

Un inventario fúngico de las semillas de lenteja (*Lens culinaris* Medik.) recolectadas en Castilla-La Mancha

D. DÍAZ y J. C. TELLO

Se analizaron sobre medio agarizado un total de 48 muestras de semilla de lenteja, 16 pertenecientes al Banco Regional de Leguminosas Grano de Castilla-La Mancha, y 32 recogidas en las zonas de mayor cultivo de la mencionada comunidad autónoma. Entre los hongos aislados se encuentran gran cantidad de saprófitos comunes como *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Cladosporium* o *Alternaria*, pero destacan, por su potencial patogenicidad, especies de los géneros *Botrytis*, *Phoma*, *Ascochyta* y *Fusarium*. Así, por ejemplo, *Ascochyta fabae* f.sp. *lentis* estuvo presente en casi todas las muestras recogidas a los agricultores, llegando a alcanzar valores de hasta el 55 % en alguna procedencia.

La espermatoflora de las lentejas del banco de germoplasma es, en general, similar a la del resto de muestras analizadas, aun cuando llama la atención la casi total ausencia de *A. fabae* f. sp. *lentis*.

Trabajo realizado merced a una beca doctoral del INIA, y financiado por el Servicio de Investigación Agraria de Castilla-La Mancha.

D. DÍAZ y J. C. TELLO. Centro de Investigación Agraria de Albaladejito. Ctra. Toledo-Cuenca, km 174,2. 16194 Cuenca, España. INSPV, MAPA, Ctra. La Coruña, km. 7,5. 28040 Madrid, España.

Palabras clave: Semilla, lenteja *Lens, culinaris*, micoflora, *Ascochyta fabae* f. sp. *lentis*.

INTRODUCCION

La lenteja es uno de los cultivos más extendidos en el mundo, donde la India y Turquía destacan grandemente, tanto en producción como en superficie cultivada, del resto de países. Por su parte España, ocupa el octavo o noveno lugar, según se considere un índice u otro, siendo en cualquier caso el mayor productor europeo. La distribución del cultivo en nuestro país se concentra en las dos Castillas, y sólo Castilla-La Mancha poseía el 77 % de la superficie cultivada de lenteja en 1988, con más de 52.000 ha.

El rendimiento del cultivo en España, aparte de mostrarse inestable, permanece bajo (entre los 600 y 800 kg por ha), y es similar al obtenido en los años veinte. Una

posible explicación parcial a esta realidad numérica, puede buscarse en la actuación de diversos hongos, cuya incidencia sobre la producción se desconoce, aun cuando en determinadas campañas en que las condiciones meteorológicas favorecen su desarrollo, sí dejan sentir sus efectos en forma de caídas espectaculares de la producción, a tenor de las informaciones aparecidas en los diarios de las provincias afectadas.

A pesar de su larga convivencia con el hombre, la lenteja se encuentra aún en un estado de mejora y de producción muy atrasado. Así, en Pakistán, el daño causado por diversas enfermedades en lenteja, se estima en un 20-25 % anual (BASHIR *et al.*, 1986). Los principales aspectos de la mejora de la lenteja se concretan según ERSKINE (1984) para la

región mediterránea, en el aumento del rendimiento biológico, tolerancia al jopo (*Orobanché* spp.), *Sitona* spp. y gorgojo, resistencia a los complejos de la marchitez y de la podredumbre de la raíz, consecución de atributos que faciliten la recolección y tolerancia a la sequía. Aún cuando no se menciona explícitamente, resulta evidente que la calidad de la

semilla juega un importante papel al tratar de mejorar un cultivo, teniendo un efecto directo sobre el rendimiento del mismo.

Esta importancia de la semilla en la sanidad del cultivo, puede hacerse aún más evidente observando la lista de hongos encontrados previamente por distintos autores en semillas de lenteja (Cuadro 1).

Cuadro 1.—Micoflora de las semillas de lenteja según diversos autores

Género y/o especie de hongo	Autores
<i>Alternaria alternata</i>	KHAN <i>et al.</i> , 1985 KHARE, 1981 SUMAR y HOWARD, 1983 VISHUNAVAT y SHUKLA, 1980, 1982, 1984
<i>Alternaria humicola</i>	PARVEEN y PRAKASH, 1981
<i>Alternaria tenuissima</i>	BHALLA <i>et al.</i> , 1984 VISHUNAVAT y SHUKLA, 1980
<i>Alternaria</i> spp.	BHALLA <i>et al.</i> , 1984 KAISER y HANNAN, 1986 MORRALL y BEAUCHAMP, 1988 SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Ascochyta lentis</i>	BEAUCHAMP y MORRALL, 1985 BEAUCHAMP <i>et al.</i> , 1986 CROMEY <i>et al.</i> , 1987 DAVATZI-HELENA, 1980 DIEKMANN y ASAAD, 1989 GOSSEN y MORRALL, 1984, 1986 GUERRERO, 1987 KAISER y HANNAN, 1984, 1986, 1987 KAISER <i>et al.</i> , 1989 KHAN <i>et al.</i> , 1985 MITIDIERI, 1974 MORRALL y BEAUCHAMP, 1984, 1988 MORRALL y GOSSEN, 1979, 1981 MORRALL y SHEPPARD, 1981 MORRALL, 1980, 1987, 1988b MORRALL, <i>et al.</i> , 1986 RUSSELL, <i>et al.</i> , 1987
<i>Ascochyta pisi</i>	KAISER y HANNAN, 1986 MORRALL y BEAUCHAMP, 1988
<i>Ascochyta</i> sp.	BHALLA <i>et al.</i> , 1984
<i>Aspergillus flavus</i>	KHARE, 1981 VISHUNAVAT y SHUKLA, 1980, 1984
<i>Aspergillus fumigatus</i>	VISHUNAVAT y SHUKLA, 1984
<i>Aspergillus niger</i>	KHARE, 1981 VISHUNAVAT y SHUKLA, 1980, 1984
<i>Aspergillus ochraceus</i>	KHARE, 1981
<i>Aspergillus sydowi</i>	VISHUNAVAT y SHUKLA, 1984
<i>Aspergillus terreus</i>	VISHUNAVAT y SHUKLA, 1984

