

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Identificación e Incidencia de Hongos Portados en Semillas de Maíz Criollo del
Estado de Querétaro

Por:

REINA TREJO RAMOS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, Mexico

Marzo, 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Identificación e Incidencia de Hongos Portados en Semillas de Maíz Criollo del
Estado de Querétaro

Por:

REINA TREJO RAMOS

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRONOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría



M.C. Abiel Sánchez Arizpe

Asesor Principal



Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda

Ing. Elizabeth Laureano Luna

Coasesor

Coasesor


Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de la División de Agronomía

División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Marzo, 2018

AGRADECIMIENTOS

A Dios: Por permitirme vida, salud, sabiduría y entendimiento para sobre salir en todo momento y hoy poder decir que he cumplido con uno de mis objetivos de vida.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro: Por aceptarme, acogerme y así poder formar parte de su núcleo familiar durante estos cuatro años y medio; poniendo a disposición a excelentes maestros así como sus instalaciones, materiales, equipo para desarrollarme profesionalmente y desarrollarme en el campo laboral.

A todos mis Maestros: Que en todo momento aportaron conocimientos, experiencias, técnicas y habilidades durante mi formación académica y así poder ser una profesionista competitiva.

A mis asesores:

M.C. Abiel Sánchez Arizpe: Por ser Guía fundamental en este trabajo, por su apoyo, tiempo y conocimiento aportados.

Elizabeth Laureano, por ser la guía durante la realización de este trabajo, por su tiempo, dedicación y conocimientos aportados.

Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda: Por ser guía fundamental en la revisión de este proyecto y aportación de conocimientos. Gracias.

A mi Madre

Ma. Catalina Margarita Ramos Martínez por ser el motor de mi vida, por siempre estar cuando mas la he necesitado, gracias a su amor, apoyo y valores soy lo que soy y que sin ella hubiese sido difícil lograrlo...

A mis hermanos

Margarita Trejo Ramos, Lydia Trejo Ramos, Ana María Trejo Ramos, Cristina Trejo Ramos y José Gelasio Trejo Ramos, por su apoyo incondicional durante mi carrera Profesional, por siempre querer lo mejor para mi.

A mi novio: Gracias por formar parte de mi vida ,por preocuparte , procurarme y sobretodo por elegirme para ser parte de tu vida,Gracias...

A mi Amigo incondicional: Por sus consejos, por siempre motivarme a seguir adelante sin importar el pasado y le agradezco infinitamente su cariño y amor.

A todas mis amigas:Gracias por siempre estar siempre en las buenas y en las malas,por nunca dejarme sola y siempre ofrecerme su apoyo incondicional.

DEDICATORIA

A mis padres:

Ma. Catalina Margarita Ramos Martinez y J.Marcial Eugenio Trejo Montoya

Le doy gracias a dios por mandarme a ustedes como mis padres ,pero en especial a mi mamá por ser la mejor y siempre estar a mi lado en todo momento ,por hacerme ver las cosas que están mal o bien,por ser el pilar de mi vida y siempre demostrarme que puedo contar con ella.

A mis hermanos:

Margarita,Jose Gelacio,Lydia,Ana Maria y Cristina Trejo Ramos;les agradezco infinitamente por siempre estar en mi vida,por preocuparse y apoyarme a lo largo de mi vida.

A mi abuelo:

Canuto Ramos Resendiz,le agradezco por siempre estar conmigo,por siempre contagiarme su alegría y anécdotas de la vida.

A mis amigas:

Ana Karen de León,Elizabeth Laureano,Reyna de Jesus,Laura Castro,etc,a cada una de ellas les agradezco por permitirme formar parte de ellas ,por su cariño y su amistad .

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	II
DEDICATORIA.....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE CUADROS	x
RESUMEN	xi
INTRODUCCIÓN	1
Objetivos	3
Justificación.....	3
Hipótesis	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Origen del Maíz.....	4
Descripción Taxonómica.....	4
Importancia del Maíz.....	5
Importancia económica.....	5
Composición nutrimental	6
Estados Productores de Maíz	7
Importancia de Hongos Portadores en Semillas de Maíz	8
Hongos Asociados a Semillas de Maíz	9
<i>Aspergillus</i> spp.....	9
Clasificación taxonómica	10
Descripción morfológica.....	10
Producción de Micotoxinas	11
Aflatoxinas	11
Cómo Influye en la Salud Humana y Animal	12
Descontaminación del Grano.....	13
Género <i>Fusarium</i> spp.	13
Importancia de las Fumosininas en Semillas de Maíz	13
Sintomatología de <i>Fusarium</i> sp en Semillas de Maíz	15
Infección y diseminación.....	17

<i>Fusarium oxysporum</i>	17
Importancia de <i>Fusarium oxysporum</i> en semillas de maíz	17
Clasificación Taxonómica de <i>Fusarium oxysporum</i>	18
Descripción Morfológica de <i>Fusarium oxysporum</i>	18
Diseminación de <i>Fusarium oxysporum</i>	19
<i>Trichoderma</i> spp.	19
Descripción morfológica.....	19
Importancia del género <i>Trichoderma</i>	19
<i>Trichoderma</i> en el biocontrol de fitopatógenos	20
Mecanismo de acción de <i>Trichoderma</i> spp.	20
Enzimas hidrolíticas	20
Metabolitos secundarios	21
Inducción de sistemas de defensa en la planta	21
<i>Penicillium</i> sp	21
MATERIALES Y MÉTODOS	22
Ubicación del Experimento.....	22
Prueba de Sanidad de la Semilla	23
Papel Secante y Congelación	23
Prueba en PDA	24
Purificación	24
Elaboración de laminillas	25
Evaluación	25
Prueba de Germinación de la Semilla.....	26
Mediante toallas de papel enrolladas.....	26
Evaluación	27
Prueba de Vigor de la Semilla.....	28
Prueba de envejecimiento acelerado.....	28
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
Prueba Papel Secante y Congelamiento	31
En la Prueba de PDA	33

Incidencia	34
Incidencia de hongos portados en semillas de maíz criollo	34
Prueba de Germinación	35
Prueba de Vigor-Envejecimiento Acelerado.....	35
CONCLUSIÓN	37
LITERATURA CITADA.....	38
APÉNDICE	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estados productores de maíz.....	7
Figura 2: Maíz con presencia de <i>Aspergillus</i>	9
Figura 3: Características morfológicas de <i>Aspergillus</i>	10
Figura 4: Descontaminación del grano de maíz.....	13
Figura 5:Maiz con presencia de <i>Fusarium spp</i>	13
Figura 6:Comparacion de planta sana y enferma.....	16
Figura 7: Claves para identificar <i>Fusarium sp</i> y <i>Aspergillus sp</i>	17
Figura 8:Departamento de Parasitologia.....	22
Figura 9:Desinfeccion,secado y siembra de semillas de maiz mediante el método de papel húmedo	23
Figura 10:Semillas de maíz en charolas húmedas y selladas.....	23
Figura 11:Presencia de <i>Trichoderma sp</i> en semillas de maíz.....	24
Figura 12:Incubacion en cámara de germinación	26
Figura 13:Plantulas normales de maíz.....	27
Figura 14:a) Plantulas anormales y b) semillas sin germinar.....	27
Figura 15:Semillas de maíz criollo en cámara de envejecimiento acelerado.....	29
Figura 16:Macroconidias de <i>F.oxysporum</i>	31
Figura 17:Clamidiosporas de <i>F.oxysporum</i>	31

Figura 18:*Penicillium* sp aislado en semillas de maíz de la prueba de papel húmedo.....32

Figura 19:*Aspergillus spp*, aislado en semillas de maíz mediante la prueba de papel húmedo.....33

Figura 20:*Trichoderma sp*, tomada de semillas de maíz criollo amarillo.....33

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Peso y composición de las partes del grano de maíz.....	6
Cuadro 2: Composición nutricional general	7
Cuadro 3: Rangos máximos tolerados en las repeticiones.....	28
Cuadro 4: Porcentaje de germinación de plantas normales, anormales y sin germinar en la prueba de germinación.....	34
Cuadro 5: Se muestra el porcentaje promedio de plantas normales, anormales y sin germinar de la prueba de vigor-envejecimiento acelerado.....	35
Cuadro 6: Incidencia de hongos portados en semillas de maíz de acuerdo al color del micelio	35
Cuadro 7: Incidencia de hongos en maíz criollo-negro mediante la prueba de PDA por repetición.....	48
Cuadro 8: Incidencia de hongos en maíz criollo-amarillo, mediante la prueba de PDA por repetición.....	49
Cuadro 9: Incidencia de hongos en semillas de maíz criollo por el método de papel húmedo y congelamiento.....	50

RESUMEN

La pudrición de mazorcas de maíz se ve afectada por la presencia de hongos en el endospermo del grano, dado que si le brindamos las condiciones de humedad y temperatura el hongo se ve favorecido, afectando el rendimiento en toneladas y/o kilos por hectárea.

El objetivo de este trabajo fue identificar hongos presentes en semillas de maíz criollo del Estado de Querétaro, mediante las pruebas de papel secante y congelamiento, en placas de PDA ;se tomaron al azar 400 semillas de cada material criollo (Amarillo y Negro).Para la prueba de papel húmedo y congelamiento se sembraron en charolas de 50 semillas, lo que nos da un total de 8 repeticiones y en el caso del PDA, se colocaron 15 semillas por cada caja petri dando un total de 26 repeticiones. Cabe mencionar que también se realizó la prueba de germinación de la semilla y la prueba de vigor por el método de envejecimiento acelerado con el fin de contabilizar cuantas plantas fueron normales, anormales y sin germinación.

Los resultados se analizaron mediante el programa estadístico de Nuevo León.

Los géneros identificados fueron: *Aspergillus sp* con una incidencia de 4%, *Penicillium sp* 5%, *F.oxysporum* con un 81% y *Trichoderma sp* el 0.25% ; de los géneros mencionados anteriormente cabe mencionar que el género

Fusarium oxysporum fue el que mostró mayor incidencia.

Palabras claves: Detección e incidencia,hongos,pudrición de mazorcas, prueba de sanidad, prueba de germinación y vigor.

INTRODUCCIÓN

El maíz es un cereal de gran importancia económica, así como para el autoconsumo, la elaboración de subproductos como son los aceites, harinas y el 60% se utiliza para la alimentación del ganado por lo que México anualmente produce alrededor de 8 millones de hectáreas. El 75 % de la superficie es sembrada con semilla criollo la cual lleva un proceso de selección que permite que éstas opten las condiciones climáticas y tecnológicas de los productores, así como poseer características que agraden o satisfagan al consumidor pero lo más importante es mejorar y evitar la alteración genética del maíz.

