociadas con 800 semillas en cada tratamiento.

Cuadro 6

Frecuencia de los aislamientos de microorganismos aparecidos (porcentaje)* antes del secado de las semillas de *B. dictyonera* según los métodos de cosecha

Métodos de Cosecha	<i>Curvularia pallensens</i>	<i>Thielavopsis</i> sp.	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Pactiomyces</i> sp.	<i>Fusarium acuminatum</i>	<i>Curvularia trifolii</i>	<i>Phoma sorghina</i>	<i>Cladosporium oxysporum</i>	<i>Mucor hiemalis</i>	<i>Nigrospora sachari</i>	<i>Fusarium pallidoseum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Rhizoctonia</i> sp. (binucleado)	<i>Rhizoctonia zeae</i>	<i>Botrydiodia theobromae</i>	<i>Eupentilium</i> sp.	<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Enterobacter cloacae</i>	Levadura
Cosecha con combinada	F ⁻ 82.6	0.0	0.2	61.3	116	0	0	24.1	3.75	31.2	0	0	0	0	22.3	0	16.2	0	88.7	0
Cosecha manual	F ⁻ 22.8	0.0	12.8	17.8	13	35.6	0	148	5.5	33.6	0	0	0	0	58	0	11.6	0	20.7	0
Cosecha manual	F ⁻ 64.8	0.0	4.1	5.0	4.1	9.6	0	89.5	4.6	14.4	0	0	0	0	35.2	0	86.6	0	57.2	0
P. horizontal	F ⁺ 32.1	0.0	0.0	16.6	16.6	1.5	0	9.1	4.2	2.7	0	0	0	0	8	0	200	0	245.0	0
CMP vertical (3 días)	F ⁻ 23.3	0.5	2.0	0.0	42	0	0	118	0	39	0	0	0	0	38.6	0	38.3	0	118	0
	F ⁺ 21.1	0.0	0.3	0.0	35.3	0	0	12.8	0	28	0	0	0	0	18	0	194	0	180	0
CMP vertical (6 días)	F ⁻ 54.7	0.0	5.7	0.0	23.5	10.8	0	117	0.5	31.7	0	0	0	0	42	0	35.6	0	74.6	0
	F ⁺ 15.8	0.0	0.0	31.3	6.5	4.3	0	15.2	0	5.8	0	0	0	0	23	0	74.5	0	141	0
CMP vertical (9 días)	F ⁻ 54.6	0.0	12.8	5.0	58.1	0.3	0	34	0	8.1	0	0	0	0	82	0	52.1	0	135	0
	F ⁺ 14.6	0.0	2.0	0.8	29.1	1.2	0	10	0.1	2.8	0	0.1	0.1	0.1	9.8	0	48.6	0	158	1
CMP apretada	F ⁻ 57.5	0.0	0.1	2.0	4.2	2.1	96.5	36	0.5	0.8	0.8	0.2	0.1	0	3.3	0	49.1	0.1	90.6	0
	F ⁺ 9.3	0.0	0.1	0.0	5.3	0.8	9.5	2.3	0	0.8	0	0	0	0	6.5	0.2	51.3	0.2	145	0.1

* Porcentaje de microorganismos asociados con las semillas

dientes a 1 577 colonias de bacterias y 281 colonias de hongos.

3.4. Efecto del secado de la semilla sobre su microflora.

3.4.1. Hongos.

Después del secado de las semillas, se presentaron 21 especies de hongos, algunas de las cuales se habían aislado antes del secado, al igual que la levadura. Los hongos aislados por orden de frecuencia fueron. **Phoma sorghina**, **Curvularia pallescens**, **Botryodiplodia theobromae**, **Fusarium acuminatum**, **Paecilomyces** sp, **Curvularia trifolii**, **Eupenicillium** sp, **Rhizopus stolonifer**, **Fusarium pallidroseum**, **Phialophora** sp, **Nigrospora sacchari**, **Mucor hiemalis**, **Curvularia** sp, **Penicillium oxalicum**, **Cladosporium oxysporum**, **Fusarium oxysporum**, **Trichoderma koningii**, **Trichoderma harzianum**, **Thielaviopsis** sp, **Papulaspora** sp y **Pestalotiopsis versicolor** (Cuadros 7 y 8).

