Calidad sanitaria de la semilla de soya

Pastora Ouerales*

Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Decanato de Agronomía. Posgrado de Fitopatología. Cabudare, Lara. Venezuela.

RESUMEN

La semilla de soya es un órgano rico en proteínas, lípidos y aminoácidos esenciales. Esta característica nutricional la convierte en un hábitat ideal para los microoganismos, algunos de ellos patógenos del cultivo, que la aprovechan para su sobrevivencia, además de preservar su capacidad patogénica. La patología de semillas es la ciencia que se ha encargado de estos estudios sobre la microbiota asociada a la semilla, especialmente su detección y transmisión. En los últimos años, la necesidad de preservación de atributos de calidad en semillas de cultivos de importancia como la soya, ha centrado la atención en la sanidad, uno de los principales parámetros que interfiere en la calidad física y fisiológica. Nuevos métodos de detección rápidos, específicos, sensibles, precisos, reproducibles y de bajo costo son imprescindibles en esta nueva era; que sean adecuados al estudio en otras áreas de investigación, como la epidemiología de patógenos asociados a la semilla y su manejo, innovación en la aplicación de tratamientos y mecanismos de transmisión de semilla a planta y de la planta madre a la semilla. La necesidad de intercambio internacional mediante canales de comercialización obliga a la estandarización de regulaciones fitosanitarias y de métodos de evaluación de la sanidad de semillas entre países productores y exportadores.

Palabras clave: Glycine max, patología de semilla, sanidad, detección, identificación

Sanitary quality of soybean seed

ABSTRACT

The soybean is a rich body of proteins, lipids and essential amino acids. This nutritional feature makes it an ideal habitat for seedborne microorganisms, some of these are pathogens crop, the advantage for survival while preserving their pathogenic capacity. The seed pathology is the science that has been responsible for these studies on the microbiota associated with the seed, especially its detection.

E-mail: pastoraq@ucla.edu.ve

^{*}Autor de correspondencia: Pastora Querales

In recent years, the need for preservation of quality attributes in significant crop seeds such as soybean has focused attention on health, one of the main parameters for interfering in the physical and physiological quality. New detection methods rapid, specific, sensitive, accurate, reproducible and inexpensive are essential in this new era; which are suitable to study in other research areas such as epidemiology of pathogens associated with seed and management, innovation in the application of treatments and transmission mechanisms of seed to plant and the mother plant the seed. The need for international exchange through marketing channels requires the standardization of phytosanitary regulations and methods of assessing the health of seeds between producers and exporting countries.

Key words: Glycine max, seed pathology, health, detection, identification

INTRODUCCIÓN

La semilla representa el insumo inicial y el más importante para la producción agrícola, principalmente por ser portadora de todos los atributos genéticos responsables del desempeño de un cultivar, contribuyendo de esta manera con el establecimiento exitoso del cultivo en campo y su rentabilidad. Desde el punto de vista botánico, semilla y grano es el mismo órgano, pero los protocolos para la obtención y procesamiento de ambos son distintos. El manejo de un cultivo con fines de producción de semilla debe cumplir con un proceso que garantice unas condiciones mínimas de pureza varietal y elevado potencial fisiológico expresado en la germinación (Marcos Filho, 2005); siendo estos, unos de los parámetros por los cuales se mide su calidad. Este es el caso de la soya (Glycine max (L) Merrill), por ser un cultivo de multiplicación por semilla sexual.

En la actualidad el cultivo de la soya representa uno de los rubros agrícolas más importantes a nivel mundial. Durante la zafra 2015/2016, la producción mundial se ubicó en 318,8 millones de toneladas; siendo el mayor aporte por EUA con 106,9 millones seguido de Brasil como segundo país productor con 96,2 millones de toneladas. China se ubica como primer país demandante con un consumo de 87,2 millones de toneladas durante la misma zafra (USDA, 2016).

A diferencia de la producción de granos, el proceso de producción de semillas lleva implícito el manejo de los parámetros de calidad. Al respecto, Marcos Filho (1998) definió calidad de semillas como el conjunto de características que determinan su valor para la siembra, dado por el potencial de desempeño como reflejo de la interacción entre los atributos de naturaleza genética, física, fisiológica y sanitaria (Marcos Filho, 2005). Es así, como la patología de semillas, se involucra en la cadena de producción de dicho insumo agrícola, pues estudia todas los aspectos atribuidos a la asociación patógeno – semilla con el fin de establecer medidas de control de agentes causales del deterioro; o bien, de potenciales patógenos causantes de enfermedades a la planta.