En diversos países, se han encontrado una gran diversidad de especies de *Fusarium* infectando mazorcas y granos de maíz (Mesterházy *et al.*, 2012).

En México se ha documentado la diversidad de especies de *Fusarium* en poblaciones nativas de maíz (Morales-Rodríguez *et al.*, 2007; García-Aguirre y Martínez-Flores, 2010); este hecho se asume como interacciones coevolutivas de *Fusarium* y poblaciones de maíz nativo debido a la siembra continua de maíz en las parcelas infestadas. Este tipo de interacciones *Fusarium*-maíz se ha documentado en otros trabajos (Oren *et al.*, 2003; Desjardins *et al.*, 2007).

Las poblaciones nativas de maíz, comúnmente denominadas criollas, han sido preservadas por los productores a través de numerosas generaciones. En más del 80% del área sembrada con maíz en México, prevalecen estas poblaciones, en donde coexisten con organismos benéficos y patógenos en condiciones microbiológicas específicas, factores que han permitido la conservación de la diversidad genética del cultivo (Castillo *et al.*, 2000).

Entre las enfermedades de importancia económica se destaca la pudrición de mazorca causada por *Fusarium spp.*, ya que causa pérdidas de rendimiento de 23 a 30% (González *et al.*, 2007).

En este trabajo se pretende conocer qué patógenos son los causantes de que exista una pérdida económica y baje el rendimiento del maíz para el autoconsumo y comercialización; para esto se realizó un análisis en el laboratorio para identificar, medir la incidencia de la semilla. Sin embargo si existe un alto grado de incidencia no se podrá comercializar y se generarían pérdidas económicas para el productor.

La fundación Rockefeller a través del programa agrícola que se está llevando a cabo en México, representado por la Oficina de Estudios Oficiales de la agricultura y ganadería han recolectado de forma sistemática las variedades criollas de maíz de todas las regiones de la República.

En Sinaloa México, la pudrición de la mazorca del maíz es una enfermedad que causa pérdidas mayores al 30%. Recientemente se ha asociado el ataque de insectos plaga como gusano cogollero del maíz *Psocoptera frugífera* (J.E Smith), con la posterior invasión de hongos que en su conjunto causan la enfermedad.

Gallardo Reyes *et al.*, (2006) realizaron un estudio en el estado de Sonora para identificar a los hongos asociados a granos de maíz, a partir de 76 muestras de maíz, los géneros encontrados fueron: Siete especies de *Fusarium*, predominando *F. verticillioides*, así como *Aspergillus*, *Penicillium* y *Alternaria*.

Quintero y Apodaca (2008), señalaron que en la región Norte de Sinaloa la pudrición de la mazorca del maíz no rebasa el 10% de incidencia y que los daños al cultivo están asociados al ataque de insectos, con la posterior invasión de *Fusarium* y levaduras.

Es importante tener una buena sanidad en las semillas de maíz para evitar la proliferación de hongos y ataque de insectos plaga, una alternativa para evitar o disminuir la humedad es la aplicación de azufre.

En la realización de este trabajo se emplearon 2 materiales criollos (Amarillo y Negro) cada uno tendrá como mínimo seis repeticiones y el modelo estadístico será un bloque completamente al azar.

Objetivos

- Identificación de hongos asociados a la pudrición de granos de maíz criollo.
- Determinar la incidencia de hongos en 2 materiales de maíz criollo (Amarillo y Negro).
- Determinar el vigor y germinación del material con el que se está trabajando.

Justificación

Este trabajo surge a partir del interés por conocer qué patógenos son los que afectan las semillas de maíz y la economía de los agricultores. Medir la incidencia del hongo del maíz, para así poder determinar a qué grado el maíz no puede ser empleado para el consumo o autoconsumo.

Hipótesis

- Al menos se encontraran 3 géneros de hongos diferentes
- A mayor germinación y vigor menor presencia de hongos.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen del Maíz

En México centro de origen, domesticación y diversificación del maíz (*Zea mays* L.), existen 59 razas de acuerdo con la clasificación más reciente basada en características morfológicas e iso-enzimáticas (Sánchez *et al.*, 2000), que representan un significativo porcentaje de las 220 a 300 razas de maíz existentes en el continente americano (Kato *et al.*, 2009).

El maíz es uno de los cereales de mayor importancia en la alimentación humana y que se conoce desde años atrás (FAO, 2010).

Descripción Taxonómica

Paliwal (2001a) debido a la importancia económica considero la siguiente clasificación:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales Small 1903

Familia: Poaceae Barnhart

Género: *Zea* Linnaeus, 1753

Especie: *mays* L.

Importancia del Maíz

México es el centro de origen del maíz, por lo que juega un papel muy importante en la alimentación humana ya que provee fuentes de proteínas, carbohidratos y fibra. El maíz blanco en grano se utiliza principalmente para la elaboración de tortillas y el amarillo es utilizado para el consumo humano pero su principal destino es para la alimentación de ganado y la producción de almidones (SIAP, 2014).

Mesoamérica, es una región que comprende una línea irregular desde el estado de Nayarit a la porción media de Veracruz en México, hasta Nicaragua. Es reconocida como un centro de origen de la agricultura en el contexto mundial además de ser el centro de origen y diversidad de aproximadamente 225 especies vegetales cultivadas (Vavilov, 1931; Hernández X., 1985; Ortega, 2003; Engels *et al.*, 2006).

Debido a la gran escala de producción de maíz esto permite su comercialización mundialmente, debido a que forma parte de la canasta básica y por su precio las familias de bajos recursos pueden contribuir en su compra. (FAO, 2013).

Las sociedades y organizaciones occidentales consideran a las variedades criollas como parte del patrimonio común de la humanidad (Cleveland y Murray 1997, Esteva 2003, Kato *et al.*, 2009).

Importancia económica

Además, el uso del maíz tropical como materia prima para la producción de bioetanol. Para ello se obtiene un jarabe de maíz tropical a base de azúcares y de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* a partir del cual se producirá bioetanol (Chen, 2013).

En Estados Unidos alrededor del 85% de la cosecha de maíz se utiliza para grano y ensilaje (la planta entera) destinado al ganado (FAO, 1993; Paliwal, 2001 a, 2001 b; ECOCROP, 2007).

Composición nutricional

El endospermo es básicamente almidón pero también posee algunas proteínas y trazas de aceites. La mayoría de los aceites se encuentran contenidos en el germen, el cual presenta un elevado contenido proteico. Por otro lado, los azúcares se encuentran almacenados en su mayor parte en el germen (Paliwal, 2001 c). Cuadro 1.

Otros hidratos de carbono presentes son azúcares sencillos en forma de glucosa, sacarosa y fructosa, en cantidades que varían del 1 al 3% del grano (FAO, 1993).

Composición (%)	Endospermo	Embrión
Almidón	87.6	8.3
Grasas	0.8	33.2
Proteínas	8	18.4
Cenizas	0.3	10.5
Azúcares	0.6	10.8
Resto	2.7	18.8
Materia seca (%)	83	11
Composición (%)	Pericarpio	Escutelo
Almidón	7.3	5.3
Grasas	1	3.8
Proteínas	3.7	9.1
Cenizas	0.8	1.6
Azúcares	0.3	1.6
Resto	86.9	78.6
Materia seca (%)	5.2	0.8

Cuadro 1: Peso y composición de las partes del grano de maíz(Modificación de Paliwal,2001 c).

		MAIZ BLANCO	MAIZ AMARILLO	PASTA DE MAIZ SECA	PASTA DE MAIZ COCINADA
Nutriente	Unids.	Valor por 100g	Valor por 100g	Valor por 100g	Valor por 100g
Agua	g	10.37	10.37	10.0	68.31
Energía	Kcal.	365	365	357	126
Energía	Kj	1527	1527	1494	527
Proteínas	g	9.42	9.42	7.46	2.63
Grasas totales	g	4.74	4.74	2.08	0.73
Ceniza	g	1.20	1.20	1.20	0.42
Carbohidratos	g	74.26	74.26	79.26	27.91
Azúcares totales	g	---	0.64		
Fibra total	g	---	7.3	11.0	4.8

Cuadro 2: Composición nutricional general (USDA, 2013, a, b, c, d).

Estados Productores de Maíz

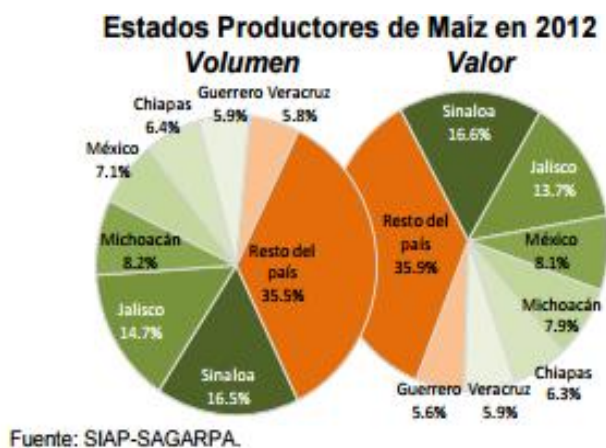


Figura 1: Estados productores de maíz.

El rendimiento nacional alcanza en promedio las 3.2 ton/ha, siendo el rendimiento de temporal de 2.2 ton/ha y el de riego de 7.5 ton/ha. Figura 1.

El 8% de la producción nacional corresponde a maíz amarillo, del cual México es deficitario e importa entre 7 y 10 millones de toneladas. Nuestro país ocupa el 2° lugar con el mayor volumen de importaciones del grano internacionalmente, lo cual lo vuelve vulnerable ante cualquier alteración de la oferta mundial (SIAP-SAGARPA, 2012).

El *Zea mays L*, es el cultivo más importante en el estado de México con 573,000 ha cultivadas, una producción estimada en 1'801,330 toneladas y rendimiento promedio de grano de 3.1 t ha (SEDAGRO, 2007).

Importancia de Hongos Portadores en Semillas de Maíz

El maíz de los ambientes trópicos es atacado por una serie de patógenos que afectan el rendimiento y la economía. La monografía de Wellman (1972) *Tropical American Plant Diseases* informa sobre 130 enfermedades que afectan al maíz en los trópicos, comparadas con 85 que ocurren en los ambientes templados.

Wellman (1972), Ullstrup (1976, 1977, 1978), Renfro (1985) y Smith y White (1988); proporcionaron información detallada sobre las enfermedades que atacan al maíz.