Cuadro 1 (Continuación).—Micoflora de las semillas de lenteja según diversos autores

Género y/o especie de hongo	Autores
<i>Aspergillus wentii</i>	SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Aspergillus</i> spp.	KAISER y HANNAN, 1986 MONDAL <i>et al.</i> , 1985 SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Aureobasidium pullulans</i>	BHALLA <i>et al.</i> , 1984
<i>Botrytis cinerea</i>	KHARE, 1981 KAISER y HANNAN, 1986 PRASAD y CHAUDHARY, 1987 SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Botrytis</i> spp.	MORRALL y BEAUCHAMP, 1988 RICHARDSON, 1979
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	BHALLA <i>et al.</i> , 1984 SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Cladosporium oxysporum</i>	PARVEEN y PRAKASH, 1981
<i>Cladosporium</i> spp.	KAISER y HANNAN, 1986 MORRALL y BEAUCHAMP, 1988
<i>Colletotrichum truncatum</i>	MORRALL, 1988a
<i>Curvularia lunata</i>	KHARE, 1981 PARVEEN y PRAKASH, 1981 VISHUNAVAT y SHUKLA, 1984
<i>Chaetomium</i> spp.	KAISER y HANNAN, 1986 KHARE, 1981
<i>Epicoccum purpurascens</i>	BHALLA <i>et al.</i> , 1984 SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Fulvia fulva</i>	KHARE, 1981
<i>Fusarium acuminatum</i>	BHALLA <i>et al.</i> , 1984 SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Fusarium avenaceum</i>	KAISER y HANNAN, 1986
<i>Fusarium equiseti</i>	BHALLA <i>et al.</i> , 1984 KHAN <i>et al.</i> , 1985 PARVEEN y PRAKASH, 1981 VISHUNAVAT y SHUKLA, 1980
<i>Fusarium moniliforme</i>	KHAN <i>et al.</i> , 1985 KHARE, 1981
<i>Fusarium oxysporum</i>	DIEKMANN y ASAAD, 1989 KHARE, 1981 PRASAD y CHAUDHARY, 1987 RICHARDSON, 1979 SUMAR y HOWARD, 1983 VISHUNAVAT y SHUKLA, 1980, 1984
<i>Fusarium roseum</i>	KHARE, 1981
<i>Fusarium scirpi</i>	PRASAD y CHAUDHARY, 1987
<i>Fusarium semitectum</i>	KHARE, 1981
<i>Fusarium solani</i>	DIEKMANN y ASAAD, 1989 KHARE, 1981 SHUKLA y BHARGAVA, 1977
<i>Fusarium</i> spp.	DIEKMANN y ASAAD, 1989 MORRALL y BEAUCHAMP, 1988 SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Geotrichum</i> sp.	BHALLA <i>et al.</i> , 1984
<i>Helminthosporium</i> sp.	KHARE, 1981

Cuadro 1 (Continuación).—Micoflora de las semillas de lenteja según diversos autores

Género y/o especie de hongo	Autores
<i>Macrophomina phaseolina</i>	KAISER y HANNAN, 1986 KHARE, 1981 VISHUNAVAT y SHUKLA, 1980
<i>Mucor</i> sp.	KAISER y HANNAN, 1986
<i>Mycosphaerella pinodes</i>	MORRALL y BEAUCHAMP, 1988
<i>Papulospora</i> sp.	MORRALL y BEAUCHAMP, 1988
<i>Penicillium canescens</i>	SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Penicillium lanosum</i>	SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Penicillium oxalicum</i>	VISHUNAVAT y SHUKLA, 1984
<i>Penicillium</i> spp.	BHALLA <i>et al.</i> , 1984 KAISER y HANNAN, 1986 KHARE, 1981 MONDAL <i>et al.</i> , 1985
<i>Peronospora lentis</i>	SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Phoma macrostoma</i> var. <i>macrostoma</i>	VIENNOT-BOURGIN, 1949
<i>Phoma medicaginis</i> var. <i>pinodella</i>	SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Phoma</i> spp.	KAISER y HANNAN, 1986 KHARE, 1981 SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Rhizoctonia solani</i>	KAISER y HANNAN, 1986 KHARE, 1981 PRASAD y CHAUDHARY, 1987
<i>Rhizopus arrhizus</i>	VISHUNAVAT y SHUKLA, 1982, 1984
<i>Rhizopus microsporus</i>	SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Rhizopus</i> spp.	KAISER y HANNAN, 1986 KHARE, 1981 SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Sclerotinia</i> sp.	MORRALL y BEAUCHAMP, 1988
<i>Sclerotium rolfsii</i>	KAISER y HANNAN, 1986 PRASAD y CHAUDHARY, 1987
<i>Septoria pisi</i>	BHALLA <i>et al.</i> , 1984
<i>Stachybotrys</i> sp.	KAISER y HANNAN, 1986
<i>Stemphylium</i> sp.	KAISER y HANNAN, 1986
<i>Trichurus spiralis</i>	SUMAR y HOWARD, 1983
<i>Ulocladium</i> sp.	MORRALL y BEAUCHAMP, 1988
<i>Uromyces fabae</i>	RICHARDSON, 1979

En España no se encuentran trabajos sistemáticos sobre las enfermedades que afectan a la lenteja, ni la incidencia o importancia de éstas para el cultivo. Por esta razón, y dada la extensión del cultivo en el país, el presente trabajo pretende realizar un inventario de la espermatoflora de la lenteja cultivada en Castilla-La Mancha, así como de las semillas conservadas en el Banco Regional de Leguminosas Grano (CIA de Albaladejito, Cuenca), como primer paso en el in-

tento de conocer las micosis que afectan a este cultivo en la región.

