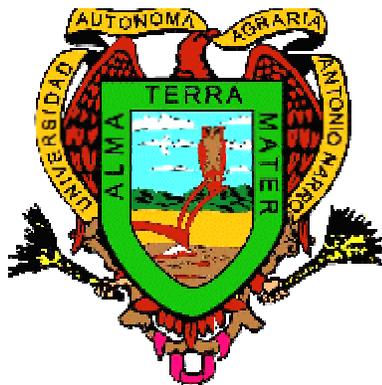


UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMIA



**Micoflora Presente en Semillas De Cebada (*Hordeum Vulgare L*) De
Navidad Nuevo León.**

Por:

Ma GUADALUPE GODINEZ RODRÍGUEZ

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

Ingeniero Agrónomo Parasitólogo.

Buenvista Saltillo, Coahuila. México.

Mayo de 2002.

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"

DIVISION DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Micoflora presente en semilla de cebada (*Hordeum vulgare* L.) de
Navidad Nuevo León.

Por:
Ma. GUADALUPE GODINEZ RODRÍGUEZ

TESIS

QUE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR
COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

APROBADO

PRESIDENTE DEL JURADO

Dr. ABIEL SANCHEZ ARIZPE

M.C. FAUSTINO LARA V.

Ing. MODESTO COLIN RICO

M.C. REYNALDO ALONSO VELASCO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MEXICO FEBRERO DEL 2002

DEDICATORIA

A mi Madre con sincero agradecimiento:
Tomada de tu mano inicie mi aprendizaje en la vida. Ahora casi todo lo que soy se lo debo a tu ejemplo de tenacidad y valor. Por haber sido siempre mi mas dilecto y respetable amiga, esto es tuyo, mamá.

Sra. Sara Rodríguez Hernández.

A mis Hermanos: Erika, Josefa y Sergio.
Por su apoyo moral y económico para cumplir una de mis metas, Gracias por su confianza depositada en mi.

A mi cuñado:

Daniel Bravo por que de una u otra manera ha sido el soporte de mi familia,
gracias.

Por todo tu amor, apoyo y comprensión gracias.

Adrián Herrera Trujillo.

A la familia Bravo Herrera por su apoyo moral hacia mi.

A mi primo y su familia por su apoyo y amor gracias:

Godínez López.

A las laboratoristas:

Por el apoyo brindado tanto moral como laboral gracias.

Cristina y Silvia.

A mis mas queridos amigos de siempre por el cariño y apoyo brindado: Heriberto Descomps (+), Arón Loya, Luis Ovalle, Felipe, Israel Díaz gracias por todo.

A mis inseparables amigos por toda la comprensión y apoyo gracias por estar conmigo siempre.

Abelina Roldan
Justino Gutiérrez

A mis compañeros y amigos:

Rosa Amada, Juana, Elena, Gustavo, Jaime, Manuel, Osvaldo, Pecina, Lorenzo, Rubén, Leonides, Juan, Anacleto, Lilia, Jaime, Filomeno, Treviño, Javier, Rodrigo, Damián, Melina.

A la familia Lerios por aceptarme como un miembro mas y todo el cariño que me ofrecen.

A la familia García García por apoyar a mi familia en todos los aspectos muchas gracias.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”. Por haberme brindado la oportunidad de cumplir mi sueño de ser profesionista.

Al Departamento de Parasitología Agrícola por todas las facilidades brindadas para la realización de este trabajo.

Al Mc. Abiel Sánchez, por sus oportunas sugerencias y apropiadas correcciones al presente trabajo y por la confianza depositada en mí.

Al Mc. Faustino Lara Victoriano por el apoyo brindado para la realización de este trabajo.

Ing. Modesto Colín por participar en el presente trabajo.

Al Mc, Jesús García Camargo por todo el aprecio y apoyo durante la estancia en la carrera y por la participación en el presente trabajo.

Al Ing Antonio Cárdenas, por su valiosa amistad y desinteresada ayuda.

INDICE

INDICE DE CUADROS

INDICE DE FIGURAS

RESUMEN

INTRODUCCION.....	1
Objetivos.....	3
Clasificación Taxonómica.....	4
REVISION DE LITERATURA.....	5
Infección y Transmisión de Enfermedades en Semilla.....	5
Enfermedades causadas por <i>Helminthosporium</i>	7
Enfermedades causadas por <i>Alternaria sp.</i>	10
Enfermedades causadas por <i>Alternaria triticina</i>	11
Infección de la Semilla.....	13
Enfermedades causadas por <i>Fusarium graminearum</i>	15
MATERIALES Y METODOS.....	19
Muestreo	19
Examen Visual.....	20
Prueba en placa de Agar.....	21
Prueba con Papel Secante y Congelamiento	23
Prueba de Germinación.....	26
Prueba de Vigor.....	27
RESULTADOS.....	29
Examen Visual	29

Prueba en placa Agar.....	30
Prueba con Papel Secante y Congelamiento.....	35
Identificación.....	36
Prueba de Germinación.....	39
Prueba de Vigor.....	40
CONCLUSION.....	41
BIBLIOGRAFIA.....	42
APENDICE.....	44

INDICE DE CUADROS

Cuadro No.	paginas
3.1. Resultados de la prueba de peso en 1000 semillas.....	50
3.2. Resultado de Análisis de pureza.....	52

INDICE DE FIGURAS

Figura No.	paginas
4.1. Incidencia de los hongos detectados en diferentes materiales de cebada en semilla sin gluma en prueba de placa Agar.....	31
4.2. Incidencia de los hongos detectados en diferentes materiales de cebada en semilla blancas en prueba de placa Agar.....	33
4.3 Incidencia de los hongos detectados en diferentes materiales de cebada en semillas con punta negra en prueba de placa Agar.....	35
4.3. Incidencia de hongos detectados en diferentes materiales de cebada en la prueba de papel secante y congelamiento.....	36
4.4. Germinación de diferentes materiales de semilla de cebada.....	40
4.5. Vigor de diferentes materiales de semilla de cebada mediante la prueba de Envejecimiento acelerado.....	41

RESUMEN

El riesgo de propagar agentes patogénicos transmitidos por semillas varia mucho según el origen de estas. Como ya se sabe que las semillas son portadoras de una micoflora que varia según la especie hospedera, la micoflora transmitida por la semilla puede ser infectada empleando pruebas de sanidad de las semillas. Los objetivos del presente trabajo fueron: determinar la micoflora que existe en las semillas de cebada y determinar su efecto en la calidad de esta. Para detectar la micoflora presente en semillas de cebada, se utilizaron las pruebas siguientes: examen visual, la prueba de Agar y papel secante _ congelamiento determinando la incidencia, la correlación con parámetros de calidad fisiológica y física. La identificación a genero y especie de hongos presentes en semillas de diferentes materiales tales como CANF 25-95, CANF 593-95 y CAN 435-94. El examen visual determino la incidencia de punta negra de 55 por ciento para el material CAN 435-94, para semillas chupadas''''', para el material CANF 593-95. La incidencia de *Alternaria sp* y *Helminthosporium*, fueron altas, tanto para prueba de Agar como para papel secante y congelamiento. No hubo correlación con vigor y germinación en ninguno de los materiales de semilla de cebada evaluadas; se identificaron los siguientes hongos presentes en semillas: *Alternaria sp*, *Helminthosporium sativum*, *Fusarium graminearum*, *Cladosporium sp*, *Nigrospora sp* y *Stemphylium sp*.

INTRODUCCION

En México se siembran actualmente 329 mil hectáreas de cebada, siendo los principales estados productores los ubicados en la región de los valles altos del país; donde después del maíz es el segundo cultivo de temporal más importante. La cebada tiene como ventaja que exige mas agua que al principio de su desarrollo que al final. La cebada es resistente a la sequía a pesar de tener un coeficiente de transpiración elevado(Leyva y Romero, 1982).

Como ya se sabe los valles altos de México son regiones aptas para el cultivo de la cebada de temporal, pero diversas enfermedades limitan la producción.(Warham y Butler, 1996).