De León (1984) publicó una guía de campo ilustrada para la identificación de las enfermedades más importantes del maíz y menciona 44 enfermedades causadas por hongos, tres por bacterias, 10 por virus y una por "mollicutes".

Los síntomas y la epidemiología de las enfermedades se basan en descripciones dadas en Anónimo (1973) y De León (1984). Es conveniente describir cuales son las enfermedades de los trópicos y después las enfermedades de ocurrencia regional. Una buena alternativa de solución es emplear la técnica de Fito mejoramiento para obtener una resistencia a las enfermedades del maíz, esto se discute en el capítulo *Mejoramiento para resistencia a las enfermedades*.

Es posible seleccionar y desarrollar variedades con altos niveles de tolerancia a esta enfermedad (De León y Pandey, 1989).

La prueba del frío para la germinación de las semillas en papel enrollado puede ser usada para una preselección de germoplasma resistente a los tizones (Poehlman, 1987).

Durante el almacenamiento los hongos atacan y dañan el grano cuando la humedad está entre 14 y 18% (Smith y White, 1988).

Hongos Asociados a Semillas de Maíz

Richardson (1979) registró los hongos toxicológicos más importantes *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* tienen amplia distribución geográfica y pueden desarrollarse sobre una amplia gama de granos almacenados.

Aspergillus spp.

El género *Aspergillus* ocurre con mayor frecuencia en maíz almacenado para consumo, mientras que en campo la mayor incidencia la presenta *Fusarium* (Hernández *et al.*, 2007).

Michelin (1729) describió el género *Aspergillus sp* y comprobó que la cabeza conidial de este hongo se parecía a un "*aspergillus*" (instrumento utilizado para dispersar agua bendita).

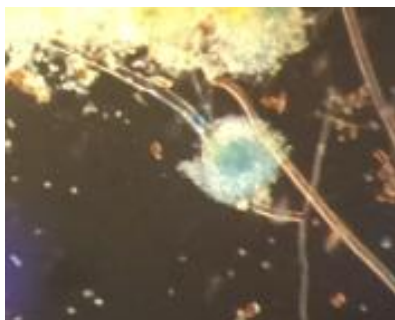


Figura 2: Maíz con presencia de *Aspergillus spp*

Clasificación taxonómica

Antonio Michelin (1729) tomó en cuenta la siguiente clasificación:

Reino: Fungi

Clase: Eurotiomycetes

Orden: Eurotiales

Familia: Trichocomaceae

Género: *Aspergillus spp.*

Descripción morfológica

Aspergillus sp. es un hongo filamentoso hialino ubicuo, productor de enfermedades de distribución universal que ocasionalmente pueden aparecer en forma de brotes hospitalarios tras obras de remodelación (Michelin, 1729).

Cabezas conidiales enseriadas y biseriadas, principalmente radiales; estipes normalmente rugosos, hialinos o de color marrón pálido. Vesícula esférica; méticas ocupando prácticamente toda la superficie de la vesícula. Conidios globosos o elipsoidales, lisos o ligeramente rugosos.

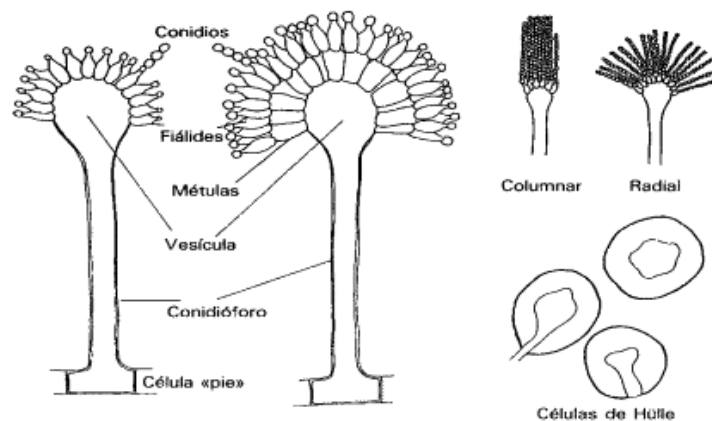


Figura 3: Características morfológicas de *Aspergillus spp.*

Producción de Micotoxinas

Aflatoxinas

Las Aflatoxinas se encuentran principalmente en productos agrícolas como las materias primas para la preparación de alimentos balanceados para ganado en forma de contaminantes o bien, como residuos tóxicos de los productos de dicha explotación zootécnica como la leche, huevo o carne (Requena *et al.*, 2005).

Los factores que limitan la calidad de los productos del sistema y que facilitan la producción de mohos y micotoxinas pueden evaluarse mediante la ejecución de estudios de vigilancia proyectados cuidadosamente, métodos de seguimiento biológico desarrollados recientemente para medir la exposición de las personas a las mico toxinas, y estudios socioeconómicos que abordan diversas cuestiones sociales, comerciales y financieras (Coker, 1997).

La presencia de mohos y micotoxinas puede reducirse mediante la aplicación de diversas medidas preventivas, tanto antes como después de la cosecha, como por ejemplo, medidas adecuadas de lucha contra plagas y enfermedades y buenas prácticas de cosecha, secado y almacenamiento. Una vez que se ha producido la contaminación con mico toxinas, ésta puede reducirse mediante diversas medidas, aplicadas principalmente después de la cosecha, que incluyen la elaboración, destoxificación y separación (Coker, 1997; FAO, 1999).

La toxinas que más se han estudiado han sido las aflatoxinas; sin embargo, no podemos olvidar otras toxinas como la Ocratoxina , Ochraceus o la citreoviridina *Penicillium spp* que pueden producir efectos nefro o neurotóxicos. Las aflatoxinas son toxinas naturales producidos por mohos y consideradas como parte de sus productos metabólicos. Estas son producidas por cepas toxigénicas del género *Aspergillus*. Su toxicidad ha causado daños severos en la salud y en la economía alrededor del todo el globo. Las aflatoxinas son consideradas como el carcinógeno más potente producido en la naturaleza (Valladares, 1988).

El estudio documentado de las aflatoxinas y la enfermedad causada por estas comienza en los sesenta cuando se reportó de una epidemia (llamada "X") de

pavos y otros animales de corral, matando más de 100.000 animales 4,5. La causa de la muerte fue la presencia de maní brasileño altamente contaminado con aflatoxinas (Montesano, 1997).

Las micotoxinas son estructuralmente un grupo diverso de compuestos con bajo peso molecular (generalmente 300 a 400 D) que se producen principalmente por el metabolismo secundario de cepas de hongos de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Alternaria* (Steyn, 1999).

Cómo Influye en la Salud Humana y Animal

El efecto toxígeno de las Aflatoxinas producidas por *Aspergillus* varía desde los carcinogénicos, teratogénicos o muta génicos hasta la producción de desórdenes hormonales o inmunosupresores; lo que a su vez depende de la aflatoxina, dosis, tiempo de exposición u organismo expuesto (Carvajal, 2013).

Las aflatoxinas son ingeridas por los seres humanos no sólo a través de granos, semillas o frutos; también se presentan en la leche o la carne de animales criados con alimentos contaminados (Requena *et al.*, 2005).

Se comportan como inmunosupresores que inhiben la fagocitosis y la síntesis proteica e interrumpen la formación del DNA, RNA y las proteínas en el ribosoma (Carvajal, 2013).

Dentro de los efectos agudos por micotoxinas se hallan: hepatitis aguda, los síndromes de Reye y de Kwashiorkor especialmente en niños de los trópicos (García, 2001).

Peraica (1999) y wild (1996) mencionaron que las micotoxinas ocasionan un hígado graso y edema cerebral severo; a largo plazo se presentan efectos carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos, estrogénicos, inmunológicos, nefrotóxicos y neurotóxicos.

Descontaminación del Grano

De acuerdo con Guzmán *et al.* (1995) y Anguiano *et al.* (2005) el proceso de nixtamalización destruye del 95 al 100 % de las aflatoxinas del maíz.



Figura 4: Descontaminación del grano de maíz.

Género *Fusarium* spp.

La presencia y daños ocasionados en maíz por *Fusarium* han sido reportados en los estados de Tamaulipas, Chiapas, Durango y Guanajuato (Moreno, 1996; Hernández *et al.*, 2007).

El género *Fusarium* sp presenta una distribución cosmopolita y es endémico de zonas maiceras de todo el mundo (Mendoza *et al.*, 2003).



Figura 5: Maíz con presencia de *Fusarium* spp.

Importancia de las Fumosininas en Semillas de Maíz

Las Fumosininas son un grupo de micotoxinas caracterizado recientemente producidas por *F. moniliforme*, un moho presente en todo el mundo y que se encuentra con frecuencia en el maíz (Rheeder *et al.*, 1992).

La presencia de fumosininas en maíz se ha relacionado con casos de cáncer de esófago en habitantes de la zona de Transkei, África austral y China. Se ha estudiado la relación entre la exposición a *F. moniliforme*, en maíz de producción doméstica, y la incidencia de cáncer de esófago en la zona de Transkei durante el decenio 1976-86 (Rheeder *et al.*, 1992).

Las fumosininas son consideradas factores de virulencia, ya que su producción se asocia con una mayor capacidad de infección de *F. verticillioide*s en plántulas de maíz. Sin embargo, este papel no es claro en la infección y pudrición de la mazorca. En maíz, las fumosininas tienen tres blancos moleculares que son la esfinganina *N*-acil transferida, la ATPasa de protones de membrana plasmática y las β -1,3-glucanasas básicas. Las tres enzimas tienen funciones fisiológicas relevantes y participan en la respuesta de defensa de la planta.

Nayaka *et al.* (2010) demostraron que las semillas de maíz tratadas con una suspensión de *Trichoderma harzianum* y con una aplicación posterior de un tratamiento de aspersión de una suspensión pura de *T. harzianum* reduce el contenido de fumonisinas en todos los cultivares de maíz de un 56,4% al 85,8%.

Ayalew *et al.* (2010) investigaron el efecto de las enzimas recombinantes en la degradación de las fumonisinas B1 (FB1). Se demostró que la carboxilesterasa recombinante cataliza la de esterificación de las FB1 a FB1 hidrolizadas, y se determinó que la aminotransferasa expresada en forma heteróloga desamina las FB1 hidrolizadas en presencia de piruvato y fosfato de piridoxal. Los resultados de estos trabajos proporcionan una base para la elaboración de un proceso de desintoxicación enzimática para las fumonisinas B1 en los alimentos y los piensos.