El desconocimiento del aspecto sanitario como parámetro de calidad puede acarrear daños a la producción y comercialización de la semilla y en consecuencia a la producción agrícola. Algunos de estos perjuicios ocurren durante el almacenamiento, causando el deterioro de la semilla. Las condiciones inadecuadas del almacén también favorecen las contaminaciones secundarias del lote, repercutiendo en la reducción de la germinación y vigor de las semillas. Por otra parte, en campo la semilla puede contribuir con la diseminación de inóculo a cortas y largas distancias, contaminando el suelo con estructuras de resistencia, o bien, entre plantas vecinas con formación de focos primarios de infección en nuevos campos, inutilización temporal o definitiva de un área agrícola para determinados cultivos y muerte de plántulas por sancocho (Damping off), marchitez o malformaciones (Machado, 2010). Aproximadamente, el 90% de los cultivos destinados a la producción de alimentos puede sufrir algún tipo de enfermedad y sus agentes, por lo general, son transportados por la semilla (Neergaard, 1979). No obstante, la efectividad del transporte de patógenos y la transmisión de enfermedades por la semilla dependen de una serie de factores bióticos y abióticos (De Tempe, 1961).

Aparte de los perjuicios relacionados con acondicionamiento y uso de la semilla, la baja calidad sanitaria puede indirectamente llevar al incremento en el uso de agroquímicos (fungicidas, insecticidas), caída de la producción y finalmente la obtención de semillas de más baja calidad (Machado, 2010).

La patología de semilla sienta sus bases en los principios de la fitopatología, tecnología y fisiología. Esta ciencia, ha contribuido con la producción agrícola a través del desarrollo de métodos y estrategias de detección de patógenos, con la invención de tecnologías de manejo y tratamientos a la semilla (químico, físico, biológico), con modelos para el establecimiento de niveles de tolerancia para patógenos de alto riesgo asociados a la semilla, mediante el entrenamiento y actualización de conocimientos del personal técnico adscrito a laboratorios que regulan el uso de semilla nacional e importada y con la promoción del trabajo integrado por áreas afines a la producción, tecnología y control de calidad, ratificando lo señalado por Neergaard & Marthur (1980), citado por Pacheco (1988), sobre la actuación multidisciplinaria de la patología de semillas.

SANIDAD DE LA SEMILLA DE SOYA Y SU RELACIÓN CON EL POTENCIAL FISIOLÓGICO

La semilla puede albergar y transportar microorganismos de los diferentes grupos taxonómicos, patogénicos o no, siendo los métodos de detección unas de las herramientas más importantes para el manejo fitosanitarios de enfermedades del cultivo (Barrocas, 2010). Los análisis de sanidad de semillas tienen como objetivo determinar la condición sanitaria de un lote para proporcionar información a programas de certificación, servicios de vigilancia vegetal, evaluación de eficacia de tratamientos a la semilla, programas de mejoramiento de plantas, entre otros (Machado, 2000).

El efecto de los patógenos sobre la calidad es variable y puede expresarse durante la germinación o una vez establecido el cultivo en campo. También el nivel de inóculo del potencial patógeno y su ubicación en la semilla determinan el tipo de daño (Machado *et al.*, 2004).

La fase crítica en la producción de semillas de soya es el almacenamiento, el cual se debe realizar bajo condiciones óptimas de temperatura y humedad relativa, caso contrario, se corre el riesgo de la pérdida del potencial fisiológico antes de su utilización. Aunado a esto, hay una relación directa entre el contenido de humedad de la semilla y la tasa de deterioro, la aptitud para el almacenamiento, susceptibilidad al daño mecánico, nivel de infección por insectos y ataque de hongos (ISTA, 2004). La pérdida del poder germinativo y vigor, compromete el desempeño del cultivo en campo (Pereira, 1994).

Todos los patógenos causantes de enfermedades importantes en la soya, a excepción de *Phakopsora pachirrizi*, agente causal de la roya, mantienen asociación con la semilla. Como patógenos de campo están identificados *Phomopsis* spp., *Cercospora* sp., *Colletotricum* sp., *Fusarium* spp., principalmente; y *Aspergillus* spp., que provoca deterioro de la semilla en almacén.

Phomopsis sp., y Cercospora sp., están señalados también como patógenos causantes de daños durante la germinación de la semilla (Figura. 1). Según Neto y West (1989), existe una correlación negativa entre la incidencia de Phomopsis spp., y la germinación de la semilla de soya, es decir, que en la medida que se incrementa la frecuencia de este hongo asociado a la semilla, se reduce su poder germinativo. Este efecto negativo ya había sido constatado por Henning y Neto (1980), estudiando la viabilidad de semillas de soya con alta incidencia de Phomopsis sp., encontrándose en tejidos más internos al tegumento de la semilla, señalándolo como el principal responsable por los bajos porcentajes de germinación durante el periodo de incubación en las pruebas de germinación 'in vitro'. Este patógeno causa pudrición de las semillas cuando los niveles de infección son muy altos (Figura 1), tornando el análisis sanitario inviable, lo cual ubica a Phomopsis sojae como patógeno causante del deterioro de la calidad fisiológica de la semilla (Pereira y Cassetari, 1987); además de ser el agente causal de la enfermedad conocida como tizón del tallo y la vaina, de importancia en el cultivo de soya en todo el continente americano.