El rendimiento de la cebada por lo regular es bajo debido ala precipitación irregular que ocurre en esos lugares y otros factores como las enfermedades, que afectan severamente a este cultivo y a sus semillas.

Como se sabe las enfermedades de las semillas son uno de los factores que provocan el deterioro de la misma; además de las condiciones climáticas anteriores ala cosecha, la madurez de la semilla, el daño mecánico, el ambiente de almacenamiento (temperatura y humedad) y de mas factores(Moreno, 1993).

El éxito de los hongos como fitopatogenos radica en varios hechos entre ellos: producen grandes números de esporas, lo que significa gran potencial de

inoculo, las que son fácilmente transportadas por el viento, agua de riego, gotas de agua que salpican a la planta, implementos agrícolas, y por supuesto por el hombre a través de las transacciones comerciales, siendo una de ellas las de las semillas, y desafortunadamente en ocasiones el movimiento de las semillas en los programas de investigación, nacionales o internacionales.(Moreno, 1993)

El riesgo de propagar agentes patógenos transmitidos por semillas varia mucho según el origen de esta. Ya que se sabe que las semillas son portadoras de una microflora que varia según la especie hospedera. Esto se aplica principalmente a las microfloras arraigadas a mas profundidad, aunque en la en la superficie también puede haber muchos huéspedes accidentales. La microflora transmitida por la semilla puede ser identificada empleando pruebas de sanidad de las semillas.(Warham y Butler, 1996).

Los organismos que son transmitidos por semillas causan diferentes daños; si la infección es muy severa, el daño puede ocasionar la muerte del embrión. Con infecciones leves, las semillas no pierden su poder germinativo, sin embargo puede verse afecto su vigor por lo tanto si llega a germinar, son portadoras directas de los patógenos; lo cual tendrá un efecto determinante en el desarrollo de las enfermedades que son capaces de causar, bajo condiciones propicias para el patógeno. (Moreno, 1993)

OBJETIVOS

Determinar que existe un problema fitopatológico en las semillas de cebada producidas en Navidad, Nuevo León.

Determinar la microflora que existe en las semillas de cebada producidas en Navidad, y su relación con la enfermedad de trigo “punta negra”.

HIPOTESIS

Bajo la hipótesis de que en la región de Navidad Nuevo León existe un problema fitopatológico presente en las semillas de cebada infectadas por los hongos causantes de punta negra como lo es *Alternaría*, *Helminthosporium*, *Fusarium* inciden en un 60 por ciento en la semilla de cebada.

Clasificación taxonómica de los principales hongos detectados en semilla de cebada.

Super reino	Eukarionta
Reino	Micetaea
Subdivisión	Deuteromycetes
Subclase	Hyphomycetidae
Orden	Moniliales
Familia	Moniliacea
Genero	Alternaria spp.

(Alexopoulos y Mims, 1979)

REVISION DE LITERATURA

Infección y Transmisión de Enfermedades por Semilla

Los organismos transmitidos por la semilla son propagados por la semilla o transportados con esta y sobreviven como esporas o estructuras en reposos dentro de la semilla y sobre ella. Los hongos transmitidos por la semilla a menudo producen plantas infectadas, mientras que los que son transportados por la semilla se consideran relativamente poco importantes en la dispersión de enfermedades. Ambos tipos de hongos pueden constituir un mecanismo mediante el cual un agente puede ser introducido en una zona donde originalmente no existía y, por consiguiente estos hongos son importantes para las autoridades fitosanitarias y fitopatólogos. (Warham y Butler, 1996).

Como ya se sabe las semillas verdaderas son óvulos maduros, cuentan en su interior con una pequeña plantita en forma en estado embrionario (embrión), con una parte donde se acumulan las reservas alimenticias, el endospermo, y una cubierta protectora conocida como la testa. El embrión está formado por uno o más cotiledones, la plumula, el hipocotilo, y la radícula. Los hongos se pueden localizar en la testa, en el endospermo o en el embrión, o a la vez más de una de estas estructuras o bien como contaminantes o acompañantes, es decir sin estar físicamente ligados. (Moreno, 1988)

Por lo tanto, los hongos en las semillas son acarreados en dos formas, como una infección, o como una infestación. La primera implica que el patógeno ha

invadido los tejidos de la planta, y se ha establecido en ellos, y la segunda, el patógeno va como contaminante, en forma de esporas, o de esclerocios, directamente en las semillas, pero sin invadir las testas o pericarpios, o bien en residuos del cultivo y en particular de suelo(Moreno, 1988).

La infección de la semilla puede llevarse a cabo en forma sistémica a través del pedúnculo de las flores y de los frutos hasta llegar a las semillas, por el funículo(Moreno, 1993).

Otros hongos penetran al embrión a través de las paredes del ovario y de la testa. Pero otros no son muchos los hongos que pueden invadir las semillas a través de los tejidos vasculares de las plantas. Los hongos también pueden entrar a las semillas por las aberturas naturales, como el hilo y el micropilo, o por heridas. (Moreno, 1993)

Se usan los métodos para las pruebas internacionales de sanidad de las semillas para detectar la presencia de organismos en la semilla. Se recomienda adoptar estos métodos estandarizados al someter las semillas a pruebas para la cuarentena y la certificación fitosanitaria, ya que esto contribuirá a que la semilla de gran calidad no solo debe estar exenta de enfermedades transmitidas por la semilla sino que también debe tener una gran capacidad de germinación y vigor. (Warham y Butler, 1996).

Enfermedades Causadas por *Helminthosporium sp.*

Entre los principales problemas fitopatológicos de la cebada se encuentran: los carbones, el tizón bacteriano y las manchas foliares entre muchas mas, esta causada por *Helminthosporium sativum* y otras especies(Zillinsky,1984).

Cinco especies pertenecientes al genero *Helminthosporium*, son patógenos importantes de los cultivos cerealícolas que están ampliamente distribuidas en todo el mundo(Moreno, 1988).

El genero *Helminthosporium* incluye un gran numero de especies que atacan principalmente cereales en todas partes del mundo, presentando un gran numero de variación de síntomas en sus hospedantes, como tizones foliares, manchas reticulares, rayados en las hojas, daños al tallo y manchados de los granos, además de muertes de plantulas. En México, los únicos estudios de daños causados por enfermedades en cebada se refieren al daño causado por royas, como *P. Hordei* en 1978 y al ocasionado por *Helminthosporium sativum*. En consecuencia, se considera que las especies de *Helminthosporium*, presentan un gran potencial patogénico por lo cual hay que conocer las especies presentes en México para procurar su control. (Romero,1993).

H. sativum es causante de la mancha marrón en planta adulta, una enfermedad muy importante, que en año de 1998 causo drástica disminución en

la producción de granos en el país. La principal fuente de inóculo es la semilla que en algunos casos llega a infecciones superiores a 80%, como asimismo conidios libres en el suelo. (Romero, 1993)

Los patógenos causantes de manchas foliares como *H. Sativum* (*Bipolaris sorokiniana*) y *Drechslera tritici repentis* son introducidas en su mayoría en zonas limpias, por medio de la semilla. Sin embargo, en áreas donde rastrojos infestados de cebada, infestados por inóculo contribuyen a la epidemia total. (Romero, 1993)

En cuanto al desarrollo del hongo, este sobrevive mientras que los conidios en el germen o mientras que los mycelia dentro de la esporulación del germen en hojas más bajas proporcionan el inóculo que se puede dispersar por el viento, conduciendo a la extensión secundaria de la enfermedad. El inóculo germen llevado da lugar a menudo a infecciones del punto tarde en el ciclo de la cosecha. La humedad alta o la irrigación, también como temperaturas más calientes (20-25 C) favorece la infección y el desarrollo de la enfermedad. (Leyva y Romero, 1982).

Identificación.

Las especies dentro de este grupo pueden identificarse principalmente por las características de sus conidios, los cultivos que infectan y los síntomas que producen.

H. sativum (Tizón de la hoja), los conidios se observan negros y brillantes bajo aumentos pequeños, pero con aumentos mayores se ven de color café oliva

oscuro. Esta principalmente de masas densas de conidioforos y conidios. Tienen paredes gruesas y típicamente de cinco a nueve septas, son elípticos pero pueden ser rectos o ligeramente curvos. Con paredes lisas y tienen una cicatriz prominente. El estado perfecto rara vez se presenta en la naturaleza(Leyva y Romero, 1982).