Dalié *et al.* (2012) investigó la relación de *Pediococcus pentosaceus* (cepa LOO6) en la biosíntesis de las fumonisinas de *F. verticillioide*s.

De La Campa *et al.* (2005) elaboraron un modelo empírico preliminar para predecir la concentración de fumonisinas al momento de la cosecha de maíz basado en análisis de regresión de los datos de campo recogidos en la Argentina y las Filipinas. La variabilidad de las fumonisinas se explica principalmente por la

ubicación o el clima (47%) y los daños causados por los insectos a las mazorcas (17%). En general, este modelo explicó más del 82% de la variabilidad del contenido de fumonisinas en el maíz.

Froment *et al.* (2011) presentaron un modelo de predicción de micotoxinas basado en diferentes modelos estadísticos agroclimáticos utilizando datos de la producción de maíz (DON, zearalenona y fumonisinas) y trigo (DON) en Francia y Bélgica. Se propuso que los compradores de granos utilizaran esta herramienta en línea, proporciona una probabilidad de aceptación de cada parcela en un umbral de mico toxinas.

Firrao *et al.* (2010) presentaron un nuevo enfoque para determinar pronto el maíz contaminado por fumonisinas, basado en imágenes digitales. Se elaboraron imágenes de muestras de maíz con 10 diferentes luces LED (con emisiones desde 720 a 940 nm) y se pudo establecer una correlación entre los datos obtenidos de la imagen y el nivel de fumonisinas presente en la muestra (suma de FB1 y FB2).

Los autores afirman que el método creado produce una estimación fiable de la contaminación por fumonisinas, en pocos minutos, con un mínimo de equipamiento, y se puede utilizar para ayudar a seleccionar lotes durante la elaboración del maíz (Firrao *et al.*, 2010).

Sintomatología de *Fusarium sp* en Semillas de Maíz

Este hongo, en maíz puede causar daño en todas las etapas del cultivo. En semilla, el micelio puede invadir y ocasionar manchas en las cubiertas externas, causando además disminución de la germinación por la muerte del embrión (Cisneros, 2004; Morales *et al.*, 2007; González *et al.*, 2007).

En plántula y planta adulta, debilita y pudre la raíz, ocasionando acame. En el maíz, la pudrición de tallo y mazorca está asociado con *F. verticillioides* (González *et al.*, 2007).

Se ha reportado a *Fusarium sp.* Causando amarillamiento, marchitez y enrollamiento con arrugamiento de la hoja. A medida que la enfermedad avanza, causa una destrucción de las raíces y provoca una pudrición seca de color café-rojiza en la piña y lesión necrótica en las hojas, causando la muerte de la planta (CESAVEJAL, 2011).

Moreno *et al.* (1987) mencionó que de acuerdo al contenido de humedad y temperatura de almacenamiento se presentan unos géneros de hongos u otros, ya que cada uno necesita una humedad y temperatura distinta para su desarrollo.



Figura 6: Comparación de planta sana y enferma.

Infección y diseminación

Vicente (2006) mencionó que este hongo puede diseminarse por hijuelos infectados.

La entrada de *Fusarium sp* a la mazorca puede ocurrir a través de heridas causadas por insectos o aves (Attwater and Busch y Sutton *et al.*, 1980).

Hesseltine *et al.* (1977) mencionó que este puede ocurrir mediante el crecimiento del micelio sobre los vellos del jilote y de conidios que germinan sobre ellos.

Fusarium oxysporum

Importancia de *Fusarium oxysporum* en semillas de maíz

Se dice que es un hongo el cual se presenta como saprofito en el suelo o bien como patógeno especializado según la planta u hospedantes relacionados que este afecte (Garces *et al.*, 2001). Figura 7.

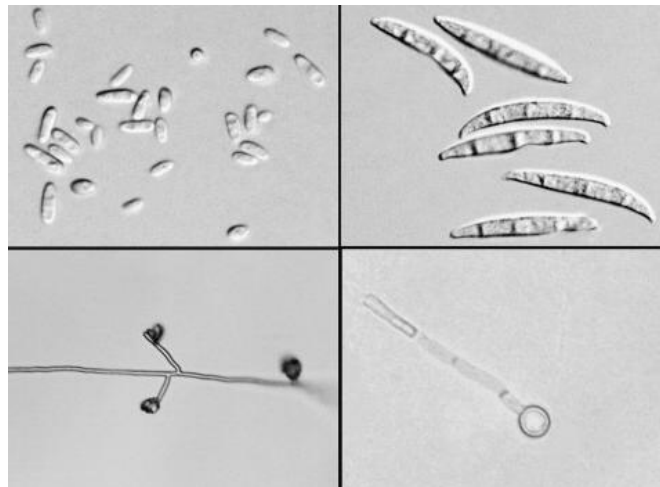


Figura 7: Claves de identificación para *F.oxysporum*

CIMMYT(2003) reportó que *Fusarium oxysporum* no causa ninguna enfermedad en maíz.

Clasificación Taxonómica de *Fusarium oxysporum*

De acuerdo a Alexopoulos y Mims (1979) reportó al genero *Fusarium* dentro de la siguiente clasificación:

Reino: Mycetozoa

Division: Mastigomycota

Clase: Deuteromycetes

Orden: Moniliales

Familia: Tuberculariaceae

Genero: *Fusarium*

Especie: *oxysporum*

Descripcion Morfológica de *Fusarium oxysporum*

La colonia crece con moderada rapidez la cual produce una cantidad variable de micelio aéreo, inicialmente es blanco, que cambia a color durazno, salmon, gris, vino a púrpura o violeta. El micelio se desarrolla muy enmarañado, las masas de esporas son de color blanco cremoso. Los microconidios producidos en conidióforos cortos y ramificados son generalmente abundantes, hialinos, unicelulares, variables, de forma ovalada o arriñonada y miden 5-12 x 2-4 micras. Las macroconidias que se originan en conidióforos más ramificados, son poco frecuentes en algunas cepas. Las macroconidias son hialinas, tienen paredes delgadas, son apenas curvas puntiagudas en ambos extremos con 3-7 septos miden 27-66 x 3-5 micras. Las clamidiosporas son esféricas, con paredes lisas o rugosas; se forman individuales o en pares a intervalos a lo largo de la hifa o en ramificaciones laterales cortas. No se ha confirmado el estado peritecio. La presencia de clamidiosporas y los microconidios producidos en conidióforos cortos y ramificados son las características más distintivas de *Fusarium oxysporum* (CIMMYT, 2003).

Diseminación de *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum puede ser dispersado por el viento, suelo, semilla o material vegetativo infectado (DGSV-CNRF, 2011).

***Trichoderma* spp.**

Descripción morfológica

Trichoderma permite tener diferentes roles en la agricultura (Martínez *et al.*, 2013). El principal beneficio de *Trichoderma* es el antagonismo con microorganismos patógenos de las plantas (Guedez *et al.*, 2012; Cuervo *et al.*, 2014; Landero *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2016; Youssef *et al.*, 2016), además, ha mostrado influencia en la promoción del crecimiento vegetativo (Youssef *et al.*, 2016; Singh *et al.*, 2016) y, otro efecto favorable, es que induce resistencia a Fitopatógenos en las plantas con las que se asocia (Liu *et al.*, 2016).

Trichoderma produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios, las cuales son activas contra fitopatógenos en diferentes fases de ciclo de vida, desde la germinación de la espora hasta la esporulación, además ésta reúne una serie de características en su interacción directa con el patógeno, que, según Harman, (2000) y Howell, (2006), hace de este organismo un buen agente antagonista de hongos causantes de enfermedades en los cultivos. Todo organismo que se opone de alguna manera a la acción, presencia o supervivencia de otro, se considera que es un organismo antagonista (Infante *et al.*, 2009).

Importancia del género *Trichoderma*

Samuels (2006) consideró a *Trichoderma* generalmente como un género de hongos de suelo de vida libre, pero la evidencia sugiere que las especies de *Trichoderma* pueden ser oportunistas, simbiontes de plantas no virulentas, así como de otros hongos parásitos. Miembros del género *Trichoderma* están universalmente presentes en los suelos, aunque especies individuales pueden ser

ya sea cosmopolita (por ejemplo, *T. harzianum*) o limitada (por ejemplo, *T. viride*) en su distribución geográfica. Para facilitar identificación de las especies, una lista de las cepas identificadas correctamente de *Trichoderma* y sus números de Gen Bank para las secuencias de la traducción. Mastouri (2012), informo sobre algunas cepas de plantas simbióticas del género *Trichoderma* que colonizan las raíces pueden inducir cambios profundos en genes de plantas expresión que conducen a un mayor crecimiento, especialmente bajo estrés biótico y abiótico. Uno de los mecanismos de protección mejorado por *T. harzianum* T22 es la colonización y la defensa a antioxidante.

***Trichoderma* en el biocontrol de fitopatógenos**

El genero *Trichoderma sp*, ha sido reportado como biocontrolador de hongos fitopatogenos como: *Mycosphaerella fijiensis* (Arzate et al.,2006), *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium* (Agamez et al.,2009, Gonzales et al.,2010, Hoyos et al.,2008).

Mecanismo de acción de *Trichoderma spp.*

Competencia por el sustrato, micoparasitismo, antibiosis, resistencia inducida, entre otros (Benitez et al.,2004). Mientras mayor sea la probabilidad de que un aislamiento de *Trichoderma sp*, manifieste varios modos de acción; más eficiente y duradero será el control sobre el patógeno (Infante et al.,2009).

Enzimas hidrolíticas

Trichoderma sp, produce numerosas enzimas: (glucanasa, quitinasa, pectinasas, xilasas, glucosidasas, proteasas y celulosas) degradadores de la pared celular que juegan un papel importante en el micoparasitismo, produciendo alteraciones en las hifas del parasito. Inicialmente realiza un reconocimiento y

adherencia sobre la pared del patógeno,posteriormente promueve la hidrolisis de las hifas por medio de las enzimas producidas (Benitez *et al.*,2004).

Para romper estructuras de los hongos fitopatogenos *Trichoderma sp* emplea enzimas extracelulares tales como beta 1,3-glucanasa,quitinasa,celulasa y proteasa (Fernandez,2001).

Metabolitos secundarios

Trichoderma sp. Produce principalmente tres tipos de compuestos:peptaibols,poliketidos y terpenos.los cuales pueden ser volátiles o solubles ,tales como: ácido harzianico,viridina,gliovirina,gliotoxina,gliopreninas,ácido heptelidico (Vinale *et al.*,2008).

