

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

DIVISION DE AGRONOMIA



**Detección de micoflora en semilla de trigo (*Triticum aestivum*) de 4
genotipos de navidad, N.L. del ciclo 2000-2001.**

POR:

ESTEBAN CABRERA MONTOR

TESIS

Presentada como requisito parcial para

Obtener el título de:

INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México Mayo del 2002

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA**

**Detección de micoflora en semilla de trigo (*Triticum aestivum*) de 4
genotipos de la región de navidad, N.L. del ciclo 2000-2001.**

POR:

ESTEBAN CABRERA MONTOR

TESIS

**QUE SE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:**

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITOLOGO.

APROBADO

PRESIDENTE DEL JURADO

M.C. Abiel Sánchez Arizpe

M.C. Ma. Elizabeth Galindo C.

Dr. Mario Ernesto Badillo

M.C. Reynaldo Alonso Velasco

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMIA

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO MAYO DEL 2002

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

ELPIDIO CABRERA RAMOS

JUANA MONTOR LUCAS

Sinceramente, y de todo corazón, Papa, mama, les agradezco por haberme apoyado siempre, gastando sus ahorritos y ganancias de su trabajo y en ocasiones olvidándose de ustedes por darme los estudios. Les agradezco por darme el ejemplo de trabajo, de servir a los demás y la humildad sobre todo. No saben cuanto los Amo, prometo darles todo mi apoyo y darles en todo momento, motivo de orgullo y satisfacción, gracias. Me siento muy orgulloso de ser hijo de un Pobre campesino, que con esfuerzo y dedicación ha sabido salir adelante, digno ejemplo a seguir, espero tenerlos siempre.

A MIS HERMANOS:

DOMINGO

TEOFILA

ARMANDO

VIRGINIA

MAXIMINO

VICENTE

En especial, a ti, Teofila, tu que siempre estuviste al pendiente de mi, quien eras la intermediaria entre mis padres y yo en mis comunicaciones y que nunca me negaste nada. Te debo mucho de lo que soy, gracias hermana.

A MIS ABUELOS:

Ahora que ya no están conmigo, quisiera tenerlos para aprender muchas cosas, los extraño mucho, descansen en paz.

A MIS CUÑADAS

Marisol, Crispina, Leticia, Luz Maria, que en todo momento me han dado su apoyo incondicional y consejos, mil gracias.

A LA T.L.Q. Ma. CRISTINA.

Por su valiosa colaboración en la realización de este trabajo y por su trato amable para conmigo y mis compañeros de tesis, gracias cristi.

A LA T.L.Q. SILVIA. Gracias Silvia, por ser como eres y ofrecer tu ayuda incondicional para con los demás.

A LA T.L. Silvia Rocha. Por su amistad y por su ayuda en los cursos de Taxonomía de Insectos.

A MIS AMIGOS:

De la especialidad de Parasitología Agrícola, como compañeros, vivimos muchas cosas agradables en la Trayectoria de la Carrera. Fuimos una Generación muy unida, en la que todos nos ayudábamos mutuamente. Les agradezco a todos ustedes por haber estado conmigo en las buenas y en las malas. Espero algún día nos encontremos haya en el surco y compartamos la buena vibra que siempre reflejábamos. En especial a unos de mis hermanos que siempre me ayudo, para concluir mi formación: Domingo Cabrera Montor.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, nuestro señor, por haberme dado la oportunidad de terminar esta meta en mi vida, muchos se quedaron en el camino y yo fui uno de los elegidos para concluir, gracias mi señor dios.

A la UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”, por haberme dado sustento en su ceno, no te defraudaré.

Al Dr. Abiel Sánchez Arizpe, por sus asesorías y amistad. Hombre con ética profesional y cabales como usted, no los hay, es una gran persona, tanto social, como catedrático.

A la M.C Elizabeth Galindo Cepeda por su colaboración en la realización de este trabajo de investigación, y colaboración en la estructuración de este.

Al Dr. Mario Ernesto Badillo, por su disposición de trabajo y ayuda en el asesoramiento de esta tesis.

A todas las personas que integran el Departamento de Parasitología Agrícola de la Antonio Narro, Gracias por ayudar a mi formación como profesionista

INDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE CONTENIDO	iv
INDICE DE TABLAS.	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
INTRODUCCION	1
OBJETIVO	3
HIPÓTESIS	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Importancia de las enfermedades transmitidas por semillas	4
Finalidad del análisis de semillas	5
Antecedentes del análisis de semillas	5-6
Pruebas de Sanidad	7
Métodos de incubación	8
Prueba papel secante congelamiento	8
Examen visual de semillas	9
Hongos transmitidos por semillas	9
Daños que ocasionan los hongos en semillas	9
Factores que favorecen el desarrollo de hongos	10
Patógenos de semillas	11
Hongos identificados en Pruebas de Sanidad	11
Genero <i>Fusarium</i> spp	12
<i>Fusarium poae</i>	12
<i>Fusarium tricintum</i>	13
<i>Helminthosporium hawaiiensis</i>	13
<i>Helminthosporium sativum</i>	14
<i>Helminthosporium spiciferum</i>	15
<i>Nigrospora zimm</i>	15
<i>Penicillium</i> Link	16

<i>Rhizopus</i> spp	16
Micotoxinas	17
Enfermedad punta negra	18
Resistencias de las semillas localizadas en el interior de las cubiertas	18-19
MATERIALES Y METODOS	20
Materiales utilizados	20
Pruebas de Sanidad	20
Prueba placa agar	20
Prueba papel secante congelamiento.....	21
Pruebas fisiológicas	22
Germinación estándar.....	22
Vigor con envejecimiento acelerado	23
Pruebas Físicas	24
Peso volumétrico	24
Contenido de humedad	25
Peso de 1000 semillas	25
Identificación de hongos.	26
RESULTADOS.	27-33
DISCUSIÓN	35-36
CONCLUSIONES	37
BIBLIOGRAFÍA	38
ANEXO.	41

INDICE DE FIGURAS

Fig. 4.1 Incidencia de Alternaria y Nigrospora en cuatro genotipos de trigos mediante la prueba de agar específica para punta negra.....	29
Fig. 4.2 Incidencia de hongos detectados en la prueba de sanidad papel secante congelamiento en cuatro genotipos de trigo.....	30
Fig. 4.3 Incidencia de hongos detectados en cuatro genotipos de trigo mediante la prueba general con placa agar.....	31
Fig. 4.4 Porcentaje de plántulas normales, anormales y semillas no germinadas en la prueba germinación de cuatro genotipos de trigo.....	32
Fig. 4.5 Porcentaje de vigor en cuatro genotipos de trigo.....	33

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Concentración de datos para las pruebas físicas realizadas.....	34
Tabla 2 y 3 Incidencia de hongos detectados en cuatro genotipos de trigo de Navidad, N.L. del ciclo 2000-2001 en pruebas de sanidad.....	35

INTRODUCCIÓN

La condición sanitaria de un lote de semillas es el principal elemento de la calidad conjuntamente con la pureza, el vigor y el poder germinativo. Aún no ha sido muy estudiada la correlación entre la presencia de diversos patógenos de semillas y sus efectos sobre la calidad física y fisiológica, pero en algunos casos, bajos niveles de infección, pueden causar pérdidas de rendimiento del 50 por ciento o más. Las semillas constituyen una de las más importantes fuentes de diseminación, sobrevivencia y continuidad de los patógenos de una generación a otra en el campo.

La mayoría de los patógenos que afectan la parte aérea de las plantas de trigo, infectan la semilla y pueden ser visibles o llevados en forma sistémica y ocasionan fallas en la germinación e implantación del cultivo, por ejemplo los hongos causales de mancha foliares y carbones.

Las enfermedades transmitidas por semilla causan pérdidas del rendimiento por la reducción del número y peso de granos y por la disminución de la calidad comercial. Pueden producir micotoxinas cuyos niveles de concentración máximos están fijados por los países importadores (2 ppm de deoxinivalenol en granos de trigo). Ej: granos con *Fusarium* con altos niveles de deoxinivalenol o vomitoxina.

Los principales patógenos presentes en las semillas de trigo son los siguientes: *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Epicoccum* sp., *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera tritici-repentis*, *Stagonospora nodorum*, *Ustilago tritici*, *Tilletia caries*, *T. foetida*, *T. controversa*, *T. indica*, *Xanthomonas campestris* pv. *undulosa*, *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *Septoria* sp, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp.