El secado de las semillas fue un factor decisivo en la disminución de la población total de microorganismos. El hongo que apareció en mayor cantidad después del secado fue **Phoma sorghina** con 3 926 colonias 1 033 de las cuales (129 o/o de contaminación) se registraron en semillas provenientes de la cosecha manual sin fungicida, y 74 colonias (9 o/o) en la cosecha con combinada; a este hongo posiblemente le favorecen las condiciones de poca humedad en las semillas, pues antes del secado la población fue baja. Cabe anotar que **Curvularia pallescens**, tanto antes como después del secado, apareció en gran cantidad pues es un hongo asociado con semillas de gramíneas. El género que menos se observó después del secado de las semillas fue **Pestalotiopsis versicolor**.

3.4.2. Bacterias.

En cuanto a la población bacteriana se aislaron igualmente **Enterobacter cloacae**, **Erwinia herbicola**, **Pseudomonas** sp, las cuales tuvieron el mismo comportamiento tanto antes como después del secado de las semillas apareciendo en el mismo orden de frecuencia. El género **Pseudomonas** se vio favorecido por el secado de las semillas, pues después del secado apareció en mayor cantidad.

Después del secado, el método de cosecha donde se observó mayor cantidad total de microorganismos fue en la cosecha manual pila vertical (con sudado a 6 días) sin fungicida, con 3 268 colonias, 1 356 de las cuales correspondieron a bacterias y 1 912 a hongos. La menor población se registró en la cosecha manual pila horizontal (con sudado a 3 días) con fungicida, con 1 385 colonias de las cuales 1 182 correspondieron a bacterias y 171 a hongos.

3.5. Viabilidad.

La viabilidad promedio se mantuvo más alta durante el primer mes en los tratamientos sin sudado (Cuadro 9); tal es el caso de la cosecha con combinada y cosecha manual sin sudado con 81 o/o, mientras que el tratamiento con sudado fue de 71 o/o, sin que estas diferencias fueran significativas.

En el tercer mes, el efecto del sudado sobre la viabilidad fue significativo. En los tratamientos cosecha con combinada y cosecha manual sin sudado se alcanzó un promedio de 76.75 o/o, superior al de los tratamientos con sudado (65.7 o/o). Sin embargo, dentro de los métodos de cosecha con sudado no se presentaron diferencias significativas entre los tiempos de sudado a 3, 6 y 9 días, tampoco se observó efecto del fungicida sobre la viabilidad. Los datos de viabilidad al tercer mes son más confiables pues los tejidos de las semillas están más diferenciadas y por ende la tinción es mejor.

3.6. Germinación.

El análisis estadístico no mostró efecto de los métodos de cosecha en la germinación de las semillas (Cuadro 10). Se encontraron diferencias significativas en las técnicas utilizadas para romper latencia de las semillas: con H₂O el porcentaje de germinación fue de 0 o/o, de 1.31 o/o con KNO₃, de 5 o/o con H₂SO₄ y de 42.9 o/o con H₂SO₄ + KNO₃. Cabe anotar que no hubo efecto de la mezcla fungicida (Beñlate + Difolatan) en la germinación de las semillas de *B. dictyoneura*; tampoco se observó efecto de los tiempos de sudado.