Inducción de sistemas de defensa en la planta

En maíz incrementa la respuesta al crecimiento en genotipos específicos (Harman,2006).

Penicillium sp

Penicillium sp se considera de almacen ,requiere que el producto que invade tenga una humedad relativa de 85-90%,en cereales de 18-2.0%,este hongo puede crecer a temperaturas muy bajas,inclusive bajo cero(-2⁰C).Las especies de este genero reducen el poder germinativo de las semillas almacenadas(Moreno,1998)

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Experimento

El experimento se realizó en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.



Figura 8: Departamento de Parasitología-UAAAN

Material genético

Se emplearon semillas de Maíz dos materiales criollo los cuales fueron proporcionados por un agricultor del Municipio Colón, Querétaro: los materiales criollos son:

- 1.- Negro
- 2.-Amarillo

Prueba de Sanidad de la Semilla

Papel Secante y Congelación

La prueba se realizó por el método del papel secante y congelación; en base al Manual de Laboratorio ensayos para semillas de Maíz y Trigo (CIMMYT ,2003).

Se tomaron 400 semillas de cada material (Amarillo y Negro) 8 repeticiones con 50 semillas en cada caja.

Se desinfectaron las semillas en una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 3 minutos dos veces y finalmente un enjuague con agua destilada . Fig.9



Figura 9: Desinfección y secado de semillas de maiz criollo en papel húmedo.

La prueba consistió en colocar un total de 50 semillas distribuidas en una caja con 2 capas de papel estraza húmeda, se sellaron las cajas con parafilm y se les anotaron los datos correspondientes a cada uno de ellos para su identificación.Fig.10.



Figura 10: Siembra de semillas de Maiz en charolas húmedas y selladas.

Las cajas se incubaron a 20°C durante 2 días alternando 12 h con luz blanca y 12 h de oscuridad cada día.

Una vez transcurrido los 2 días se llevaron nuevamente al congelador a una temperatura ambiente de -20°C durante 1 día.

Una vez transcurrido el día se sacaron de congelación y se llevaron nuevamente a incubación a una temperatura de 25°C por 11 días alternando 12 h con luz blanca y 12 h de oscuridad cada día.

Prueba en PDA

Se utilizaron 400 semillas de cada material criollo (Amarillo y Negro), de las cuales se sembraron 15 semillas por cada caja petri obteniéndose 26 repeticiones.

Posteriormente se incubaron a 25 °C durante 8 días con el fin de permitir el desarrollo de hongos presentes en el endospermo de la semilla y así saber la incidencia de hongo por repetición.



Figura 11 : Presencia de *Trichoderma sp*, en semillas de maíz.

Purificación

Concluyendo el tiempo de incubación y observándose crecimiento micelial se opto por realizar una purificación mediante la extracción de un explante el cual fue transferido a una nueva caja Petri con medio PDA, con el fin de obtener un mejor

desarrollo del hongo y nos sea mas fácil su identificación. estas se incubaron a una temperatura de 28°C.

Elaboración de laminillas

Se observó el micelio bajo el estereoscopio y con ayuda de una aguja de disección se tomó una pequeña cantidad de micelio aéreo que fue colocado en el portaobjetos con una gota de lactofenol y se fijó con el cubreobjetos para su posterior observación e identificación bajo el microscopio compuesto.

Evaluación

Se observo el desarrollo y coloración del micelio presente en la semilla de Maíz de ambos materiales asi mismo cuantificar el número de semillas infectadas y sanas;por lo que se observo en mayor medida la presencia de micelio blanco en comparacion con el micelio verde.

La incidencia se concidero en base al número de semillas colonizadas por el patógeno.

Prueba de Germinación de la Semilla

Mediante toallas de papel enrolladas.

Esta prueba se realizó en toallitas de papel enrolladas según el Manual de Laboratorio ensayos para semillas de Maíz y Trigo (CIMMYT ,2003). Se tomaron 200 semillas de cada material de maíz, que en este caso es amarillo y negro.

Se dividieron en 4 repeticiones cada una con 50 semillas cada una se colocaron en toallas de papel húmedo y se le colocó otra encima para cubrir las semillas, posteriormente se doblaron en forma de taco y se le anotaron los datos correspondientes.

Posteriormente se colocaron dentro de una bolsa de plástico este individualmente, abiertas de la parte superior y finalmente se llevaron a incubación a 25°C durante 7 días. Fig.12



Figura 12: Cámara de germinación-semillas de maíz criollo en el Departamento de Fitomejoramiento, UAAAN.

Evaluación

Se utilizó la evaluación según el manual de laboratorio para semillas de Maíz y Trigo CIMMYT (2003). Realizando el conteo de plantas normales, anormales y semillas sin germinar.

Plantas normales: 2.5 cm de crecimiento de la plúmula y radical; con 2 o 3 raíces. Fig. 13

Plántulas anormales y sin germinar son aquellas que no cuentan con las características antes mencionadas. Fig. 14

Cabe mencionar que se consideraron los rangos máximos de germinación tolerados en las repeticiones en base al manual de CIMMYT, 2003. (Ver cuadro 3).



Figura 13: Plantulas normales de maíz



Figura 14: a) Plantulas anormales y b) semillas de maíz sin germinar.

Cuadro 3 : Rangos máximos tolerados en las repeticiones.

Porcentaje medio de germinación		Rango máximo (%)	Porcentaje medio de germinación		Rango máximo (%)
1	2	3	1	2	3
99	2	5	87 a 88	13 a 14	13
98	3	6	84 a 86	15 a 17	14
97	4	7	81 a 83	18 a 20	15
96	5	8	78 a 80	21 a 23	16
95	6	9	73 a 77	24 a 28	17
93 a 94	7 a 8	10	67 a 72	29 a 34	18
91 a 92	9 a 10	11	56 a 66	35 a 45	19
89 a 90	11 a 12	12	51 a 55	46 a 50	20

Estas tolerancias aplican únicamente en las condiciones ya definidas. Por ejemplo, no son adecuadas para comparar los resultados de dos pruebas diferentes de la misma muestra.

Prueba de Vigor de la Semilla

Prueba de envejecimiento acelerado

La prueba se basó en un total de 200 semillas de cada material criollo, las cuales fueron divididas en 4 repeticiones, cada una con 50 semillas, colocando la semilla en una rejilla de metal galvanizado sostenida por un metal, se taparon con un plástico y se les dio soporte con una liga, se colocaron dentro de la cámara de envejecimiento acelerado a una temperatura de 42.3°C durante 4 días (96 horas).Fig.15

CIMMYT (2003),mencionó que las semillas se someten a temperaturas de 40-45°C y casi 100% de humedad relativa durante periodos de duración distintas antes de la prueba de germinación.



Figura 15: Semillas de Maiz criollo en cámara de envejecimiento acelerado en el Departamento de Fitomejoramiento,UAAAN.

Una vez pasado el periodo de envejecimiento se sembraron 50 semillas en toallitas húmedas dando un total de 4 repeticiones, las semillas se colocaron de tal forma que la radícula esté apuntando hacia la parte inferior de la toalla y el lado del embrión hacia arriba. Finalmente se doblaron las toallitas por la mitad con la finalidad de cubrir por completo las semillas.

Las bolsas de plástico se colocaron en forma vertical en una incubadora a 25°C durante 7 días. Después de los 7 días se tomo el registro de plántulas normales, amormales y sin germinar.

En la evaluación se considero el mismo criterio de CIMMYT (2003), que en la prueba de germinación.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos en la prueba se analizaron mediante el programa estadístico de Nuevo León, mediante el análisis de varianza, comparación de medias y rangos múltiples de Tukey al 0.05 de significancia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba Papel Secante y Congelamiento

En esta prueba se obtuvo incidencia de tres colonias de hongos de diferente coloración .

La identificación de hongos fitopatógenos se realizó de acuerdo al Manual de Ensayos de Laboratorio para semillas de Trigo y Maíz CIMMYT (2003), se utilizaron las claves de Barnett y Hunter (1972).

Al realizar la observación de las colonias bajo el microscopio compuesto se obtuvo que la colonia color blanco presenta características de *F.oxysporum* (Figura 16 y 17), Las macroconidias son hialinas ,tienen paredes delgadas,son apenas curvos puntiagudos en ambos extremos con 3-7 septos miden 27-66 x 3-5 micras.Las clamidiosporas son esféricas,con paredes lisas o rugosas ;se forman individuales o en pares a intervalos a lo largo de la hifa o en ramificaciones laterales cortas.No se ha confirmado el estado peritecio.La presencia de clamidiosporas y los microconidios producidos en conidióforos cortos y ramificados son las características mas distintivas de *Fusarium oxysporum* (CIMMYT,2003).

En la detección de hongos en semillas de Maiz criollo negro se obtuvo menor incidencia de *F.oxysporum* de 27%,mientras que el Amarillo mostro un 54% de incidencia del hongo.



Figura 16:Microconidias de *F.oxysporum*.



Figura 17:Clamidiosporas de *F.oxysporum*.

En la colonia color verde se observaron características distintivas del genero *Penicillium* (Figura 18), que presenta conidióforos hialinos, lisos, septados, con una serie de ramificaciones que le dan la estructura característica de un cepillo con típicas fialidas hialinas en forma de frasco que producen largas cadenas secas de conidios CIMMYT(2003).

Este genero en semillas de maíz criollo mostro una baja incidencia mostrando una incidencia de 1.50% en el maíz criollo negro y un 3.50% de incidencia en el maíz criollo amarillo.



Figura 18 : *Penicillium spp* aislado de semilla de maíz, de la prueba de papel húmedo.

En la colonia de color verde amarillento se observaron características de *Aspergillus* (Figura:19), con conidióforos hinchados en apice produciendo numerosas células esporíferas, la cabeza conidial son típicamente esféricas ,hendidadas en varias columnas mal definidas (CIMMYT,2003).

El género *Aspergillus* ocurre con mayor frecuencia en maíz almacenado para consumo, mientras que en campo la mayor incidencia la presenta *Fusarium* (Hernández *et al.*, 2007).

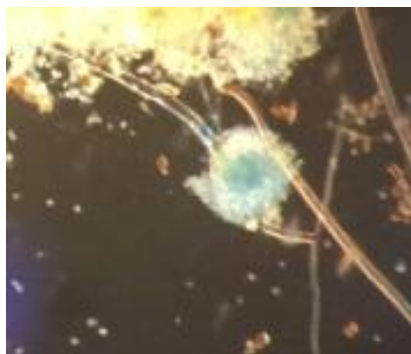


Figura 19 : *Aspergillus spp* aislado en semilla de maíz, mediante la prueba de papel húmedo.