El análisis de semillas permite identificar los microorganismos patógenos presentes en un determinado lugar, y los niveles reales de infección (micelio u otras estructuras llevadas en las capas interiores del tegumento, testa y endospermo, por ejemplo: micelio interno de *Fusarium graminearum*, y telias de *Ustilago* en el embrión, etc.), infestación (cuando las estructuras son llevadas externamente por la semilla, por ejemplo picnidios de *Phoma* sp. o conidios de *Bipolaris sorokiniana* y asociación con contaminantes (por ejemplo: cuerpos negros alargados o esclerocios de *Claviceps purpúrea* mezclados con la semilla). Los patógenos pueden variar con las diferentes regiones y ser distintos en cada ciclo agrícola.

También el análisis de semillas permite rechazar lotes inadecuados como semillas y destinarlos para consumo animal y humano al utilizarlas como grano consumirse de esta manera. Dada la importancia de un buen análisis de semillas, tanto en sanidad, como en pruebas fisiológicas y físicas, resulta importante llevar a cabo un buen diagnóstico. Por lo anterior, se pretende realizar los siguientes trabajos cuyos objetivos son:

OBJETIVOS

- ❖ Detección de la micoflora y su relación con los parámetros de calidad de semillas.
- ❖ Identificación de especies de hongos causantes de la enfermedad punta negra en semilla de trigo de la región de Navidad, N.L.

HIPÓTESIS:

- ❖ La enfermedad punta negra es causada por los hongos: *Alternaria* spp., *Helminthosporium* spp. y *Fusarium* spp.
- ❖ Los hongos infectan las semillas y disminuyen la germinación y vigor disminuyendo la calidad de las semillas.

REVISION DE LITERATURA

Importancia de las Enfermedades Transmitidas por Semillas

Las semillas son el medio natural que utilizan las plantas para reproducirse, dispersarse y perpetuarse en su medio. A través del tiempo, el hombre ha aprendido a manipular estos procesos con el propósito de satisfacer sus necesidades de alimentación, vivienda y producción de materias primas para la elaboración de un sin número de productos. El desarrollo de la humanidad ha estado vinculado al conocimiento de las plantas, principalmente de sus semillas, que han permitido al hombre reproducirlas y mejorarlas para su beneficio. En este proceso han participado todas las culturas, y en los últimos años los países se han visto en la necesidad de ponerse de acuerdo sobre los parámetros que permiten valorar la calidad de las semillas de las especies que utilizan, sin embargo, existen diversos factores que influyen en la calidad de semilla en un lote determinado, entre ellos, los relacionados con la especie, el clima y los agentes bióticos; que normalmente se manifiestan durante la formación y desarrollo de los frutos (Willan, 1991)

Para analizar un lote de semillas y conocer el estado que guarda éste al momento de planear su siembra o almacenamiento, debe partir del conocimiento y aplicación de ciertas pruebas sencillas, como son: porcentaje de pureza, número de semillas por kilogramo, contenido de humedad, viabilidad y porcentaje de germinación. Estas pruebas aún cuando son indispensables y de gran utilidad para quienes están

relacionados con los procesos de producción de planta, generalmente no se realizan, por lo tanto se desconoce la calidad de la semilla (Camacho, 1994)

Finalidad del Análisis de Semillas.

El análisis de semillas en términos generales, permite obtener información básica para conocer la calidad de un lote de semillas. Este análisis es útil, además para evaluar futuros métodos de recolección, control de enfermedades y plagas, manejo adecuado para el almacenamiento, tratamientos pregerminativos y siembra. Dado que la semilla es un objeto de transacción comercial, los procedimientos en cada uno de los análisis deben tener normas comunes (Gordón, 1991)

Antecedentes del Análisis de Semillas.

Los primeros ensayos de semilla se iniciaron en 1869 en Alemania y en 1876 en los Estados Unidos de América. Posteriormente, en 1908 los Estados Unidos y Canadá fundaron la Asociación de Analistas Oficiales de Semillas (AOSA). La Asociación Internacional para el Análisis de Semillas (ISTA) se fundó en 1921 y adoptó la mayoría de las pruebas de semillas estandarizadas hasta 1931. Las reglas para el análisis de semillas no han sido estáticas, ya que los científicos y analistas de semillas han estado constantemente mejorando e incrementando información (USDA 1974)

Las Reglas Internacionales para el Análisis de Semillas (ISTA) se elaboraron para la normalización del material seminal, las cuales han sido adoptadas por muchos

países, entre ellos México, aún cuando éste no está integrado formalmente a dicha asociación (Patiño *et. al.*, 1983). En la práctica, el propósito principal en un análisis de semillas es contar con una estimación precisa de la capacidad de un lote de semillas para la producción de plántulas sanas, vigorosas y adecuadas para la plantación.

Porter (1949), manifestó la importancia de los hongos transmitidos por semillas y actualizó la lista preparada por Orton, mientras que Anderson (1958) contribuyó con una sección sobre enfermedades transmitidas por semillas para el manual de la asociación de analistas oficiales de semilla, lo anterior citado por Warham, (1996)

Salazar (1992) menciona que los organismos que causan enfermedades en las plantas son transportadas por las semillas, dentro o fuera de ellas. Se tienen antecedentes que la diseminación de patógenos por medio de las semillas, juega un papel importante en la diseminación de enfermedades.

Navarrete *et al* (1982) mencionan que el uso de semillas contaminadas puede provocar disminución en la emergencia, ahogamiento y marchites de las plántulas, así como también en hojas y frutos. Las semillas son el punto básico del origen de la producción, alrededor del 90 % de los cultivos son sembradas de esta manera. Los hongos, bacterias y virus que son transmitidas por semillas usadas por gente del campo, estos sobreviven por largos periodos y pueden infectar y disminuir la germinación de las plántulas o sobrevivir como epifitas en el desarrollo de las plantas y esperar condiciones ambienteles favorables e infectar de manera explosiva. (Agarwal y Sinclair, 1987)

McGee (1983), indica que existe aproximadamente 1500 microorganismos presente en semillas y cerca de 600 géneros en cultivos, agrícolas, hortícolas y forestales. Por otra parte Sinclair y Shurtlett (1975) indican que las pérdidas que se tengan en un cultivo depende directamente del patógeno involucrado, el estado de desarrollo de la planta y la severidad del problema. De igual manera Navarrete (1995) señala que generalmente las semillas infectadas están presentes en cultivos de menor calidad, pues al desarrollarse la nueva plántula se desarrolla también el patógeno contenido en la semilla, afectando así el desarrollo normal de la planta.

Pruebas de Sanidad

Estas son muy importantes debido a que nos permiten determinar la incidencia de patógenos en semilla para así tomar medidas necesarias en contra de ellas, hacer un manejo eficiente del problema, antes de diseminar el problema en campo.

Copeland y McDonald (1985) mencionan que en muchas partes del mundo las pruebas para detectar enfermedades en semillas forman parte integral de inspección de rutina para la calidad de la semilla, sin embargo, en Norte América no son tan importantes, recobrando mas importancia las pruebas de pureza y germinación.

Agarwal y Sinclair (1987) señalan que la selección de un método depende del propósito de las pruebas para la cual se realizan, tales propósitos pueden ser los siguientes: certificación, tratamiento fitosanitario o cuarentenas. Para la decisión de

seleccionar un método se toman los criterios en que estas deben ser rápidas y sus resultados deben ser confiables con respecto a la función de campo. Por su parte Fenwick (1988) señala que estas pruebas de identificación de patógenos deben ser efectuados por personal que haya tenido adiestramiento básico y cursos en el manejo de estos, ya que se requiere del conocimiento de quipo especial. Sin embargo, Copeland y McDonald (1985) mencionan que no es tan necesario realizar pruebas demasiado especiales, o rigurosas, sino que basta con una inspección simple de las muestras de semilla.

Métodos de Incubación

El método de papel secante y placas de agar son los dos métodos recomendados por la asociación internacional de pruebas de semillas (ISTA) para realizar exámenes rutinarios de semillas cultivadas e infestadas por hongos. La identificación se basa en el desarrollo morfológico del hongo durante la incubación, en las superficie de las semillas, en el papel secante o en características de las colonias (Agarwal y Sinclair, 1987)

La prueba de papel secante es aplicable para toda clase de semillas. Este método es una combinación de los principios de investigación *in-vitro e in vivo*. Es un método sencillo y económico para la detección de patógenos y otros microorganismos asociados a las semillas (Agarwal y Sinclair, 1987). Para llevar a cabo este método se puede utilizar diferentes tipos de recipientes o cajas que sean capaces de dejar pasar luz, como cajas petri o paneras (Neergaard, 1977)

Examen Visual de Semillas

McGee (1982) menciona que el examen visual de semillas consiste en la observación directa de la semilla, con la ayuda o no de microscopio estereoscópico para detectar síntomas de patógenos en su superficie.