MATERIALES Y METODOS

Material estudiado

Se analizaron un total de 9.600 semillas de lenteja (*Lens culinaris* Medik.) cultivadas en la región castellano-manchega, co-

respondientes a 48 muestras. Dieciseis de éstas forman parte de la colección de lenteja conservada en el Banco Regional de Leguminosas Grano de Castilla-La Mancha, y las 32 restantes fueron recogidas, en colaboración con las Agencias del Servicio de Extensión Agraria, de las zonas de mayor producción lentejera de la región.

Las semillas analizadas en el caso de las muestras del Banco Regional de Leguminosas Grano, no son las recolectadas originalmente, sino que fueron multiplicadas al menos en una ocasión en el Centro de Investigación Agraria de Albaladejito (Cuenca).

Las localidades originales de procedencia de las semillas del banco de germoplasma, así como las del resto de las muestras, se ordenan en los Cuadros 2 y 3, respectivamente.

Técnicas de análisis y medios de cultivo

Análisis generales

Estos análisis se realizaron en placas de Petri conteniendo agar de patata glucosado (PDA) preparado en el laboratorio (ECHAN-

DI, 1971). Cada muestra se analizó según el método del Ulster (MUSKETT y MALONE, 1941), sin aplicar a las semillas ningún tratamiento de desinfección. Las placas, una vez sembradas, se dejaron incubar a temperatura ambiente entre 8 y 20 días, realizando en este tiempo lecturas periódicas, tanto de las especies presentes como del número de colonias de cada una.

La identificación de los hongos se realizó mediante la observación directa de la placa de Petri al microscopio óptico. Cuando fue necesario se realizaron preparaciones microscópicas teñidas con azul algodón (RAPILLY, 1968).

Análisis e identificación de Fusarium

De forma paralela, y con el fin de evidenciar la presencia de hongos del género *Fusarium* se realizó para cada muestra un análisis específico, empleando el método ya citado en los análisis generales, si bien en este caso se empleó un medio selectivo para *Fusarium* (KOMADA, 1975).

En el caso de la especie *Fusarium roseum* tal como es entendida por Messiaen y Cassi-

Cuadro 2.—Localidades de procedencia de las muestras almacenadas en el Banco Regional de Leguminosas Grano de Castilla-La Mancha

Código	Localidad	U.T.M.	Altitud (msnm)	Número de catálogo
P-237	Mirabueno (GU)	30TWL23	1065	NC-019810
P-239	Checa (GU)	30TXK09	1389	NC-019875
P-240	Yélamos de Arriba (GU)	30TWK19	948	NC-019947
P-241	Cogolludo (GU)	30TVL93	893	NC-020540
P-242	Povedilla (AB)	30SWH38	875	NC-024413
P-243	Gabaldón (CU)	30SWJ98	898	NC-024561
P-244	Campillo de Altobuey (CU)	30SXJ08	936	NC-024564
P-245	Mirabueno (GU)	30TWL23	1065	NC-019809
P-246	Balbacil (GU)	30TWL74	1260	NC-019819
P-247	Anuela del Pedregal (GU)	30TXL01	1283	NC-019867
P-248	Setiles (GU)	30TXL11	1256	NC-019903
P-249	Daimiel (CR)	30SVJ42	627	NC-020003
P-250	Zafrilla (CU)	30TXK15	1600	NC-024258
P-251	Valdeganga (AB)	30XSJ13	666	NC-024548
P-252	Pozorrubio (CU)	30TWK00	780	NC-024590
P-254	Armuña de Tajuña (GU)	30TVK98	712	NC-019982

Cuadro 3.-Localidades de procedencia de las muestras recogidas en las zonas productoras de lenteja en Castilla-La Mancha

Código	Localidad	U.T.M.	Fecha de siembra	Siembra anterior*	Observaciones fitopatológicas
MD1	Florida (TO)		12/88	1982	
MD2	Carril Casa Vieja (TO)	30SVJ67	11/88	1982	
MD3	Campillos (TO)	30SVJ66	11/88	1989	
MD4	Carril de Vegazo (TO)		10/88	1987	
RD1	Casa del Fiel (AB)		12/88	1983	
RD2	La Gineta (AB)	30SWJ83	12/88	1984	Roya (poca incidencia)
RD3	Minaya, Moharras (AB)	30SWJ53	12/88	1987	
RD4	Minaya (AB)	30SWJ54	12/88	1987	Roya
RD5	Minaya, Retamosa (AB)	30SWJ54	01/89	1987	
RD6	Minaya (AB)	30SWJ54	11/88	1986	
RD7	Casas de Haro (CU)	30SWJ65	11/88	1987	Roya
RD8	Casas de Haro, Hoya del Muerto (CU)	30SWJ65	11/88	1987	
VM1	Villamayor de Santiago (CU)	30SWJ09	12/88	¿?	
VM2	Camaquice (CU)		12/88	1987	
VM3	Cañada Carril (CU)	30SWK00	11/88	1985	Roya (Pomarsol Forte 80 en semilla antes de sembrar)
VM4	Camino Toledano (CU)		11/88	1987	Principios de roya
VM5	Villamayor de Santiago (CU)	30SWJ09	¿?	¿?	
SC1	La Alberca de Záncara (CU)	30SWJ47	11/88	1985	Roya
SC2	La Alberca de Záncara, Las Torres (CU)	30SWJ47	11/88	1981	
SC3	La Alberca de Záncara, La Dehesa (CU)	30SWJ47	12/88	nunca	Principios de roya
SC4	Casas de Fernando Alonso, La Veguilla (CU)	30SWJ55	11/88	1984	
OC1	Ocaña, Camino Sta. Cruz (TO)	30TVK52	12/88	nunca	Sin problemas de hongos
OC2	Ocaña, Las Chozas (TO)	30TVK52	12/88	nunca	Sin problemas de hongos
MO1	Campillo de Altbuey, Hoya de la Balsa (CU)	30SXJ08	12/88	1986	Desecación precoz «achisteo». Maneb col. 1 1/4 - Ha
MO2	Valhermoso de la Fuente (CU)	30SWJ87	01/89	1987	Calberil F o Triazazole en floración
MZ1	Membrilla, Los Parrales (CR)	30SVJ71	11/88	1978	
MZ2	Membrilla, Camino del Cristo (CR)	30SVJ71	11/88	¿?	
MZ3	Membrilla, Camino del Alberchón (CR)	30SVJ71	11/88	¿?	
MZ4	Membrilla, Las Pecheras (CR)	30SVJ71	11/88	¿?	
MG1	Tarazona de La Mancha, Casa Alcocer (AB)	30SWJ94	12/88	¿?	Roya, Topsin 150 g/100 l el 17 de mayo
MG2	Tarazona de La Mancha, Finca de la Casa Ferrer (Ab)	30SWJ94	12/88	1986	Roya, Topsin 150 g/100 l

