UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO DIVISIÓN DE AGRONOMÍA DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Detección de Carbón Volador (*Ustilago avenae*) en Semillas de Avena de la Región de Pachuca Hidalgo

POR:

ROSIVEL ÁNGEL BAUTISTA

TESIS

Presentada como requisito para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITOLOGO

Saltillo, Coahuila, México Marzo, 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO **DIVISIÓN DE AGRONOMÍA** DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Detección de Carbón Volador (Ustilago avenae) en Semillas de Avena de la Región de Pachuca Hidalgo

Por:

ROSIVEL ÁNGEL BAUTISTA

Tesis

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada

M.C. Abiel Sánchez Arizpe

Asesor Principal

M.C. Ma Elizabeth Galindo Cepeda

Coasesor

M.C. Maria Magdalena Rodríguez Valdés

Coasesor

Dr. Leobardo Bañuelos Herrera Coordinador de la División de Agronomía

División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Marzo, 2012

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO Por haberme recibido en su vientre y brindarme la oportunidad de ser uno más de sus hijos y llevar siempre su nombre muy en alto "ALMA TERRA MATER".

Al Ing. M.C. ABIEL SÁNCHEZ ARIZPE, por brindarme la oportunidad de realizar esta investigación y por su asesoría técnica, para el desarrollo de esta investigación.

A la M.C. Ma. ELIZABETH GALINDO CEPEDA, por su orientación y de sus sugerencias que hicieron posible la realización de este trabajo de investigación y pos su apoyo como asesor.

Al Ing. EPIFANIO CASTRO DEL ÁNGEL, por su valiosa colaboración en la revisión de este escrito, siempre dispuesto a ayudarme.

A MIS AMIGAS Y COMPAÑEROS

Laura del Carmen Utrilla, María del Rosario Molina, Elida Berenice Schaper, Ing. Jorge Antonio Pérez, Juan Mayo, Ing. Alma Gómez, Ing. Carina Morales, Ing. Carlos Roberto Pérez. Gracias por su convivencia y apoyo.

DEDICATORIAS

A MI DIOS

Por darme el don de la vida, de la salud, de la fortaleza, la iluminación para realizar las cosas, por sus bendiciones que me envía día a día para superar los momentos difíciles de la vida.

A MIS PADRES

Eduarda Bautista Mora

Fídel Ángel Mendoza

Quienes me brindaron el apoyo, durante mi carrera, con profundo Amor y respeto. Por ser ustedes el motor que me impulsó a realizar una de mis metas, les estoy eternamente agradecida y pondré mi esfuerzo para corresponderle, el sueño que compartimos juntos hoy se ha hecho realidad padres. Gracias por darme la vida.

A MIS HERMANOS:

Pedro, Flor, Ismael, Eduardo, en especial a Jorge Luís quien me demostró muchas ideas al comenzar este sueño y por darme la confianza de realizarlo y poderme decir, que nunca se pierde en el camino si alguien te acompaña, gracias hermanos.

A MIS SOBRINOS; Adair, Suliany, Andri, Bryan, Lesly, Axel, Erick, y JamieNatasha. Por ser las alegrías de la familia y de darle sonrisas a mi vida.

A MIS ABUELAS; *Anúcasia y Gregoria* les doy gracias a dios por tenerlas con vida y estar conmigo.

Al Ing. Hugo Baltazar Rívera. Gracias amor por tu amistad que siempre me has brindado y porque siempre estás en todo conmigo te agradezco de todo corazón por los momentos alegres y difíciles que hemos pasado, gracias por ser parte de mi vida.

A LA FAMILIA EVARISTO ÁNGEL, por su apoyo desinteresado logrando hacer realidad todos mis estudios.

A LA FAMILIA ÁNGEL RAMÍREZ, por su amistad y apoyo brindado durante, mis estudios gracias a los consejos que siempre me brindaron.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | PAG |
|---|------|
| AGRADECIMIENTOS | I |
| DEDICATORIAS | П |
| ÍNDICE DE FIGURAS | VII |
| RESUMEN | VIII |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| JUSTIFICACIÓN | 4 |
| OBJETIVOS | 5 |
| HIPÓTESIS | 5 |
| REVISIÓN DE LITERATURA | 6 |
| Importancia del Cultivo de Avena (Avena sativa) en México | 6 |
| Distribución Geográfica e Importancia Económica | 7 |
| Posición Taxonómica | 7 |
| Morfología del Cultivo | 8 |
| Raíz8 | } |
| Tallos | 8 |
| Hojas9 | |
| Flores | 9 |
| Semillas1 | 0 |
| Carbones del Grano de Pequeñas Gramíneas1 | 1 |
| Los Patógenos <i>Ustilago nuda</i> y <i>U. tritici</i> 1 | 2 |
| Sintomatología del Carbón Volador en Avena y Cebada1 | 2 |
| Carbón Volador o Desnudo de la Avena | 13 |