En la Prueba de PDA

En esta prueba se obtuvo el crecimiento micelial de dos generos de hongos los cuales fueron *F.oxysporum* (Figura 16 y 17), *Trichoderma sp* (Figura 20).El maíz criollo negro mediante esta prueba obtuvo una incidencia de *F.oxysporum* de 50.05% y el amarillo del 44.10%; en base al análisis estadístico de Nuevo León ,no representa diferencia estadística entre tratamientos,Tukey al 0.05 de significancia.

En el caso de *Trichoderma sp* manifestó incidencia del 100% en el maíz criollo amarillo en la repetición 17,por lo que se concluye que fue contaminante.

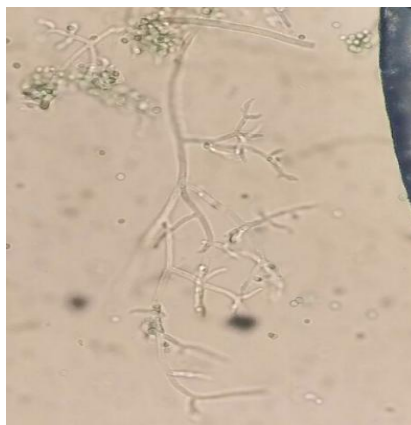


Figura 20: *Trichoderma sp*, tomada de semilla de maíz criollo amarillo.

Incidencia

Para poder medir la incidencia primero se contabilizó el número de semillas infectadas presentes en cada repetición y en base a eso se obtuvo el porcentaje de infección; tomando como referencia el total de semillas en cada caja Petri que es de 15 semillas que representa el 100%.

Para conocer la incidencia de hongos en semillas de maíz se consideró el diseño estadístico de la Universidad de Nuevo León, para conocer el porcentaje de semillas infectadas por el hongo que se desarrolló en él y asu vez asiendo la comparación de Tukey con un nivel de significancia del 0.05.

Incidencia de hongos portados en semillas de maíz criollo

Cuadro 4: Incidencia de hongos portados en semillas de maíz de acuerdo al color del micelio .

Tratamiento	<i>F.oxysporum</i>	<i>Penicillium sp</i>	<i>Aspergillus sp</i>	<i>Trichoderma sp</i>	Sano
1-Negro	27%	1.50%	2%	0%	69.50%
2-Amarillo	54%	3.50%	2%	0.25%	40.25%

En el presente cuadro se muestra claramente que *F.oxysporum* es uno de los hongos que manifestó una mayor incidencia del 54% en semilla de maíz criollo amarillo, mientras que en el negro tuvo el 27% de incidencia.

Los generos *Penicillium sp* y *Aspergillus sp* mostraron una incidencia menor que *Fusarium oxysporum*.

Prueba de Germinación

En el material criollo amarillo se obtuvo una germinación del 99.5% mientras que el criollo negro se obtuvo menor % de germinación el cual fue del 98%.

El porcentaje promedio de las cuatro repeticiones se redondeo al numero entero mas cercano para conocer el rango máximo de tolerancia.

Cuadro 5: Porcentaje de germinación en semillas de maíz criollo ,plantas Normales,Anormales y sin germinar.

Tratamientos	% Normales	% Anormales	%S/Germinar
1.-Maiz Negro	88.5	9.5	2
2.-Maiz Amarillo	95	4.5	0.5

De acuerdo al % de germinación de plantas normales de ambos materiales y de acuerdo a la tabla de rangos máximos de tolerancia (ver cuadro:3),se obtuvo que el criollo negro tolera un rango máximo del 12%, mientras que el criollo amarillo tolera un 9%.

Prueba de Vigor-Envejecimiento Acelerado

Las semillas se sometieron a una temperatura de 45 °C antes de la germinación .

En esta prueba se consideraron las plántulas normales que se originaron de semillas de vigor aceptable.El porcentaje de semillas vigorosas es el promedio de la cantidad de plántulas normales en las 4 repeticiones de una prueba estén dentro del rango máximo tolerado (Vér cuadro:3).

Cuadro 6: Promedio de semillas de maíz criollo ,plantas Normales,Anormales y sin germinar de cada material.

Tratamiento	% Normales	%Anormales	%S/Germinar
1.-Maiz Negro	30.5	40.5	29
2.Maiz Amarillo	93.5	3.5	3

De acuerdo al cuadro 3 ,citado en el manual de CIMMYT(2003),los niveles máximos de tolerancia entre las repeticiones fue de 10-18% de tolerancia siendo el criollo negro con un rango máximo de tolerancia del 18% y el criollo amarillo un 10%.

De acuerdo a la germinación mediante la prueba de toallas de papel enrolladas el criollo negro obtuvo un 98% y el amarillo un 99.5 % de germinación y comparándolas con la de vigor;metodo de envejecimiento acelerado el criollo negro bajo considerablemente en la germinación a un 71% mientras que el amarillo tiene mejor germinación la cual es del 97%.De acuerdo a los datos obtenidos nos indica que *F.oxysporum* no afecta considerablemente en la germinación y vigor de la semilla del criollo negro,de acuerdo a CIMMYT(2003) reportó que *Fusarium oxysporum* no causa ninguna enfermedad en maíz.

CONCLUSIÓN

En la prueba de PDA, se tuvo incidencia de *F.oxysporum* ;en semillas de maiz criollo amarillo se obtuvo un 50.05 % y en el negro el 44.10 %,mientras que en la prueba de papel húmedo y congelamiento el 27% de incidencia en el material criollo negro y el 54% de incidencia en el amarillo.

En la prueba de papel húmedo y congelamiento se encontraron: *F.oxysporum*,*Penicillium sp* y *Asperguillus sp*; los generos *Penicillium sp* y *Asperguillus* manifestaron una incidencia menor en comparación con *F.oxysporum*.

De acuerdo a la germinación obtenida en ambos materiales se concluye que a mayor germinación menor incidencia de hongos.

En los datos obtenidos de germinación se obtuvo que el material criollo negro una germinación del 98% ,mientras que el amarillo obtuvo un 99.5%.;en esta prueba se obtuvo el porcentaje de plantas normales,anormales y sin germinar ,el criollo negro mostro el 9.5% de plantas anormales mientras que el amarillo solo un 4.5%,asiendo la comparación el criollo negro muestra un rango máximo de tolerancia de 12%,mientras que el amarillo solo un 9% por lo que el amarillo es mas susceptible.

En la prueba de vigor por el método de envejecimiento acelerado la germinación en el material criollo negro bajo considerablemente a un 71%, mientras que el amarillo mostro un 97% en germinación,de acuerdo al promedio medio de las plantas normales se obtuvo que el criollo negro puede tolerar un rango máximo de tolerancia del 18% ,mientras que el amarillo tolera el 10%.(ver cuadro:3)

LITERATURA CITADA

- Anguiano RGL, Verver A, Vargas C y Guzmán-De Peña D. 2005. Inactivación de aflatoxina B₁ y aflatoxicol por nixtamalización tradicional del maíz y su regeneración por acidificación de la masa. Salud Pública de México 47:369-375. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092013000200005&script=sci_arttext
- Attwater, W.A. and Busch, L.V. 1980. Role of the sap beetle *Glischrochilus quadrisignatus* in the Epidemiology of *Gibberella corn* ear rot. Journal of plant pathology. 5:158-163.
- Benitez, T., Rincón, A.M., Limón, M.C., Codón, A.C. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology. Department of Genetics, University of Sevilla, Spain. 7:249-206.
- Castillo, F., E. Herrera, J. Romero, R. Ortega, M. Goodman, y M. Smith. 2000. Diversidad genética del maíz y su aprovechamiento in situ a nivel regional. En: CIAT, editor, Fitomejoramiento Participativo en América Latina y el Caribe. Mem. Simp. Internacional. Quito, Ecuador. Ago 31-Sep. 3. 1999. CIAT – Programa PRGA del CGIAR. Cali, Colombia. 7 p.
- Chen, M. H.; Kaur, P.; Dine, B.; Below, F.; Vincent, M. L. y Singh, V. 2013. Use of tropical maize for bioethanol production. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 29(8):1509-1515.
- Coker, R.D. (1997). Mycotoxins and their control: constraints and opportunities. NRI Bulletin 73. Chatham, Reino Unido: Natural Resources Institute.
- Carvajal M. 2013. Transformación de la aflatoxina B₁ de alimentos, en el cancerígeno humano aducto AFB₁-ADN. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas UNAM 16:109-120.

Cisneros, L.M.E. 2004. *Fusarium verticillioides* (Sacc) en híbridos y progenitores de sorgo tolerantes al frío. Tesis de maestría. Colegio de Posgraduados. Montecillos, Texcoco, Edo de México. 159 p.

Cleveland, D.A., D. Soleri, F. Aragón-Cuevas, J. Crossa y P. Gepts. 2005. Detecting (trans) gene flow to landraces in centers of crop origin: lessons from the case of maize in Mexico. *Environ. Biosafety Res.* 4:197-208.

Cuervo, J., A., Sánchez., V., Romero., T., Ramirez., M. 2014. *Hypocrea/Trichoderma viridescens* ITV43 with potential for biocontrol of *Moniliophthora roreri* Cif Par, *Phytophthora megasperma* and *Phytophthora capsici*. *African Journal of Microbiology Research*.

De León, C. 2004. Enfermedades del maíz; guía para su identificación en el campo. Programa de Maíz del CIMMYT. Cuarta edición. México, D.F.

De la Campa, R. *et al.* 2005. Modeling effects of environment, insect damage, and Bt genotypes on fumonisin accumulation in maize in Argentina and the Philippines. *Mycopathologia*, v. 159, n. 4.

De León, C. & Pandey, S. 1989. Improvement of resistance to ear and stalk rots and agronomic traits in tropical maize gene pools. *Crop Sci.*, 29: 12-17.

Dalie, D. *et al.*, 2012. Impact of *Pediococcus pentosaceus* strain L006 and its metabolites on fumonisin biosynthesis by *Fusarium verticillioides*. *Food Control*, v. 23, n. 2.

