
ARTÍCULO CIENTÍFICO

Población fungosa asociada al proceso germinativo de semillas almacenadas de *Leucaena leucocephala* cv. Perú

Fungal population associated to the germination process of stored seeds of Leucaena leucocephala cv. Peru

J. C. Lezcano, O. Alonso y Marlen Navarro

Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey,
Universidad de Matanzas, Ministerio de Educación Superior
Central España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba
Correo electrónico: lezcano@ihatuey.cu

RESUMEN: El objetivo de esta investigación fue identificar los hongos asociados a semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Perú almacenadas, durante la prueba de germinación. Para ello se realizó un análisis micológico a simientes con 6 y 18 meses de almacenadas (400 en cada caso, en cuatro réplicas de 100), que provenían del almacén de la finca de semillas La Rioja –perteneciente a la Empresa Pecuaria Martí (provincia Matanzas, Cuba)–. Los agentes fungosos se identificaron con la ayuda de claves taxonómicas, y los datos relacionados con el número de semillas germinadas, semillas con síntomas de enfermedad y podridas por hongos se procesaron mediante el sistema de comparación de proporciones. Se diagnosticaron 11 especies fungosas: *Penicillium expansum*; *Aspergillus flavus*, aislamientos 2, 3 y 4; *Aspergillus niger*; *Fusarium oxysporum*; *Trichoderma* sp.; *Pestalotia* sp.; *Rhizopus stolonifer*; *Cladosporium sphaerospermum* y *Aspergillus wentii*. Entre estas sobresalió la primera, con un máximo de 11,25 % de infección en las semillas de 18 meses podridas. Los principales síntomas fueron: decoloración seminal, manchas en los cotiledones y necrosis de la radícula. Se concluye que las especies de hongos halladas pertenecen a siete de los géneros más representativos, los que provienen del campo y del almacén. El agente fungoso *P. expansum* afectó en mayor cuantía a las semillas germinadas y las podridas. Solo seis de las 11 especies de hongos provocaron los principales síntomas detectados (*P. expansum*, *A. flavus* aislamiento 2, *A. niger*, *F. oxysporum*, *Trichoderma* sp. y *Pestalotia* sp.).

Palabras clave: almacenamiento de semillas, hongos, leguminosas forrajeras

ABSTRACT: The objective of this research was to identify the fungi associated to stored seeds of *Leucaena leucocephala* cv. Peru, during the germination test. For such purpose a mycological analysis was performed on seeds with 6 and 18 months of storage (400 in each case, in four replications of 100), from the storehouse of La Rioja seed farm –belonging to the Livestock Production Enterprise Martí (Matanzas province, Cuba)–. The fungal agents were identified with the aid of taxonomic keys, and the data related to the number of germinated seeds, seeds with disease symptoms and seeds rotten by fungi were processed through the system of comparison of proportions. Eleven fungal species were diagnosed: *Penicillium expansum*; *Aspergillus flavus*, isolates 2, 3 and 4; *Aspergillus niger*; *Fusarium oxysporum*; *Trichoderma* sp.; *Pestalotia* sp.; *Rhizopus stolonifer*; *Cladosporium sphaerospermum* and *Aspergillus wentii*. Among them the first one stood out, with a maximum of 11,25 % of infection in the rotten 18-month seeds. The main symptoms were: seed discoloration, spots on the cotyledons and necrosis of the radicle. It is concluded that the fungal species found belong to seven of the most representative genera, which come from the field and the storehouse. The fungal agent *P. expansum* showed the highest infection percentage in the germinated and rotten seeds. Only six of the 11 species of fungi caused the main detected symptoms (*P. expansum*, *A. flavus* isolate 2, *A. niger*, *F. oxysporum*, *Trichoderma* sp. and *Pestalotia* sp.).