Hongos Transmitidos por Semillas

Hunter (1977) y Agarwal y Sinclair (1987) mencionan que las semillas hospedan una gran variedad de microorganismos, especialmente en su gran mayoría hongos, los que pueden estar en el interior o fuera de ellas y ser diseminados en campo. Por su parte Christensen (1972) menciona que los hongos de semillas pueden ser divididos convenientemente en dos grupos de acuerdo al lugar que atacan: de campo y de almacén.

Daños que Ocasionan los Hongos en la Semilla.

Uno de los principales efectos que los hongos ocasionan a las semillas es la pérdida de viabilidad de las semillas agrícolas como el maíz, trigo, sorgo y frijol (Moreno, 1976)

Navarrete (1995) menciona que las semillas se han constituido una de las formas más eficientes de perpetuación de los patógenos ya sea de manera interna o externa, incluso para algunos es el medio exclusivo de sobrevivencia. Además los patógenos permanecen por más tiempo viable en semillas en comparación a su estabilidad en el suelo o residuos de cosecha. El impacto de los hongos en las semillas es considerable,

muchos afectan el embrión de las semillas, algunos que son parásitos débiles manchan la semilla, otros provocan el aborto de las semillas o sustituyen órganos florales al desarrollar fructificaciones u otras estructuras.

Factores que Favorecen el Desarrollo de Hongos en Semillas

El factor más importante en la conservación de los granos es la humedad, tanto la del grano, así como la humedad relativa, el agua contenida en ellas, etc. Otro factor importante es la temperatura, en donde a temperaturas bajas el crecimiento es lento, incrementándose a medida que la temperatura es mayor, y esta se mide por medio de termopares. Otro punto a considerar es la condición del grano o semilla, la cosecha mecánica de los granos y semillas, así como su manejo que se le da, son causas de daño físico que posteriormente facilita la entrada de patógenos (Beltrán, 2000)

En cereales y zacates hay numerosos hongos que son llevados en las semillas algunas de las especies más importantes como *Alternaria*, son patógenos débiles. Entre las más destructivas se encuentran especies de *Helminthosporium* spp., *Fusarium* spp. y *Diplodia* spp. Los más comunes llevados en semillas se encuentran *Helminthosporium* y *Fusarium* que ocasionan la pudrición de plántulas (Kreitlow, *et al*, 1982)

En algunas temporadas es común encontrar semillas de trigo, avena y cebada infectadas en un 10-15 % con *Helminthosporium* y *Fusarium*.

Kleitlow, *et al*, (1982) menciona que algunas especies de *Helminthosporium* que frecuentemente provocan tizón de los granos de cereales: *Helminthosporium sativum*,

ocasiona el tizón del grano de la cebada, del trigo, el síntoma de los granos enfermos es una coloración café oscuro o casi negro especialmente cerca del extremo de la semilla.

Patógenos de Semillas

Generalmente son los virus, bacterias y hongos, en donde los virus frecuentemente están infectando las semillas y este inoculo puede resultar en severos problemas de las siguientes cosechas, generalmente los virus invaden la semilla, desarrollando internamente infecciones a otras plantas, la infección ocurre en tejidos embrionarios. Por su parte semillas infectadas por bacterias pueden causar pérdidas enormes, mientras que los hongos desde la germinación de la semilla ocasionan infecciones, iniciándose así de esta manera la fuente de inoculo (Neergaard, 1977)

Se mencionan siete combinaciones de sitios de infección (intra embrional, extraembrional, contaminación de la semilla e infección de órganos específicos) y tipos de infección (sistémico, local y saprofitico). Los hongos generalmente se sitúan en el embrión de la semilla, debido a que en esta parte se encuentra la mayoría de los nutrientes de la semilla.

Hongos Detectados en Pruebas de Sanidad

Fusarium Barnett & Hunter (1972), mencionan que el hongo posee un micelio extendido y algodonoso frecuentemente con matices rosas púrpuras o amarillos,

conidioforos variables delgados simples o cortos robustos solos o agrupados en un esporodoquio, conidias frecuentemente sostenidas en pequeñas cabezuelas macro o encurvadas de forma típica de canoa, microconidia celular ovoide y oblonga, nace sola o en cadena. En especial, el género *Fusarium* es caracterizado por un crecimiento micelial rápido, por lo general produce pigmentos que se distinguen entre especies (Bassey, 1950), forma esporodoquio del cual emerge un rameado denso de conidioforos, el resultado de la reproducción asexual son macroconidias y microconidias.

Fusarium poae (Peck) Wollenw.

La semilla es algodonosa con un fino micelio blanco y enmarañado, y toma una apariencia pulverulenta con la formación de microconidios. Mas tarde, el micelio aéreo se vuelve café rojizo. Las masas de conidios en general son muy pequeñas, pero su tamaño es variable. Toda colonia bien desarrollada produce un olor dulce muy característico, semejante al de las frutas. Los microconidios, que forman bolsas viscosas, son hialinos, esféricos (7-10 μm de diámetro) o en forma de pera (8-12 x 7-10 μm) y casi siempre unicelulares, aunque en ocasiones son bicelulares (10-14 x 6-7 μm).

Los macroconidios comúnmente son raros hialinos típicamente estrechados hacia los extremos, ligeramente más anchos sobre la septa central, tiene una célula basal en forma de pie y cuando están maduros tienen tres septas, miden 20-40 x 3-5 μm .

Las clamidosporas son poco frecuentes y pueden estar en grupos o en cadenas. La característica más distintiva de *Fusarium poae* es la abundante producción de microconidios esféricos u ovalados. Sin embargo, pueden ser fácilmente identificado

bajo el microscopio estereoscópico si se presenta como colonia pura en la semilla. En las colonias bien desarrolladas, hay abundante micelio suelto y las masas de microconidios están dispuestas en forma irregular a lo largo de las hifas, dando a la colonia una apariencia muy rugosa. Esas colonias bien desarrolladas son de color blanco opaco o rosado claro

Fusarium tricintum (Corda) Sacc.

El desarrollo de la colonia en semilla es rápido y el micelio aéreo blanco es entre ligero y denso, con masas de esporas anaranjadas que aparecen a medida que envejece el cultivo. Se forman microconidios inicialmente de conidioforos laterales simples y mas tarde de conidioforos profusamente ramificados. Los microconidios son hialinos, abundantes, en forma de limón o pera o fusiformes, con 0-1 septas y a menudo tiene una célula pie en la base. Con 0 septas miden 7-11 x 4-8 μm , con 1 septa, 10-16 x 4-6 μm .

Los macroconidios son abundantes, hialinos, por lo general formados en masas de esporas pálidas o anaranjadas, falciformes o más fuertemente curvos, con una célula pie bien marcada, tienen 3-5 septas y miden 26-53 x 3-5 μm . Hay clamidosporas esféricas (10-12 μm) que se forman a intervalos a lo largo de las hifas, individualmente o en cadenas.

Helminthosporium hawaiiensis (M.B. Ellis) Uchida y Aragaki

La colonia se propaga disgregada en la semilla y es de color negro a café oscuro grisáceo. Los conidioforos son cortos y se producen los conidios en conglomerados

hacia la punta. Estos están solitarios y son alternamente doblados, septados, de color café, de hasta 120 μm de largo y 2-7 μm de espesor. Los conidios son rectos, alargados o cilíndricos, redondeados en los extremos, de color café pálido, tiene de 2-7 (en su mayoría 5) septas y miden 12-37 x 5-11 μm . Los delgados conidios cilíndricos en forma de cigarro, claros u oscuros, con 4 o más septas, se producen en conglomerados hacia el ápice del conidioforo, apuntando en distintas direcciones. El desarrollo de la colonia sobre la semilla es similar al de *Bipolaris spiciferum*, pero con conidioforos más cortos.

Helminthosporium sativum. Pammel, King y Bakke.

La colonia en semilla es de brillante color café oscuro a negro, esta compuesta principalmente de masas densas de conidioforos y conidios. Los conidioforos son de color café oscuro, cortos erguidos, en la mayoría de los casos individuales, solitarios o en grupos pequeños, rectos o alternamente doblados, miden hasta 220 μm de largo, 6-10 μm de ancho y producen 1-6 conidios separados por cortas distancias en la mitad superior. Los conidios son curvos o rectos, de color café oliváceo oscuro, lisos, más anchos en el medio, con extremos redondeados y una nítida cicatriz dentro de la célula basal, la parte final de las células terminales es subhialina, tienen 3-12 (en su mayoría de 6-10) septas y miden 4-120 x 17-28 μm .