CIMMYT, 2003. Manual de laboratorio ``ensayos para la semilla de maíz y trigo``.

https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=Dc33MXPDP08C&oi=fnd&pg=PP1&dq=pruebas+de+sanidad++de+las+semillas+&ots=UX6logRPfb&sig=rf_8RtOtwySucFCXfqneIIMCcl4#v=onepage&q=pruebas%20de%20sanidad%20%20de%20las%20semillas&f=false

- FAO.1993. El maíz en la nutrición humana. Colección FAO: Alimentación y Nutrición 25.
- Fernandez,L.V.O.2001.Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario.Manejo integrado de plagas.62:96-100.
- Froment A, Gautier P, Nussbaumer A, Griffiths, A. Forecast of mycotoxins levels in soft wheat, durum wheat and maize before harvesting with Qualimetry. Journal of Consumer Protection and Food Safety. (2011) 6:277–281
- FAO.Food and Agriculture Organization.2010.FAOSTAT.<http://faostat.fao.org>
- Firrao, G. *et al.*2010.Prediction of milled maize fumonisins contamination by multispectral image analysis. Journal of Cereal Science, 52:327-330.
- González, H.A., Vázquez, G.L.M., Sahagún, C.J., Rodríguez, P.J.E., y Pérez, L.D.J. 2007. Rendimiento del maíz de temporal y su relación con la pudrición de mazorca. Agricultura Técnica en México 33: 33–42.
- González,I.,Infante.D.,Peteira ,B.,Arias,Y.,Gonzales,N.y Miranda,I.2010.Características bioquímicas de aislamientos de *Trichoderma* spp.promisorios como agentes de control biológico.I.expresion de actividad quitinasa.Revista Protección Vegetal.5(1):58-63.
- Guzmán-De Peña D. 2007. La exposición a la aflatoxina B₁ en animales de laboratorio y su significado en la salud pública. Salud Pública de México 49:227-235. Regeneración por acidificación de la masa. Salud Pública de México 47:369-375. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092013000200005&script=sci_arttext

- Gallardo Reyes, E. D.; G. M. Ibarra Moreno, R. I. Sánchez Mariñez, G. Cuamea Cruz, D. Molina Gil, N. V. Parra Guevara, E. C. Rosas Burgos y M. O. Cortez Rocha. 2006. Micro biota de maíz (*Zea mays* L.) recién cosechado y producción de fumonicinas B1 por cepas de *Fusarium verticillioides* (Sacco.) Nirenb. Revista Mexicana de Fitopatología 24:27-34. <http://www.fao.org/docrep/005/y1390s/y1390s06.htm#TopOfPage>
- García J, Tornero OB, Gimeno SC. 2001. Mico toxinas y cáncer pediátrico. Rev. Esp. Pediatr; 57: 279-280.
- Gilbertson R.L., Damicone C.W., and Minning, W.J. 1981. *Fusarium crown* rot of asparagus: sources of inoculums. Phytopathology. 71:218.
- Guédez, Clemencia, Cañizalez, Luis, Castillo, Carmen, Olivar, Rafael. 2012. Evaluación in vitro de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 32(1):44-49. http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562012000100009&lng=es&tlng=es.
- Harman, G.E. 2006. Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma spp.* Phytopathology. 96(2):190-194.
- Harman, G. 2000. Myths and Dogmas of Biocontrol Changes in Perceptions Derived from Research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease. 84(4):377-393. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis.2000.84.4.377>
- Howell, C. 2006. Understanding the Mechanisms Employed by *Trichoderma virens* to Effect Biological Control of Cotton Diseases. Phytopathology. 96(2):178-180. <http://dx.doi.org/10.1094/phyto-96-0178>
- Hernández DS, Reyes LA, Reyes MCA, García OJG y Mayek PN. 2007. Incidencia de hongos potencialmente tóxicos en maíz (*Zea mays* L.)

almacenado y cultivado en el norte de Tamaulipas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25:127-133

Hernández X., E. 1985. *Biología agrícola: los conocimientos biológicos y su aplicación a la agricultura*. México: Consejo Nacional para la Enseñanza de la Biología, CECSA.

Hesseltine, C.W., and Bothast, R.J.1977.Mold development in ears of corn from tasseling to harvest.*Mycologia*.69 (2):328-340.

Hoyos,C.L.,Chaparro,P.,Abramsky,M.,Chet,I.and Orduz,S.2008.Evaluation of *Trichoderma spp.*isolates against *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* under in vitro and greenhouse conditions.*Agronomia Colombiana*.Bogotá,Colombiana.26(3):451-458.

Koehler.B.1936.Entry of *Fusarium moniliforme* and *Cephalosporium acremonium* into growing corn ears.*Phytopathology*.26:98-99.

López M., R. 2011. Detección y cuantificación de *Trichoderma harzianum*, y evaluación de su actividad biocontrol frente a la Fusariosis vascular del melón mediante la aplicación de herramientas moleculares. Tesis Doctoral. Universidad de Alicante. España. www.intagri.com

Landero Valenzuela, N., Nieto Angel, D., Téliz Ortiz, D., Alatorre Rosas, R., Fredy Ortiz García, C., Orozco Santos, M. 2015. Biological control of anthracnose by postharvest application of *Trichoderma spp.* on maradol papaya fruit. *Biological Control*. 91:88-93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.08.002>

Liu, S., Liao, C., Lo, C., Yang, H., Lin, K., Peng, K. 2016. Chrysophanol is involved in the biofertilization and biocontrol activities of *Trichoderma*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 96:1-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pmpp.2016.06.003>

Martínez, B, Infante, D., Reyes, Y. 2013. *Trichoderma spp.*, y su función en el control de plagas en los cultivos. Revista de Protección Vegetal. 28(1):1-11. Recuperado en 10 de noviembre de 2016, de Tropical and Subtropical Agroecosystems, 20 (2017): 91 - 100 López-Ferrer et al., 2017 99

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522013000100001&lng=es&tlng=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522013000100001&lng=es&tlng=es)

Mendoza, E. M., Andrino, E.E., López, B.A., Rodríguez, G.R., Latournerie, M.L., Rodríguez, H.S.A. 2006. Tasa de infección de la pudrición del tallo en maíz causada por *Fusarium moniliforme*. Agronomía Mesoamericana 17: 19–24.

Mesterházy, A., M. Lemmens, y L.M. Reid. 2012. Breeding for resistance to ear rots caused by *Fusarium spp.* in maize — a review. Plant Breeding 132:1-19.

Montesano R. 1997. Hepatocellular carcinoma: from gene to public health. J Natl Cancer Inst; 89:1844- 52

Morales-Rodríguez, I., M.J. Yáñez-Morales, H.V. Silva Rojas, G. García-de-los-Santos, y D.A. Guzmán-de-Peña. 2007. Biodiversity of *Fusarium* species in Mexico with ear rot in maize, and their identification using a phylogenetic approach. Mycopathologia 163:31-39.

Moreno, M.E. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México. 383 p. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092010000200005&script=sci_arttext

Nayaka SC, Naranjada S.R., Uday Shankara A.C., S. Niranjan Raja SN, Reddyb M.S., Prakasha H.S. and Mortensenc C.N.2010. Seed biopriming with novel strain of *Trichoderma harzianum* for the control of toxigenic *Fusarium verticillioides* and fumonisins in maize. Archives of Phytopathology and Plant Protection,264-282
ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/cccf/cccf7/cf07_17s.pdf

Niño, C.V., Nicolás, M.C., Pérez, L.D.J. y González, H.A. 1998. Estudio de trece híbridos y cinco variedades de maíz en tres localidades del Valle Toluca-Atacomulco. Revista Ciencias Agrícolas Informa 12:33-43.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092011000100004&script=sci_arttext

Ortega Paczka, R. 2003. La diversidad del maíz en México. In Esteva, G., y C. Marielle (Coordinadores). Sin Maíz no hay País. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, Dirección General de Culturas Populares e Indígenas, México, D. F. pp. 123-154.

Paliwal, R. L. 2001 d. Origen, evolución y difusión del maíz. En: Paliwal, R. L.; Granados, G.; Lafitte, H. R.; Violic, A. D. y Marathée, J. P. (Eds.). El maíz en los trópicos. Mejoramiento y producción. Colección FAO: Producción y Protección Vegetal 28. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. Pp.5-9.

Paliwal, R. L. 2001 c. Usos del maíz. En: Paliwal, R. L.; Granados, G.; Lafitte, H. R.; Violín, A. D. y Marathée, J. P. (Eds.). El maíz en los trópicos. Mejoramiento y producción. Colección FAO: Producción y Protección Vegetal 28. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. pp. 45-55.

Paliwal, R. L. 2001 a. Introducción al Maíz y su importancia. En: Paliwal, R. L.; Granados, G.; Lafitte, H. R.; Violín, A., D. y Marathée, J. P. (Eds.). El maíz en los trópicos. Mejoramiento y producción. Colección FAO: Producción y Protección Vegetal 28. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. pp. 1-3.

Peraica M, Radic B, Lucic A, Pavlovic M. Toxic effects of Mycotoxins in humans. Bulletin of the Health Organization: World Health Organization; 1999, 77 Ref. No: 0024

Poehlman, J.M. 1987. *Breeding field crops*, 3rd ed. Westport, CT, USA, AVI Publishing. <http://www.fao.org/docrep/003/x7650s/x7650s10.htm>

Quintero-Benítez, J. A. y M. A. Apodaca- Sánchez. 2008. Las pudriciones de tallos en el maíz y su manejo en Sinaloa. I Curso sobre Manejo Sustentable del maíz; Resultados de Investigación en el Norte de Sinaloa. Universidad Autónoma de Sinaloa. Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte. Juan José Ríos, Sinaloa. México. 16 p.

Requena F, Saume E y León A. 2005. Mico toxinas: Riesgos y prevención. Zootecnia Tropical 23:393-410.

Rheeder, J.P., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Sydenham, E.W., Shephard, G.S. y van Schalkwyk, D.J. (1992). *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. *Phytopathology*, 82, 353-357.

<http://www.fao.org/docrep/005/y1390s/y1390s06.htm#TopOfPage>

Richarson, M. 1979. An annotated list of seed-borne diseases. England P. 98 105; 254 265.

Sedagro. 2007. Cierre agrícola 2006. Superficie cosechada y volumen de la producción de los principales productos agrícolas en temporal y riego por ciclo agrícola. Gobierno del Estado de México. Secretaría de Desarrollo Agropecuario. Metepec, edo. Méx., México. 1p.

Steyn. PS, Stander Ma.1999. Mycotoxins as causal factors of disease in humans. J. Toxicol.-Toxin Review; 18: 229-243.

Vavilov N.I. 1931. The problem concerning the origin of agriculture in the light of recent research. International congress of the history of science and technology, London, p. 95-106.