Keywords: forage legumes, fungi, seed storage

INTRODUCCIÓN

Las semillas almacenadas constituyen una alternativa importante en los programas de cultivo de plantas de un país, y representan un vínculo esencial con las generaciones sucesivas. Sin embargo, como cualquier organismo vivo, pueden ser afectadas por numerosos factores, como la temperatura, la humedad, la presión de oxígeno, así como por roedores, insectos plagas y patógenos; los cuales, en estrecha interrelación, las deterioran y disminuyen su vigor y calidad (Doria, 2010).

Según Ridao (2003), la asociación de los patógenos con las semillas no solo ocasiona pérdidas directas de las poblaciones de plantas en el campo, sino también efectos irreversibles en todo un sistema agrícola. Para un gran número de enfermedades de naturaleza devastadora, la semilla representa el vehículo ideal de diseminación y perpetuación de sus agentes causales, y es donde persiste la fuente del inóculo que es capaz de infectar el nuevo cultivo que se siembre. De ahí la importancia de evaluar el factor sanidad, conjuntamente con los indicadores porcentaje de germinación, pureza y vigor, para determinar la calidad de un lote de semilla.

Sin embargo, en las semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Perú almacenadas no se han realizado estudios profundos, por lo que la información disponible sobre el tema es escasa e insuficiente en Cuba y a nivel mundial. No obstante, la literatura especializada informa que *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Doratomyces*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Macrophomina*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Chaetomium*, *Pestalotia* y *Rhizopus* representan los géneros fungos que más se asocian a dichas simientes en condiciones de almacenamiento al ambiente (Alonso *et al.*, 1996; Lezcano *et al.*, 2007).

Además, Lezcano *et al.* (2007) también detectaron diversos síntomas de enfermedad en las semillas de esta leguminosa, tales como: decoloración de las cubiertas seminales, pudrición, manchas en los cotiledones y muerte de las radículas, los que provocan la reducción significativa de su germinación y la pérdida o disminución de su viabilidad. Por ello, es necesario realizar estudios sobre la micoflora más importante asociada a estas semillas, para determinar su posible control.

El objetivo de la investigación fue identificar los principales hongos asociados a las semillas de *L. leucocephala* cv. Perú almacenadas, durante la prueba de germinación.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el laboratorio de protección de plantas de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey –Matanzas, Cuba–, y en el laboratorio de micología vegetal del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria –Mayabeque, Cuba.

Procedencia de las muestras. Las muestras, colectadas en el almacén de semillas de la finca de semillas La Rioja –perteneciente a la Empresa Pecuaria Martí, provincia Matanzas, Cuba–, fueron semillas germinadas (SG) y podridas (SP) de *L. leucocephala* cv. Perú, con 6 y 18 meses de almacenadas al ambiente, que mostraron signos de agentes fungos o síntomas de sus enfermedades; estos fueron detectados durante la prueba de germinación.

Prueba de germinación y procedimiento para la identificación de los hongos. La prueba de germinación se realizó según las recomendaciones del ISTA (1999) para las arbóreas tropicales, y los conteos de germinación se efectuaron cada tres días. Se empleó un diseño completamente aleatorizado; los tratamientos estuvieron representados por los tiempos de almacenamiento, y para cada uno se emplearon 400 semillas (100 por réplica). Estas se distribuyeron en cuatro cápsulas Petri de cristal –estériles, de 15 cm de diámetro– que contenían dos láminas de papel de filtro –también estériles– que fueron utilizadas como sustrato inerte, y otras dos usadas para su tapado, a las cuales no se les aplicó ningún tratamiento. Durante el experimento (21 días), las cápsulas se mantuvieron en incubación, en condiciones controladas de luz (plena oscuridad) y temperatura (25 °C como promedio).

Las semillas que mostraron signos de hongos o síntomas de enfermedades fueron retiradas. Entonces se procedió al aislamiento del agente causal (con la ayuda de agujas previamente desinfectadas, y de un microscopio estereoscopio Zeiss SV-6 –lentes oculares desde 10 hasta 100 x–), a la obtención de los cultivos puros y, finalmente, a su correspondiente identificación hasta el nivel de género y/o especie, según Martínez *et al.* (1992) e ISTA (1999).