Los conidios se ven negros y brillantes con un aumento bajo, pero con aumento más alto, son de color oliváceo oscuro. Tienen paredes gruesas, por lo general de 5-9 células, pueden ser rectos o ligeramente curvos y tienen una característica forma de barril.

***Helminthosporium spiciferum.* (Bainier) Subram.**

La colonia en semilla es de color café, gris o negra, velluda, algodonosa o en forma de cojín, esporula libremente con abundantes conidioforos parduscos individuales o en grupos de 2 ó 3. Se producen muchos conidios pequeños a intervalos muy cortos, lo que da una apariencia de cepillo para botellas.

Los conidioforos son cafés y curvos, con numerosas y ostensibles cicatrices que dan una apariencia de zigzag irregular. Los conidios son cortos, por lo general con tres septas, de color café claro u oscuro, ovalados, curvos o rectos con extremos redondeados, miden 20-40 μm x 9-14 μm . Los conidios son de color más claro hacia las células terminales.

***Nigrospora.* (Zimm)**

La colonia en semilla inicialmente es blanca y los brillantes conidios negros se destacan por contraste, dando a las colonias una apariencia llamativa bajo el microscopio de disección. En los cultivos mas viejos, las hifas se oscurecen y, con la abundante producción de conidias, las conidias se observan negras. Los conidioforos son cortos, inflados y de color café pálido, salen de la hifa en ángulo recto, producen conidios de manera individual en la parte terminal.

Los conidios son de color café ahumado o de color verde azabache, esféricas o en forma de huevos, miden 10-16 x 10-13 μm y comúnmente tienen un diámetro de 12-14 μm .

Penicillium spp.

La colonia en semilla tiene un ritmo de crecimiento entre lento y moderado. El micelio por lo general no es muy abundante, pero hay una generosa esporulación que da a la colonia una apariencia de cojín, comúnmente en un tono azul / verde. Los conidioforos generalmente son conspicuos, más o menos erguidos, hialinos, rugosos o lisos, septados, con una serie de ramificaciones que le dan la estructura característica de un cepillo, con típicas fialides hialinas en forma de frasco que producen largas cadenas secas de conidios. El “cepillo” puede estar constituido por un solo verticilo de fialidas o una serie de ramificaciones en verticilo, cada una de las cuales termina en un verticilo de fialidas. Los conidios son unicelulares, esféricos u ovoides, lisos o rugosos y de color brillante, por lo general un tono de azul / verde. En algunas especies se forman esclerocios.

Rhizopus Ehrenb.

La colonia en la semilla se extiende con rapidez por medio de estolones con abundante micelio gris suelto. Los estolones producen numerosos esporangios de color café y rizoides. Los estolones son hialinos y se forman de color café hacia los nudos,

cerca de los cuales puede haber una septa. Los rizoides son cortos y de color café, a veces no existen.

Los esporangios surgen individuales o pequeños grupos de los nudos de los estolones, son de color café, lisos o finamente rugosos, no septados, miden 1000-3500 μm de largo y hasta 34 μm de ancho. Los esporangios son esféricos, inicialmente blancos y más tarde negros, miden 100-350 μm de diámetro y tienen numerosas esporas. Las columelas son de color café claro, subesféricas, miden 63-224 x 70-140 μm y tienen forma de paraguas después de la dehiscencia. Las esporangiosporas son amarillentas o de color café diluido, esféricas u ovaladas, con estrías longitudinales, miden 5-8 x 20 μm . (Todos los anteriores hongos descritos, en base a Warham, (1984))

Micotoxinas

El termino micotoxina, como comúnmente es usado, se refiere a metabolitos fúngicos que son tóxicos para los animales, y el hombre. Las micotoxinas afectan a los animales de diferentes maneras, causando desde pérdida de peso, temblores y perdida de la coordinación muscular, hasta cáncer y muerte del animal. Estas son usualmente encontradas en alimentos y forrajes que son ingeridos por los animales. Como un grupo, las micotoxinas son compuestos relativamente termoestables, no son antigénicos y son efectivos en cantidades muy pequeñas. La producción de micotoxinas varia de cepa a cepa entre las especies de hongos toxigenicos (Hesseltine, 1974)

HONGOS	METABOLITO TOXICO PRIMARIO
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxina
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxina
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Ocratoxina
<i>Aspergillus versicolor</i>	Esterigmatocistina
<i>Aspergillus terreus</i>	Patulina
<i>Fusarium graminearum</i>	Citrinina
<i>Fusarium nivale</i>	Acido kójico

Enfermedad Punta Negra

Causada por *Alternaria*, *Helminthosporium* y *Fusarium*. El pericarpio de los granos de trigo en maduración se tornan de color café oscuro o negro y esta coloración generalmente se limita al ápice germinal. Si la enfermedad es causada *Alternaria*, el color oscuro afecta solo el pericarpio, cuando la infección es provocada por las especies *Helminthosporium* y *Fusarium*, puede resultar invadiendo al germen, que se daña o muere. Otros hongos pueden causar punta negra, pero los tres mencionados son los más comunes. Generalmente estos hongos infectan al grano durante el estado mazoso. La incidencia de la enfermedad aumenta, cuando predomina el tiempo húmedo. También puede afectar al triticale y varias gramíneas afines. Los efectos son principalmente la disminución de la calidad y viabilidad de la semilla. (Centeno, 1994)

Resistencia de las Semillas Localizadas en el Interior de las Cubiertas.

El nucelar, cuando la semillas son infectadas por hongos, la hifa penetra la calaza, pero no invade al embrión inmediatamente, crece un poco en el interior de las cubiertas de la semillas, el embrión es cubierto por un tejido delgado llamado nuclear.

La dormancia de la semilla contribuye a la resistencia del deterioro. Aunque la dormancia no contribuya a la resistencia de la degradación microbial. Las enfermedades en la cebada, trigo y avena causadas por *Helminthosporium* son comunes y similares, tiene amplia distribución y ocasionan pérdidas considerables año con año, aunque tales pérdidas dependen del cultivo, la variedad, plantas y condiciones favorables. (Camacho, 1994)

MATERIALES Y METODOS

El trabajo que a continuación se presenta, se realizó en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología, paralelamente con el Laboratorio de Ensayos de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas de la UAAAN. Se realizaron pruebas de sanidad de semillas (prueba placa agar y papel secante congelamiento), pruebas físicas (contenido de humedad, peso volumétrico, peso de 1000 semillas y análisis de pureza)

Se utilizó cuatro materiales de trigo de la Región de Navidad, N.L. del ciclo de producción del 2000-2001. Los materiales utilizados fueron: AN 67-98, AN 55-90, AN 5-81 Y AN 1185-95. Todos estos fueron facilitados por el Programa de Cereales.

Pruebas de Sanidad

Placa Agar. Prueba general de detección de Micoflora, en donde se realizó el siguiente procedimiento:

- ❖ Homogenización de la muestra.
- ❖ Selección del material de prueba. Se seleccionó 100 semillas al azar de la muestra de cada una de las Unidades.
- ❖ Posteriormente estas semillas se desinfectaron con cloro comercial a una concentración del 10%, por 3 minutos en constante agitación en un Matraz de

250 ml, completamente esterilizado. Posteriormente se lavó con agua destilada estéril por un minuto.

- ❖ Estas son depositadas en un papel secante estéril por un minuto para su secado en la cámara de transferencia. Con la ayuda de mecheros, pinzas, atomizador, marcador, papel secante, sellador, se procedió a llevar a cabo la siembra en el medio de cultivo.
- ❖ Se colocaron 10 semillas por cada caja petri en forma equidistante una de otra (10 repeticiones/cada material) tratando en lo máximo evitar alguna contaminación que pudiese interferir con los resultados. Cabe mencionar que la cámara de transferencia fue encendida antes de realizar la siembra por un tiempo de 15 Minutos y completamente desinfectada.
- ❖ Cada caja petri fue marcada con los datos del nombre del material, fecha de siembra, cultivo. Una vez selladas las cajas se transportaron a la incubadora por aproximadamente 5-8 días para lograr el crecimiento, y posteriormente sacados por dos días para estimular la esporulación.
- ❖ Esta prueba se evaluó de la siguiente manera: En un principio se contabilizó la incidencia de coloración de cada crecimiento fungoso en cada caja petri. Posteriormente se llevó a cabo montas rápidas y semipermanentes y con ayuda del Microscopio se observó detalladamente y se determinó el Genero y especie. (Barnett y Hunter, 1972)

Prueba papel secante congelamiento

- ❖ Homogenización de la muestra.

