

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Identificación de Hongos Asociados a la Pudrición de la Mazorca en 4 genotipos de maíz *Zea mays* L.

Por:

PEDRO CORTÉS MARTÍNEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITOÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Identificación de Hongos Asociados a la Pudrición de la Mazorca en 4 genotipos de maíz *Zea mays* L.

Por:

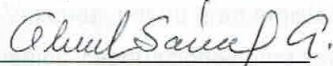
PEDRO CORTÉS MARTÍNEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de.

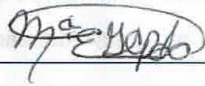
INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



M.C. Abiel Sánchez Arizpe

Asesor principal



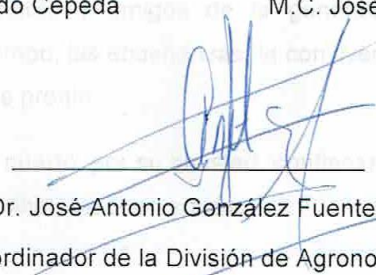
Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda

Coasesor

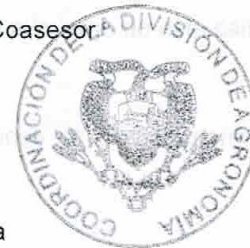


M.C. José Luis Arispe Vázquez

Coasesor


Dr. José Antonio González Fuentes

Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2019

AGRAECIMIENTOS

A Dios, por haberme permitido llegar hasta este día, ser siempre mi fortaleza cuando me sentí débil, guiarme protegerme a lo largo del camino.

A mi Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por haberme recibido y permitirme ser parte de ella, darme los conocimientos, prepararme para la vida, ayudarme a culminar mis estudios de nivel licenciatura, darme la gran dicha de ser un buitre y además ser llamado Ingeniero Agrónomo Parasitólogo.

Al M.C. Abiel Sánchez Arizpe, por brindarme su amistad, tiempo, transmitirme grandes conocimientos a lo largo de este periodo, por ser mi asesor y haberme permitido la realización de este trabajo, por su dedicación, esmero y aportaciones en la revisión de este, para su correcta elaboración.

Al M.C. José Luis Arispe Vazquez, por su gran amistad durante esta gran trayectoria, el tiempo, sus buenos consejos y aportaciones para llevar a cabo este trabajo, muchas gracias.

A todos los maestros del departamento de Parasitología por haberme brindado su tiempo y transmitirme los conocimientos que será la herramienta más valiosa para los problemas laborales que se presenten.

A todos mis compañeros y amigos de la generación de Ingeniero Agrónomo Parasitólogo, por el tiempo, las enseñanzas, la convivencia a lo largo de este camino, espero poder reunirnos pronto.

A mis compañeros de cuarto, por su amistad, confianza, todos los buenos momentos en esta etapa que culmina, muchas gracias.

DEDICATORIA

A mis padres Vicente Cortes Rodríguez, María Belinda Martínez Ventura. Por su amor, apoyo y cariño incondicional, estar siempre en los peores momentos de mi vida, este triunfo es de ustedes se lo dedico con todo mi amor.

A mis hermanos Gabriela y Carlos. Gracias por su apoyo, amor y buenos consejos, estar siempre en mi vida, los quiero mucho.

A mis abuelas Isabel y Silvia. Darne siempre motivación, su cariño y amor. Por qué sin ellas este logro no hubiese sido posible.

A mis tíos Rafael, Diego, Dagoberto y Álvaro. Por siempre estar al pendiente y darne sus buenos consejos, muchas gracias.

A mis tías Matilde y Leticia. Por darne su cariño y apoyo incondicional, este logro también es de ustedes, ya que sin ustedes esto no lo habría podido lograr.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIA.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
INDICE DE CUADROS	viii
RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	2
OBJETIVOS.....	2
HIPÓTESIS	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Origen del Maíz	3
Generalidades del Maíz	3
Clasificación Taxonómica de <i>Zea mays</i> de acuerdo a Linneo (1753).....	3
Importancia del Maíz.....	4
Importancia Mundial.....	4
Importancia Nacional	5
Importancia Estatal	5
Importancia de la Identificación de los Fitopatógenos en la Agricultura.....	5
Importancia de la Calidad de la Semilla.....	6
Factores Asociados a las Pérdidas del Maíz	6
Hongos Asociados a la Pudrición de la Mazorca.....	7
Daño del Patógeno a las Plantas.....	7
Importancia de las Micotoxinas.....	8
Impacto en la Salud por Micotoxinas	9

Defensa de las Plantas a los Hongos fitopatógenos.....	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
Ubicación del Muestreo	11
Genotipos y Repeticiones	12
Ubicación del Experimento	12
Elaboración de medio de cultivo PDA.....	14
Aislamiento del hongo.....	14
Purificación por cultivos monoconidiales	14
Elaboración de montas	15
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
Identificación de los patógenos.....	16
CONCLUSIÓN	20
LITERATURA CITADA.....	21
APÉNDICE.....	27

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Colecta de maíz	11
Figura 2. Ubicación del muestreo.....	11
Figura 3. Departamento de Parasitología	12
<i>Figura 4.</i> Cámaras húmedas en un periodo de 24 h	13
Figura 6. Cámaras húmedas en el congelador.	13
Figura 5. Cámaras húmedas en incubación.....	14
Figura 8. Estructura de <i>Acremonium</i> sp.....	16
Figura 9. Estructura de <i>Aspergillus</i> sp.	17
Figura 10. Estructura de <i>Monilia</i> sp.	17
Figura 11. Estructura de <i>Penicillium</i> sp.	18
Figura 12. Estructura de <i>Trichoderma</i> sp.	18
Figura 13. Estructura de <i>Trichothecium</i> sp.	19
Figura 14. Incidencia total de los géneros de hongos en los cuatro genotipos	19

INDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Genotipos y Repeticiones.....	12
Cuadro 2. Incidencia de los genotipos	27
Cuadro 3. Análisis de varianza de incidencia de hongos	27
Cuadro 4. Resultados de la comparación de medias	28

RESUMEN

El cultivo de maíz es la base de la alimentación para México, el objetivo de este trabajo fue identificar la microbiota fúngica en cuatro genotipos de maíz Tepalcingo, Morelos. Se realizó de acuerdo a la prueba papel secante y congelamiento, se tomaron 1000 semillas de maíz por cada genotipo, las cuales se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3 % (2 veces) y posteriormente se enjuagaron con agua destilada por 1 min. (2 veces). La siembra fue realizada en charolas de plástico 18.5 x 25 cm, sobre papel secante estéril previamente humedecido, las charolas se mantuvieron a temperatura ambiente de $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 11 días en la cámara bioclimática del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Terminado el periodo de la incubación, se procedió a contar y aislar el número de las colonias de hongos por su color por repetición, para su posterior purificación e identificación, así como las semillas sanas, es decir, aquellas que no presentaron crecimiento de micelio y la incidencia reportándose como porcentaje de semilla colonizada, analizando los datos en el programa de la Universidad de Nuevo León versión 2.5, la separación de medias mediante la prueba de Tukey al 0.05 de significancia. Se observó diferencia estadística entre la incidencia de hongos en los genotipos de maíz $P > F 0.00$, con un coeficiente de variación del 32.20, los genotipos de Tepalcingo con una media del 45.50, 63.40, 66.35 y 79.40% en los genotipos H-507, Zapata 7, H-515 y el Criollo Rojo, respectivamente.

Palabras claves:

Pedro Cortés Martínez. Pedro.cor77@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Entre las enfermedades de mayor importancia económica en el maíz (*Zea mays* L.) se encuentra la pudrición de mazorca causada por *Fusarium* spp., la cual se localiza en todas las regiones donde se siembra maíz, principalmente en zonas tropicales con alta humedad relativa.

Este patógeno es capaz de colonizar y causar daño en todas las etapas del cultivo hasta producción y sobrevivir amplios periodos en residuos vegetales (Thomas y Buddenhagen, 1980; Desjardins *et al.*, 1994; De León, 1997; Mendoza *et al.*, 2003).

En semilla, puede invadir y ocasionar manchas en el exterior, reduciendo la tasa de germinación por la muerte del embrión (De León, 1997; González *et al.*, 2007; Morales *et al.*, 2007), además, produce micotoxinas que afectan la salud humana y animal (Robledo *et al.*, 2001; Bakan *et al.*, 2002; Desjardins *et al.*, 2006).

La severidad de esta enfermedad en maíz causa un efecto directo en la disminución del rendimiento, para el centro de México, oscila entre 6-55% (González *et al.*, 2007; Briones *et al.*, 2015) y en la zona agrícola de Sinaloa se reportan pérdidas mayores a 30% (García *et al.*, 2012).

La incidencia de pudrición se ha incrementado en los últimos años, debido en parte al efecto de la precipitación desde la formación de la espiga hasta la cosecha, y a la presencia de daño mecánico en la mazorca y del grano provocado por el gusano elotero (*Helicoverpa zea* B.), gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* L.) y otros insectos, los cuales contribuyen a la diseminación de las esporas de *Fusarium* (De León, 1997; Paliwal *et al.*, 2001; Wu, 2006).

JUSTIFICACIÓN

Debido al gran problema que causa la enfermedad de la pudrición de la mazorca en el cultivo de maíz, afectando la calidad y producción de dicho cultivo es importante identificar los hongos fitopatógenos asociados para su estudio y control, reduciendo la brecha en esta problemática.

OBJETIVOS

- Identificar los distintos géneros de hongos en 4 genotipos de maíz.

HIPÓTESIS

Se espera encontrar al menos 3 diferentes géneros de hongos relacionados con la pudrición de la mazorca en maíz.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen del Maíz

El maíz se empezó a cultivar desde hace unos 7.000 a 10.000 años (Hallauer y Carena, 2009) y una de las más antiguas evidencias sobre el origen del maíz se encuentra en unos restos arqueológicos situados en México en las que se encontraron unas mazorcas de maíz datadas en más de 5.000 años de antigüedad.

El origen del maíz se ubica en Mesoamérica (entre las regiones montañosas de Guatemala y México), siendo los Andes Centrales el segundo centro de diversificación (Tapia y Fries, 2007; Acosta, 2009).

Generalidades del Maíz

El maíz debido a sus tipos ampliamente divergentes crece en un amplio rango de condiciones climáticas. La mayor producción ocurre donde las isoterms de los meses más cálidos están en el rango de 21° a 27°C. Es cultivado en áreas tropicales, subtropicales y templadas, la mayor proporción de maíz es producido en latitudes entre 30- a 55° y en altitudes que van desde el nivel del mar hasta varios miles de metros sobre el mismo (Shaw, 1988).

Clasificación Taxonómica de *Zea mays* de acuerdo a Linneo (1753)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: *Zea*

Especie: *mays*

Importancia del Maíz

El maíz goza de gran importancia económica mundial ya sea como alimento humano, para el ganado o como materia prima de un gran número de productos industriales. Cerca del 40% del maíz producido en los países tropicales se usa para la alimentación animal, concretamente para ganado y establecimientos avícolas (Paliwal, 2001).

Desde el punto de vista alimentario, político, económico y social, el maíz es el cultivo más importante de México (SIAP, 2007). El consumo per cápita de maíz del país es aproximadamente 10 veces mayor que el de Estados Unidos de América, es decir, 196 kg por anuales (Serna-Saldívar y Amaya Guerra, 2008).

Este cereal cubre poco más de la mitad de la superficie agrícola sembrada, con aproximadamente 7.5 millones de hectáreas (SIAP, 2011). La dieta de una población particular forma parte de la memoria colectiva, y no solo comprende la ingesta de alimentos, sino también expresa relaciones socioeconómicas y hace patente actos profundamente cargados de simbolismo cultural (García-Urigüen, 2012).