Figura 1. Desarrollo de patógenos en semillas de soya. A. *Phomopsis* sp. B. Cercospora kikuchii. (Fotos: P. Querales)

Cercospora kikuchii también es un patógeno de importancia en el cultivo de la soya, se transmite por semilla, penetra por la región hilar, afecta su germinación y el desarrollo de plántulas, causando infección en follaje y frutos (Díaz, 1966). En la actualidad continua siendo uno de los patógenos más frecuentes en la mayoría de los análisis de sanidad realizados en laboratorio nacionales.

Fusarium spp., representan otras especies comúnmente asociadas a la semilla de soya, entre las cuales se encuentra F. solani responsables de la enfermedad mundialmente conocida como es el síndrome de muerte súbita de la soya; además de causar infecciones tardías, la planta puede producir vainas con pocas semillas o de menor tamaño (Westphal et al., 2008).

CONDICIONES AMBIENTALES QUE AFECTAN LA CALIDAD FISIOLÓGICA Y SANITARIA DE LA SEMILLA DE SOYA EN LAS DIFERENTES FASES DE PRODUCCIÓN

La calidad de las semillas es altamente influenciada por las condiciones climáticas bajo las cuales hayan sido producidas y almacenadas principalmente porque pueden variar de un año a otro, de una región a otra, como también de una época de siembra para otra (Pereira, 1997).

Cerovich y Miranda (2004), señalan que factores bióticos como insectos y microorganismos (hongos y bacterias), pueden ocasionar serios problemas al valor agrícola y comercial de la semilla cuando se encuentran asociados a estas, debido a que, por lo general, sus ciclos reproductivos están muy vinculados con la humedad relativa y la temperatura del almacén, condiciones que en países tropicales siempre son altas y continuas, lo cual favorece su presencia y la actividad metabólica que causa el deterioro de la semilla. Al respecto, Adebisi et al. (2004) encontraron que dicho deterioro y la eventual sobrevivencia en condiciones de almacén, es dependiente de la calidad inicial de la semilla de soya, además infieren que existen otras causas del rápido deterioro; por ejemplo, la actividad microbiana, causando reducción en el porcentaje de germinación después de tres a cuatro meses de almacenamiento, sugiriendo para las condiciones de clima tropical, un máximo de dos meses como periodo óptimo para almacenar semillas de soya, manteniendo su potencial fisiológico.

La humedad relativa y temperaturas están ligados a la acción sobre los procesos metabólicos y deben ser considerados en conjunto cuando se evalúa la viabilidad de las semillas durante el almacenamiento (Dhingra, 1985, Doria, 2010). Igualmente, cuando se analizan los factores que inciden en el deterioro de la semilla por causas bióticas durante esta fase de acondicionamiento, es de esperarse que altos contenidos de humedad en la misma, estimulen la respiración microbial, lo cual trae como consecuencia la descomposición de parte de las reservas seminales y provoquen un calentamiento perjudicial a la semilla (Doria, 2010). En general, la condición de la semilla como reservorio de patógenos de la planta va a depender de factores bióticos y abióticos y la efectividad de transporte y transmisión aumentan en la medida en que el inóculo se ubique más internamente en la semilla (Menten y Bueno, 1987).

Bizzetto y Mhomechin (1997), verificaron que temperaturas de almacenamiento en un rango de 18 – 22 °C y posterior tratamiento fungicida, prácticamente eliminaron el hongo *Phomopsis sojae* de la semilla, reflejando un aumento considerable en el número de semillas germinadas, aún cuando no alcanzaron el 80% de germinación, como valor mínimo exigido para la comercialización. En este sentido, Passos (1994), citado por Pereira *et al.* (2000), constató que altas temperaturas y humedad elevada favorecen la incidencia de hongos, especialmente *Phomopsis* spp., perjudicando la calidad de la semilla de soya. Para Mengistu *et al.* (2009), la humedad por lluvia puede incrementar la humedad relativa proveyendo un ambiente favorable para la infección del follaje por *P. longicolla*; y en consecuencia la infección de la semilla.