Las claves utilizadas para la identificación de los hongos, según los caracteres culturales y morfológicos, fueron las propuestas por: Raper y Fennell (1965), Onions (1966a, 1966b, 1966c), Booth (1969), Rifai (1969), Ellis (1971), Lunn (1977), Sutton (1980), Barnett y Hunter (1999), Ho *et al.* (1999) y López (2003).

Mediciones. Se calculó el porcentaje de infección causada por hongos en las SG y las SP con 6 y 18 meses de almacenadas; para ello se tuvo en cuenta el total de SG y SP en cada tiempo de almacenamiento (284 y 104 para las de 6 meses; 19 y 122 para las de 18 meses). Asimismo, se midió el número de semillas germinadas con síntomas de enfermedades fungosas o signos de estos agentes (SGCSE) y el número de semillas podridas por hongos (SP).

Análisis estadístico. Los datos relacionados con la infección de los agentes fungosos en las semillas durante la germinación se procesaron mediante el sistema de comparación de proporciones –versión 2.1– (CENSA, 1998).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las semillas de *L. leucocephala* cv. Perú con 6 y 18 meses de almacenadas al ambiente se identificaron 11 agentes fungosos, que pertenecen a los géneros: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Pestalotia*, *Cladosporium* y *Trichoderma*.

En la tabla 1 se muestra la micoflora asociada a las semillas con 6 meses de almacenadas. Los hongos *Penicillium expansum* Link y *Aspergillus niger* van Tieghem fueron los que más infectaron las SGCSE; aunque el porcentaje de infección de *Aspergillus flavus* aislamiento (aisl.) 2 no difirió de estos dos agentes fungosos. En el caso de las SP, *P. expansum* también originó la mayor afectación, y la diferencia estadística fue superior respecto a los restantes hongos.

Es importante señalar que la infección en las SGCSE fue superior, debido a la existencia de una mayor cantidad de tejido vegetal susceptible (cubiertas seminales, hojas cotiledonales y radículas) que estuvo expuesto a la acción de los hongos (fig. 1a); mientras que en las SP, la infección solo se localizó en aquellas que no germinaron o en su cubierta (fig. 1b). Por otra parte, los valores de pudrición seminal no sobrepasaron el 6 % de infección, lo que confirmó, además, la escasa afectación que produjeron los hongos.

Tabla 1. Infección fungosa en semillas de *L. leucocephala* cv. Perú con 6 meses de almacenadas.

Hongo	SGCSE (%)	SP (%)
<i>P. expansum</i>	5,60 ^a	5,27 ^a
<i>A. niger</i>	5,60 ^a	–
<i>A. flavus</i> aisl. 2	4,93 ^{ab}	0,53 ^c
<i>F. oxysporum</i> Schldtl	3,52 ^b	1,58 ^b
<i>R. stolonifer</i> Ehrenb. ex Fr.	3,52 ^b	–
<i>Pestalotia</i> sp.	1,05 ^c	–
<i>Trichoderma</i> sp.	1,05 ^c	0,53 ^c
<i>A. flavus</i> aisl. 3	–	1,05 ^{bc}
<i>C. sphaerospermum</i> Penz	–	2,63 ^b
EE ±	0,01	0,08

Letras desiguales en las columnas difieren a $p \leq 0,001$.

SGCSE: semillas germinadas con signos de hongos y síntomas de sus enfermedades, SP: semillas podridas por hongos.

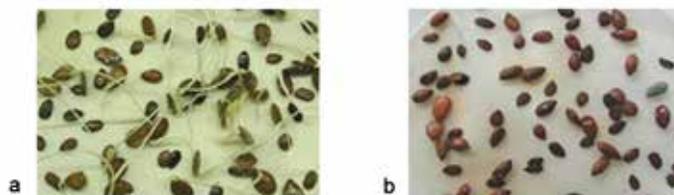


Figura 1. Semillas germinadas con síntomas de enfermedad (a) y semillas podridas de 6 meses almacenadas (b).