Importancia Mundial

Son muchos los países que se dedican al cultivo del maíz, siendo los que más cantidad producen son; Estados Unidos, China, Brasil, México y Argentina. El maíz tropical se cultiva en 66 países, siendo importante económicamente en la mayoría de ellos. En el año 2016 la producción de maíz en el mundo es de 1,025 millones de toneladas, en el cual el continente de América produjo el 50.9%, Asia el 31.9, Europa el 9.7, África el 7.4 y Oceanía el 0.1 (FAOSTAT, 2017; FIRA, 2016).

México es uno de los principales productores de maíz en el mundo, de acuerdo al FAOSTAT, (2017) durante ese ciclo México ocupó el 7° lugar en la producción de maíz en el mundo, con una producción de 27, 762, 481 t, ocupando el primer lugar en producción Estados Unidos, con 370, 960, 390 t, es decir, México apenas logró producir el 7.48% de lo que produjo el principal productor a nivel global.

Importancia Nacional

De acuerdo al SIAP (2017) en México se obtuvo una producción de 8, 758,364 t de maíz, en una superficie de siembra de 1, 263,149 ha, siendo el estado de Sinaloa el primer lugar con un 68.11%, el estado de Tamaulipas el segundo lugar con un 9.25% y el estado de Veracruz aportando el 5.11% de la producción nacional.

Importancia Estatal

De acuerdo al SIAP (2017) en el estado de Morelos se sembraron 33,884 ha de maíz, produciendo 87,136 t, teniendo una producción de 3.411 t ha⁻¹.

Importancia de la Identificación de los Fitopatógenos en la Agricultura

En la agricultura mundial los hongos fitopatógenos son causantes de enfermedades de pre y postcosecha de los cultivos de hortalizas, cereales y frutales, responsables de pérdidas económicas cuantitativas, el daño que ocasiona no solo se refiere a las pérdidas de producción económica, sino también en las pérdidas de producción biológica, es decir, las pérdidas que existen en el crecimiento y desarrollo de las plantas hospedantes atacadas por estos microorganismos (Agrios, 2005).

Se considera que existen más 8000 especies de hongos que producen enfermedades en las plantas. La mayoría de las plantas pueden ser atacadas por un tipo de hongo (por uno o varios) y también se sabe que un mismo hongo fitopatógeno puede infectar a una o más tipos de plantas, aun que sean de diferentes familias, aun que algunos solo se desarrollan como parásitos. Generalmente, los cuerpos reproductivos del hongo se forman en la superficie de los tejidos de la planta huésped (o muy cerca de ella), lo cual causa que las esporas se dispersen rápida y fácilmente (García, 2004).

Estos microorganismos constituyen un grupo de gran importancia en la agricultura debido a su gran número y capacidad de reproducción, lo que con frecuencia dificulta su control, ocasionando grandes pérdidas económicas y además aumentan los costos

de producción, al tener que establecer medidas para tratar de controlarlos (García, 2004).

En epidemiología es muy importante la identificación no solo del microorganismo en cuestión, de acuerdo a Olive y Bean (1999) la identificación a nivel de cepas o razas ayuda a:

- 1.- Determinar el causante del brote infeccioso.
- 2.- Detectar la transmisión cruzada de patógenos.
- 3.- Determinar la fuente de infección.
- 4.- Reconocer cepas particularmente virulentas de organismos.
- 5.- Monitorear los programas de prevención.

Importancia de la Calidad de la Semilla

De acuerdo a Vilorio y Méndez (2011) la calidad de la semilla tiene un efecto fundamental en el rendimiento del cultivo, por lo que resulta de suma importancia poder discriminar entre diferentes lotes de semillas. Semillas de alta calidad podrían sembrarse en condiciones no óptimas, o podrían ser almacenadas por mayor tiempo en comparación con lotes de menor vigor, pero dentro del rango de calidad. El vigor de las semillas es un factor muy importante, sobre todo por el incremento de los costos de las mismas.

Factores Asociados a las Pérdidas del Maíz

Los principales factores que generan pérdidas durante la producción y la postcosecha son las pérdidas por sequía (17%), pérdidas por la infertilidad del suelo (20%), pérdidas por enfermedades foliares (5%), pérdidas por la pudrición de la mazorca (5%), pérdida por barrenadores del tallo (18% o más), pérdida por insectos en pos cosecha (10-20%) o pérdidas por plantas parásitas del género *Striga* (15%). Las plagas son un problema muy importante causando un gran perjuicio a los agricultores que no disponen de

medios suficientes para combatirlas. Aun así, los gobiernos deben facilitar a los agricultores información y entrenamiento en manejo de plagas (García-Lara y Bergvinson, 2007).

Hongos Asociados a la Pudrición de la Mazorca

Jugenheimer (1981) reportó como causantes de la pudrición de la mazorca los hongos: *Diplodia* sp., *Fusarium moniliforme*, *Gibberella* sp., *Physalospora zeae*, *Rhizoctonia zeae*, *Cladosporium herbarum*, *Nigrospora oryzae*, *Penicillium oxalicum*, *Aspergillus* sp., *Ustilago maydis*, *Helminthosporium carbonum*, *Sphacelotheca reihana*, *Sclerospora macrospora*, *Macrophomina* sp. y *Botryodiplodia* sp. Los primeros dos son los más importantes debido a que pueden afectar granos, hojas y raíces.

En el maíz, la pudrición de tallo y mazorca está asociado con *F. verticillioides* (moniliforme) Sheld y *F. graminearum* Schwabe. Sin embargo, la incidencia de enfermedades está relacionada con la susceptibilidad intrínseca de algunos materiales de maíz, el manejo del riego y fertilización como un bajo nivel de potasio en relación al nitrógeno, heridas mecánicas o por insectos y las condiciones ambientales (sequía, altas temperaturas y extensos períodos nublados) a las que se exponen las plantas durante su desarrollo (González *et al.*, 2007; De Souza, 2007; Plantpro, 2010).