Por otra parte Mengistu et al. (2009) encontraron que las semillas duras de la soya son menos susceptibles a la infección por *P. longicolla*, disminuyendo su incidencia a medida que se incrementa el porcentaje de las mismas en el lote; aspecto no favorable para la producción de semillas. Caso contrario con el tamaño de las semillas normales, cuya relación es a mayor tamaño de la semilla mayor la infección por *P. longicolla*. Al respecto, Pacheco (1988) enfatiza sobre la importancia de las infecciones en semillas leguminosas incluyendo la soya, debido a la característica del embrión expuesto, dado por su tamaño.

Cercospora kikuchii se transmite por semilla y bajo condiciones favorables de temperaturas (24 - 30°C) y alta humedad relativa, puede llegar a afectar el embrión o fijarse en los cotiledones y afectar posteriormente el desarrollo de la plántula, en la cual, los síntomas serán más severos en la medida que aumente la humedad relativa (Díaz, 1966). Este hongo se ha mantenido como uno de los patógenos del cultivo soya más frecuente en las semillas y granos cosechados en territorio nacional.

LA SEMILLA COMO VEHÍCULO DE DISEMINACIÓN DE PATÓGENOS DEL CULTIVO DE SOYA

La detección precoz de microorganismos patógenos representa una de las herramientas más útiles en el manejo fitosanitario de los cultivos. Esto puede ser posible a través de los análisis sanitario de semillas, pues pueden indicar no solamente la presencia de un patógeno importante, también el nivel de inóculo que alberga la semilla. De esta manera, se puede evitar la entrada de patógenos en áreas donde no están presente, o bien, la diseminación hacia áreas adyacentes, además de facilitar la aplicación del tratamiento apropiado a lotes de semillas infectados (Barrocas y Machado, 2010).

Esa condición de agente diseminador de microorganismos fitopatógenos la cumple la semilla eficientemente transportándolos a cortas y largas distancias, favoreciendo una distribución homogénea en campos cultivados. A diferencia de la etapa saprofita que pueden cumplir agentes infecciosos en restos de cultivo y en el suelo, habitando la semilla tienen la posibilidad de preservar por más tiempo su capacidad patogénica. De igual manera, ese contacto íntimo del patógeno con la semilla facilita la infección y colonización de tejidos de la planta. Aunado a que,

la composición de la semilla la convierte en un excelente sustrato por el contenido de nutrientes y fuente de energía que los patógenos pueden aprovechar (Menten y Bueno, 1987).

Apenas el 18% de los virus fitopatógenos ya descritos son trasmitidos por semillas, pudiendo infectar el tegumento o el embrión (Barrocas y Machado, 2010); sin embargo, Koenning (2005) asegura que la transmisión del virus SMV (Soybean Mosaic Virus), a través de la semilla puede llegar al 30 % y cuando se siembran semillas infectadas, los áfidos pueden diseminar la enfermedad a partir de plantas infectadas a todo el resto del cultivo. Otro virus que afecta la soya y es diseminado por la semilla es BPMV (Bean Pod Mottle Virus), causante del manchado característico en la semilla. La detección de virus en semilla botánica se dificulta porque generalmente la concentración de partículas virales es baja. Por otra parte, no siempre inducen síntomas visibles ni en las semillas sembradas ni en aquellas que se originan de estas (Barrocas y Machado, 2010). No ocurre así para el virus SMV, el cual ocasiona el síntoma conocido como mancha café en semilla de soya; pero la detección en dicho órgano es generalmente nula.

MÉTODOS DE ANÁLISIS DE SANIDAD DE SEMILLAS

Goulart (1997) define el análisis de sanidad de semillas como la detección e identificación de microorganismos patógenos asociados a estas, con el objetivo de verificar el estado sanitario de una muestra representativa del lote. Los resultados obtenidos generan una información útil para evitar la introducción de un patógeno en áreas donde no se encuentra, prevenir futuros daños debido a la ocurrencia de enfermedades en campo, selección y aplicación del tratamiento más adecuado a las semillas, comparar la calidad entre lotes, complementar las pruebas fisiológicas y tomar decisiones sobre el destino de un lote de semillas, eliminándolo cuando sea necesario debido a contaminación o infección por determinado patógeno

La selección de un método de análisis de sanidad de semillas no necesariamente debe ser el más moderno, pero si reunir características como; alta especificidad, sensibilidad, precisión, reproducibilidad, rapidez y bajo costo; las cuales deben estar correlacionadas con el tipo de asociación patógeno – semilla (Barrocas y Machado, 2010).