* Año en que se sembraron lentejas por última vez en la parcela. Todas las muestras fueron cosechadas entre junio y julio de 1989.

ni o Snyder y Hansen (TOUSSOUN y NELSON, 1975), se realizó un estudio taxonómico más profundo de varios aislamientos, observando para cada uno de ellos, velocidad relativa de crecimiento, coloración y aspecto macroscópico de la colonia, morfología

de la célula esporógena, presencia o ausencia de polifíalides, microconidios y/o clamidosporas, abundancia de estas últimas, y por supuesto, morfología de los macroconidios.

La velocidad de crecimiento, así como la coloración y aspecto de la colonia se regis-

traron sobre PDA, mientras que el resto de caracteres estudiados lo fueron sobre agar hojas de clavel (CLA), incubado bajo luz ultravioleta continua a temperatura ambiente (NELSON *et al.*, 1983).

Identificación de *Ascochyta*

Con el fin de confirmar la presencia de *Ascochyta fabae* f.sp. *lentis*, se realizó un estudio más profundo de aislamientos efectuados a partir de los primeros análisis, estudiando la velocidad de crecimiento a 20 °C en placas de Petri con agar peptona-dextrosa tal como proponen en su trabajo GOSSEN *et al.*, (1986).

Una vez realizada la medición, las placas se incubaron, junto con cultivos de los mismos aislamientos en PDA, a temperatura ambiente y bajo luz fluorescente continua, con el fin de favorecer la formación de clamidosporas y/o picnidios. Cuando se observó la presencia de picnidios maduros, se realizaron preparaciones microscópicas en las que se efectuaron conteos del número de tabiques de los conidios, anotando el número de éstos con 0, 1 y 2 o más tabiques en diez campos tomados al azar de la preparación. Además, en cada una de las preparaciones se efectuó la medición de 50 conidios.

Criterios de identificación de los hongos aislados

En la determinación y encuadre taxonómico de los distintos hongos citados en el presente trabajo, así como en el vocabulario empleado, se han tenido en cuenta diversas obras generales citadas en la bibliografía. En los análisis generales se siguió básicamente la obra de BARNETT y HUNTER (1972). En la taxonomía de *Fusarium* se atendieron los criterios de MESSIAEN y CASSINI (1968), BOOTH (1971) y NELSON *et al.*, (1983). Para la determinación del género *Ascochyta*, además de GOSSEN *et al.*, (1986), se tomó en cuenta el trabajo de BOE-

REMA y DORENBOSCH (1973) y la descripción de PUNITHALINGAM y HOLLIDAY (1975). En el vocabulario se siguieron las indicaciones de FONT QUER (1985) y HAWKSWORTH *et al.*, (1983).

RESULTADOS

Análisis generales

En placas de Petri con medio PDA se analizaron 4.800 semillas, a partir de las cuales se obtuvo un total de 3.680 colonias fúngicas, pertenecientes a 23 géneros distintos. El Cuadro 4 recoge en forma de porcentaje los aislamientos efectuados en cada muestra, así como un resumen del número de colonias encontradas y de los porcentajes en que fue encontrado cada género.

Análisis e identificación de *Fusarium*

En los análisis efectuados sobre medio Komada, en las 4.800 semillas analizadas, se encontraron un total de 305 colonias de *Fusarium* en contraste con las 91 colonias encontradas cuando los análisis se efectuaron en PDA. El Cuadro 5 presenta en detalle todos los aislamientos de *Fusarium* efectuados en cada muestra, y un resumen de los mismos tanto en medio Komada como en PDA.

Los estudios taxonómicos sobre *F. roseum*, se realizaron en 51 aislamientos obtenidos en 14 de las muestras, presentándose una síntesis de los resultados en el Cuadro 6.

Identificación de *Ascochyta*

Los resultados de las mediciones efectuadas sobre los distintos aislamientos se presentan en el Cuadro 7, que incluye también la media de las medidas encontradas en la bibliografía (MITIDIERI, 1974), (DAVATZHELENA, 1980), (SEPÚLVEDA y ALVAREZ, 1982), (GOSSEN *et al.*, 1986) y (GUERRERO, 1987).

Cuadro 4.-Hongos aislados sobre PDA a partir de muestras de lenteja de Castilla-La Mancha. Se expresa como porcentaje de semillas en que se encuentran presentes sobre el total de cada muestra