Entre los patógenos que atacan a los cereales *Helminthosporium sativum* es uno de los mas ampliamente distribuidos. Las enfermedades causadas por este hongo probablemente restrinjan la producción de trigo y cebada en las áreas subtropicales mas que ningún otro patógeno.(Zillinsky, 1984).

ENFERMEADES CAUSADAS POR ALTERNARIA SPP.

Estos organismos, llamados con frecuencia hongos de campo, son agresivos productores de esporas. Están ampliamente distribuidos y se reproducen en tejido vegetal enfermo, maduro o muerto; especialmente durante periodos de alta humedad(Agrios, 1988).

El genero alternaría el desarrollo de micelio y de coloración del grano (punta negra) puede reducir rendimientos y calidad(Moreno, 1988).

En todo el mundo se ha establecido un gran numero de especies del genero alternaría. La mayor parte de las especies que existen como saprofitas o patógenas de cultivos diferentes de los cereales. Algunas especies, tales como **A. Triticina** causan tizones severos en las hojas y en espigas de trigo y **triticales**. Estas enfermedades fueron reportadas primero en India y recientemente, se informo de su presencia en trigo en el Occidente de Asia y el Norte de Africa.(Zillinsky, 1984)

Alternaria infecta a varias especies vegetales de todo el mundo. Sus esporas están presentes en el aire y polvo en todas partes, dichas esporas también se depositan y crecen como contaminantes en los cultivos de laboratorio de otros microorganismos y sobre los tejidos vegetales muertos destruidos por otros patógenos u otras causas.

En la actualidad, muchas especies de *Alternaria* son principalmente saprofitas; es decir, no pueden infectar a los tejidos vivos de las plantas y solo se desarrollan sobre tejidos vegetales muertos o en proceso de descomposición y, en mayor grado, sobre tejidos viejos o senescentes, como hojas y pétalos viejos y frutos maduros.(Agrios,1988)

Las especies Fitopatógenas de *Alternaria* invernán como micelio en los restos de plantas infectadas, y en forma de esporas o micelio en las semillas. En caso de que el hongo vaya con las semillas, ataca a las plantulas (por lo común después de que han emergido), y produce el ahogamiento de ellas o bien lesiones del tallo y la pudrición del cuello.(Agrios, 1988)

ALTERNARIA triticina

Alternaria triticina causa enfermedad en trigo; existen 55 publicaciones de *A.* en trigo, 49 señalaron que en la India, y solamente 6 señalaron estar ubicadas en otras partes del mundo, como son : Italia, Africa del Norte, Nigeria, y México(Prabhu y Prasada, 1996).

La distribución del patógeno y de la semilla infectada es aerotransportado a la distribución mundial de la especie de *A.* en cosechas comúnmente crecidas, y sugieren que es la misma enfermedad encontrada e identificada en la India o que se ha atribuido a otros patógenos a otra parte.(*A. alternata* o *A. tenuis*). De hecho las esporas de *A. triticina* son similares en dimensión de una variable y las

dimensiones a las de otros hongos, midiendo 9-30 x 20-90 micras(M. B. Ellis, 1976).

Alternaria triticina esta se presenta en hojas, en glumas y las semillas de trigo. Los tubos germinativos forman apresorios como las estructuras y penetran a la epidermis directamente o a través de los estomas (Prabhu y Prasada, 1966).

En las hojas maduras la enfermedad aparece como puntos marrones, ovals, rodeados a menudo por un halo amarillento. Bajo condiciones favorables, las lesiones se unen. Las semillas se infectan a menudo sin síntomas externos de la enfermedad. La infección requiere un periodo mínimo de adherencia de 12 hrs., Pero solamente 48 hrs. Conceden a la infección severa; que se facilita mas afondo a una temperatura optima de 20°C. Sin embargo, el patógeno puede también causar la infección que se sigue en periodos de mojado interrumpidos con 10 hrs, de humedad en cada cuatro días consecutivos (Prabhu y Prakash; 1973).

Un liquido filtrado de *A. triticina* inhibe la germinación de gérmenes e induce síntomas en las hojas, el principio tóxico es termoestable y no es especifico, Por el contrario las relaciones entre las enfermedades causadas por alternaría en general y las plantas productoras de semillas de trigo es relativamente resistente a la infección por *A. triticina* (Prabhu y Prasada, 1966). La susceptibilidad aumenta con la edad y alcanza su pico en las plantas adultas, especialmente esas con el vigor disminuido.(Prabhu y Prasada 1966). Los métodos de control incluyen el uso de gérmenes sanos, de cultivares resistentes, y el uso de los fungicidas.

El genero *alternaria* el desarrollo de micelio y de coloración del grano (punta negra) puede reducir la enfermedad llamada punta negra de los granos de trigo y cebada es causada por un numero de agentes, entre los cuales *A. alternata* es el principal, seguidos por *A. triticina*, una especie de *Helminthosporium*, *Cochliobolus sativus*, y una especie de *Stemphylium*. Mas agentes de la punta negra han sido enumerados por otros investigadores(Prabhu y Prasada, 1996).

Prabhu y Prasada (1966); demandaron que *A. triticina* es el patógeno principal del trigo mientras que *A. alternata*, es un saprofito que contamina el grano completamente formado sin la infección de las glumas y en contraste se dice que *A. triticina* ataca en todas las etapas de la formación del grano (Prabhu y Prasada, 1966). Sin embargo según Bhowmik, (1969), dice que el micelio de *A. alternata* y *A. triticina* causan infecciones similares en gérmenes.

Infección de la semilla.

La infección de la semilla es una infección quieta en la cual el patógeno entra en el germen en un primer tiempo hasta que la semilla absorba el agua y germina. Neegaard 1977. Enumero 36 especies de *alternaria* que se pudo sugerir que las especies patógenas al follaje también infectan prácticamente a la semilla.

Las esporas se pueden continuar en la superficie implicando la contaminación y así mismo la infección. La infección de algunas semillas, no es

visible, y las semillas germinan sin muestras externas de la enfermedad(Neegaard, 1977).

La infección más grande es cuando la enfermedad ocurre en el estigma. Y la infección es a menudo quieta, e infecta a las semillas, a menudo sin muestras de la enfermedad visibles(Moreno, 1993).

IDENTIFICACION.

Las colonias de hongos son de color gris oscuro a negro y se desarrollan a partir de micelio inmerso o parcialmente superficial. Los conidioforos son de color café oscuro a oliváceo, se desarrollan solos u ocasionalmente en pequeños grupos, pueden ser simples o ramificados y usualmente tienen un grosor de 3-6 micras. (Zillinsky, 1984)

Los conidios de *alternaria* spp. Tienen características morfológicas únicas, por medio de las cuales este genero puede ser identificado fácilmente. Sin embargo, las similitudes entre las especies dentro del genero hacen que la identificación de las especies sea muy difícil. Los conidios de la mayoría de las especies saprofitas de *alternaria* que se presentan en cereales se desarrollan en cadenas, son ovoides o elipsoidales y con frecuencia uno de sus extremos se adelgaza hasta formar un pico. Son de color café de tono medio a oscuro. Tienen

paredes lisas o ligeramente rugosas, varias septas transversales, longitudinales u oblicuas y miden 20-90 micras x 8-20 micras(Zillinsky, 1984).