En cuanto a la población fungosa asociada a las semillas de *L. leucocephala* cv. Perú con 18 meses de almacenadas (tabla 2), el hongo *P. expansum* causó el porcentaje de infección más significativo tanto en las SGCSE como en las SP, y difirió estadísticamente del resto de los agentes fungosos. Además, la mayor afectación fungosa ocurrió en las SP (fig. 2), con presencia de una mayor cantidad de especies; entre ellas sobresalieron *Aspergillus flavus* aisl. 4 y *Aspergillus wentii* Wehmer, que no fueron informadas con anterioridad en las SGCSE ni en las semillas con 6 meses de almacenadas.



Figura 2. Semillas podridas de 18 meses de almacenamiento.

El aumento de la micoflora presente en las SP (tabla 2) demostró que la infección se incrementó con el transcurso del tiempo de almacenamiento,

ya que se observó una mayor multiplicación, reproducción y desarrollo de las siguientes especies: *P. expansum*, *A. flavus* aisl. 2, *A. flavus* aisl. 3, *Rhizopus stolonifer*, *Cladosporium sphaerospermum* y *Trichoderma* sp., lo que favoreció el deterioro acelerado y la muerte de las semillas infectadas.

Según Schmidt (2000), los hongos que pertenecen a los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* constituyen los principales agentes que afectan a las semillas ortodoxas en condiciones de almacenamiento; en esta categoría se agrupan las simientes del género *Leucaena*. Soetrismo (2003) señaló que, junto con las especies de *Rhizopus*, esta es la micoflora más común en las semillas almacenadas, particularmente en las de *L. leucocephala*. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Sahu y Agarwal (2004), quienes informaron para esta leguminosa, además, la presencia de las especies: *A. flavus*, *A. niger*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Apiospora montagnei*, *Arthriniium euphorbiae*, *Aspergillus fumigatus*, *Curvularia clavata*, *Curvularia lunata* [*Cochliobolus lunatus*], *Fusarium* sp., *Fusarium pallidoroseum* (syn. *Fusarium semitectum*), *Paecilomyces variotii*, *Penicillium chrysogenum* y *Phoma* sp.

Otro aspecto importante fue el considerable aumento de la concentración de solutos lixivados en las semillas podridas con 18 meses de almacenadas, debido al daño causado por los microorganismos a los tejidos y, particularmente, a la membrana celular; el cual fue más evidente en las semillas

Tabla 2. Infección causada por los hongos asociados a las semillas con 18 meses de almacenadas.

Agente fungoso	SGCSE (%)	SP (%)
<i>P. expansum</i>	3,25 ^a	11,25 ^a
<i>A. flavus</i> aisl. 2	1,75 ^b	2,75 ^b
<i>A. flavus</i> aisl. 4	–	2,25 ^{bc}
<i>A. flavus</i> aisl. 3	–	1,75 ^c
<i>A. niger</i>	1,75 ^b	1,75 ^c
<i>Rhizopus stolonifer</i>	–	3,75 ^b
<i>C. sphaerospermum</i>	–	2,75 ^b
<i>F. oxysporum</i>	1,25 ^b	1,25 ^{cd}
<i>A. wentii</i>	–	0,50 ^d
<i>Trichoderma</i> sp.	0,50 ^c	1,50 ^{cd}
EE ±	0,02	0,03

Letras desiguales en las columnas difieren a $p \leq 0,001$. SGCSE: semillas germinadas con signos de hongos y síntomas de sus enfermedades, SP: semillas podridas por hongos.

afectadas por *Aspergillus* (*A. flavus*), *Penicillium*, *Cladosporium* y *Fusarium*. Según Halloin (1986), por lo general este daño es consecuencia directa o indirecta de la presencia de enzimas extracelulares de los microorganismos (celulasas, pectinasas, lipasas, proteasas y nucleasas) y sus toxinas, las que también son responsables de la inhibición del crecimiento normal de las plántulas en numerosos cultivos (Howlett, 2006). Además, Latiffah *et al.* (2014) señalan que el establecimiento de los hongos en las semillas perturba su actividad metabólica, y los tejidos nutritivos son consumidos por los microorganismos fúngicos, lo que provoca que disminuya la viabilidad. Asimismo, en las simientes se puede apreciar decoloración seminal y pérdida de la capacidad de germinación (FAO, 2010).