Género	Muestras analizadas																					N.º de colonias	Semillas afectadas (%)	Muestras afectadas																											
	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P																														
<i>Cladosporium</i>	12	1	1	4	2	98	78	43	46	92	58	85	72	75	60	49	83	29	9	11	31	1	5	11	32	16	53	2	18	36	18	38	46	51	12	67	54	24	14	3	7	6	9	1462	30,5	43					
<i>Penicillium</i>	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	641	13,4	47					
<i>Alternaria</i>	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	514	10,7	42					
<i>Ascochyta</i>	7	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	1	2	3	4	5	340	7,1	23		
<i>Phoma</i>	1	1	1	7	11	1	11	3	5	2	4	4	2	11	6	17	3	9	7	3	9	4	1	23	21	2	1	4	1															174	3,6	28					
<i>Aspergillus</i>	1	1	1																																										132	2,8	12				
<i>Rhizopus</i>	3	3	1	7	4																																								117	2,4	27				
<i>Trichothecium</i>																																														96	2,0	8			
<i>Fusarium</i>	1																																													91	1,9	23			
<i>Aureobasidium</i>																																															38	0,8	14		
<i>Borys</i>																																																24	0,5	8	
<i>Epicozum</i>																																																14	0,3	8	
<i>Stemphylium</i>																																																10	0,2	8	
<i>Hyalodendron</i>																																																3	0,1	3	
<i>Cephalosporium</i>																																																2	0,0	2	
<i>Nigrospora</i>																																																2	0,0	2	
<i>Geotrichum</i>																																																	1	0,0	1
<i>Ulocladium</i>																																																	1	0,0	1
<i>Zoozoe</i>																																																	1	0,0	1
<i>Trichoderma</i>																																																	1	0,0	1
<i>Phialophora</i>																																																	1	0,0	1
<i>Borytrichium</i>																																																	1	0,0	1
<i>Helminthosporium</i>																																																1	0,0	1	
No identificado	1	1																																														13	0,3		

Cuadro 5.—Aislamientos de *Fusarium* a partir de muestras de lenteja de Castilla-La Mancha. Se expresa como porcentaje de semillas infectadas en cada muestra en medio Komada (K) o PDA

Especie	Medio de cultivo	Muestras analizadas																				N.º de colonias	Semillas afectadas (%)	Muestras afectadas		
		P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P					
<i>F. roseum</i>	PDA	12	3	2	4	6	1	1	4	1	2	11	1	1	1	2	3	1	1	2	3	2	3	61	1,27	19
	K	45	19	21	16	14	1	4	4	7	8	5	12	18	1	4	2	1	9	1	10	3	3	227	4,73	30
<i>F. oxysporum</i>	PDA	4	2																					15	0,31	9
	K	6	1	1	4	5	1	2	2															25	0,52	9
<i>F. moniliforme</i>	PDA	1																						10	0,21	5
	K	1	1	1	2	20	2	1																30	0,63	9
<i>F. dimerum</i>	PDA																							-	-	-
	K	1	1																					7	0,15	5
<i>F. solani</i>	PDA																							-	-	-
	K																							4	0,08	3
<i>Fusarium</i> sp.	PDA																							5	0,10	1
	K																							12	0,25	2

Cuadro 6.—Taxonomía de los aislamientos de *Fusarium roseum* estudiados

Código	N.º aislamientos	Feq	Fac	Fav	Fre	Fcu
P245	7	3	2	2		
P246	6	3	1	2		
P247	8	4	3			1
MD1	2	2				
MD2	3	2			1	
MD3	3	2			1	
MD4	2	1			1	
MZ1	2	2				
MZ2	1		1			
MZ3	4	1	3			
MZ4	1	1				
RD2	2		2			
SC2	2		2			
SC4	5	4	1			

Feq = *F. esquiseti*; Fac = *F. acuminatum*; Fav = *F. avenaceum*; Fre = *F. reticulatum*; Fcu = *F. culmorum*.

Cuadro 7.—Caracteres estudiados en los aislamientos de *Ascochyta* realizados a partir de lenteja

Referencia	Crecimiento lineal (*)	Clamidosporas	Tamaño de los conidios (µ)			Número de tabiques (%)		
			Mín.	Máx.	Med.	0	1	>1
MD2-1	39,2		10,4	19,0	14,2	02	98	00
SC1-1 ml	9,0	+	11,7	18,3	15,5	10	85	05
SC1-3	34,2	+	11,3	20,6	14,9	03	93	04
SC1-4	40,0		9,7	20,3	13,1	04	90	06
SC1-5	41,0		12,2	24,2	15,5	03	90	07
SC1-5 m	38,7	+	10,1	22,7	14,0	11	70	19
VM1-1 m	24,2		9,9	19,2	13,9	02	97	01
VM1-2	40,5	+	10,6	17,5	13,5	03	89	08
VM1-3 m	38,5		11,2	20,4	14,0	03	95	02
VM1-5	35,7	+	10,8	20,0	13,5	05	89	06
VM1-5 m2	39,0		10,9	18,2	13,8	06	91	03
VM2-1	35,2		9,6	18,1	12,3	01	93	06
VM3-2	38,7	+	13,0	21,3	15,7	04	91	05
VM3-3 ml	34,0	+	9,7	16,5	13,1	00	95	05
Media	34,5		10,8	19,7	14,1	4,1	90,4	5,5
	(\$)							
Bibliografía (#)	44,0		11,8	21,6		5,3	90,3	4,0

+ Carácter presente.

(*) Medido en mm a los nueve días como diámetro incluyendo el disco de siembra.

(\$) En la media se incluyen otros aislamientos medidos de los que no se pudo observar los conidios.

(#) Datos medios encontrados en la bibliografía previa consultada.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Entre los saprófitos, comunes en distintas semillas, destaca la presencia prácticamente constante en las muestras analizadas de hon-

gos de los géneros *Penicillium*, *Cladosporium* y *Alternaria*, así como la de *Aspergillus* spp. y *Rhizopus* spp.

Otra especie frecuentemente aislada (2 % de las semillas) ha sido *Trichothecium ro-*

seum, de cuya presencia en semillas de lenteja no hemos encontrado referencias previas. La incidencia de este hongo en las semillas del banco de germoplasma es, en conjunto, mayor que en el resto, aunque la infección de cada muestra concreta es, en general, menor del 10 %, con la excepción de la P250, donde el hongo se encontraba presente en el 76 % de las semillas.

Géneros bastante menos frecuentes han sido *Aureobasidium*, *Stemphylium* y *Epicoccum*, este último también con mayor incidencia en las muestras del banco de germoplasma, si bien siempre en niveles bajos, como máximo en un 4 % de las semillas de cada muestra.