Las especies que causan manchas foliares desarrollan conidios solos o en cadenas algo más grandes hasta de 100 micras de longitud y 30 micras de ancho, pero son muy similares en otras características. Pueden distinguirse de otras formas saprofitas por su habilidad para parasitar al trigo.(Zillinsky, 1984)

Fusarium graminearum

Las especies del genero *Fusarium* producen dos tipos de conidios que difieren considerablemente en el tamaño. Algunas especies producen esporas pequeñas llamadas microconidios, pero otras no las producen. Los microconidios son extremadamente pequeños y carecen de características útiles para su diagnóstico; sin embargo, la presencia o ausencia de estos puede ser útil para la identificación de las especies (Moreno, 1988)

Fusarium graminearum esta especie a través de todo el mundo causa enfermedades como pudrición de la raíz, pudrición de la corona y roña. Estas enfermedades son especialmente serias en los cultivos de trigo en China, sur de Brasil, Argentina y Europa Occidental. El desarrollo de *F. graminearum* se favorece aparentemente en áreas con inviernos suaves y veranos húmedos y calientes. (Zillinsky, 1984)

En trigo y cebada en el 2001- 2002 fueron afectadas por una serie de problemas derivados fundamentalmente de las precipitaciones excesivas durante el ciclo en sus rendimientos, como en la calidad del grano. La variable que mas comprometió los rendimientos y las posibilidades de comercializar los granos fue la fusariosis de la espiga (Leyva y Romera, 1982).

Es una de las enfermedades mas devastadoras en los cultivos de trigo y cebada en varias partes del mundo, y específicamente de creciente preocupación en Paraguay y Uruguay. La especie mas frecuente en cebada, si bien se ha encontrado a *F. graminearum* como la especie que predomina en el país(Warham y Butler, 1996).

La enfermedad se desarrolla en áreas de clima templado y húmedo a demás de que es muy destructiva en primaveras cálidas y húmedas, como la ocurrida en el 2001 en el Litoral Oeste del país. En Estados Unidos y Canadá la fusariosis en trigo y cebada causo un gran impacto económico y social. En Estados Unidos, desde 1993 ocurrieron epidemias sucesivas que provocaron perdidas mayores a 3 billones de dólares dejando a muchos productores fuera de producción(Moreno, 1988).

Los síntomas en cebada aparecen como granos discretos, pardos, pardo-anaranjados, marrones, distribuidos en forma discontinua en la espiga. Los granos afectados luego de cosechados se muestran mas o menos con una coloración blanco – rosada a pardo clara, llegando a ser pardo oscura en cebada.

Sin embargo, la característica mas relevante de este hongo es la capacidad de producir micotoxinas que son nocivas para la salud humana y animal.(Moreno, 1988).

El DON (deoxinivalenol) o también llamada vomitoxina por los síntomas que ocasionan en cerdos, es una micotoxina producida por *F. graminearum* y pertenece al grupo de los tricotecenos. Las micotoxinas son compuestos tóxicos derivados del metabolismo secundario de los hongos. Se debe tener en cuenta que el DON no se distribuye homogéneamente en el grano, su concentración es mayor en la cascara por lo que alimentos con salvado contribuyen en mayor riesgo(Leyva y Romero, 1982).

Identificación

La colonia en la semilla, con abundante micelio fino y suelto, inicialmente blanca, pero lentamente se vuelve amarilla y, por ultimo, roja. Bajo el micelio o mezcladas en el, hay masas de esporas de color pálido o café claro de tamaño irregular. Las masas de esporas jóvenes son blancuzcas, muy viscosas y de forma y de tamaño irregulares.(Warham y Butler, 1996).

Los microconidios son producidos en masas de color naranja a amarillo durazno en la base de las espiguillas o en las orillas de las glumas o lemas. Los macroconidios son hialinos, rectos o ligeramente curvos y con frecuencias tienen una célula apical alargada que se curvan mas abruptamente cerca de la punta. Típicamente miden 25-50 micras x 2.5-5.0 micras, aunque algunos exceden estas medidas.(Zillinsky, 1984)

MATERIALES Y METODOS.

El presente trabajo se llevo a cabo en el laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola, así como en el laboratorio de semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Muestreo

Para la realización de este trabajo se utilizaron tres materiales de cebada, los cuales son: forrajeros el CANF 25-95 y el CANF 593-95 y de grano el CAN 435-94, estas semillas fueron producidas en Navidad Nuevo León en el ciclo Agrícola del año 2000 al 2001.

Examen visual

Establecimiento de Experimento.

El análisis visual se hizo con 400 semillas de cebada de los siguientes materiales: CANF 25-95, CANF 593-95 y el CAN 435-94.

Continuando con el examen visual, las muestras antes mencionadas se procedió a separar las semillas de manera manual con la ayuda de unas pinzas.

La evaluación consistió en contabilizar y separar a: semillas blancas, semillas con punta negra, semillas de color café claro, semillas color café obscuro y semillas chupadas. Así mismo para la determinación de la incidencia.

Siembra en Placa Agar

Establecimiento del Experimento.

Se seleccionaron 300 semillas de cebada de cada material: CANF 25-95, CANF 593-95 y CAN 435-94 las cuales se clasificaron en 100 semillas blancas, 100 semillas sin gluma y 100 semillas con punta negra.

Desinfección de las Semillas

Una vez seleccionadas las semillas de cebada en matraces de 500 ml conteniendo las semillas; agregándoles una solución de hipoclorito de sodio al 1.0 por ciento, para luego agitarse por un espacio de tres minutos, una vez pasado este lapso de tiempo se vaciaron las semillas en un colador para separar estas de la solución, de cloro y fueron depositadas en un papel secante estéril para dejar que se secaran las semillas.

Siembra

Para llevar a cabo este proceso de siembra en Papa Dextrosa Agar (PDA) se tomaron todas las medidas de seguridad para no tener ningún contaminante en el medio de cultivo durante el llenado de las cajas petrí. La siembra se realizó en la cámara de transferencia previamente desinfectada con alcohol y se puso en funcionamiento 15 minutos antes de iniciar la siembra.

La siembra se realizó utilizando un medio de cultivo PDA donde de cada grupo de 100 semillas se distribuyeron en 10 repeticiones con 10 semillas cada una. La siembra se realizó en el medio de cultivo PDA donde se distribuyeron las 10 semillas de cada repetición separadas a espacios uniformes en la placa Agar de la caja petrí, posteriormente se sellaron con paraflim, a cada caja se identificó con su respectiva repetición y material. Las cajas se llevaron a incubación a una temperatura ambiente de 18 a 26°C. Para luego proceder a la cuantificación de las colonias de hongos a partir de los cinco días después de la siembra hasta los nueve días donde se realizó la última evaluación.

La evaluación se realizó mediante el conteo de colonias fungosas según la coloración, su crecimiento en el medio y su identificación posteriormente con ayuda de microscopios y claves taxonómicas correspondientes. La incidencia se determinó, en base a 100 observaciones de semillas, de cada material de cebada estudiado, y tomando en cuenta los parámetros: semillas blancas, semillas sin gluma y semillas con punta negra.

Siembra en papel secante y congelamiento.

Establecimiento del experimento.

Se seleccionaron 400 semillas de cebada de cada material: CANF 25-95, CANF 593-95 y CAN 435-94. Siendo estos materiales los dos primeros de uso forrajero y el último de grano.

Desinfección de las semillas

Una vez seleccionadas las semillas de cebada en matraces de 500 ml conteniendo las semillas; agregándoles una solución de hipoclorito de sodio al 1.0 por ciento, para luego agitarse por un espacio de tres minutos, una vez pasado este lapso de tiempo se vaciaron las semillas en un colador para separar estas de la solución de cloro y fueron depositadas en un papel secante estéril para dejar que se secan las semillas.

Siembra

Para llevar a cabo este proceso de siembra en papel secante y congelamiento, se tomaron todas las medidas de seguridad para no tener ningún contaminante. La siembra se realizó en la cámara de transferencia previamente desinfectada con alcohol y se puso en funcionamiento 15 minutos antes de iniciar la siembra.

La siembra se realizó utilizando cajas de papel secante y congelamiento. Donde de cada grupo de 400 semillas se distribuyeron en cinco repeticiones con 80 semillas cada una. La siembra se realizó en cajas de papel secante y congelamiento, donde se distribuyeron las 80 semillas de cada repetición separadas a espacios uniformes en cada caja de plástico, posteriormente se sellaron con paraflim, cada caja se identificó con su respectiva repetición y material. Las cajas se llevaron a incubación a una temperatura ambiente de 19 a 25°C por un periodo de 48 horas, para luego meter las cajas a un congelador a -19°C de temperatura durante 24 horas. Después de este tiempo se sacan las cajas y se vuelven a dejar a temperatura ambiente durante 11 días para después proceder a su cuantificación de las colonias de hongos a partir de los 11 días después de la siembra hasta los 12 días donde se realizó la última evaluación.