Los agentes más importantes de *Fusarium* asociados a la pudrición de la mazorca son: *F. verticillioides*, *Fusarium graminearum*, *F. proliferatum* y *F. subglutinans*. De todos ellos, *F. verticillioides* y *F. graminearum* son los más frecuentes. La incidencia de *F. verticillioides* es alta (mayor al 20% y hasta 100%), en cambio la incidencia de *F. graminearum* es baja (Carmona y Scandiani, 2011).

Daño del Patógeno a las Plantas

De acuerdo a Cornide *et. al.* 1985 los patógenos dañan a la planta de las siguientes dos formas:

- 1) Por producción de toxinas patogénicas.
- 2) Por sustracción de sustancias indispensables del patógeno al huésped.

Importancia de las Micotoxinas

Las micotoxinas son grupos de compuestos químicos que son producidos por algunos hongos filamentosos. Existen muchos tipos de micotoxinas y entre las más conocidas y frecuentes se encuentran: las aflatoxinas B1 (AFB1) y M1 (AFM1), ocratoxina A (OTA), fumonisina B1 (FB1), vomitoxina o desoxinivalenol (DON) y patulina. Estas toxinas son de gran interés por sus repercusiones toxicológicas para animales y, naturalmente, para el hombre. Las micotoxinas son un grupo de metabolitos orgánicos que exhiben pesos moleculares relativamente bajos y, aunque son muy diversos, se presentan con cierta frecuencia específica de acuerdo con el organismo que las produce. Las micotoxinas más conocidas son las aflatoxinas, las cuales son producidas por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. Estas toxinas son consideradas, por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC), como potentes carcinógenos en humanos (EHSO, 2004; Kuiper-Goodman, 1999; Sendra y Carbonell, 1999).

Durante su ciclo de vida, las plantas enfrentan una gran cantidad de factores ambientales adversos para su desarrollo tales como sequía, falta de nutrientes, etc., por lo que son susceptibles al ataque por diversos patógenos como hongos, virus, bacterias e insectos. El desarrollo de hongos filamentosos en diversos cultivos es uno de los más graves problemas en el ámbito mundial, ya que estas especies biológicas son las que pueden producir micotoxinas durante su desarrollo. Su ingestión está directamente relacionada con una serie de enfermedades entre las cuales se pueden destacar cáncer en hígado y riñón, cirrosis, gastritis crónica, cáncer de esófago, daños respiratorios, hepatitis, etc. (Peña y Durán-de-Bazúa, 1990; EHSO, 2004; Peraica, 2000).

Impacto en la Salud por Micotoxinas

La distribución y contaminación por hongos filamentosos de cereales, semillas oleaginosas y otros cultivos, se encuentra ampliamente documentada en la literatura. La FAO estima que el 25% de los cultivos del mundo se encuentran contaminados con micotoxinas (FAO, 2003).

Estos metabolitos tóxicos se han encontrado en alimentos como cereales (maíz, arroz, sorgo, trigo, etc.), leguminosas, (fríjol de soya y cacahuates), nueces, pistaches, etcétera, así como en alimentos procesados como cerveza, café instantáneo, chocolate instantáneo, tortillas, panes, etc. Los efectos sobre la salud animal y humana se conocen como micotoxicosis. Estos alimentos contaminados por micotoxinas representan un gran riesgo para la salud del hombre y animales y, a consecuencia de ello, se presentan pérdidas económicas por problemas de salud muy importantes ya que no siempre se asocian a las micotoxicosis sino que se piensa que son causadas por otras enfermedades (Bata y Lásztity, 1999; Bonifaz, 2002).

Factores Ambientales que Favorecen a los Hongos en las Semillas de Maíz

La humedad relativa ideal para los hongo es de 70%, con una temperatura que oscila entre 15°C a 25°C facilitan su desarrollo, el oxígeno y dióxido de carbono influyen fuertemente en el crecimiento de los hongos en los granos y las semillas almacenados, lo que está relacionado con el volumen y la porosidad de las semillas almacenadas (Noria, 2010).

Defensa de las Plantas a los Hongos fitopatógenos

Las plantas pueden presentar una defensa pasiva o preformada (preexistente), si está determinada por propiedades ya existentes antes del intento de infección del patógeno; también denominados factores constitutivos, o una defensa activa o inducida, dinámica, si resulta de estructuras o sustancias producidas como respuesta a la penetración del patógeno. (Cornide *et. al.*, 1985; Veitía, 1999; Malaguti, 1997).

Barreras estructurales o físicas de las plantas (presencia de pelos, cera cuticular, grosor de la cutícula y de la pared celular, composición de la pared celular, forma, tamaño y comportamiento de los estomas, lenticelas, tejido interno de la planta, suberificación) Es la primera línea de defensa de las plantas (huésped) ante el ataque de los patógenos en su superficie, en la cual estos últimos deben penetrar para causar infección (Veitía, 1999; Malaguti, 1997; Pdipas, 2003; Altieri y Muñoz, S.A).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Muestreo

El muestreo se realizó en Tepalcingo, Morelos en el ejido el Marranero, geográficamente se ubica entre los paralelos 18°26' de latitud norte y los 98°18' de longitud oeste del meridiano de Greenwich, a una altura de 1100 metros sobre el nivel del mar.



Figura 6. Colecta de maíz

Limita al norte con Ayala y Jonacatepec; al sur con Tlaquiltenango y el Estado de Puebla; al este con Axochiapan y Jonacatepec; y al oeste con Ayala y Tlaquiltenango (ver figura 2).



Figura 8. Ubicación del muestreo

Genotipos y Repeticiones

Se utilizaron 4 genotipos de maíz de la región, 3 híbridos y un criollo, proporcionados por la empresa Agrícola El caudillo de Tepalcingo Morelos. Se obtuvo un total de 80 tratamientos (ver cuadro 1).