Menos frecuentes aún, tres colonias como máximo, han sido los géneros siguientes: *Nigrospora*, *Trichoderma*, *Ulocladium*, *Geotrichum*, *Helminthosporium*, *Cephalosporium*, *Hyalodendron*, *Zoopage*, *Botryotrichum* y *Phialophora*. De estos diez géneros, los seis últimos no han sido citados con anterioridad, como portados en las semillas de lenteja.

Ulocladium sp., un saprófito que se cita como frecuente en semillas de lenteja fuertemente contaminadas por *Ascochyta* en Canadá (MORRALL y BEAUCHAMP, 1988), sólo fue encontrado por nosotros en una ocasión, en lentejas de Villamayor de Santiago (Cuenca) que presentaban un 23 % de infección por *Ascochyta*.

Los principales hongos potencialmente patógenos encontrados, se encuadran en los géneros *Botrytis*, *Ascochyta*, *Phoma*, y *Fusarium*. *Botrytis* aparece en ocho de las muestras, pero sólo en una de ellas en cantidad importante, 14 %. Más abundantes son los aislamientos del género *Phoma*, entre los que se encuentra *P. medicaginis* var. *pino-della*, uno de los hongos causantes de podredumbre de la raíz. Estos hongos están presentes en 28 de las muestras (58,3 %), alcanzando en algunas de ellas niveles de infección superiores al 20 %, concretamente 23 y 21 % en dos muestras recogidas en la zona de Casas de Haro (Cuenca).

El grado de infección por *Ascochyta* de las muestras del banco de germoplasma es

prácticamente nulo, únicamente una colonia encontrada en las 1.600 semillas analizadas, mientras que en el resto de las muestras el hongo afecta en conjunto al 10,6 % de las semillas. El nivel de infección encontrado por KAISER y HANNAN (1986) en dos lotes de semillas procedentes de España (23,3 %), se supera ampliamente en varias de las muestras analizadas, como las de Tarazona de La Mancha (Albacete), con un 55 % de semillas portadoras de *Ascochyta*, Minaya (Albacete) con un 40 %, tres muestras de La Alberca de Záncara (Cuenca), con infecciones del 38, 37 y 15 %, y otras tres de la zona de Villamayor de Santiago, que presentaron unos niveles del 32 % de semillas infectadas una de ellas, y del 23 % las dos restantes.

En lo relativo al análisis pormenorizado de estos aislamientos, las observaciones efectuadas en la tabicación de los conidios, ofrecen unos resultados similares a los encontrados en la literatura consultada. El tamaño de los conidios es ligeramente inferior en nuestras cepas, pero encaja dentro de la variabilidad observada por GOSSEN *et al.*, (1986) en aislamientos de *Ascochyta* en lenteja, mientras que el crecimiento lineal de la colonia, también menor que el encontrado por estos autores, los separa aún más de los aislamientos efectuados sobre guisante, por lo que no dudamos en asignar los cultivos estudiados a *Ascochyta fabae* f.sp. *lentis*, desechando la posibilidad de que se trate de *A. pinodes*, especie presente típicamente en guisante.

En el momento de valorar los datos sobre la presencia de *Fusarium* en las semillas analizadas, la utilización de un medio selectivo como el descrito por KOMADA (1975), revela la presencia de numerosas colonias, que en medios generales pueden pasar inadvertidas. En nuestro caso, el número total de colonias de *Fusarium* en medio Komada fue superior en más de tres veces al detectado en PDA, apareciendo también colonias de dos especies no encontradas en PDA, *F. dimerum* y *F. solani*.

Entre las especies encontradas, *F. dimerum* y *F. moniliforme* no parecen ser pató-

genas de la lenteja. Sí lo es *F. solani*, encontrado en tres de las muestras, donde no superó el 2 % de semillas infectadas. También patógeno y más frecuente fue *F. oxysporum*, que infectó 15 de las muestras pero en niveles bajos, que sólo en dos casos llegaron al 5 ó 6 % de las semillas.

La especie *F. roseum* sensu Snyder y Hansen, representa el 74,4 % de las colonias de *Fusarium* halladas en medio Komada, y se encuentra en 30 de las muestras estudiadas (62,5 %), superando en 8 de ellas el 10 % de semillas infectadas. Aplicando a esta especie los criterios taxonómicos de NELSON *et al.*, (1983), se han podido diferenciar las siguientes especificidades: *F. equiseti*, *F. acuminatum*, *F. avenaceum* y *F. culmorum*, siendo más frecuentes los dos primeros.

Siendo la lenteja una leguminosa de consumo humano, en la que por tanto debe cuidarse al máximo todo lo relacionado con la calidad visual del producto, es de destacar el efecto adverso que pueden ejercer hongos como *Ascochyta fabae* f.sp. *lentis*. Este hongo provoca una disminución del tamaño, y arrugado y decoloración de la semilla, traducida finalmente

a un menor valor comercial. Súmese a esto la responsabilidad de la semilla infectada en la transmisión de la micosis y su repercusión en el cultivo, y se tendrá así el dimensionado especulativo de uno de los micromicetos encontrados sobre las semillas.

Finalmente, cabe hacer, ante los resultados presentados, una observación sobre la calidad sanitaria de las semillas. Es ésta uno de los principales factores a tener en cuenta al intentar maximizar el rendimiento de un cultivo. La presencia de hongos en la semilla utilizada para siembra, se traduce en una deficiente nascencia, así como en plantas con menor vigor y capacidad de resistencia a condiciones de estrés.

AGRADECIMIENTOS

A Federico Varela el apoyo ofrecido al trabajo, al Servicio de Investigación y Experimentación Agraria, y a las Agencias Comarcales de Extensión Agraria de Castilla-La Mancha, las facilidades dadas para su realización.

ABSTRACT

DÍAZ, D. y TELLO, J. C., 1994: A fungal inventory of lentil seeds (*Lens culinaris* Medik.) harvested in Castilla-La Mancha (Spain). *Bol. San. Veg. Plagas*, 20(4): 857-870.