La evaluación se realizó mediante el conteo de colonias, bajo el microscopio estereoscopio y a su vez la identificación, mediante claves taxonómicas correspondientes. Fue determinada la incidencia de los hongos detectados en los diferentes materiales estudiados, haciendo esto en base a la observación de 400 semillas de cada material de semillas de cebada.

Prueba de germinación

Una prueba de germinación, permite establecer comparaciones del poder germinativo entre los diferentes lotes de semillas de una misma especie (Moreno, 1996).

Establecimiento del experimento

Se seleccionaron 400 semillas de cebada de los materiales: CANF 25-95, CANF 593-95 y CAN 435-94.

Siembra

Para llevar a cabo la siembra la muestra fue homogenizada, estas muestras fueron divididas en cuatro repeticiones de 100 semillas cada una, estas semillas se separaron a espacios uniformes sobre una toalla de papel húmedo, posteriormente se colocó otra toalla para cubrir las semillas. Las toallas con las semillas se doblaron en forma de rollo, anotando los datos correspondientes de

cada material para su identificación y se colocaron en posición vertical dentro de una bolsa de plástico abierta en la parte superior, estas se introdujeron en la cámara germinadora a 25°C de temperatura durante siete días. Realizando el primer conteo al quinto día y el segundo al séptimo día. Teniendo como parámetros de evaluación las plántulas normales, anormales y no germinadas.

Evaluación

Los criterios de evaluación para las plántulas normales fueron de 2.5 cm de crecimiento radical en adelante y de dos a tres raíces con la misma longitud de crecimiento, y para plántulas anormales se tomaron aquellas con un crecimiento radical menor de 2.5 cm y menos de dos raíces; pero también se tomaron en cuenta aquellas semillas que no germinaron durante esta prueba.

Prueba de vigor (envejecimiento acelerado).

Establecimiento del experimento.

Se tomaron al azar 400 semillas de cebada de los materiales CANF 2595, CANF 593-95 y CAN 435-94.

Siembra

Para llevar a cabo la siembra las semillas fueron divididas en dos repeticiones de 200 semillas, en una canastillas de alambre que se pone dentro de un vaso de precipitado de 250ml conteniendo 100ml de agua. Estas semillas se colocaron en soportes de alambre para que no tengan contacto con el agua. Estos recipientes que contienen las canastillas con semillas se taparon con un plástico sujetado con ligas y se procedió a colocarse dentro de la cámara de envejecimiento a una temperatura de 43 °C durante 72 horas. Al terminar este tiempo de incubación se sacaron los recipientes con las semillas y se realizó la prueba de germinación, las muestras fueron divididas en cuatro repeticiones de 100 semillas cada una, estas semillas se separaron a espacios uniformes sobre una toalla de papel húmedo, posteriormente se colocó otra toalla para cubrir las semillas, las toallas con las semillas se doblaron en forma de rollo, anotando los datos correspondientes de cada material para su identificación y se colocaron en una bolsa de plástico abierta

en la parte superior, estas se introdujeron en una cámara germinadora a 25°C de temperatura durante siete días, realizándose un conteo tomando los siguientes parámetros: plántulas normales, anormales y no germinadas.

Evaluación

Después de lo realizado anteriormente se realiza la evaluación tomando en cuenta los siguientes criterios: para plántulas normales deben tener 2.5 cm ó mas de crecimiento radical y de dos a tres raíces con el mismo crecimiento y para plántulas anormales debe de tener menos de 2.5 cm de crecimiento radical y menos de dos raíces, pero también tomando en cuenta las semillas no germinadas en esta prueba.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La micoflora de la semilla sin gluma evaluada en la placa de agar, sé

Obtuvieron los siguientes resultados. Los hongos encontrados con mayor incidencia fueron *Alternaria sp* y *Helminthosporium sativum* , mientras que los de menor incidencia fueron *Fusarium*, *Nigrospora*, *Stemphylium* y *Rhizopus*.

Al realizar la evaluación se encontró que en el material CAN -435-94 presenta una incidencia del 98 por ciento de *Alternaria Sp*. Siendo mayor que los materiales CANF 593-95 con 70 por ciento de incidencia y el material CANF 25-95 con un 56 por ciento de incidencia. Mientras que el hongo *Helminthosporium sativum* el material que presento mayor incidencia fue el CANF 593-95 con un 20 por ciento.

Como lo muestra la gráfica los demás hongos encontrados la incidencia que estos presentan es muy baja, pero haciendo una observación de que el material CANF 25-95 presento el 28 por ciento de semillas sanas. Esto nos demuestra que este material es el menos infectado por estos patógenos.

Pero también hay que mencionar que el material CANF 593-95 demostró ser él más susceptible a los patógenos encontrados.

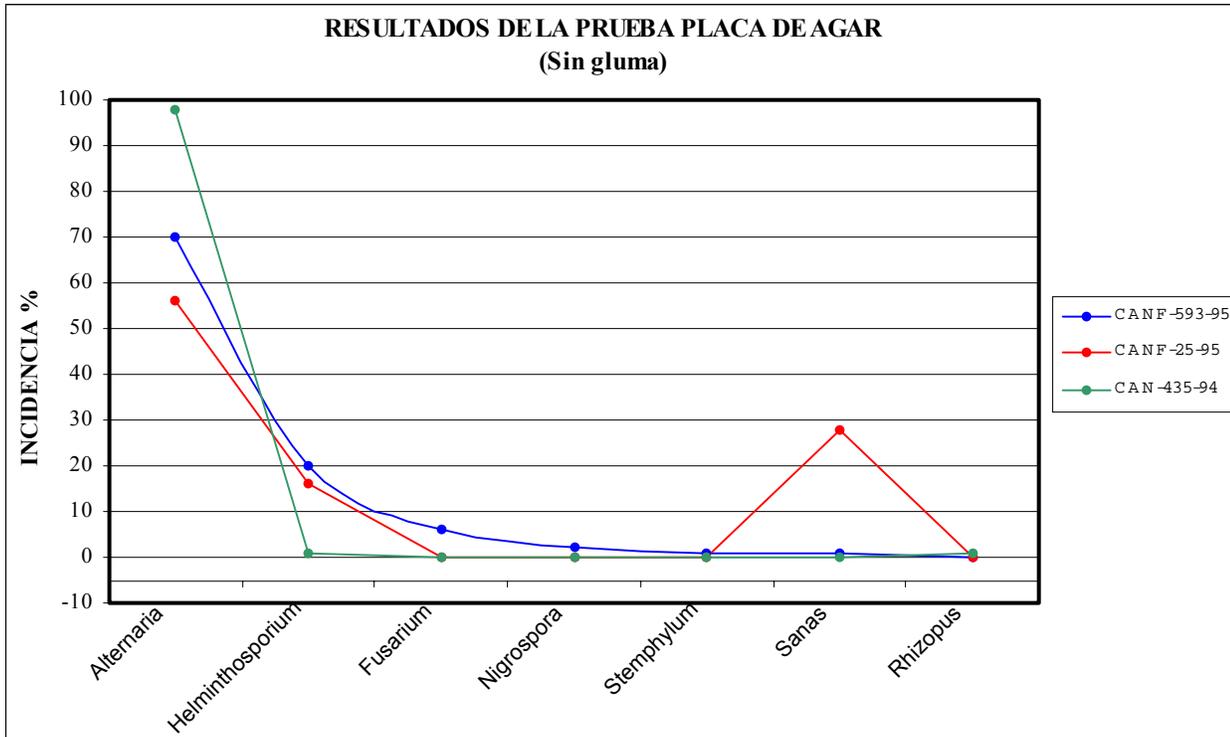


Figura 1. Incidencia de hongos detectados en diferentes materiales de cebada en semillas sin gluma en placa de Agar.

La microflora de las semillas blancas se determinó primeramente empleando la prueba de placa agar; donde se obtuvieron los siguientes resultados.