Valladares L.1998. Introducción al tema de mico toxinas y micotoxicosis. Bol Micología; 4:1-26

Vicente R., I. 2006. Problemática Fitosanitaria del Cultivo del Agave tequilera Weber var. Azul y la Participación de la Cadena Productiva Agave Tequila. 65-88 pp. In: Bernal, J. S., Orozco H.,

[file:///C:/Users/particular/Downloads/FT_Fusarium%20moniliforme_2011%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/particular/Downloads/FT_Fusarium%20moniliforme_2011%20(3).pdf)

Vinale,F.,Sivasithamparamb,K.,Ghisalbertic,E.L.,Marraa,R.,Woo,S.L .and Lorito,M.2008.*Trichoderma*-plant-pathogen interactions.Soil Biology and Biochemistry.40:1-10.

Wild CP, Hall AJ..1996. Epidemiology of mycotoxin-rela- 116 Aflatoxinas J.R. Urrego N y col. Actualitation ted disease. In: Howard, Miller, ed. The Mycota VI Human and Animal Relationships. Berlin: Springer - Verlag; 1996: 213-27. <http://www.bdigital.unal.edu.co/39279/1/43849-204683-1-PB.pdf>

Wellman, F.L. 1972. Tropical American plant disease (geotropically phytopathology problems). NJ, USA, the Scarecrow Press.

<http://www.fao.org/docrep/003/x7650s/x7650s10.htm>

Youssef, S., Tartoura, K., Abdelraouf, G. 2016. Evaluation of *Trichoderma harzianum* and *Serratia proteamaculans* effect on disease suppression, stimulation of ROS-scavenging enzymes and improving tomato growth infected by *Rhizoctonia solani*. *Biological Control*. 100:79-86. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.06.001>

APÉNDICE

Cuadro 7: Incidencia de hongos en maíz criollo-negro mediante la prueba de PDA por repetición.

Trat 1-Negro	n° Sem.Inf	% infección	Patogeno
REP 1	8	53.3333333	<i>F.oxysporum</i>
REP 2	7	46.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 3	7	46.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 4	4	26.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 5	15	100	<i>F.oxysporum</i>
REP 6	7	46.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 7	8	53.3333333	<i>F.oxysporum</i>
REP 8	2	13.3333333	<i>F.oxysporum</i>
REP 9	7	46.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 10	8	53.3333333	<i>F.oxysporum</i>
REP 11	3	20	<i>F.oxysporum</i>
REP 12	7	46.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 13	2	13.3333333	<i>F.oxysporum</i>
REP 14	5	33.3333333	<i>F.oxysporum</i>
REP 15	7	46.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 16	5	33.3333333	<i>F.oxysporum</i>
REP 17	12	80	<i>F.oxysporum</i>
REP 18	8	53.3333333	<i>F.oxysporum</i>
REP 19	10	66.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 20	7	46.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 21	6	40	<i>F.oxysporum</i>
REP 22	15	100	<i>F.oxysporum</i>
REP 23	7	46.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 24	12	80	<i>F.oxysporum</i>
REP 25	12	80	<i>F.oxysporum</i>
REP 26	12	80	<i>F.oxysporum</i>

Cuadro 8: Incidencia de hongos en maíz criollo-amarillo, mediante la prueba de PDA por repetición.

Trat 2-Amarillo	Incidencia	% incidencia	Patogeno
REP 1	15	100	<i>F.oxysporum</i>
REP 2	7	46.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 3	7	46.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 4	9	60	<i>F.oxysporum</i>
REP 5	6	40	<i>F.oxysporum</i>
REP 6	5	33.3333333	<i>F.oxysporum</i>
REP 7	1	6.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 8	4	26.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 9	4	26.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 10	5	33.3333333	<i>F.oxysporum</i>
REP 11	7	46.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 12	13	86.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 13	12	80	<i>F.oxysporum</i>
REP 14	6	40	<i>F.oxysporum</i>
REP 15	4	26.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 16	6	40	<i>F.oxysporum</i>
REP 17	15	100	<i>Trichoderma</i>
REP 18	7	46.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 19	7	46.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 20	10	66.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 21	7	46.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 22	0	0	<i>F.oxysporum</i>
REP 23	7	46.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 24	1	6.6666667	<i>F.oxysporum</i>
REP 25	6	40	<i>F.oxysporum</i>
REP 26	1	6.6666667	<i>F.oxysporum</i>

Cuadro 9: Incidencia de hongos en semillas de maíz criollo por el método de papel húmedo y congelamiento.

Tratamiento	Repetición	Incidencia	% Incidencia	Patógeno
1-Negro	1	11	22	<i>F.oxysporum</i>
	2	10	20	<i>F.oxysporum</i>
		6	12	<i>F.oxysporum</i>
	3	8	16	<i>F.oxysporum</i>
	4	26	52	<i>F.oxysporum</i>
	5	13	26	<i>F.oxysporum</i>
	6	11	22	<i>F.oxysporum</i>
	7	11	22	<i>F.oxysporum</i>
		8	16	<i>Aspergillus sp</i>
	8	19	38	<i>F.oxysporum</i>
2-Amarillo	1	31	62	<i>F.oxysporum</i>
	2	26	52	<i>F.oxysporum</i>
		3	6	<i>Aspergillus sp</i>
	3	23	46	<i>F.oxysporum</i>
		2	4	<i>Penicilium sp</i>
	4	19	38	<i>F.oxysporum</i>
		8	16	<i>Penicilium sp</i>
	5	21	42	<i>F.oxysporum</i>
	6	24	48	<i>F.oxysporum</i>
		5	10	<i>Aspergillus sp</i>
	7	35	70	<i>F.oxysporum</i>
	8	38	76	<i>F.oxysporum</i>
			4	8

ANÁLISIS DE VARIANZA

INCIDENCIA DE HONGOS EN SEMILLAS DE MAÍZ CRIOLLO-PDA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	1	821.328125	821.328125	1.3159	0.256
ERROR	50	31208.539063	624.170776		
TOTAL	51	32029.867188			

C.V. = 51.97 %

TABLA DE MEDIAS

TRATA.	REP.	MEDIA	Agrupación
1	26	50.051285	A
2	26	44.102562	A

Misma letra no representa diferencia estadística entre tratamientos de acuerdo a Tukey al 0.05

ANÁLISIS DE VARIANZA

INCIDENCIA DE HONGOS EN SEMILLAS DE MAÍZ CRIOLLO

PRUEBA-PAPEL HUMEDO Y CONGELAMIENTO

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	1	841.000000	841.000000	22.4374	0.001
ERROR	14	524.750000	37.482143		
TOTAL	15	1365.750000			

C.V. = 27.06 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
-------------	-------

2 29.8750 A

1 15.3750 B

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

ANÁLISIS DE VARIANZA

PRUEBA DE GERMINACIÓN –TOALLAS DE PAPEL

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	1	1.125000	1.125000	2.4545	0.167
ERROR	6	2.750000	0.458333		
TOTAL	7	3.875000			

C.V. = 1.37 %

TABLA DE MEDIAS

TRATA.	REP.	MEDIA
1	4	49.000000
2	4	49.750000

No se hace comparación de medias porque no hay diferencia significativa entre tratamientos.

ANÁLISIS DE VARIANZA

PRUEBA DE VIGOR. % GERMINACIÓN /ENVEJECIMIENTO ACELERADO

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	1	338.000000	338.000000	28.9714	0.002
ERROR	6	70.000000	11.666667		
TOTAL	7	408.000000			

C.V. = 8.13 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
-------------	-------

2 48.5000 A

1 35.5000 B

VALORES DE DMS

dms(2 1) = 5.9101

dms(1 2) = 5.9101

ANÁLISIS DE VARIANZA

PRUEBA DE VIGOR POR EL MÉTODO DE ENVEJECIMIENTO ACCELERADO

PLANTAS NORMALES

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	1	1984.500000	1984.500000	432.9818	0.000
ERROR	6	27.500000	4.583333		
TOTAL	7	2012.000000			

C.V. = 6.91 %

RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
-------------	-------

2 46.7500 A

1 15.2500 B

VALORES DE DMS

dms(2 1) = 3.7043

dms(1 2) = 3.7043

ANÁLISIS DE VARIANZA

PRUEBA DE VIGOR - ENVEJECIMIENTO ACELERADO

PLANTAS ANORMALES

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	1	684.500000	684.500000	109.5200	0.000
ERROR	6	37.500000	6.250000		
TOTAL	7	722.000000			

C.V. = 22.73 %

RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
-------------	-------

1 20.2500 A

2 1.7500 B

VALORES DE DMS

dms(1 2) = 4.3257

dms(2 1) = 4.3257

ANÁLISIS DE VARIANZA

PRUEBA DE VIGOR -ENVEJECIMIENTO ACELERADO

SEMILLAS SIN GERMINAR

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	1	338.000000	338.000000	28.9714	0.002
ERROR	6	70.000000	11.666667		
TOTAL	7	408.000000			

C.V. = 42.70 %

RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
-------------	-------

1 14.5000 A

2 1.5000 B

VALORES DE DMS

dms(1 2) = 5.9101

dms(2 1) = 5.9101

ANÁLISIS DE VARIANZA

PRUEBA DE VIGOR-PESO HÚMEDO

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	1	13.992188	13.992188	4.2704	0.083
ERROR	6	19.659180	3.276530		
TOTAL	7	33.651367			

C.V. = 7.19 %

TABLA DE MEDIAS

TRATA.	REP.	MEDIA
1	4	23.855000
2	4	26.500000

No se hace la comparación de medias porque no hay
diferencia significativa entre tratamientos

ANÁLISIS DE VARIANZA
PRUEBA DE VIGOR-PESO SECO

FV	GL	SC	CM	F	P>F
<hr/>					
TRATAMIENTOS	1	10.057617	10.057617	18.6570	0.005
ERROR	6	3.234482	0.539080		
TOTAL	7	13.292099			

C.V. = 17.77 %

RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
-------------	-------

2	5.2525 A
---	----------

1	3.0100 B
---	----------

VALORES DE DMS

dms(2 1) = 1.2704

dms(1 2) = 1.2704

ANÁLISIS DE VARIANZA

CRECIMIENTO RADICAL

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	1	7.372803	7.372803	8.0151	0.029
ERROR	6	5.519165	0.919861		
TOTAL	7	12.891968			

C.V. = 6.76 %

RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
-------------	-------

1 15.1575 A

2 13.2375 B

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

ANÁLISIS DE VARIANZA
CRECIMIENTO DE PLÚMULA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	1	5.232483	5.232483	6.1242	0.047
ERROR	6	5.126404	0.854401		
TOTAL	7	10.358887			

C.V. = 9.20 %

RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
2	10.8525 A
1	9.2350 B