4. CONCLUSIONES

- 4.1. Hubo efecto altamente significativo en la interacción método de cosecha por fungicida sobre la microflora presente en las semillas de *B. dictyoneura*.
- 4.2. En los tratamientos sometidos a 6 - 9 días de sudado la población microbiana se mantuvo constante aún después del secado de las semillas.
- 4.3. Con el secado de las semillas aparecieron hongos como *Thichoderma koningii*, *Trichoderma harzianum*, *Pestalotiopsis versicolor*, *Phialophora* sp., *Papulaspora* sp., *Curvularia* sp., *Penicillium oxalicum*.
- 4.4. El secado fue un factor decisivo en la disminución poblacional de la mayoría de las especies microbianas; sin embargo, se observaron algunas

Cuadro 7

Número total* de microorganismos asociados con las semillas de *B. dictyoneura* después del secado, según los métodos de cosecha

Métodos de Cosecha	<i>Curvularia pallensens</i>	<i>Thielaviopsis</i> sp.	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Faeclomyces</i> sp.	<i>Fusarium acuminatum</i>	<i>Curvularia trifolii</i>	<i>Phoma sorghina</i>	<i>Cladosporium oxysporum</i>	<i>Mucor hiemalis</i>	<i>Nigrospora sacchari</i>	<i>Fusarium pallidroseum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Botrydiploia theobromae</i>	<i>Eupenillium</i> sp.	<i>Phialophora</i> sp.	<i>Trichoderma koningi</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Pestalotiopsis versicolor</i>	<i>Papulaspora</i> sp.	<i>Curvularia</i> sp.	<i>Penicillium oxalicum</i>	TOTAL HONGOS	<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Enterobacter cloacae</i>	Levadura	TOTAL BACTERIA	TOTAL MICROORGANISMOS
Cosecha combinada F ⁻	252	0	10	101	16	86	737	9	23	53	11	5	121	81	2	0	3	0	0	0	48	1558	222	1	1177	12	1400	2970
Cosecha combinada F ⁺	115	0	4	1	8	35	74	0	5	7	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	251	429	13	1004	36	1446	1733
C. manual sin sudado F ⁻	200	2	154	85	5	23	1033	26	0	10	20	3	0	81	0	0	0	0	0	27	5	1674	410	8	754	31	1172	2877
C. manual sin sudado F ⁺	60	0	10	6	1	22	155	0	1	2	0	0	83	5	0	12	4	1	0	0	0	362	614	6	760	2	1380	1744
CMP horizontal F ⁻	402	0	1	72	3	142	399	0	1	55	0	0	416	26	9	0	0	0	2	17	2	1547	109	1	982	3	1092	2642
CMP horizontal F ⁺	64	0	0	10	6	8	60	0	1	0	2	0	14	6	0	0	0	0	0	0	0	171	270	106	806	32	1182	1385
CMP vertical (3 días) F ⁻	401	0	11	57	20	35	404	7	6	14	20	2	521	52	182	0	0	0	0	12	2	1756	97	2	806	3	905	2664
CMP vertical (3 días) F ⁺	145	0	11	1	9	18	142	1	0	2	0	3	35	4	0	0	1	0	0	3	0	375	309	25	760	7	1174	1556
CMP vertical (6 días) F ⁻	675	0	6	45	90	26	350	3	30	13	41	24	544	47	0	4	0	0	0	14	0	1912	308	2	1046	0	1356	3268
CMP vertical (6 días) F ⁺	221	0	0	0	13	7	194	3	5	3	6	0	149	14	0	0	0	0	0	0	0	615	573	16	854	4	1443	2062
CMP vertical (9 días) F ⁻	549	0	24	55	291	0	270	0	14	0	65	0	587	59	0	0	0	0	0	0	0	1924	84	0	623	16	707	2647
CMP vertical (9 días) F ⁺	178	0	26	4	47	3	108	0	2	0	48	7	140	8	0	0	2,0	0	0	0	0	573	453	43	668	17	1164	1754
TOTAL	3262	2	257	437	509	405	3926	49	88	159	214	44	2610	363	203	17	10	1	2	83	57	12718	3958	223	10240	183	14421	27302

* Número total de colonias asociadas con 800 semillas en cada tratamiento.