Cuadro 2. Genotipos y Repeticiones

N°	Genotipo	Repeticiones
1	H-515	20
2	Zapata 7	20
3	H-507	20
4	Criollo Rojo	20

Ubicación del Experimento

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



Figura 9. Departamento de Parasitología

Pruebas de Papel Secante y Congelamiento

Se realizó de acuerdo a la prueba del manual de laboratorio para la semilla de maíz y trigo CYMMYT (2003), modificada, se tomaron 1000 semillas de maíz con 20 repeticiones de 50 semillas.

Primero se colocaron de manera equidistante 50 semillas (desinfectadas en hipoclorito de sodio al 3,0%) sobre una charola de plástico con 2 capas de papel de estraza previamente humedecido, siendo esta una repetición por genotipo, siendo 20 repeticiones por genotipo, siendo un total de 80 charolas por los 4 genotipos y posteriormente se dejaron en la cámara bioclimática a temperatura ambiente durante 24 horas (Figura 5).



Figura 10. Cámaras húmedas en un periodo de 24 h

A continuación, se pusieron en congelación en el ultra congelador del laboratorio de Parasitología Molecular a -20°C por 24 h (Figura 6).



Figura 6. Cámaras húmedas en el congelador

Al concluir el tiempo de congelación las charolas se colocaron en la cámara bioclimática durante 7 días a 26 ° C en ciclos de 12 h de luz y 12 h oscuridad.



Figura 11. Cámaras húmedas en incubación

Elaboración de medio de cultivo PDA.

Se pesó 27.3 g de papa-dextrosa-agar, (PDA) sintético (MC LAB) en una balanza analítica, se vertió al matraz de 1 L y posteriormente se agregaron 700 mL de agua destilada, sellando el matraz con pape aluminio y se agitó de manera constante por un lapso de 1 min hasta tener una mezcla homogénea. A continuación, se colocó dentro de una olla de presión a 120° C por 15 minutos para una correcta esterilización, enseguida se dejó enfriar por un periodo de 45 minutos y dentro de una campana de flujo laminar se realizó el llenado de las placas de Petri para su solidificación.

Aislamiento del hongo

Al ver el desarrollo de las diferentes colonias de fungosas se procedió a aislar los patógenos observados con un asa bacteriológica estéril se tomó una muestra del hongo (micelio) y transfirió a una placa de Petri con medio de cultivo PDA, las cuales se incubaron a una temperatura de 25 ± 2 C° por 7 días.

Purificación por cultivos monoconidiales

Se extrajeron explantes de 5 mm de diámetro de cada colonia de hongo aislado y se colocaron en tubos de ensayo con 9 mL de agua destilada y se extrajo 1 mL, el cual se colocó en una placa de Petri con medio de cultivo PDA y con una asa estéril se dispersó, pasando 24 h en un microscopio de disección con una aguja de disección se tomó un conidio germinado y se colocó en placas de Petri con PDA, incubándose a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 120 h.

Elaboración de montas

En primer lugar, se colocó una gota de lacto fenol en la porta objetos, enseguida con una aguja de disección se extrajo una pequeña muestra de micelio y se coloca en la porta objetos, y posteriormente se colocó el cubre objetos, sellándose con esmalte transparente para su posterior análisis.

Análisis Estadístico

Los resultados de la incidencia se manejaron en términos de porcentaje, y se utilizó un diseño completamente al azar, la prueba de Tukey al 0.05 de significancia. Utilizando el paquete de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.5.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de los patógenos

La identificación se llevó a cabo en base al manual de laboratorio para semillas de maíz y trigo CIMMYT (Warham *et al.*, 2003), con la ayuda de un microscopio compuesto con los objetivos de 5x, 10, y 40x. Se detectaron 6 colonias de colores diferentes, identificándose los siguientes hongos fitopatógenos.

En la colonia de color blanco se observaron características pertenecientes al género *Acremonium*, micelio hialino y septado con conidióforos largos, los cuales terminan en conidios agrupados simulando una cabeza. (Figura 8), Wicklow *et al.* 2005 reportó a *Acremonium zeae* como un endófito protector del maíz, capaz de inhibir a *Aspergillus flavus* y a *F. verticillioides*, del cual el segundo hongo es el principal causante de la pudrición de la mazorca, sin embargo, en este trabajo no estuvo presente, pero si se presentó una especie del género *Aspergillus*.



Figura 8. Estructura de *Acremonium* sp.

En la colonia de color verde se observaron características del género *Aspergillus*, cabezas esféricas, filídicas y conidios que tienden a ser más pequeños (Figura 9).



Figura 9. Estructura de *Aspergillus* sp.

La colonia de color café se apreció características del género *Monilia* cadenas ramificadas de conidios hialinos con apariencia de cuentas esféricas o en forma de huevo (Figura 9), saprófito común conefectos insignificantes en la mazorca de maíz (Warham *et al.*, 2003).



Figura 10. Estructura de *Monilia* sp.

La colonia que presento color amarillo presento características del género *Penicillium*, conidióforos largos que se ramifican en forma de escoba, con fiáldas en formas de frasco que producen largas cadenas de abundantes conidios, la estructura semejante en forma a un cepillo (Ver figura 11). En una investigación realizada sobre la especie

Penicillium con semillas de maíz según (Pascual *et al.*, 2000) es capaz de cumplir eficazmente como agente de biocontrol a *Fusarium*, cabe decir que en el experimento no se encontraron cepas similares, es decir, con un efecto de biocontrol.



Figura 11. Estructura de *Penicillium* sp.

La colonia de color verde mostro característica del género *Trichoderma*, fialidas en forma ovalada como penachos y los conidióforos son septados. Howell (2003) indicó que al evaluar *Trichoderma harzianum* demostró capacidad antagónica para algunos fitopatogenos y el cual se utiliza para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate.



Figura 12. Estructura de *Trichoderma* sp.