Se requieren métodos para identificar las diferentes especies de patógenos asociados a las semillas, que sean fiables, rápidos y de bajo costo, que hagan posible el diagnóstico de un gran número de muestras en corto tiempo (Barrocas y Machado, 2010). Por otra parte, la sensibilidad de un método de detección de microorganismos asociados a la semilla está relacionada con el tipo de asociación. En el tejido seminal, hongos, bacterias, virus, nematodos pueden ocupar diferentes estratos. Algunos incluso, pueden asociarse a la semilla formando parte de las impurezas; tales como; los hongos que forman estructuras de resistencia denominadas esclerocios, partículas virales y cuerpos de fructificación de hongos inmersos en tejidos externos de las semillas de otras especies, quistes de

nematodos adheridos a partículas de suelo entre otros. Los métodos tradicionales de análisis de semillas pueden ser con incubación y sin incubación y su utilidad va a depender del objetivo del análisis, el patógeno asociado y su ubicación. La mayoría de patógenos de importancia para el cultivo de la soya son diseminados y transmitidos por las semillas (Goulart, 1997). Aunado a ello, métodos con incubación son muy sensibles a la detección de estos patógenos, principalmente el método de papel de filtro (Blotter test) con diferentes modificaciones dependiendo del patógeno fungoso y las necesidades de inhibir la germinación de las semillas.

Las condiciones de incubación de las semillas de soya en papel filtro estimula su germinación, lo cual dificulta la evaluación de la microbiota presente; además de la ocurrencia de infecciones secundarias producto de la diseminación de contaminantes para otras semillas provocada por las raíces en crecimiento. Por esta razón, Machado (2004) señala que la inhibición de la germinación durante el periodo de incubación en el análisis sanitario de las semillas de soya es indispensable. El método comúnmente usado es la aplicación al sustrato de diclorofenoxiacetato de sodio al 0,02%, (2,4 D), el cual garantiza la muerte del embrión sin afectar la microbiota alojada en la semilla. Sin embargo, amerita un manejo cuidadoso en el laboratorio por ser un reactivo químico toxico (Guolart, 1997).

El otro método que persigue el mismo efecto es el congelamiento previo al periodo de incubación, pero la causa de deterioro de la semilla debido a la desintegración de los cotiledones motivado por el daño celular y consecuente proliferación de baterías saprófitas, lo hace un método inviable en el auxilio de evaluaciones de sanidad de soya (Machado, 1988). En este sentido, el método de restricción hídrica ideado en la Universidad Federal de Lavras – Brasil, es una alternativa para sustituir el uso de los anteriores en pruebas de análisis sanitario de semillas de soya, además de otros usos aún en estudio (Machado, 2004).

Técnicas basadas en el estudio de ácidos nucleicos representan un auxilio a los métodos convencionales, a través de los cuales se dificulta detectar microorganismos localizados en tejidos más internos. Cuando el objetivo del análisis es identificar algún patógeno que no puede ser aislado, caso los virus, o identificar especies, subespecies, razas (Barrocas y Machado, 2010), las técnicas moleculares resultan indispensables para el diagnóstico. Por otra parte, estas han facilitado estudios relacionados con la epidemiología de patógenos habitantes de la semilla, mecanismos de transmisión e influencia de factores bióticos y abióticos externos sobre la transmisión de patógenos por semilla, así como su seguimiento (Munkvold, 2009). La técnica de Multilocus Sequence Typing (MLST) es indicada por Silva (2010) como un auxilio para el diagnóstico de bacterias que se encuentran en una concentración muy baja en la semilla, además de posibilitar su identificación.

Otra técnica de utilidad para la localización de las bacterias en semillas es la de inmunohistoquímica y transformación de bacterias usando la proteína verde fluorescente (gfp gene) con el fin de determinar si las bacterias se encuentran en el embrión y desde allí, moverse a través del sistema vascular a la planta emergente (Silva, 2010). También, en la detección e identificación rápida de hongos, esta técnica puede ser de gran utilidad, casos como el género *Phomopsis* por ser un hongo que dependiendo del nivel del inóculo en la planta madre, inicialmente invade el tegumento de la semilla de soya, seguidamente coloniza los cotiledones y la plúmula y finalmente se desarrollará a través del funículo e hilum (Li, 2011).

Técnicas moleculares tales como la estrategia de PCR doble, y el análisis cualitativo y cuantitativo por PCR en tiempo real, permiten detectar eficazmente la presencia de especies productoras de micotoxinas, entre las que cuentan las especies pertenecientes al género *Fusarium*, uno de los principales grupos micotoxigénicos del reino fungi. Identificar semillas infectadas dentro de un lote sería un avance para poder preseleccionar semillas de forma no invasiva en diferentes fenotipos. Un nuevo análisis multiespectro que permita la detección no invasiva y selección de semillas con diferente calidad se encuentra entre las propuestas más promisorias (Van Der Lee, 2010).