Cuadro 8

Frecuencia de aislamientos de microorganismos (o/o)* aparecidos después del secado de las semillas de *B. dictyoneura*, según los métodos de cosecha

Métodos de Cosecha	<i>Curvularia pallescens</i>	<i>Thielaviopsis</i> sp.	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Paeclomyces</i> sp.	<i>Fusarium acuminatum</i>	<i>Curvularia trifolii</i>	<i>Phoma sorghina</i>	<i>Cladosporium oxysporum</i>	<i>Mucor hiemalis</i>	<i>Nigrospora sacharti</i>	<i>Fusarium pallidoseum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Botryodiplodia theobromae</i>	<i>Eupeccilium</i> sp.	<i>Phialophora</i> sp.	<i>Trichoderma koningi</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>P. versicolor</i>	<i>Papulaspora</i> sp.	<i>Curvularia</i> sp.	<i>P. oxalicum</i>	<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Enterobacter cloacae</i>	Levadura
Cosecha con combinada	F ⁻ 31.5	0	1.2	12.6	2	10.7	92	1.1	2.8	6.6	1.4	0.6	15.1	10.1	0.2	0	0.3	0	0	0	6	27.7	0.1	147	1.5
	F ⁺ 14.3	0	0.5	0.1	1	4.3	9	0	0.6	0.8	0.1	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0	0	53.6	1.6	125	4.5
Cosecha manual sin sudado	F ⁻ 25	0.2	19.2	10.6	0.6	2.8	129	3.2	0	1.2	2.5	0.3	0	10.1	0	0	0	0	0	3.3	0.6	51.2	1	94.5	3.8
	F ⁺ 7.5	0	1.2	0.7	0.1	2.7	19.3	0	0.1	0.2	0	0	10.3	0.6	0	1.5	0.5	0.1	0	0	0	76.5	0.7	95	0.2
Cosecha manual pila horizontal	F ⁻ 50.2	0	0.1	9	0.3	17.7	49.8	0	0.1	6.8	0	0	52	3.2	1.1	0	0	0	0.2	2.1	0.2	13.6	0.1	122.7	0.3
	F ⁺ 8	0	0	1.2	0.7	1	7.5	0	0.1	0	0.2	0	1.7	0.7	0	0	0	0	0	0	0	33.7	13.2	100	4
Cosecha manual pila vertical (3 d'as)	F ⁻ 50	0	1.3	7	2.5	4.3	50.5	0.8	0.7	1.7	2.5	0.2	65.1	6.5	24	0	0	0	0	1.5	0.2	12.1	0.2	100	0.3
	F ⁺ 18.1	0	1.3	0.1	1.1	2.2	17.7	0.1	0	0.2	0	0.3	4.3	0.5	0	0	0.1	0	0	0.3	0	48.6	3.1	95	0.8
Cosecha manual pila vertical (6 d'as)	F ⁻ 84.3	0	0.7	5.6	11.2	3.2	43.7	0.3	3.7	1.6	5.1	3	68	5.8	0	0	0	0	0	1.7	0	38.5	0.2	130	0
	F ⁺ 27.6	0	0	0	1.6	0.8	24.2	0.3	0.6	0.3	0.7	0	18.6	1.7	0	0	0	0	0	0	0	71.6	2	106	0.5
Cosecha manual pila vertical (9 d'as)	F ⁻ 68.6	0	3	6.8	36	0	33.7	0	1.7	0	8.1	0	73.3	7.3	0	0	0	0	0	1.2	0	10.5	0	77.8	2
	F ⁺ 22.2	0	3.2	0.5	5.8	0.3	13.5	0	0.2	0	6	0.8	17.5	1	0	0	0.2	0	0	0	0	56.6	5.3	83.5	2.1

* Porcentaje de microorganismos asociados con las semillas.