En la colonia de color naranja presento características de *Trichothecium*, cadenas cortas de conidios bicelulares (Figura 12). Summerbell (2011) afirmo que dicha especie está relacionada con *Acremonium* sp, cabe mencionar que dicho género se detectó en este experimento.



Figura 13. Estructura de *Trichothecium* sp.

Incidencia

De acuerdo al analisis estadistico se presentó diferencia estadistica entre la incidencia de los genotipos $P > 0.00$, con un coeficiente de variacion del 32.20%, los genotipos con una media del 45.50 (449 semillas infectadas), 63.40 (625 semillas infectadas), 66.35 (778 semillas infectadas) y 79.40% (792 semillas infectadas), en los genotipos H-507, Zapata 7, H-515 y el Criollo Rojo, respectivamente (Figura 13). Vazquez (2008) reportó la deteccion de hongos en semillas de maiz en las variedades del estado de Veracruz alta incidencia de *Fusarium* de 65.62 a 83.75%, mientras que semillas de Guanajuato reportaron una incidencia de hongos del 13.75%.

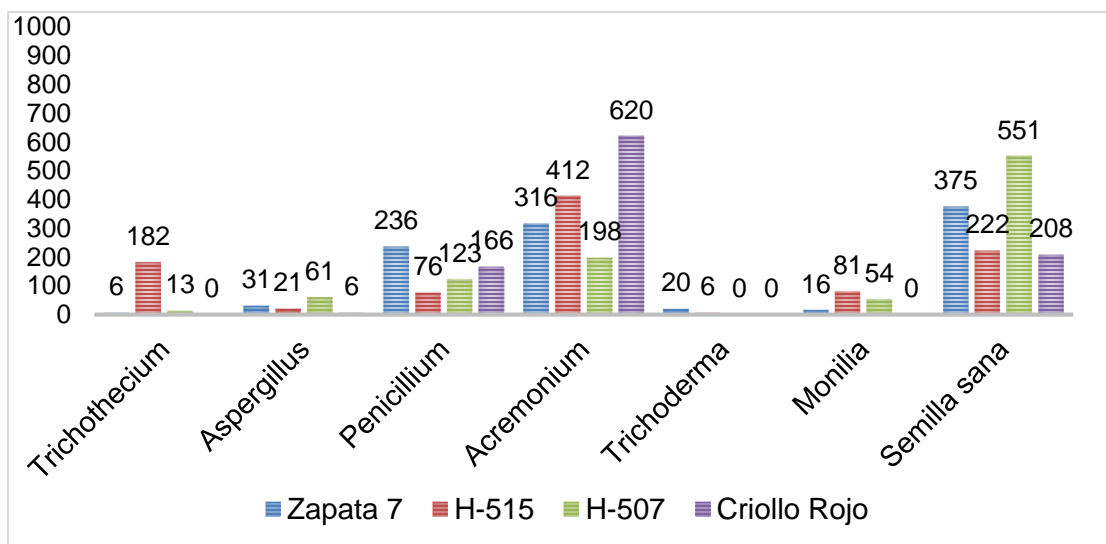


Figura 14. Incidencia total de los géneros de hongos en los cuatro genotipos

CONCLUSIÓN

Se identificaron 6 géneros de hongos en los diferentes genotipos, en el H-507, los géneros *Trichothecium* (1.3%), *Acremonium* (19.8%), *Penicillium* (12.30%), *Trichoderma* (0.0%), *Aspergillus* (6.10%), *Monilia* (5.4%) y sanas (55.10%), en el Zapata 7 *Trichothecium* (0.6%), *Acremonium* (31.6%), *Penicillium* (7.6%), *Trichoderma* (2%), *Aspergillus* (3.10%), *Monilia* (1.6%) y sanas (37.5%), en el genotipo H-515 los géneros *Trichothecium* (18.2%), *Acremonium* (41.2%), *Penicillium* 7.6(%), *Trichoderma* (.6%), *Aspergillus* (2.1%), *Monilia* (8.1%) y sanas (22.7%), y por último el Criollo Rojo con las siguientes incidencias *Acremonium* (62%), *Penicillium* (16.6%), *Trichoderma* (0%), *Aspergillus* (6%) y sanas (20.8%), con una media de incidencia del 45.50, 63.40, 66.35 y 79.40% en los genotipos H-507, Zapata 7, H-515 y el Criollo Rojo, respectivamente.

LITERATURA CITADA

(United States Food and Drug Administration). REGULATIONS [versión electrónica].

Consultada por última vez en agosto 19, 2004, en *Environment, Health, and Safety Online* en la URL [http://www.ehso.com/ehshome/aflatoxin.php#HumanHealth0\(2\).pdf?op=d&ticket_id=2394&evento_id=4925](http://www.ehso.com/ehshome/aflatoxin.php#HumanHealth0(2).pdf?op=d&ticket_id=2394&evento_id=4925)(consultado 27 noviembre 2012). 7390.

Acosta, R. 2009. El cultivo del maíz, su origen y clasificación. El maíz en Cuba. *Cultivos tropicales*, 30(2).

Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. Quinta Edición. Academic Press. Nueva York. 803p

Altieri M. A. Y Marta Muñoz Mecanismos de resistencia de las plantas fitopatógenas, En: Fitopatología aplicada, epidemiología y manejo de enfermedades. — Berkeley: Consorcio Latinoamericano sobre Agroecología y Desarrollo (ELADES). Universidad de California, (fotocopia S.A.): p.29-39

Bakan, B.; Melcion, D.; Richard, M. D. and Cahagnier, B. 2002. Fungal growth and *Fusarium* mycotoxin content in isogenic traditional maize and genetically modified maize grown in France and Spain. *J. Agric. Food Chem.* 50(4):728-731.

Bata, A., Lásztity, R. Detoxification of mycotoxins-contaminated food and feed by microorganisms, *Trends in Food Science & Technology*, 10:223-228, 1999.