Todas estas técnicas aplicadas al análisis de semilla marcan una etapa de evolución de la patología de semillas y resultan muy promisorias usadas en combinación con las convencionales para innovar en estrategias de detección, localización y evaluación de las consecuencias de la asociación de algún patógenos de importancia con la semilla.

ASPECTOS POR REGLAMENTAR PARA LA PRODUCCIÓN DE SEMILLAS DE CALIDAD

El establecimiento de niveles de tolerancia es una necesidad de los programas de certificación y producción comercial de semillas para garantizar la calidad sanitaria y preservar el potencial fisiológico. No obstante, requiere de estudios previos conducentes al conocimiento de las relaciones patógeno – semilla, aspectos de la epidemiología de cada enfermedad y tipo de inóculo infectivo presente en la semilla (Nunes y Machado. 2010). Desde sus inicios la patología de semillas se ha dedicado a la detección de microorganismos asociados a la semilla, emitiendo generalmente resultados de ausencia o presencia y nivel de inóculo expresado en frecuencia (%); pero no existen referencias oficiales de comparación que permitan tomar una decisión sobre el destino del lote evaluado. Estos aspectos requieren cambios para la evolución de esta ciencia y extraer mayor provecho para la productividad agrícola.

La tasa de transmisión de patógenos vía semillas también es un indicador importante para establecer niveles de tolerancia de un determinado patógeno asociado a estas, debido al riesgo que representa en la continuidad de algunos cultivos y hasta la inutilización de áreas de producción agrícola (Nunes y Machado, 2010; Pacheco, 1988). Al respecto, Pereira (2010) relata una situación ocurrida en Brasil por los años 70 cuando técnicos - investigadores alertaban a los productores de semillas de la región sur-este, el riesgo de movilizar semillas de caraota contaminada con *Sclerotinia sclerotiorum*, agente etiológico del moho blanco, para nuevas áreas agrícola del cerrado. Sus advertencias no

fueron aceptadas y en la actualidad innumerables áreas bajo riego en dicha zona fueron vedadas para la producción agrícola, debido a la presencia de este hongo. De hecho, uno de los pocos patrones de campo establecidos en la ley de sanidad vegetal de Brasil para la producción de semillas de soya es el nivel cero (0) para el hongo S. sclerotiorum.

La decisión de declarar en Brasil a S. sclerotiorum plaga no cuarentenaria reglamentada (PNQRs) para semillas de soya, al igual que otros patógenos y plagas en otros cultivos, recae sobre el Grupo Permanente en Sanidad de Semillas (GTPSS) con competencia para realizar análisis e emitir resoluciones con base en estudios técnico-científicos relacionados con los niveles máximos permitidos para cada patosistema y está refrendado por el Ministerio de Agricultura, Producción y Abastecimiento (MAPA) de Brasil, (Pereira, 2010).

Superado el trabajo previo para la definición de los indicadores de riesgo, el siguiente paso debe ser el establecimiento de los niveles de tolerancia, mediante los cuales, será posible la zonificación de índices de ocurrencia de determinados patógenos en la semilla, significando que por encima de estos, un lote infectado deben ser descartados porque las pérdidas que causaría serían inaceptables (Barrocas y Machado, 2010).

Finalmente, el establecimiento de niveles de tolerancia de patógenos es esencial para la producción de semillas de calidad en cualquier país. Dicha medida se traduce en un aumento de la productividad, reducción de los costos de producción, aunado a la reducción del impacto ambiental, pues implica menor utilización de agroquímicos.

REQUERIMIENTOS DE LEGISLACIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE SEMILLAS EN VENEZUELA

En todo país la ley de sanidad vegetal o de semillas debe estar acorde con principios internacionales para establecer controles rigurosos del proceso productivo, importación y exportación de semillas. En Venezuela los instrumentos legales vigentes sobre la materia como son, la Ley de Salud Agrícola Integral y la Ley de Semillas, deben dar mayor énfasis a los componentes de calidad. Dentro de los ilícitos leves que establece el ordenamiento venezolano no se debe sancionar la comercialización de semillas sobre las cuales no se haya establecido la aptitud sanitaria. La actualización constante de la normativa y adaptación a estándares, lineamientos y recomendaciones internacionales es lo deseable para estar en armonía y en ese sentido, aún cuando no sean idénticas si cumplan el mismo efecto.

Es preponderante el progreso hacia la estandarización de regulaciones fitosanitarias, especialmente en relación a las pruebas para análisis de sanidad y reconocer que el tratamiento tradicional aplicado a la semilla es comúnmente contra fitopatógenos y plagas que no están asociados a las semillas (Munkvold, 2009). Como ejemplo, el Mapa de Brasil elaboró las reglas y normas para análisis sanitario de semillas de acuerdo con las reglas internacionales ISTA (International Seed Testing Association).