La presencia de *alternaría sp.* fue muy alta en los materiales CANF 25-95, CANF 593-95 y CAN 435-94; en cuanto *Helminthosporium sativum*, y *Rhizopus*. Se comportaron como intermedios en la incidencia de la semilla de los tres materiales antes mencionados.

Evaluando cada uno de los materiales se encontró que el material CAN 435-94 presentó mayor incidencia de *Alternaria sp.* con 89 por ciento, mientras que los otros dos materiales tienen una incidencia similar al CANF 593-95 de 58 por ciento y CANF 25-95 de 55 por ciento.

Con lo que respecta al hongo *Helminthosporium sativum* se encontró que el material CANF 25-95 presentó una mayor incidencia de un 37 por ciento, el material CANF 593-95 una incidencia del 27 por ciento mientras que el material más bajo fue el CAN 435-94 con un nueve por ciento como lo muestra la gráfica.

Lo anterior coincide con lo que cita Zillinsky (). Que tanto *Alternaria* como *Helminthosporium* causan tizones severos en las hojas y en el grano la decoloración que pueden reducir rendimiento y calidad.

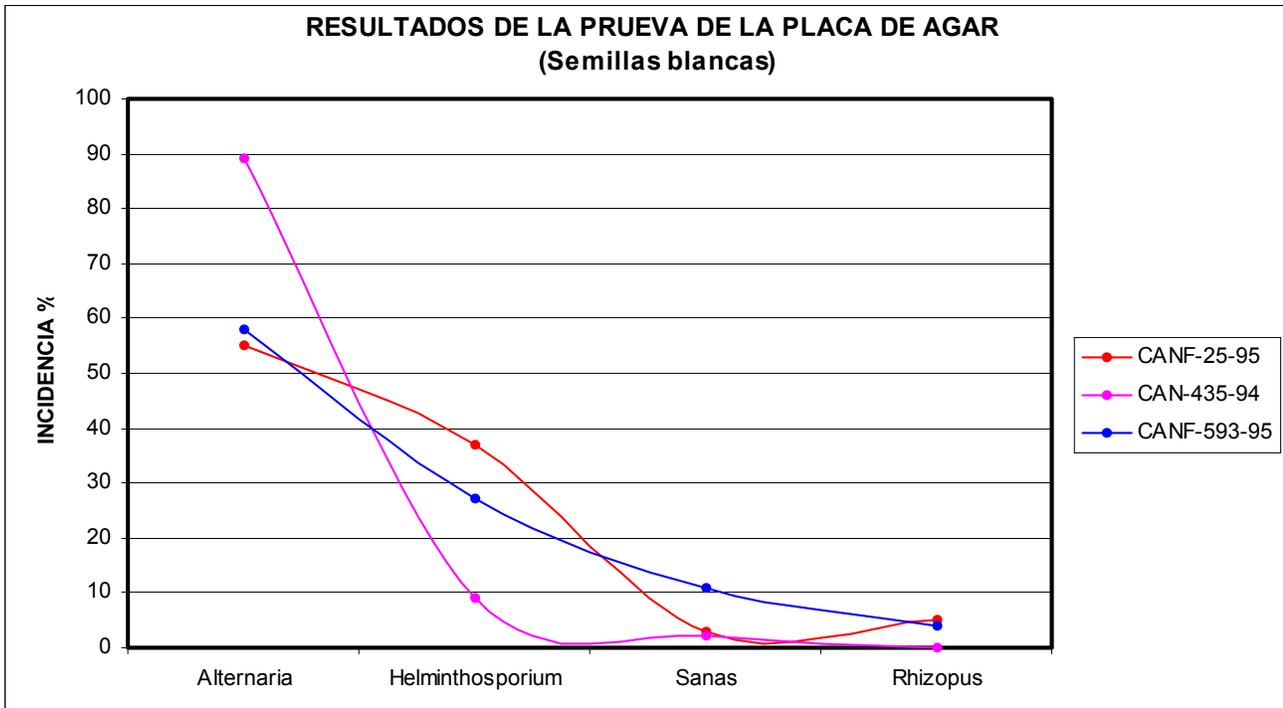


Figura 2. Incidencia de hongos detectados en diferentes materiales de cebada, (semillas blancas), en prueba de Agar.

La microflora de las semillas con punta negra determinadas en la prueba de placa agar, se obtuvieron los siguientes resultados.

La incidencia de *Alternaria sp.* en los tres materiales es mayor para el material CAN 435-94 con un 78 por ciento para el CANF 593-95 presento un 25 por ciento y el material CANF 25-95 un 66 por ciento como lo muestra la gráfica.

En cuanto a la incidencia de *Helminthosporium sativum* en el material CANF 25-95 tiene una incidencia de 34 por ciento mientras que los demás materiales como son el CANF 593-95 alcanza un 25 por ciento y el CAN 435-94 presento un 20 por ciento.

Como lo muestra la gráfica los únicos patógenos presentes en esta prueba con semillas escogidas con punta negra, podemos mencionar que los hongos que esporularon en esta prueba, pueda deberse a que fueron desplazados por hongos más vigorosos y agresivos como lo indica Neergrard (1979).

Pero también podemos decir que las semillas con punta negra; presentan un problema fitopatológico en la región de Navidad Nuevo León.

RESULTADOS DE LA PLACA DE AGAR
(punta negra)

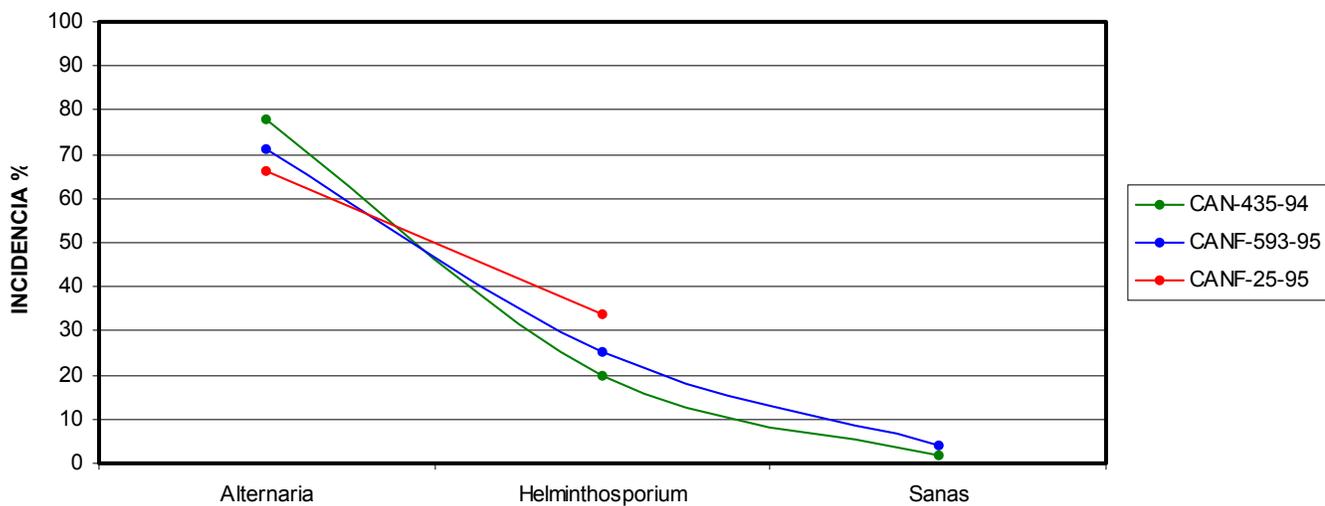


Figura 3. Incidencia de hongos detectados en diferentes materiales de cebada con punta negra, en prueba de Agar.

En la prueba de papel secante y congelamiento los resultados de la detección de microflora fueron los siguientes.

Para los tres materiales CAN 435-94 tuvo una incidencia de 55 por ciento de *Alternaria sp* mas alta que la de los demás materiales.

Tomando en cuenta que la incidencia de *Helminthosporium sativum* en el material CANF 593 –95 es de 37 por ciento mientras que los de mas materiales podemos decir que el porcentaje de incidencia no presenta variación alguna entre los materiales evaluados como lo muestra la gráfica.