A total of 48 samples of lentil seeds were examined in agar plates, 16 of them belonged to Castilla-La Mancha Regional Pulses Bank, and 32 have had been harvested in the main productive areas of this region. Among the fungal species isolated we can find a great amount of common saprophytes as: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Cladosporium* or *Alternaria*, but, according to their potential pathogenicity, we have to point up species of the genera such as: *Botrytis*, *Phoma*, *Ascochyta* and *Fusarium*, e.g. *Ascochyta fabae* f.sp. *lentis* was present in most of the samples harvested to the farmers, reaching the 55 % of infected seeds in some localities.

Lentils fungal contaminants of germplasm bank is, in general, similar to the rest of the analyzed samples, though we can mention the almost complete absence of *A. fabae* f.sp. *lentis*.

Key words: Seeds, lentils, *Lens culinaris*, fungal contaminants, *Ascochyta fabae* f.sp. *lentis*.

REFERENCIAS

- BARNETT, H. L. y HUNTER, B. B., 1972: *Illustrated genera of imperfect fungi*. Burgess Publishing Company, Minneapolis: 241 pp.
- BASHIR, M.; ALAM, S. S. y MALIK, B. A., 1986: In vitro evaluation of fungicides against *Ascochyta lentis*. *Lens Newsletter*, **13**(1): 26-27.
- BEAUCHAMP, C. J. y MORRALL, R. A. A., 1985: Effects of combining fungicides as seed treatments for control of *Ascochyta blight*. *Pesticide Res. Rep. Agriculture*: 270.
- BEAUCHAMP, C. J.; MORRALL, R. A. A. y SLINKARD, A. E., 1986: Effects of scheduling applications of benomyl, captafol and chlorothalonil on ascochyta blight of lentil. *Can. J. Plant Pathol.*, **8**(3): 260-268.
- BHALLA, M. K.; NOZZOLILLO, C. y SCHNEIDER, E. F., 1984: Pathogenicity of soil fungi associated with a root rot of lentils. *Can. J. Plant Pathol.*, **6**(1): 21-28.
- BOEREMA, G. H. y DORENBOSCH, M. M. J., 1973: The Phoma and *Ascochyta* species described by Wolener and Hochapfel in their study on fruit-rotting. *Stud. Mycol.*, **3**: 57 pp.
- BOOTH, C., 1971: *The genus Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England: 237 pp.
- CROMEY, M. G.; MULHOLLAND, R. I.; RUSSELL, A. C. y JERMYN, W. A., 1987: *Ascochyta fabae* f.sp. *lentis* on lentil in New Zealand. *New Zealand J. Exp. Agric.*, **15**: 235-238.
- DAVATZI-HELENA, K., 1980: A disease of lentil caused by *Ascochyta lentis* Vassiljevskiy. *Anals. Inst. Phytopath. Benaki, (N.S.)*, **12**: 256-260.
- DIEKMANN, M. y ASAAD, S., 1989: Comparison of agar and freezing blotter test for detection of *Fusarium* spp. in seeds of lentil, chickpea and barley. *Z. Pflanzkrankh. Pflanzensch.*, **96**(2): 134-139.
- ECHANDI, E., 1971: *Manual de laboratorio para Fitopatología General*. Herrero Hnos., sucesores S.A., México: 58 pp.
- ERSKINE, W., 1984: Evaluation and utilization of lentil germplasm in an international breeding program. In WITCOMBE, J. R. y ERSKINE, W. (Eds.) *Genetic Resources and Their Exploitation - Chickpeas. Faba beans and Lentils*. 225-237. ICARDA & IBPGR, Netherlands.
- FONT QUER, P., 1985: *Diccionario de Botánica*. Editorial Labor, S.A., Barcelona: 1.244 pp.
- GOSSEN, B. D. y MORRALL, R. A. A., 1984: Seed quality loss at harvest due to ascochyta blight of lentil. *Can. J. Plant Pathol.*, **6**(3): 233-237.
- GOSSEN, B. D. y MORRALL, R. A. A., 1986: Transmission of *Ascochyta lentis* from infected lentil seed and plant residue. *Can. J. Plant Pathol.*, **8**(1): 28-32.
- GOSSEN, B. D.; SHEARD, J. W.; BEAUCHAMP, C. J. y MORRALL, R. A. A., 1986: *Ascochyta lentis* renamed *Ascochyta fabae* f.sp. *lentis*. *Can. J. Plant Pathol.*, **8**: 154-160.
- GUERRERO, C. J., 1987: Incidencia y transmisión de *Ascochyta lentis* Bond. y Vassil. en semilla de lenteja (*Lens culinaris* M.). *Agricultura Técnica (Chile)*, **47**(2): 101-107.
- HAWKSWORTH D. L.; SUTTON, B. C. y AINSWORTH, G. C., 1983: *Dictionary of the fungi*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England: 445 pp.
- KAISER, W. J. y HANNAN, R. M., 1984: Chemical control of *Ascochyta lentis* in infected lentil seeds. *Phytopathology*, **74**(9): 1.139.
- KAISER, W. J. y HANNAN, R. M., 1986: Incidence of seed-borne *Ascochyta lentis* in lentil germ plasm. *Phytopathology*, **76**(3):355-360.
- KAISER, W. J. y HANNAN, R. M., 1987: Seed-treatment fungicides for control of seed borne *Ascochyta lentis* on lentil. *Plant Dis.*, **71**(1): 58-62.
- KAISER, W. J.; STANWOOD, P. C. y HANNAN, R. M., 1989: Survival of *Ascochyta fabae* f.sp. *lentis* in lentil seed after storage for four years at 20 to -196 °C. *Plant Dis.*, **73**(9): 762-764. (Resumen)
- KHAN, B. A.; RAHMAN, F. U.; HAQUE, I. U. y ASLAM, M., 1985: Seed-borne mycoflora of lentil. *Pakistan J. Agricult. Res.*, **5**(3): 160-161. (Resumen)
- KHARE, M. N., 1981: Diseases of Lentils. In: WEBB, C. y HAWTIN, G. (Eds.). *Lentils*: 163-172. Commonwealth Agricultural Bureau and the International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA).
- KOMADA, H., 1975: Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Review of Plant Protection Research*, **8**: 114-125.
- MESSIAEN, C. M. y CASSINI, R., 1968: Recherches sur les Fusarioses. IV. La systématique des *Fusarium*. *Ann. Epiphyties*, **19**: 387-454.
- MITIDIERI, I. Z. M. DE, 1974: La mancha de la lenteja (*Lens culinaris* Medik.) causada por *Ascochyta lentis* Bond. y Vassil., en la Argentina. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*. **11**(2): 43-55.
- MONDAL, G.C.; NANDI, D. y NANDI, B., 1985: Allyl-isothiocyanate as an effective post-harvest preservative of seeds. *Seed Sci. & Technol.*, **13**(3): 529-536.
- MORRALL, R. A. A., 1980: Evaluation of seed treatments to improve emergence of *Ascochyta*-infected lentil seed. *Pesticide Res. Rep. Agriculture*: 224.
- MORRALL, R. A. A., 1987: Evaluation of fungicides to reduce seed to seedling transmission of *Ascochyta*, 1986. *Pesticide Res. Rep., Agriculture*: 217.
- MORRALL, R. A. A., 1988a: A new disease of lentil induced by *Colletotrichum truncatum* in Manitoba. *Plant Dis.* **72**(11): 994.
- MORRALL, R. A. A., 19#8b#. Using thiabendazole to control seed-borne *Ascochyta* in lentil. *Can. J. Plant Pathol.* **10**.
- MORRALL, R. A. A. y BEAUCHAMP, C. J., 1984: Evaluation of fungicides as seed treatments for *Ascochyta*-infected lentil seed. *Pesticide Res. Rep. Agriculture*: 285.
- MORRALL, R. A. A. y BEAUCHAMP, C. J., 1988: Detection of *Ascochyta fabae* f.sp. *lentis* in lentil seed. *Seed Sci. & Technol.*, **16**(2): 383-390.
- MORRALL, R. A. A. y GOSSEN, B. D., 1979: Evaluation of seed treatments for the control of seed-borne ascochyta blight of lentils. *Pesticide Res. Rep., Agriculture*: 406-407.
- MORRALL, R. A. A. y GOSSEN, B. D., 1981: Evaluation of carbathiin formulations as seed treatments for *Ascochyta*-infected lentil seed. *Pesticide Res. Rep., Agriculture*: 227.