- ❖ Por cada material se seleccionaron 400 semillas al azar de la muestra. Se sembró en 5 repeticiones utilizando paneras de plástico conteniendo 80 semillas por repetición.
- ❖ La siembra se llevó a cabo en la cámara de transferencia evitando contaminación alguna, cada una de las paneras se les colocó dos capas de papel secante, humedecidas sin escurrir, con agua destilada estéril.
- ❖ Las semillas se trataron con una solución de cloro comercial al 10 % de concentración, tomando en cuenta el mismo tiempo de desinfección y lavado que para el método de placa agar.
- ❖ Una vez lista la siembra, las paneras fueron incubadas a temperatura ambiente y esperar la respuesta del embrión (semilla hinchada) para posteriormente ser llevada al Laboratorio de Parasitología molecular y colocarlas en el congelador a -20° C por 24 hrs. (Para lograr la muerte del embrión y se evite la resistencia hacia el crecimiento del patógeno)
- ❖ Posteriormente son llevadas las cajas a la cámara de transferencia a temperatura ambiente, para esperar el desarrollo del hongo sin inhibición alguna. La identificación en un inicio fue por coloración de crecimiento, determinándose en forma visual y posteriormente con ayuda de los microscopios, mediante montas directas y permanentes y con la ayuda de claves (Barnett y Hunter, 1972)

Pruebas Fisiológicas.

Germinación Estándar

- ❖ Se homogenizó el material experimental, para que la muestra que se obtenga sea representativa.

- ❖ Se seleccionaron al azar 400 semillas de la muestra de cada material.
- ❖ Las semillas, antes de realizar las siembras son tratadas con captan para evitar problemas con hongos.
- ❖ Se procede a realizar la siembra en papel secante, colocando un pliego abajo y otro arriba de las semillas. Las semillas se colocaron equidistantes una de otra, con la marca del embrión colocadas hacia la misma dirección. Previamente a la siembra las toallas son humedecidas con agua de la llave para estimular el hinchamiento de la semilla.
- ❖ Las semillas son envueltas en tacos, indicando en cada uno de ellos, la dirección del embrión, nombre del material, fecha de siembra y cultivo.
- ❖ Los tacos se colocaron en el interior de una bolsa, posteriormente en una gradilla y llevados a la cámara germinadora.

La prueba tiene una duración de 7 días, realizando un primer conteo a los 4 días después de haber realizado la siembra y a los 3 días posteriores de realiza un segundo conteo.

En ambos conteos se toman en cuenta los siguientes parámetros: Plantas normales, plantas anormales y semillas no germinadas.

Vigor con Envejecimiento Acelerado

- ❖ Como se indica en cada prueba, la muestra debe ser homogenizada correctamente.
- ❖ Se selecciona 400 semillas de cada uno de los materiales a evaluar.
- ❖ En un vaso de Precipitado de 500 ml, se le añade 100 ml de agua, se coloca al fondo un tubo de alambre, que sostendrá a la malla galvanizada, y esta a su vez

contiene a las semillas (200 semillas por vaso) con la indicación del nombre del material, fecha de colocación y repetición.

- ❖ Estos vasos fueron colocados en la cámara por 48 hrs. y manteniendo una humedad relativa del 100 %.
- ❖ Una vez pasadas las 48 hrs., estas se retiraron de la cámara y se procede a realizar la siembra como una prueba de germinación estándar. Llevando a cabo el tratamiento de la semilla con captan. Se envuelven 4 tacos de 100 semillas por cada uno de los tratamientos (total 16 tacos de 100 semillas)

Estos tacos llevan la misma información de identificación que los realizados para la prueba de germinación.

Para la evaluación de esta prueba se realiza solamente un solo conteo para los siguientes parámetros: Plantas normales, plantas anormales y semillas no germinadas. Para las 4 repeticiones por cada uno de los materiales se obtiene una media para cada parámetro y se representa en porcentaje.

Pruebas Físicas.

peso volumétrico.

Se homogenizó la muestra perfectamente:

- ❖ Se llena un vaso de precipitado de 600 ml con semilla, posteriormente esta se deja al ras con una regla, pasándola sobre la boca del vaso en forma de zic-zac.
- ❖ El contenido del vaso se pesa en la balanza de cuchara.
- ❖ Se registran los datos de cada peso del material, este procedimiento se repite tres veces por unidad experimental.

- ❖ Se determina el volumen del vaso del precipitado añadiendo agua hasta el tope con la ayuda de una probeta graduada. El resultado del peso volumétrico debe estar representado en Kg/HL

Determinación del contenido de humedad.

Para esta prueba se utiliza el determinador de Humedad “MOTOMCO”

Antes de iniciar con la medición el determinador se calibra siguiendo el procedimiento siguiente:

- ❖ Se calibró a 53 en la escala (según manual del equipo)

El botón de función se coloca en calibración y se trata de que la aguja se corra lo más posible hacia la izquierda con el botón micrométrico. Procediéndose a determinar la humedad, para ello se necesitó 250 gr. de semilla de trigo.

- ❖ Se vaciaron los 250 gr. al cilindro del determinador de humedad. Se oprimió el botón de este para que la semilla caiga en el determinador.
- ❖ Se ajustó en el botón de función a operación y con el tornillo macrométrico se corre la aguja lo más que se pueda hacia la izquierda y se toma la lectura.

Con la lectura que se obtuvo, se determinó el porcentaje de humedad mediante las tablas del manual del aparato, obteniéndose la humedad en porcentaje.

Peso de mil semillas.

Esta prueba consiste en lo siguiente:

- ❖ Se homogenizó la muestra, se tomaron ocho repeticiones de 100 semillas.

- ❖ Estas submuestras de 100 semillas son pesadas en la balanza del laboratorio.
- ❖ De cada repetición se suman los pesos y se obtiene una media, esta se multiplicó por diez, este será el peso de 1000 semillas por cada uno de los materiales.

Identificación de Patógenos

Una vez terminado el periodo de incubación de las pruebas de sanidad utilizadas, se procedió a realizar montas semipermanentes y permanentes de los diferentes hongos detectados, separando estas colonias de acuerdo a color en dichas pruebas, se caracterizó para Géneros de hongos mediante las claves taxonómicas para hongos imperfectos de Barnett & Hunter (1972), se hicieron observaciones y mediciones de conidias, número de células o septas, formación de clamidosporas entre otros, se tomó la media de treinta mediciones para cada observación.

Se realizó también la identificación a nivel especie, para los diferentes hongos detectados, siendo dichas claves taxonómicas tales como la de Booth (1977), Warham (1996), Zillinsky (1984)

RESULTADOS

Los hongos identificados en este trabajo, fueron *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Fusarium* y *Nigrospora*, en las diferentes pruebas de sanidad realizadas, se detectó también *Rhizopus* y *Penicillium*, siendo considerados como hongos contaminantes.

Con respecto al Género *Alternaria*, el promedio de las mediciones de conidias fueron 21μ de largo y 5.9μ de ancho tipo dictiospora, polimorfica, con pico pronunciado y en conjunto formando cadenas o tipo longicatenate, con una coloración gris olivo ó café en medio de cultivo PDA, toda la caracterización anterior concuerda con la especie *alternata*, lo anterior también puede ubicarse dentro de otras especies, tal es el caso de la especie *triticina*, entre otras, por lo tanto es de suma importancia, para la situación fitopatologica que guarda esta especie (Figura: A1, A2, A3, A4, A9 y A20)

Para la identificación de la especie de *Alternaria*, se dificultó la caracterización de las conidias ya que estas presentaron similitud en la mayoría de las especies, así como en el crecimiento en medio de cultivo, formación de cadenas de conidios, numero de septas, formación de pico y ocasionando que en etapas tempranas de formación de conidias pueda confundirse con otras especies.