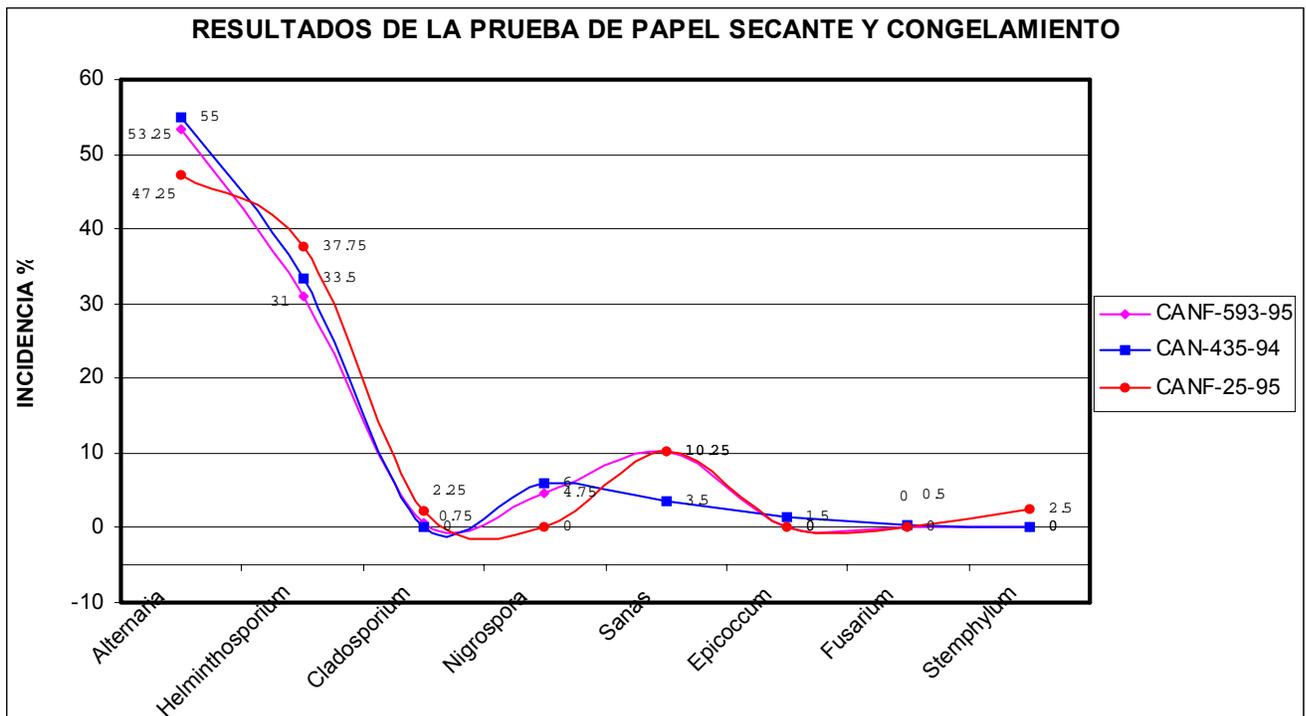


Figura 4. Incidencia de hongos detectados en diferentes materiales de cebada, en la prueba de papel secante y congelamiento.

Identificación de los hongos detectados en las semillas de cebada, en pruebas de sanidad.

Helminthosporium sativum

Para la identificación de este hongo se tomaron en cuentas las siguientes características morfológicas:

Los conidioforos individuales o en grupos de dos a tres conidioforos pero raras veces más. La conidia (phragmospora) prominente de una cicatriz basal.

Prueba placa Agar.

Presento un crecimiento en el medio de la colonia, con una coloración verde oscuro similar a la de *Alternaria*.

En la prueba de papel secante y congelamiento.

La colonia fue muy marcada sobre la semilla, presentando una coloración negra brillante.

Los conidios y conidioforos presentes en masa densa. los conidios bajo mayores aumento se ven de color café oliva oscuro, los conidios tienen paredes gruesas y típicamente de cinco a nueve septas. Pueden ser rectos o ligeramente curvos, con paredes lisas y tienen una cicatriz prominente. Las medidas que obtuvieron fueron de 59 micras de largo y 16 de ancho.



Alternaria sp.

Para la identificación de este hongo se tomaron en cuenta las siguientes características morfológicas.

La conidia (Dytiospora) obscura, transversal, longitudinal y alguna vez septas oblicuas, ovoides, redonda en la base, lisa, encorvada o rugosa y proveniente con un pico. conidioforos obscuro, en grupos o solitarios, erectos, simples o ramificados.

Prueba placa Agar.

Las colonias presentaron una coloración en el medio de un tono grisáceo a verde oliváceo.

Prueba papel secante y congelamiento

El crecimiento de este hongo fue sobre la semilla, al principio blanquecino, a gris obscuro y por ultimo una coloración obscura.

Los conidios se desarrollan solos o en cadenas, algo grandes midieron 49 micras de longitud y 15 micras de ancho.



Como se puede mostrar en la gráfica la semilla en cuanto a germinación esta dentro de los limites aceptables esto quiere decir que no afectaron los patógenos la germinación aunque posteriormente se pueden presentar. Con lo que respecta a los tres materiales se expresaron de la misma manera.

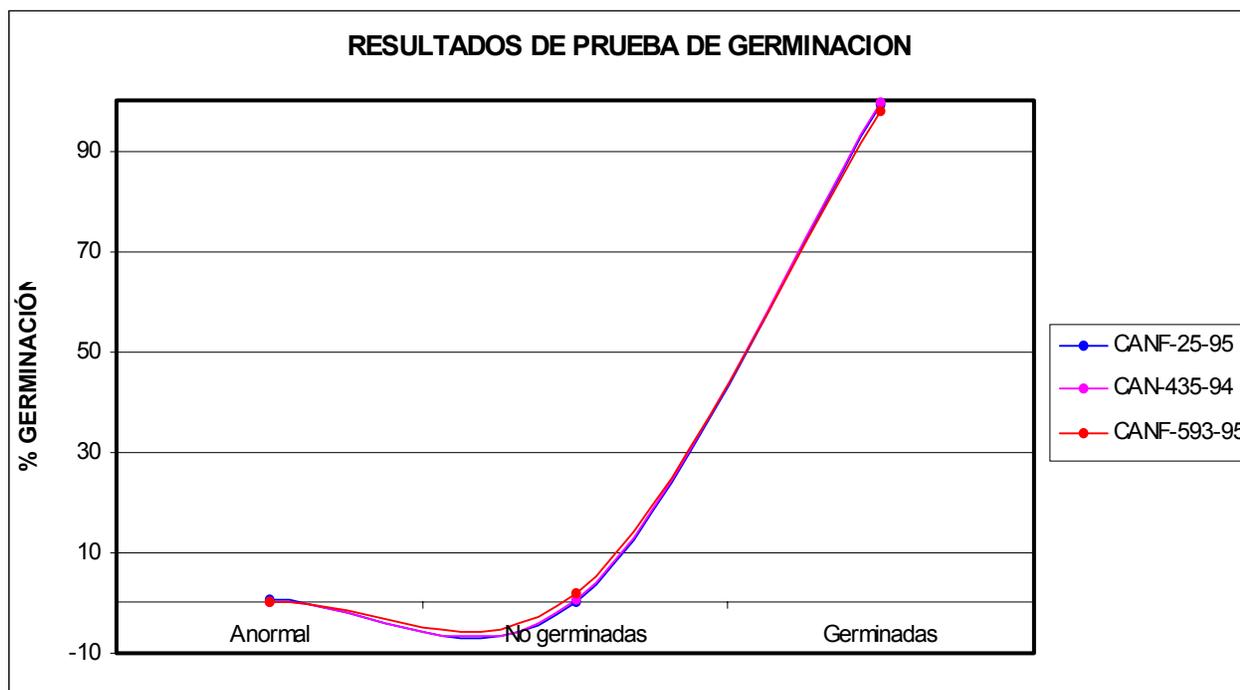


Figura 5. Germinación de diferentes materiales de cebada.