Sin lugar a dudas, las especies que se identificaron representan la micoflora más importante asociada a las semillas de *L. leucocephala*, lo que coincide con lo informado por Alonso *et al.* (1996).

En el caso específico de la infección por *Fusarium*, se confirmó lo informado por Borges y Urdaneta (2010), respecto a que este agente reduce la germinación y ocasiona la pudrición y muerte de las plántulas. Tales resultados coinciden con lo reportado por Gally *et al.* (2006) acerca de que *Fusarium* spp. y *Phomopsis* spp. incrementan el número de semillas muertas y afectan la emergencia de las plántulas de soja (*Glycine max* L.).

Existen diversos informes sobre la incidencia de *P. expansum*, *A. flavus*, *A. niger*, *R. stolonifer* y *Fusarium oxysporum* asociados a semillas de numerosas especies de plantas a nivel mundial, tales como: *Moringa oleifera* Lamarck, *Jatropha curcas*, *Vigna unguiculata* L. Walp., *Cajanus cajan* L., *Phaseolus vulgaris* L., *Arachis hipogea* L., *G. max* y *Zea mays* (Jayaraman *et al.*, 2011; Rathod *et al.*, 2012; Costa *et al.*, 2013; Ghangaokar y Kshirsagar, 2013; Martínez *et al.*, 2013; Martínez *et al.*, 2014; Rajuskar y Taware, 2014).

Es importante destacar que existió una estrecha relación entre los síntomas de las enfermedades y la micoflora, ya que se constató la vinculación casi directa de la decoloración seminal con la incidencia de *P. expansum*, *A. niger*, *Pestalotia* sp., *Trichoderma* sp., *A. flavus* aisl. 2 y *F. oxysporum*; así como la presencia de manchas en los cotiledones y la necrosis de las radículas causadas por *A. flavus* aisl. 2 y *F. oxysporum*. A partir del diagnóstico patológico realizado, estas especies fungosas se pueden considerar como patógenos que afectan a las semillas de la leguminosa evaluada.

Por otra parte, aunque *P. expansum* y *A. niger* (fig. 3) produjeron decoloración de las cubiertas seminales, también pueden provocar la pudrición de las semillas germinadas y su muerte, por lo que se reduciría la germinación y la emergencia de plántulas. Esto coincide con lo informado por Sadhu (2014) para *A. niger*, en simientes y plántulas de *Vigna radiata* L.



Figura 3. Semilla podrida de *L. leucocephala* cv. Perú de 18 meses de almacenada por la infestación de *A. niger*.

En la literatura relacionada con *L. leucocephala* cv. Perú no se ha hallado información acerca de los efectos negativos que ejercen los agentes fungosos antes mencionados, ni sobre el proceso germinativo. Sin embargo, se señala que durante el almacenamiento las especies de *Aspergillus* y *Penicillium* provocan el deterioro acelerado de las semillas, a través de su calentamiento, la pérdida de sus propiedades nutritivas, la producción de toxinas, la pudrición y la pérdida de la viabilidad (Anon, 2010).

Asimismo, se informa que en el almacén los hongos que pertenecen a estos dos géneros representan la micoflora más común y causan las mayores infecciones en las simientes (Amaral y Lemos, 2009), aspecto que se corroboró en las semillas de *L. leucocephala* en la presente investigación.

La menor incidencia que ejerció *F. oxysporum* en las semillas almacenadas es característica de los hongos de campo, los que muestran su supremacía en esas condiciones (temperatura y humedad relativa altas).

CONCLUSIONES

Las 11 especies fungosas halladas durante la germinación de las semillas de *L. leucocephala* cv. Perú pertenecen a siete géneros representativos de

los hongos provenientes del campo y del almacén: *Fusarium*, *Pestalotia*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Trichoderma* y *Aspergillus*.

El hongo que más infectó las semillas de ambas edades de almacenamiento (germinadas y podridas) fue *P. expansum*, el que alcanzó su máxima expresión en las putrefacciones de 18 meses.