Los análisis de sanidad de semilla son componentes importantes en el manejo de programas de certificación cuarentenaria y fitosanitaria y su importancia se ve reflejada cuando se producen semillas de calidad destinadas a plantaciones comerciales. El primer paso del análisis es un muestreo adecuado que garantice resultados correctos de la realidad sanitaria presente en el lote de semilla evaluado (Morrison, 1999).

Una legislación adecuada permite regular y orientar el necesario intercambio internacional de semillas, desarrollando esquemas de certificación, que son las normas legales para calificar las semillas asegurando su identidad genética, su pureza física, su germinación y la ausencia de malezas y de patógenos transportados por la misma, logrando obtener y ofrecer semillas de alta calidad (McDonald, 1985). A modo de ejemplo, la producción e importación de semillas en México para siembra o investigación deben cumplir con los requisitos fitosanitarios que establece la Ley Federal de Sanidad Vegetal. Entre las exigencias legales se expresa como requisito para el ingreso que la presencia de material vegetal infectado con bacterias cuarentenarias en territorio nacional debe ser notificado a las autoridades competentes (Silva, 2010).

CONSIDERACIONES FINALES

La sanidad de semillas ha sido uno de los aspectos de calidad más discutido en todo el mundo, debido al riesgo que representa para los demás atributos de calidad y en consecuencia para el establecimiento del cultivo en campo.

Investigaciones que promuevan la innovación en las metodologías para la detección de patógenos asociados y transmitidos por las semillas y que permitan dilucidar aspectos de su epidemiología, avances en el desarrollo y uso de tratamientos a las semillas son desafíos de la patología de semillas a nivel mundial.

Solo el trabajo interdisciplinario de fitopatólogos, fitomejoradores y patólogos de semilla entre otros, cristalizará la idea de todas las necesidades en el avance de la sanidad de semilla como parámetro esencial para declarar una semilla de calidad.

REFERENCIAS

- Adebisi, M.A.; I. O. Daniel; M. O. Ajala. 2004. Storage life of soybean (*Glycine max* L. Merril) seeds after seed dressing. Jour. Trop. Agric. 42(1): 3-7.
- Barrocas, E. N.; J. C. Machado. 2010. Introdução a patologia de sementes e testes convencionais de sanidade de sementes para a detecção de fungos fitopatogênicos. Em: Inovações Tecnologicas em Patologia de Sementes/Informativo ABRATES. 10(3): 74 75.
- Barrocas, E. N.; J. C. Machado. 2010. Associação e metodologia de detecção de vírus em sementes. Em: Inovações Tecnologicas em Patologia de Sementes/Informativo ABRATES. 10 (3): 76–77.

- Bizzetto, A.; M. Mhomechin. 1997. Efeito do período e da temperatura de armazenamento na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja com altos índices de *Phomopsis sojae* (Leh.). Revista Brasileira de Sementes. 19(2): 295-302.
- Cerovich, M.; F. Miranda. 2004. Almacenamiento de semillas: Estrategia básica para la seguridad alimentaria. CENIAP HOY N° 4. Enero-abril 2004. Maracay, Aragua-Venezuela. Disponible en: http://www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n4/texto/mcerovich.htm. [Consultado: 02/02/2016]
- De Tempe, J.; J. Binnerts. 1961. Introduction to methods of seed health testing. Seed Sci. & Technol. 7: 601-636.
- Dhingra, O. 1985. Prejuízos causados por microorganismos durante o armazenamento de sementes. Revista Brasileira de Sementes. 7 (1): 139-146.
- Díaz, P. C. 1966. Cercospora kekuchii en soya, nuevo patógeno en Venezuela. Agron. Tropical. 16(3): 213 221.
- Doria, J. 2010. Revisión bibliográfica. Generalidades sobre las semillas: Su producción, conservación y almacenamiento. Cultivos Tropicales. 31(1): 74-85.
- Goulart, A. C. P. 1997. Fungos em sementes de soja: detecção e importância. Dourados: EMBRAPA-CPAO. Doc. 11. 58 p.
- International Seed Testing Association. 2004. International rules for Seed Testing. Rules 2004. Seed Science Theonology. Suppl. 128 p.
- Koenning, S. 2005. Soybean Viruses. Soybean Disease Information. Note 9. Extension Plant Pathologist/North Carolina State University. Disponible en: https://www.ces.ncsu.edu/depts/pp/notes/Soybean/soy009/soy009. htm#MOSAICtarget/. [Consultado: 09/03/2016].
- Li, S. 2011. *Phomopsis* seeds decay of soybean. Soybean Molecular aspect of breeding. Dr. Aleksandra Sudaric (Ed). ISBN: 978-953-307-240-1. In: Tech. Molecular Aspect- of Breeding. Disponible en: http://www.intechopen.com/book/soybean-/ *Phomopsis* -seeds- decay- of -soybean. [Consultado: 29/10/2015].
- Machado, J.C.; R. M. Guimaraes; M. G. Viera; R. M. Souza. 2004. Use of water restriction technique in seed pathology. Seed Testing International. Suppl. 128 p.
- Machado, J. C.; J. A. De Oliveira; M. Das Graças; G.C. Vieira; M. G. Alves. 2003. Controle da germinação de sementes de soja em testes de sanidade pelo uso da restrição hídrica. Revista Brasileira de Sementes, v. 25, n. 2, p.77-81.
- Machado, J. C. 1988. Patologia de sementes: Fundamentos e aplicações. Brasilia. ESAL/FAESPE. 107 p.