En cuanto a vigor los resultados obtenidos son satisfactorios ya que los tres materiales se comportaron de la misma manera. Pero no podemos descartar que el patógeno puede ocasionar daño alguno en la planta.

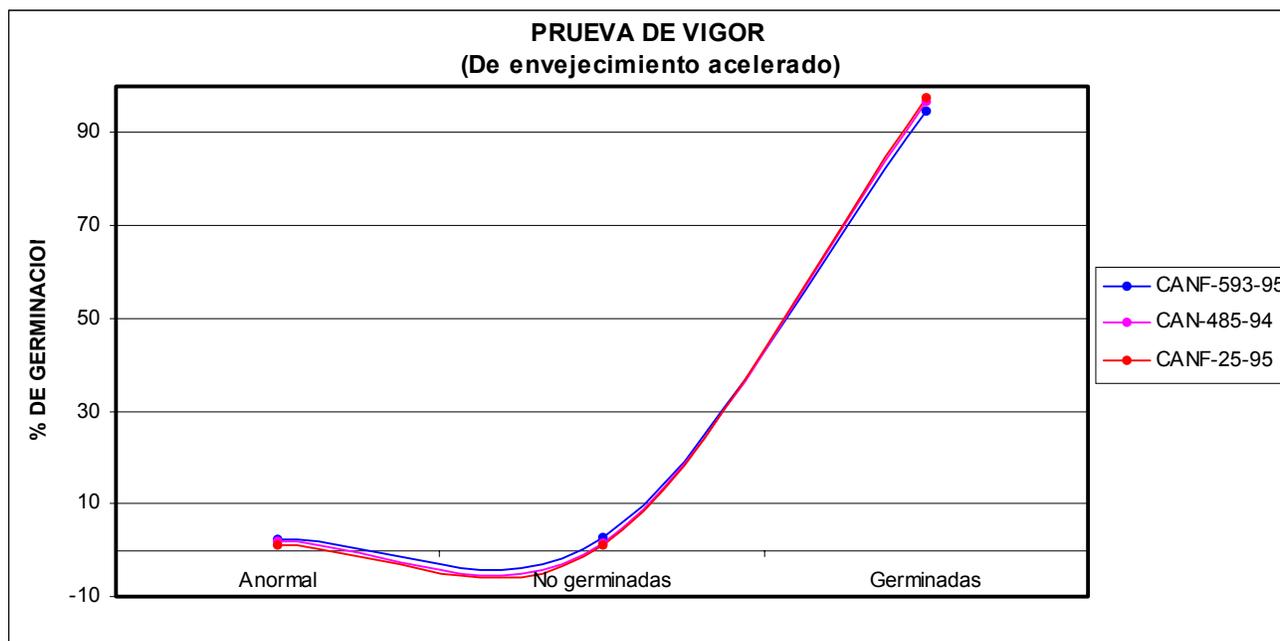


Figura 6. Vigor en diferentes materiales de cebada.

CONCLUSIONES

- Se demostró que en la región de Navidad Nuevo León existe un problema fitopatológico que puede repercutir en la producción de cebada.

- Dentro de la microflora que existe en las semillas de cebada se encontró *Alternaria*,

Helminthosporium sativum, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Cladosporium* y de más patógenos asociados.

- Se determinó que los patógenos asociados a punta negra fueron: *Alternaria*, *Helminthosporium sativum*, tienen una gran incidencia en la semilla de cebada.

- Los patógenos encontrados no afectaron la germinación y el vigor de las semillas, pero sin descartar la posibilidad de que se encuentran presentes en la semilla.

BIBLIOGRAFIA

- Agrios G. N. 1998. Plant pathology Third Edition. Academic Presc. London, USA.
- Centeno M. E. 1994. Detección de Microflora en semillas de trigo (*Triticum Aestivum* L.) del Municipio de Salvatierra, Guanajuato. Tesis de Licenciatura, UAAAN.
- Romero C. S. 1993. Hongos fitopatogenos. 1° reimpresión UACH.
- Leyva M. S y Cova R. S. 1982. Centro de Fitopatología. Colegio de Postgraduados. UACH. México.
- Moreno M. E. 1988. Manual para la Identificación de Hongos en Granos y – Sus derivados. 1°ed. UNAM.
- Moreno M. E. 1993. Tratamiento Químico de las Semillas para el combate de los Hongos. 1 ° ed. UNAM.
- Moreno M. E. 1996. Análisis Físico y Biológico de Semillas Agrícolas. 3°-ed. UNAM.
- Neergaard, P., 1977. Seed Pathology. Vol. I and II. Ed. The MACMILLAN PRESSLTD.

Prabhu, A. S y R. Prasada. 1996. Pathological and Epidemiological studies
On leaf blight of Wheat caused by *alternaria triticina*. Indian Phyto
Pathology 19: 109-111.

Warham. E. J., Butler D., y B. Sutton. C., 1996. Ensayos para la Semilla de
Maíz y Trigo. CIMMYT. México.

Zillinsky. F.J., 1984. Guía para la Identificación de Enfermedades en Cereales de Grano Pequeño. CIMMYT. México

APÉNDICE

Resultado de la prueba peso en mil semillas

No repeticiones	MATERIALES (gr)		
	<i>CANF-25-95</i>	<i>CANF-593-95</i>	<i>CAN-435-94</i>
1	5.60	4.53	5.00
2	6.00	4.30	4.95
3	5.85	4.45	5.25
4	5.90	3.70	4.70
5	5.40	4.10	4.85
6	5.60	4.70	4.85
7	5.60	4.40	4.70
8	5.40	4.30	4.90

Como lo muestra la tabla el peso en los tres materiales no varia mucho ya que el peso es casi uniforme para los tres materiales lo que indica que los patógenos no han deteriorado la semilla sobre todo no han influido en su peso por el momento.

Resultado de análisis de pureza.

SEMILLAS (gr)	CANF-593-95	CANF-25-95	CAN-435-94
Quebradas	1.50	0.20	0.02
Basura	0.05	0.10	0.02
Maleza	0.00	0.00	0.00
Otras	0.00	0.05	0.20

En esta prueba de análisis de pureza se muestra que la semilla realmente no viene contaminada por otros materiales y los materiales que se presentan están en unos rangos demasiados bajos lo que demuestra que la semilla su pureza es aceptable.

Prueba de humedad

MATERIAL	METER READING	% DE HUMEDAD
CANF-593-95	3.00	8.42
CANF-25-95	4.50	8.75
CAN-435-94	6.00	9.09

Con lo que respecta a la prueba de humedad esta dentro de los rangos aceptables ya que si te excedes de un 11% de humedad tendrías como consecuencias problemas en almacenamiento que podrían contribuir el deterioro de la misma semilla.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Análisis de Correlación: Variables: Alternaría - Germinación

Coefficiente de Correlación / Prob > / R / Ho: Rho = 0 / N = 12

	PATOGENOS	GERMINACION
PATOGENOS	1.00000	0.32142
	0.0	0.3083
GERMINACION	0.32142	1.00000
	0.3083	0.0

Variable dependiente: Alternaría

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Modelo	5	1202.91666667	240.583333333	1.39	0.3454
Error	6	1036.00000000	172.66666667		
Corrección Total	11	2238.91666667			

R – Cuadrados = 0.537276

C.V = 25.31031

Prueba de Medias variable: Patógenos

Material	Media
CAN 435 - 94	54.75 A
CANF 593 - 95	53.75 A
CANF 25 - 95	47.25 A

Nivel de significancia = 0.05 %; Tukey = 55.81

Variable dependiente: Germinación

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Modelo	5	10.08333333	2.01666667	0.82	0.5792
Error	6	14.83333333	2.47222222		
Corrección Total	11	24.91666667			

En este trabajo se utilizó un diseño experimental para comparar que tanto influía la incidencia de patógenos la germinación y vigor de la semilla ya sea directa e indirectamente, comprobándose que aunque se tenga una incidencia alta de patógenos no influyó en nada la germinación ni el vigor de la misma, ya que no se le dieron las condiciones óptimas al patógeno para que se desarrollara si no a la semilla para germinar además que de cada material comparado con los demás no fue significativo estadísticamente, todos se comportaron de la misma manera.