En el género *Helminthosporium* se determinaron las especies: *sativum*, *spiciferum*, *hawaiense*, esto fue mediante claves taxonómicas de Graham (1996) y Zillinsky (1984) caracterizando también tamaño de conidios. Para la especie *sativum* la media de un promedio de treinta mediciones fue de $4-100$ de largo y $15 - 22\mu$ de largo, para la especie *spiciferum* de $20-30 \times 8-12\mu$ y para la especie *hawaiense* de $12-35 \times 4-9\mu$

Otra característica en la identificación de este hongo fue la morfología del conidioforo terminal donde se producen las conidias, presentando para la especie *sativum* liso y redondeado, en el caso de *spiciferum* fue en forma de zig-zag y para *hawaiense* fue corto y produjo los conidios en conglomerados en la punta, otro aspecto dentro de la caracterización, fue la coloración de la colonia en medio de cultivo, siendo estos los siguientes: Para la especie *sativum* presento un color café oscuro o negro brillante y fructificación solitaria, rara vez en grupo, para *spiciferum* presento una coloración café gris o negra en la semilla oliváceo con fructificación ramificado que van de 3 a 5 septas por conidias y por ultimo, para *hawaiense* tuvo una coloración mas clara, entre negro a café oscuro que la anterior y con fructificación tanto solitaria como en grupos, todo lo anterior, en base a claves taxonómicas de Graham (1996) (Figuras: A5, A6, A7, A8, A10, A11, y A12).

Dentro del genero *Fusarium* se identificaron las siguientes especies: *tricintum* y *poae*, la caracterización se hizo en base a la presencia de macroconidias, siendo la media de un promedio de treinta observaciones. Para *poae*, la macroconidia estuvo ausente, para *tricintum*, la macroconidia midió 23-48 de largo x 4 μ de ancho con clamidosporas esféricas, presentando de 3 a 5 septas, en base a claves taxonómicas de Graham (1996) y Zillinsky (1984), para el caso de *poae* las microconidias esféricas midieron 7-9 μ (Figuras: A13, A14, A15, A16 y A17,).

Prueba Placa Agar (PDA) para Punta Negra

Los resultados obtenidos en esta prueba, muestran al hongo *Alternaria* spp. con una incidencia del 100 por ciento para los materiales: AN 5-81, AN 55-90, AN 67-98 y de 86 por ciento para el material AN 1185-95, lo que demuestra que son materiales recién cosechados, por la presencia de dicho hongo, mostrando este mayor habilidad establecerse en dicho medio de cultivo, no así para el caso del hongo *Nigrospora* spp, quién presento una incidencia del 8 por ciento y solo para el AN 1185-95. En la Figura 4.1 se observa el comportamiento de la incidencia de *Alternaria* spp y *Nigrospora* spp en los genotipos de trigo en estudio.

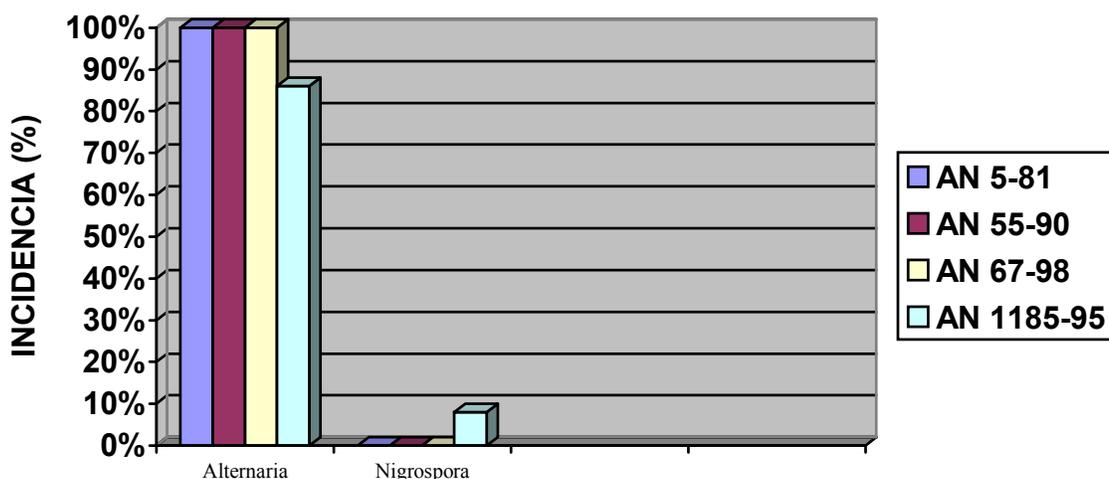


Figura 4.1: Incidencia de *Alternaria* y *Nigrospora*, en cuatro genotipos de trigo, mediante la prueba de agar específica para punta negra.

Prueba Papel Secante Congelamiento

En esta prueba el hongo *Alternaria* spp muestra un comportamiento similar que en la prueba anterior, solo que la incidencia baja entre 69 por ciento y 74 por ciento

como se puede observar en la Fig. 4.2, También se detectó a *Helminthosporium* spp, con una incidencia que va del 4.6 por ciento a 9.4 por ciento, lo que demuestra que en esta prueba que el hongo puede expresarse y no ser inhibido por una posible competencia con el *Aternaria* spp. Estos mismos resultados concuerdan con Centeno (1994) quien en pruebas de sanidad aisló a estos hongo. El comportamiento de los hongos en cuestión se señalan como hongos de campo.

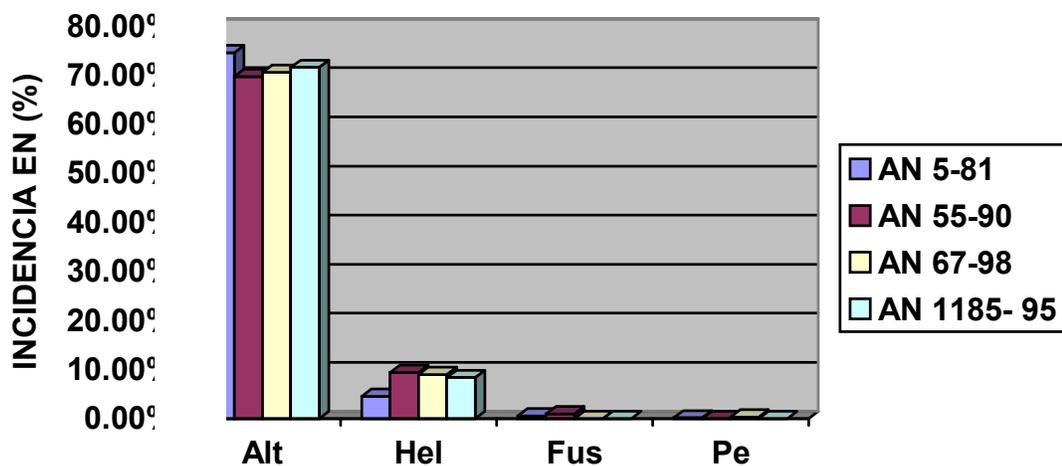


Figura 4.2.- Incidencia de hongos detectados en la prueba de sanidad papel secante congelamiento en cuatro genotipos de trigo.

Prueba Placa Agar. Prueba General

Esta prueba tiene un comportamiento similar a las anteriores y más similar a la Prueba de Sanidad de punta negra. Como se puede observar en la Figura 4.3. Los resultados observados en las pruebas en estudio presentan un mismo comportamiento, lo que se puede señalar como las bondades de cada prueba, sobre todo el costo, que en este caso la prueba de papel secante congelamiento, viene a ser más barata que las dos restantes.

El método de placa de agar que es un medio que proporciona nutrientes para expresar los hongos presentes en ella, por lo que *Alternaria* se manifestó en todos los materiales con un porcentaje del 73 al 100 por ciento. Sin embargo *Fusarium* únicamente se presentó en el genotipo 1185-95 con un 9 por ciento y fue el material con menor incidencia de *Alternaria*, pero además presentó a *Rhizopus* y *Helminthosporium*.

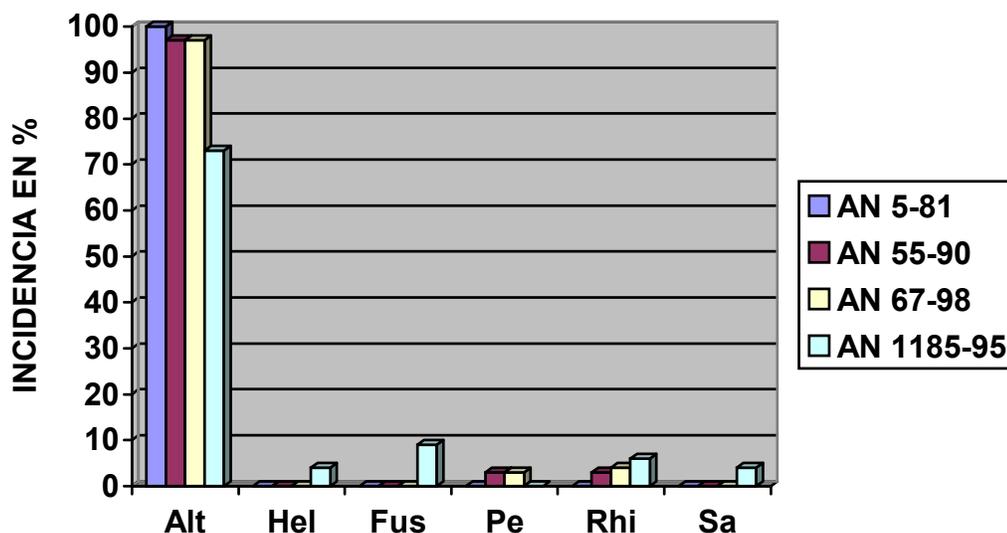


Figura 4.3: Incidencia de hongos detectados en cuatro genotipos de trigo mediante la prueba general con placa agar.