- Marcos Filho, J. 2005. Fisiología de sementes de plantas cultivadas / Marcos Filho Julio Fealq. 495 p.
- Marcos Filho, J. 1998. Avaliação da qualidade de sementes de soja. In: Cämara, J. M. S. (Coord). Soja tecnologia da produção. Ed. Publique. Piracicaba, Brasil. pp. 206–243.
- McDonald, M. Jr. 1994. Seed lot potential: Viability, vigor and field performance. Seed Sci. and Techno. 22: 421-425.
- Mengistu, A.; L.Castlebury; , R. Smith;, J. Ray; N. Bellaloui. 2009. Seasonal progress of *Phomopsis longicolla* infection on soybean plant parts and its relationship to seed quality. Plant Dis. 93:1009-1018.
- Menten, J.O; J. T. Bueno. 1987. Transmisión de patógenos pelas sementes, In: Soave, J. & Wetzel, M. M. V. S. Ed. Patología de sementes. Fundação Cargill. Campinas, Brasil. pp. 161–191.
- Neergaard, P. 1979. Seed pathology. Vol. I y II. Edición revisada. Mac Millan Press Ltda. Gran Bretaña. 1025 p.
- Nunes, C. M. L.; Machado, J. C. 2010. Padrões sanitários de sementes. Aspectos epidemiológicos, taxa de transmissão e estabelecimento de níveis de tolerância. Em: Inovações Tecnologicas em Patologia de Sementes/Informativo ABRATES. 10(3): 78 p.
- Pacheco, C. C. 1988. Importancia de la patología de semillas para los programas de semillas. Conferencia en IX Congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines (ASCOLFI). pp. 20 -30.
- Pereira, E. B. C.; A. V. Pereira; A. C. e Fraga. 2000. Qualidade de sementes de cultivares precoces de soja produzidas em três épocas. Pesq. Agropec. Bras. 35(8): 1653-1662.
- Pereira, G. F. A.; J. C. Machado; R. L. Silva; S. M. A. Oliveira. 1994. Fungos de armazenamento em lotes de sementes de soja descartados no Estado de Minas Gerais na safra 1989/90. Revista Brasileira de Sementes. 16 (2): 216-219.
- Pereira G. A.C.; N. D. Cassetari 1987. Efeito do ambiente de armazenamento e tratamento químico na germinação, vigor e sanidade de sementes de soja, Glycine max (L.) Merrill, com alto índice de *Phomopsis* sp. Revista Brasileira de Sementes. 9(3): 91-102.
- Pereira, J. M. 2010. Estabelecimento de padrões sanitários de sementes no Brasil. Em: Inovações Tecnologicas em Patologia de Sementes/Informativo ABRATES. 10(3): 82-83.
- Silva, R. H. V. 2010. Metodologías actuales para la detección de bacterias asociadas a semillas. Aplicaciones en programas de certificación. Em: Inovações Tecnologicas em Patologia de Sementes/Informativo ABRATES. 10(3): 79 p.

- USDA. 2016. Safra mundial de soja. Boletins informativos, 10º levantamento USDA da safra 2015/2016. Departamento do Agronegocio DEAGRO/FIESP, Fevereiro. 2016.
- Van Deer Lee, T. 2010. Advances in methodology to detect and to investigate the relationship between fungi and seeds with a focus on molecular techniques and protein marker. En: Inovações Tecnologicas em Patologia de Sementes/Informativo ABRATES. 10(3): 80-81.
- Westphal, A.; T. S. Abney; L. J. Xing; G.E. Shaner. 2008. Síndrome de la muerte súbita de la soja. Trans. Silvina L. Giammaria 2008. The Plant Health Instructor. APS.