Bonifaz, A. *Micología médica básica*, 2ª ed., Méndez Editores, México, DF. México. Pp. 471-475, 2002.

Carmona, M. y M. Scandiani. 2011. Importancia y control de *Fusarium verticillioides* en semillas de maíz. Propuesta para su manejo. [En línea]. Disponible en: [http://www.agroconsultasonline.com.ar/ticket.html/a](http://www.agroconsultasonline.com.ar/ticket.html/apresidrevistamaiz2011%20Fusariumm%20enmaiz%2)

Clayton, W. D.; Harman, K. T. y Williamson, H. 2006. GrassBase-the online world grass flora.

Cornide María Teresa; H. Lima; G. Gálvez y A. Sigarroa 1985 Mecanismos de resistencia a las enfermedades En. Genética vegetal y Fitomejoramiento.— Ciudad de la Habana: Editorial Científico-Técnica, 1985.—p.400-414p.

- De León, C. 1997. Enfermedades del maíz causadas por hongos. *In: I curso Internacional sobre diagnóstico y enfermedades en maíz. Seminario taller de cosecha de maíces de la zona andina. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Cochabamba, Bolivia. Editorial PRODUMEDIOS. Bogotá, Colombia. 94 p.*
- Desjardins, A. E.; Maragos, C. M. and Proctor, R. H. 2006. Maize ear rot and *moniliformin* contamination by cryptic species of *Fusarium subglutinans*. *J. Agric. Food Chem.* 54(19):7383-
- Desjardins, A. E.; Plattner, R. D. and Nelson, P. E. 1994. Fumonisin production and other traits of *Fusarium moniliforme* strains from maize in northeast Mexico. *Appl. Environ. Microbiol.* 60(5):1695-1697.
- EHSO. Aflatoxins in your food-and their effect on your health. US FDA (United States Food and Drug Administration). REGULATIONS [versión electrónica]. Disponible en: <http://www.ehso.com/ehshome/aflatoxin.php#HumanHealth>
- ECOCROP (2007) *Zea mays*.
- EHSO. Aflatoxins in your food-and their effect on your health. US FDA
- FAO Mycotoxins. En *Fact Sheet 5*. World Health Organization Regional Office for Africa, Division of Healthy Environments and Sustainable Development. Food Safety Unit (FOS) [versión electrónica]. Brazzavilla Congo, consultada por última vez en septiembre, 21, 2003, en la URL <http://www.afro.who.int/des>
- FAO.1993. El maíz en la nutrición humana. *Colección FAO: Alimentación y Nutrición 25*.
- FAOSTAT (2012). Agriculture Data. FAO, Rome, Italy. food supply. *Food, Nutrition, and Agriculture*, (23), 10-16, 1999.
- FAOSTAT, 2017. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Datos sobre alimentación y agricultura. Cultivo de maíz. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data>
- Garcia, C. V. 2004. Introduction a la Microbiologia. Segunda Edicion. Editorial EUNED. Costa Rica. pp 103-107.
- García, G. C.; Lizárraga, S. G. J.; Armenta, B. A. D. y Apodaca, S. M. A. 2012. Efecto de productos biorracionales en la incidencia de hongos y concentración de aflatoxinas

en maíz blanco cultivado en Sinaloa, México. Rev. Científica UDO Agrícola.
12(4):830-838

García-Urigüen P (2012) La Alimentación de los Mexicanos. Cambios Sociales y Económicos, y su Impacto en los Hábitos Alimenticios. Cámara Nacional de la Industria de la Transformación (CANACINTRA) D.F., México. 162 p.

H. Vilorio y J. Méndez / Scientia Agropecuaria 2(2011) 213 – 228.

Hallauer, A. R. y Carena, M. J. 2009. Maize. *Springer US* 3: 3-98.

Herrera Ysla L.; S. Mayea y D. Seidel. 1987 Fitopatología General.—Ciudad de la Habana: Editorial Pueblo y Educación,1987;p.39-47

Howell, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolutions of current concepts. *Plant Dis*: Pp 4-10.

Jiménez Díaz R. M. 1992 Conceptos actuales sobre la resistencia a las enfermedades de las plantas. *Phytoma*. (38): 51-54, 1992

Kato, T. A.; Mapes, C.; Mera, L. M.; Serratos, J. A. y Bye, R. A. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. *Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad*.

Kuiper-Goodman, T. Approaches to the risk analysis of mycotoxins in the

Malaguti Gino 1997 Apuntes acerca de las enfermedades de plantas, causa y control.— Venezuela: Universidad central de Venezuela, 1997.—p.2

Malaguti Gino 1997 Apuntes acerca de las enfermedades de plantas, causa y control.— Venezuela: Universidad central de Venezuela, 1997.—p.2

Mendoza, E. M.; López, B. A.; Oyervides, G. A.; Martínez, Z. G.; De León, C. y Moreno, M. E. 2003. Herencia genética y citoplásmica de la resistencia a la pudrición de la mazorca del maíz (*Zea mays* L.) causada por *Fusarium moniliforme* Sheld. *Rev. Mex. Fitopatol.* 21(3):267-271.

Mera-Ovando L M, C Mapes-Sánchez (2009) El maíz. Aspectos biológicos. *In: Origen y Diversificación del Maíz: Una Revisión Analítica*. T A Kato, C Mapes, L M Mera, J A

Serratos, R A Bye (eds). Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Uso y Conocimiento de la Biodiversidad. Editorial Impresora Apolo, S.A. de C.V. D.F., México. pp:19-32.

Olivares, S. E. 1994. Paquete de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.5. Facultad de Agronomía UANL. Marín, N. L.

Olive, M. and Bean, P. 1999. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. *J. of Clinical Microbiology*. 37(6):1661-1669.

Paliwal, R. L. 2001 b. Morfología del maíz tropical. *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. 13-19.*

Paliwal, R. L.; Granados, G.; Lafitte, H. R. y Violic, A. D. 2001. El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Depósito de documentos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma, Italia.
<http://www.fao.org/docrep/003/x7650s/x7650s00.htm>.