- MORRALL, R. A. A. y SHEPPARD, J. W., 1981: *Ascochyta* blight of lentils in western Canada: 1978 to 1980. *Can. Plant Dis. Surv.*, **61**(1): 7-13.
- MORRALL, R. A. A. ; GOSSEN, B. D. y BEAUCHAMP, C. J., 1986: *Ascochyta* blight of lentil in western Canada. (poster abstracts). *Internat. Food Res. Conf. Spokane Wash*: 39.
- MUSKETT, A. E. y MALONE, J. P., 1941: The Ulster method for the examination of flaxseed for the presence of seed-borne parasites. *Ann. Appl. Biol.*, **28**: 8-13.
- NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A. y MARASAS, W. F. O., 1983: *Fusarium species. An illustred manual for identification*. The Pennsylvania State University Press, London: 193 pp.
- PARVEEN, Q. y PRAKASH, D., 1981: Studies on seed mycoflora of lentil. *Acta Botanica Indica*, **9**(1): 158-159 (Resumen)
- PRASAD, R. y CHAUDHARY, K. C. B., 1987: Seed borne mycoflora of lentil. *Lens Newsletter*, **14**(1-2): 20-22. (Resumen)
- PUNITHALINGAM, E. y HOLLIDAY, P., 1975: *Ascochyta fabae*. *CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria*. N.º 461. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- RAPILLY, F., 1968: Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Ann. Epiphyties*, **19**(f.s.): 102 pp.
- RICHARDSON, M. J., 1979: *An annotated list of seed-borne diseases*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England: 320 pp.
- RUSSELL, A. C.; CROMEY, M.G. y JERMYN, W. A., 1987: Effect of seed treatment on seed-borne *Ascochyta* of lentil. *Proc. Agron. Soc. New Zealand*, **17**: 15-18.
- SEPULVEDA, R. P. y ALVAREZ, A. M., 1982: Determinación de *Ascochyta lentis* Bond. y Vassil. en lenteja (*Lens culinaris* M.). *Agricultura Técnica*, **42**(4): 351-353.
- SHUKLA, D. N. y BHARGAVA, S. N., 1977: Some studies on *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. isolated from different seeds of pulses and oil crops. *Proc. Nat. Acad. Sci., India*, **47**(4): 199-203. (Resumen)
- SUMAR, S. P. y HOWARD, R. J., 1983: Seed microflora of pulses grown in Alberta, Canada. *Seed Sci. & Technol.*, **11**: 363-369.
- TOUSSOUN, T. A. y NELSON, P. E., 1975: Variation and speciation in the fusaria. *Ann. Rev. Phytopat.*, **13**: 71-82.
- VIENNOT-BOURGIN, G., 1949: *Les champignons parasites des plantes cultivées*. (2 tomos). Masson et Cie. Éditeurs, Paris.
- VISHUNAVAT, K. y SHUKLA, P., 1980: Fungi associated with lentil seeds. *Indian Phytopathol.*, **32**(2): 279-280. (Resumen)
- VISHUNAVAT, K. y SHUKLA, P., 1982: Effect of seed treatments on lentil mycoflora. *Indian Phytopathol.*, **35**(1): 132-133. (Resumen)
- VISHUNAVAT, K. y SHUKLA, P., 1984: Effect of different temperatures, humidities and period of storage upon prevalence of seed mycoflora of lentil. *Indian J. Mycol. Plant Pathol.*, **13**(1): 109- 111. (Resumen).

(Aceptado para su publicación: 20 Julio 1993)