Los principales síntomas que aparecieron en las simientes fueron: la decoloración (causada por *P. expansum*, *A. niger*, *Pestalotia* sp., *Trichoderma* sp., *A. flavus* aisl. 2 y *F. oxysporum*), las manchas en los cotiledones y la necrosis de la radícula (ocasionadas por *A. flavus* aisl. 2 y *F. oxysporum*).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso, O.; Delgado, A. & Sánchez, Saray. Hongos asociados a las semillas de una leguminosa tropical (*Leucaena leucocephala* cv. Perú). *Pastos y Forrajes*. 19 (2):161-168, 1996.
- Amaral, F. & Lemos, N. O potencial de almacenamiento de cada semente. *Seed news*. XIII (4), 2009. http://www.seednews.inf.br/_html/site/content/reportagem_capa/index.php?edicao=16. [02/01/2014].
- Anon. Hongos de granos almacenados. En: *Almacenaje y conservación de granos*. Santiago de Chile: Cia. Molinera El Globo S.A. p. 15-17, 2010.
- Barnett, H. L. & Hunter, B. B. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4th ed. St Paul. Pilot Knob Rodal, Minnesota: The American Phytopathological Society. 1999.
- Booth, C. *Fusarium oxysporum*. In: *Descriptions of pathogenic fungi and bacteria*. Kew, England: Commonwealth Mycological Institute. No. 211, 1969.
- Borges, J. A. & Urdaneta, July. Efecto de *Fusarium* sp. en la germinación, fenología y supervivencia de plántulas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. *Agronomía Tropical*. 60 (2):155-160, 2010.
- CENSA. *Sistema de comparación de proporción. Sistema SAS. System for Windows*. Versión 2.1. La Habana: Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, 1998.
- Costa, D. S. da; Bonnasa, Nathalie & Novembre, Ana D. da L. C. Incidência de fungos de armazenamento e hidrocondicionamento de sementes de soja. *J. Seed Sci.* 35 (1):35-41, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S2317-15372013000100005>. [15/11/2013].
- Doria, Jessica. Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*. 31 (1):74-85, 2010.
- Ellis, M. B. *Demateaceous Hyphomycetes*. Kew, England: Commonwealth Mycological Institute, 1971.
- FAO. *Seed in emergencies: a technical handbook*. Rome: FAO Plant Production and Protection 202, 2010.
- Gally, Teresa; González, Beatriz A. & Pantuso, F. Efecto conjunto de *Fusarium* sp. y *Phomopsis* sp., patógenos transmitidos por las semillas en plántulas de soja [*Glycine max*(L.) Merrill]. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 24 (2):156-158, 2006.
- Ghangaokar, Narayan M. & Kshirsagar, Ayodhya D. Study of seed borne fungi of different legumes. *Trends in Life Sciences*. 2 (1):32-35, 2013.
- Halloin, J. M. Microorganisms and seed deterioration. In: M. B. Mc Donald, Jr. and C. I. Nelson, eds. *Physiology of seed deterioration*. Madison: Crops Science Society of America. p. 89-97, 1986.
- Ho, M. H.-M, Castañeda, R. F.; Dugan, F. M. & Jong, S. C. *Cladosporium sphaerospermum*. In: *Cladosporium and Cladophialophora in culture: descriptions and an expanded key*. *Mycotaxon*. 72:115-157, 1999.
- Howlett, B. J. Secondary metabolite toxins and nutrition of plant pathogenic fungi. *Curr. Opin. Plant Biol.* 9 (4):371-375, 2006.
- ISTA. International rules for seed testing. *Seed Science and Technology*. 27 (supl.):1-333, 1999.
- Jayaraman, P.; NesaPriya, S.; Parameshwari, S.; Shyamala, S.; Jawahar, N. & Sekar, H. Occurrence of storage fungi in jatropha (*Jatropha curcas* L.) seeds. *African Journal of Microbiology Research*. 5 (5):475-480, 2011.
- Latiffah, Z., Khai, W. & Yee, L. Diversity of fungi isolated from vegetable seeds. *Malaysian Journal of Microbiology*. 10 (3):155-160, 2014.
- Lezcano, J. C.; Navarro, Marlen; González, Yolanda & Alonso, O. Determinación de la calidad de las semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Perú almacenadas al ambiente. *Pastos y Forrajes*. 30 (1):107-118, 2007.
- López, Danay. *Contribución al diagnóstico de las especies del género Fusarium Link*. Tesis presentada en opción al título académico de Maestro en Ciencias en Sanidad Vegetal. Mención Fitopatología. Universidad Agraria de La Habana, 2003.
- Lunn, J. *Rhizopus stolonifer*. In: *Descriptions of pathogenic fungi and bacteria*. Kew, England: Commonwealth Mycological Institute. No. 524, 1977.
- Martínez, B.; Fonet, Elena & Bravo, Nancy. *Técnicas generales de micología vegetal*. San José de las Lajas, Cuba: Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, 1992.
- Martínez, E.; Cantillo Taimy & García, D. Micobiota asociada a lotes importados de semillas de mo-