Prueba de Germinación

Esta prueba demuestra que la presencia de los hongos detectados en este estudio no presentaron un efecto directo sobre la calidad de la semilla, lo que si queda claro es que los resultados de estas pruebas determinan a los materiales de trigo en estudio con buena calidad según se muestran en la Figura 4. Hay estudios que señalan a punta negra, como una enfermedad que afecta en forma negativa un efecto negativo el vigor del trigo, Zillinsky (1984), mientras que en este estudio no fue así.

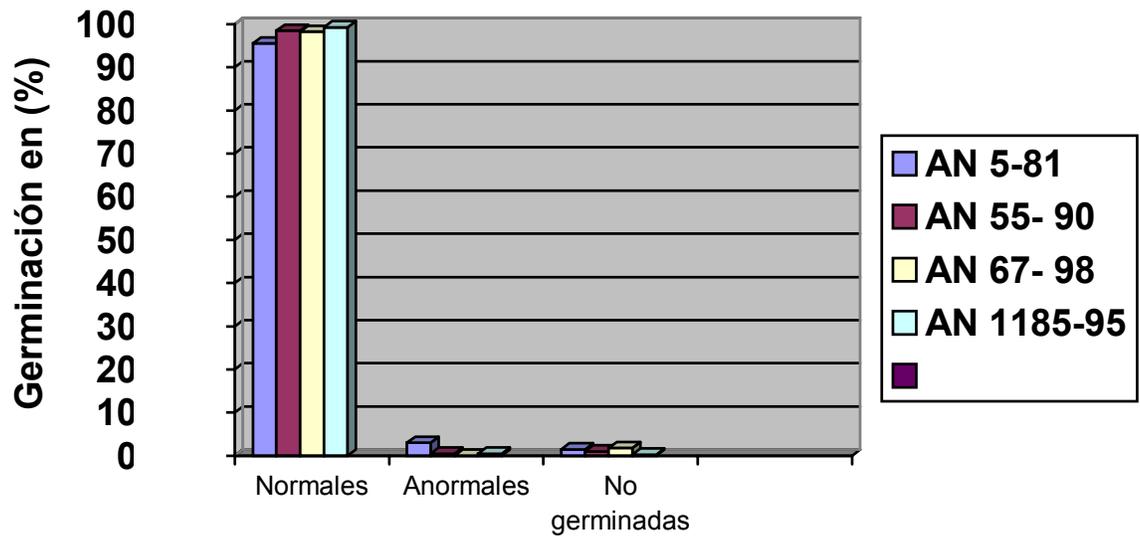


Figura 4.4.- Porcentaje de plántulas normales, anormales y semillas no germinadas en la prueba germinación de cuatro genotipos de trigo.

Prueba de Vigor

En la Fig. 4.5 se observan los resultados del vigor que señalan a los materiales de trigo dentro de buena calidad, lo cual indica que estos hongos no están afectando a la semilla, no así una vez que son dispersadas o diseminadas a otras regiones o a nivel de campo, es decir la semilla portadora de estos hongos, es potencialmente una fuente de inoculo muy importante, debido a que en muy baja incidencia, puede detonar epidemias.

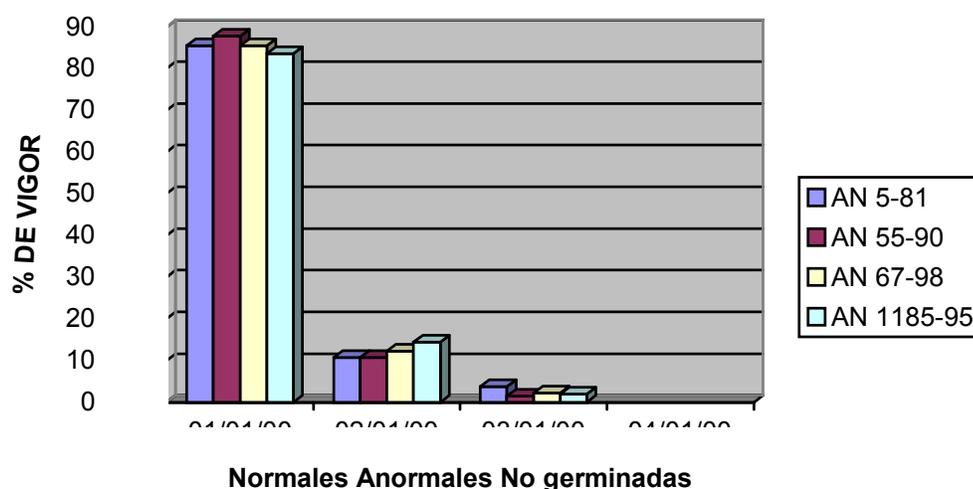


Figura 4.5: Porcentaje de vigor en cuatro genotipos de trigo.

Pruebas Físicas

De los resultados obtenidos en todas estas pruebas realizadas, se determina que el lote de semillas analizada, cuenta con una buena homogeneidad en sus componentes de acuerdo. El manejo agronómico se dio por igual y en el momento que el cultivo lo requería, las fertilizaciones, insecticidas, funguicidas, manejo en campo fue eficiente. El grano fue cosechado en el momento justo en que se requería. Con base en lo anterior mencionado, a continuación se muestran el cuadro de concentración para las tres pruebas físicas realizadas.

Cuadro 1.- Concentración de datos para las pruebas físicas realizadas.

MATERIAL	Peso volumétrico	Peso de mil semillas	% HUMEDAD
AN 5-81	81.32 KG/HL	33.60 grs	8.42
AN 55-90	78.60 KG/HL	32.70 grs	8.42
AN 67-98	78.25 KG/HL	31.30 grs	8.42
AN 1185-95	77.71 KG/HL	31.80 grs	8.22

Para la prueba física peso volumétrico el genotipo que presentó mayor valor fue AN 5-81 y el menor valor resultó para AN 1185-95. De manera general no hay diferencia entre los pesos, de manera que los cuatro genotipos son homogéneos.

En lo que respecta al peso de mil semillas, el mayor peso resultó 33.60 grs. para el genotipo AN 5-81 y el menor para el AN 67-98 con 31.30 grs.

El mayor contenido de humedad resulta ser: AN 5-81, 55-90, 67-98 y 1185-95 en orden de importancia. Estas humedades de semillas están en el rango para semillas de trigo.

DISCUSIÓN

Cuadro 2 y 3. Incidencia de hongos detectados en cuatro genotipos de trigo de Navidad, N.L. del ciclo 2000 – 2001 en diferentes pruebas de sanidad.

Pruebas de sanidad	Incidencia de <i>Alternaria</i> (%)			
	Materiales de trigo			
	AN 5-81	AN 55-90	AN 67-98	AN 1185-95
PDA (Punta Negra)	100	100	100	86
Congelamiento	74.6	69.6	70.6	71.6
PDA (Gral.)	100	97	97	73

Pruebas de sanidad	Incidencia de <i>Helminthosporium</i> (%)			
	Materiales de trigo			
	AN 5-81	AN 55-90	AN 67-98	AN 1185-95
PDA (Punta Negra)	0	0	0	0
Congelamiento	4.6	9.4	9.0	8.4
PDA (Gral.)	0	0	0	4

En la prueba placa agar específica para punta negra se detectó una alta incidencia del hongo *Alternaria*, no así para los otros hongos. Los genotipos más contaminados fueron AN 5-81, AN 55-90, AN 67-98 y el AN 1185-95 solamente presentó un 86 por ciento. Como en esta prueba, la semilla a utilizar se seleccionó con los síntomas de punta negra en el embrión, resulta ser que *alternaria* causa la enfermedad y tiende a inhibir la expresión de los agentes causales por presentar mayor inóculo en la semilla.