Pascual, S., De Col, A., Magan, N. Melgarejo, P. 2000. Surface hydrophobicity, viability and efficacy in biological control of *Penicillium oxalicum* spores produced in aerial and submerged culture. *Journal of Applied Microbiology* 89 (5): 847- 853.

PDIPAS 2003 Etiología online[<http://www.pdipas.us.es/j/josurbfue/Fitopatologia/pato19.pdf>.], 2003.

Peña, S. D., Durán-de-Bazúa, C., Efecto tóxico de las aflatoxinas en la dieta, *Ciencia y Desarrollo*, XVI (94), 61-70, 1990.

Peraica, M., Radic, B., Lucic, A., Pavlovic, M. Efectos tóxicos de las micotoxinas en el ser humano, *Boletín de la Organización Mundial de la Salud* recopilación de artículos 2: 80-92, 2000.

- Robledo, M. L.; Marín, S. y Ramos, A. J. 2001. Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el estado de Nayarit (México). Rev. Iberoam. Micol. 18:141-144.
- Sendra, J. Ma., Carbonell, J. V. Evaluación de las propiedades nutritivas, funcionales y sanitarias de la cerveza, en comparación con otras bebidas. Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos - Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IATA/CSIC) [versión electrónica]. Consultada por última vez en diciembre 10, 1999, http://www.nutricion.org/RevistaN+Dmarzo2002/VCongreso_publicaciones/ZCerveza/libroCERVEZA_3.pdf
- Shaw, R.H. 1 988. Climatic requirement. In Corn and corn improvement. Ed. by G.F.Sprague and J.W. Dudley. 3. ed. Madison, ASA. Agronomy no. 18. p. 609-638
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2007) Situación Actual y Perspectivas del Maíz en México 1996 - 2012. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). México, D.F. 208 p.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2011) Cierre de la producción agrícola por cultivo. Disponible en: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=215 (Mayo 2013).
- SIAP, 2017. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, Situación actual y perspectivas del maíz en México, Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Summerbell RC, Gueidan C, Schroers HJ, de Hoog GS, Starink M, Rosete YA, Guarro J, Scott JA (2011). *Acremonium* phylogenetic overview and revisión of *Gliomastix*, *Sarocladium*, and *Trichothecium*. Stud. Mycol.
- Tapia, M. E. y Fries, A. M. 2007. Guía de campo de los cultivos andinos. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación; Asociación Nacional de Productores Ecológicos del Perú. Lima.
- Thomas, M. D. and Buddenhagen, I. W. 1980. Incidence and persistence of *Fusarium moniliforme* in symptomless maize kernels and seedlings in Nigeria. Mycologia. 72(5):882-887.

- Veitía Rubio Marlene. 1999 Mecanismos de resistencia de las plantas al ataque de patógenos. En: Trabajo del curso postgrado de Fitopatología. —Ciudad de la Habana: UNAH, 1999. —7p.
- Warham E.J.L., Bulter D. y Sulton B. C. (2003). Ensayos para la Semilla de Maíz y Trigo: manual de laboratorio. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. CIMMYT. México. D. F. p. 84.
- Wicklowsky, D. T., Roth S., Deyrup, S. T., Gloer, J. B. A protective endophyte of maize: *Acremonium zeae* antibiotics inhibitory to *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. Mycol. Res. [Internet]. 2005[Consultado el 26 de marzo de 2019]; 109(5): 610–618. Disponible en: [https:// doi.org/10.1017/S0953756205002820](https://doi.org/10.1017/S0953756205002820).
- Wu, F. 2006. Mycotoxin reduction in Bt corn: potential economic, health, and regulatory impacts. Transgenic Res. 15(3):277-289.

APÉNDICE

Cuadro 2. Incidencia de los genotipos

Tratamiento	Numero de semillas	Porcentaje	Géneros de hongos
1- H-507	13	1.30%	<i>Trichothecium</i>
	61	6.10%	<i>Aspergillus</i>
	123	12.30%	<i>Penicillium</i>
	198	19.80%	<i>Acremonium</i>
	0	0.00%	<i>Trichoderma</i>
	54	5.40%	<i>Monilia</i>
	551	55.10%	Sanas
2- Zapata 7	6	0.60%	<i>Trichothecium</i>
	31	3.10%	<i>Aspergillus</i>
	236	23.60%	<i>Penicillium</i>
	316	31.60%	<i>Acremonium</i>
	20	2.00%	<i>Trichoderma</i>
	16	1.60%	<i>Monilia</i>
	375	37.50%	Sanas
3- H-515	182	18.20%	<i>Trichothecium</i>
	21	2.10%	<i>Aspergillus</i>
	76	7.60%	<i>Penicillium</i>
	412	41.20%	<i>Acremonium</i>
	6	0.60%	<i>Trichoderma</i>
	81	8.10%	<i>Monilia</i>
	222	22.20%	Sanas
4- Criollo Rojo	0	0.00%	<i>Trichothecium</i>
	6	0.60%	<i>Aspergillus</i>
	166	16.60%	<i>Penicillium</i>
	620	62.00%	<i>Acremonium</i>
	0	0.00%	<i>Trichoderma</i>
	0	0.00%	<i>Monilia</i>
	208	20.80%	Sanas

Cuadro 3. Análisis de varianza de incidencia de hongos

FV	GL	SC	CM	F	P>F

TRATAMIENTOS	3	11696.718750	3898.906250	9.2810	0.000
ERROR	76	31927.156250	420.094147		
TOTAL	79	43623.875000			

C.V. = 32.20 %

Cuadro 4. Resultados de la comparación de medias

TRATAMIENTO	MEDIA
1	79.4000 A (Criollo)
4	66.3500 B (H-515)
3	63.4000 B (Zapata 7)
2	45.5000 C (H-507)

Tukey SIGNIFICANCIA = 0.05