Cuadro 9

Prueba de viabilidad con tetrazolio, para semillas de **B. dictyoneura**, según los métodos de cosecha

Métodos de cosecha	Viabilidad en TZ. (o/o No.)	
	1 Mes Post Cosecha	3r. Mes Post. Cosecha
Cosecha con combinada	84.5 ^a	81.5 ^a
Cosecha manual sin sudado	77.5 ^a	72.0 ^a
Cosecha manual pila horizontal (3 días)	80.0 ^a	67.25 ^b
Cosecha manual pila vertical (3 días) F ⁻	63.5 ^a	58.0 ^b
Cosecha manual pila vertical (3 días) F ⁺	66.5 ^a	71.25 ^b
Cosecha manual pila vertical (6 días)	65.0 ^a	64.5 ^b
Cosecha manual pila vertical (9 días)	75.5 ^a	66.25 ^b
Cosecha manual pila apretada (3 días)	75.5 ^a	67.0 ^b

X = 73.50

X = 68.46

Datos con la misma letra no son significativamente diferentes al 5 o/o.

Cuadro 10

Prueba de germinación con diferentes técnicas, para semillas de **B. dictyoneura**, cosechadas según diferentes métodos

Métodos de cosecha	Germinación un mes post. cosecha (o/o N)			
	H ₂ O	KNO ₃	H ₂ SO ₄	H ₂ SO ₄ + KNO ₃
Cosecha con combinada	0	0.5 ^a	4.0 ^a	30.0 ^a
Cosecha manual	0	0.0 ^a	5.0 ^a	51.5 ^a
Cosecha manual pila horizontal (3 días)	0	1.5 ^{ab}	4.0 ^a	43.0 ^a
Cosecha manual pila vertical (3 días) F ⁰	0	1.0 ^{ab}	5.0 ^a	39.0 ^a
Cosecha manual pila vertical (3 días) F ⁺	0	1.5 ^{ab}	3.0 ^a	54.0 ^a
Cosecha manual pila vertical 6 días	0	1.0 ^{ab}	8.0 ^a	39.0 ^a
Cosecha manual pila vertical 9 días	0	3.5 ^b	8.5 ^a	41.5 ^a
Cosecha manual pila apretada (3 días)	0	1.5 ^{ab}	2.5 ^a	45.5 ^a

Datos con igual letra no son significativamente diferentes al 5 o/o.

excepciones tal fue el caso de **Phoma sorghina** que se incrementó en 32 o/o, **Fusarium pallidroseum** en 2.1 o/o, **Fusarium oxysporum** en 0.37 o/o; **Eupenicillium** en 3.98 o/o; **Pseudomonas** en 2.27 o/o y la levadura en 1.3 o/o.

- 4.5. No hubo efecto de los métodos de cosecha sobre la viabilidad y germinación de las semillas.
- 4.6. La aplicación de la mezcla fungicida (Benlate + Difolatan) no tuvo efecto en la viabilidad y germinación de las semillas de **B. dictyoneura**.
- 4.7. La germinación se vio afectada por la técnica para romper latencia, obteniendo el mayor porcentaje (42.9 o/o) con $H_2SO_4 + KNO_3$.

5. BIBLIOGRAFIA

1. CHAGAS, D.; OLIVEIRA, D. P. Fungos asociados a semillas de gramíneas a leguminosas forrajeras. Fitopatología brasileira. v. 8. 1983.
2. NEERGAARD, P. Seed pathology. New York, 1977. v. 1.
3. ORTIZ, A. A.; FERGUSON, J. Germinación y viabilidad en **Brachiaria** sp. In: Congreso de tecnología de semillas, 9, Cali, Colombia, 1985.
4. STERGIOS, B. Observaciones sobre las principales enfermedades de los pastos forrajeros en Costa Rica y su importancia en la producción ganadera. Turrialba. v. 20, n. 1. p. 121- 123. 1970.