En lo que respecta al método de papel secante congelamiento, *Alternaria* se comporta de igual manera, pero ahora en un menor porcentaje permitiendo la expresión de *Helminthosporium* y *Fusarium*, para *Helminthosporium* permitió la expresión en los cuatro genotipos y para *Fusarium* solamente AN 5-81 y AN 55-90. Esta prueba permite la expresión de una mayor cantidad de hongos y esto se debe al mayor tamaño de muestra de la semilla analizada y porque sometió a congelamiento el embrión, el cual muere y de esta manera se evita la resistencia de la semilla hacia la expresión de los patógenos.

Para la prueba PDA (Gral.) la expresión del hongo *Alternaria* resultó ser alta inhibiendo la expresión relativa de *Helminthosporium* y *Fusarium*. Para *Helminthosporium* se expresa en un 4 por ciento en el genotipo AN 1185-95 y para *Fusarium* solamente fue de 9 por ciento en el mismo genotipo. La expresión de una mayor cantidad de hongos para esta prueba se debió al mayor tamaño de la muestra de semilla tomadas al azar.

CONCLUSIONES

1.- La enfermedad punta negra es causada por los hongos *Alternaria alternata*, *Helminthosporium* con tres especies caracterizadas y *Fusarium* con dos especies caracterizadas, siendo estos mínimos en relación con *Alternaria*.

2.- Los hongos detectados en este estudio no tienen efecto en la calidad fisiológica y física de las semillas.

LITERATURA CITADA

- Agarwal, V. K. and J.B. Sinclair. 1987. Principles of Seeds pathology, C.R.C., U.S.A., 1976 pp.
- Beltrán, S. A. 2000 Detección de hongos en semillas de Maíz (*Zea mays*) en la Lagunera. Tesis de licenciatura. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Booth, C. 1977. *Fusarium*, laboratory guide to the identification of the major species. Common Wealth Mycological Institute Ferry lane, Kew. Surrey England.
- Barnett, H. L. & Hunter, B. B. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth Edition. McMillan Publishing. United States of America.
- Bassey, E .A. 1950. Morphology and taxonomic of fungi. The maple press company. United States of America. 791 pp.
- Camacho, M. F. 1994, Pruebas de germinación y viabilidad En: semillas agrícolas. INIFAP. México 110-127 pp.
- Centeno, M. E. 1994. Detección de micoflora en semilla de trigo (*Triticum*

aestivum) del Municipio de Salvatierra, Guanajuato, UAAAN, Buenavista Saltillo, Coahuila, México, 1994.

- Christensen, C.M. 1972. Microflora and seed decoration in: viability of seeds. E.H. Robert Syracuse. University Press. Great Britain 59-93 pp.
- Copeland, L.O. and M.B. McDonald. 1985 Principles of seed science and Technology, 2a Edition, McMillan Publishing Company U.S.A 321 pp.
- Fenwick, K.A. 1988 Seed production of agricultural crops, 1a. edition., Logman Scientific Scientific and technical. Great Britain, 127-149 pp.
- Gordon, A. G 1991. Normas internacionales para las pruebas de germinación Reunión sobre problemas en semillas agrícolas.
- Hesseltine, C.W. 1974. Natural occurrence of mycotoxins in cereals. Mycopathology.
- Hunter, A. C. 1977. Pathologic aspects of seed quality in: Proceeding short course for seedmen. Mississippi State. U.S.A., 6: 105-111 pp.
- Kreitlow, K. W., C. L. Letebre, J.T. Presley y W.J. Zaumayer 1982. Enfermedades que pueden propagarse por semilla: Semillas anuario de agricultura de los Estados Unidos de América, Edit. C.E.C.S.A 484-497 pp.
- McGee, D. C. 1982. Testing methods for seed-borne fungi, Iowa State University.
- Mc. Gee, D. C. 1983. Seed health: An important quality in proceeding short course for seedmen. Mississippi State, U.S.A., Vol (21) 7-15 p.
- Moreno M. E. 1976. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. México Pronase/SAG: 35-67
- Navarrete, M.R. 1995. Patología de semillas, 1er curso-taller internacional sobre métodos para la detección de Patógenos en semillas. Memoria, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Navarrete, M.R., J.A. Acosta y E.M. Moreno. 1982. Sanidad de veinte materiales de frijol Producido en 4 fechas de siembra, XIX Congreso Nacional de Fitopatología. Memoria, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Neergaard P. 1977. Seed Pathology, Vol. I and II. John Willey & sons., Newyork.
- Patiño V., F. et al. 1983. Guía para la recolección y manejo de semillas de especies forestales. INIF. Bol. Div. No. 63. México. Pp. 111 - 126

Salazar S. C. M., 1989. Caracterización de Aislamientos de Fusarium moniliforme (Sheduw) de maíz en la Región de Ursulo Galván,(Tesis sin publicar) UAAAN.

Sinclair, J.B. and M. C. Shurtleff. 1975. Compendium of soybeans disease University Of Illinois, 69 pp.

Smith, I.M. et al 1992. Manual de enfermedades de las plantas.

USDA 1974, Seeds of woody plants in the United States. Agric. Handb. No 450. Forest Service, Washington, D.C.

Warham E.J. et al. Manual de Laboratorio. Ensayos para la semilla de Maíz y Trigo. CIMMYT

Willan, R.L. 1991. Guía para la manipulación de semillas. Estudio FAO, Montes 20/2.

Zillinsky, F. J., 1984. Guía para la identificación de enfermedades en cereales de grano Pequeño. CIMMYT. México 141 p.

ANEXO



Figura A1

Figura A2

Figura A3

Figura A4



Figura A5

Figura A6

Figura A7



Figura A8

Figura A9

Figura A10

Figura A11



Figura A12

Figura A13

Figura A14

Figura A15

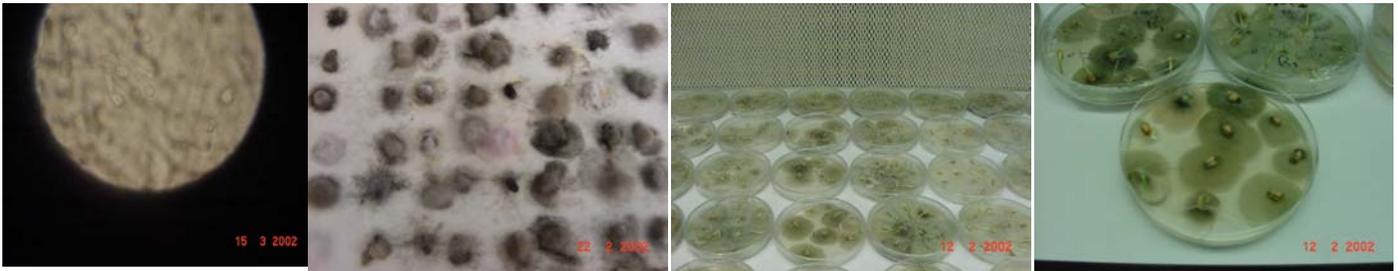


Figura A17

Figura A18

Figura A19

Figura A20

Fig. A1 Conidia de *Alternaria* en cadena 40 X. Montaje de medio pda. Semipermanente. Fig. A2 Conidia de *Alternaria alternata*. Note el pico pronunciado. Conidio maduro 100X. Fig. A3 Conidio maduro de *Alternaria alternata* 100 X Note la forma y el número de células. Fig. A4 Conidio de *Alternaria* vista con el objetivo de 40 X. Fig. A5 *Helminthosporium trincitum*. conidio y conidioforo por 40 X. Fig. A6 *Helminthosporium trincitum*, note la terminación del conidioforo en forma de zig-zag. Fig. A7 *Helminthosporium sativum*, colonia en semilla de trigo vista por el microscopio de disección. Fig. A8 Colonia de *Helminthosporium trincitum* en semilla. Fig. A9 Colonia de *Alternaria* en pda. Note la coloración del crecimiento. Fig. A10 Conidios de *Helminthosporium sativum* 100 X, note el tamaño y número de células. Fig. A11 Colonia de *Helminthosporium* spp en medio pda. Fig. A12 Conidios de *Helminthosporium hawaiiense*, note el tamaño y número de células. Fig. A13 Conidioforo y clamidosporas esféricas de *Fusarium trincitum* 40 X. Fig. A14 *Fusarium trincitum* 40 X. Fig. A15 Colonia de *Fusarium poae* en pda, note la coloración café rojiza. Fig. A16 Colonia de *Fusarium trincitum*, note la coloración naranja en pda. Fig. A17 *Fusarium poae*, note los microconidios esféricos. Fig. A18 Colonia de hongos en papel secante, note la diversidad de colores. Fig. A19 Colonias en pda. Fig. A20 Colonia del hongo *Alternaria* en pda, note la coloración café-olivo.