- ringa (*Moringa oleifera*). *Fitosanidad*. 17 (3):125-129, 2013.
- Martínez, E.; Cantillo, Taimy & García, D. Hongos asociados a semillas de *Phaseolus vulgaris* L. cultivadas en Cuba. *Biotecnología vegetal*. 14 (2):99-105, 2014.
- Onions, A. H. S. *Aspergillus flavus*. In: *Descriptions of pathogenic fungi and bacteria*. Kew, England: Commonwealth Mycological Institute. No. 1, 1966a.
- Onions, A. H. S. *Aspergillus niger*. In: *Descriptions of pathogenic fungi and bacteria*. Kew, England: Commonwealth Mycological Institute. No. 94, 1966b.
- Onions, A. H. S. *Penicillium expansum*. In: *Descriptions of pathogenic fungi and bacteria*. Kew, England: Commonwealth Mycological Institute. No. 97, 1966c.
- Rajuskar, S. K. & Taware, A. S. Distribution of post-harvest mycoflora on some cereal grains. *Online Int. Interdiscipl. Res. J.* IV (V):138-144, 2014. <http://www.oijrj.org/oijrj/sept-oct2014/19.pdf>.
- Raper, K. B. & Fennell, D. I. Key of the genus *Aspergillus*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1965.
- Rathod, L. R.; Jadhav, M. D.; Mane, S. K.; Muley, S. M. & Deshmukh, P. S. Seed borne mycoflora of legume seeds. *Int. J. Adv. Biotechnol. Res.* 3 (1):530-532, 2012.
- Ridao, Azusena. *Patología e importancia epidemiológica de las semillas en el desarrollo de enfermedades de la soja*. Argentina: Facultad de Ciencias Agrarias-UNMDP-INTA., 2003.
- Rifai, M.A. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Paper*. 116:1, 1969.
- Sadhu, K. A. Seed-borne and their effect on seed health of green gram. *Bioscience Disc.* 5 (2):251-255, 2014.
- Sahu, R. K. & Agarwal, V. K. Mycoflora associated with the seeds of *Leucaena leucocephala*. *The Indian Forester*. 130 (9):1040-1044, 2004. <http://www.jnronline.com/index.php/indianforester/article/view/2117>. [12/11/2013].
- Schmidt, L. Guide to handling of tropical and subtropical forest seed. Ed. K. Olensen. Denmark: Danida Forest Seed Centre, 2000.
- Soetrismo, H. The importance of storage conditions in the management of forest tree seed diseases and damping off in Indonesia, 2003. <http://www.metla.fi/iufro/iufro95abs/d2pap89.htm>. [22/10/2013].
- Sutton, B. *Pestalotia* de Not. In: *The coleomycetes fungi imperfecti with picnidia acervuli and stromata*. Kew, England: Commonwealth Mycological Institute, 1980.

Recibido 25 de enero de 2015
Aceptado el 3 de febrero de 2015