| | Taxonomía y Descripción | 13 |
|---|--|----|
| | Huéspedes | 14 |
| | Distribución Geográfica | 14 |
| | Enfermedad | 14 |
| | Epidemiologia | 15 |
| | Importancia Económica15 | 5 |
| | Ciclo Patológico de los Carbones Voladores del Trigo y de la Cebada Producida por <i>Ustilagotritici</i> y <i>U. nuda</i> 16 | |
| | Importancia de la Transmisión de Enfermedades por Semilla | 16 |
| | Infección de la Semilla | 17 |
| | Mecanismos de Infección de Semillas | 17 |
| | Sanidad de Semillas | 18 |
| | Obtención de Semilla Sana | 19 |
| | Tratamientos Físicos | 19 |
| | Detección de Infecciones Internas de la Semilla | 20 |
| M | ATERIALES Y MÉTODOS | 21 |
| | Ubicación del Experimento | 21 |
| | Material Utilizado | 21 |
| | Pruebas de Sanidad de La Semilla | 21 |
| | Prueba del Embrión para Detectar el Carbón Volador | 21 |
| | Extracción de Embriones | 22 |
| | Separación de los Embriones y la Cascarilla | 22 |

| Evaluación de Embriones Observados | 23 |
|---|----|
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 24 |
| Prueba del Embrión para Detectar el Carbón Volador | 25 |
| Extracción de Embriones2 | 25 |
| Separación de los Embriones | 26 |
| Evaluación de Embriones | 27 |
| Detección de Carbón Volador (Ustilagoavenae) en Embriones | 28 |
| Cladosporiumsp30 |) |
| CONCLUSIÓN | 33 |
| LITERATURA CITADA | 34 |

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA PÁGINA

| 1. | Síntomas del carbón volador de los cereales | 12 |
|----|---|----|
| 2. | Proceso para hacer brotar los embriones de la cascarilla y el pericarpio | 24 |
| 3. | Desarrollo del lavado de los embriones | 25 |
| 4. | Obtención de embriones | 26 |
| 5. | Monta de embriones | 27 |
| 6. | Masa de embriones observados en el microscopio | 28 |
| 7. | Bajo la vista de un microscopio muestra el micelio del hongo y las esporas del carbón en un embrión de cebada infectado | 28 |
| 8. | Esporas de Ustilagoavenaeen embriones de avena | 29 |
| 9. | Estructura del hongo Cladosporiumsp | 30 |

RESUMEN

El presente trabajo se llevó a cabo en el departamento de Parasitología, en el laboratorio de Fitopatología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) el cual consistió en seleccionar 1000 semillas de avena de la variedad Kooker perteneciente a la cosecha de 1995, proveniente de la ciudad de Pachuca Hidalgo, las cuales fueron colocadas en un matraz Erlenmeyer de 1000 mL e hidratadas con una solución de Hidróxido de sodio (35g), azul de algodón (.35g) y 700 mL de agua destilada estéril y se dejaron reposar por espacio de tiempo de 72 horas a temperatura ambiente 25° posteriormente se separaron los embriones del pericarpio con la ayuda del embudo de Fenwick, mediante el método de flotación, de las 1000 semillas solo se lograron rescatar 800 ya que 200 de ellas se desecharon por haberse desintegrado y no contaron con la consistencia esperada para elaborar el experimento, posteriormente se observaron al microscopio tomando como unidad de muestra 10 embriones por cada observación, haciendo un total de 80 observaciones, se detecto a Ustilago avenae además a Cladosporium sp., posteriormente se determino la incidencia de los hongos encontrados, de acuerdo a los resultados se obtuvo ; Ustilago avenae conuna incidencia de 7.75 porciento el cual solo se observo esporas en los embriones infectados con respecto a Cladosporiumsp, obtuvo una incidencia de 17.25 porciento. Y con un 75% de granos que no se infectaron. Ambos hongos detectados fueron evaluados el cual el hongo con mas porcentaje de contaminación que se presento en los granos de avena fue Cladosporiumsp. El cual corresponde

aunos de los contaminantes transmitidos al igual que *Ustilago avenae*por semillas.

Palabras clave: Avena sativa, Ustilago avenae, Embriones, Cladosporium sp, Semillas, Incidencia.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la avena (Avena sativaL.) se cree que tiene origen en Europa Occidental y se piensa que era una mala hierba de la cebada y que por ella se extendió junto con ésta. En la actualidad se cultiva en muchas partes del mundo incluyendo el Norte y Oeste de Europa, los países de la antigua Unión Soviética, Norteamérica, Canadá, Australia y China (Unión Vegetariana Internacional, IVU, 2006).

La Avenafue introducida a México después de la conquista de los españoles, teniendo como problema principal la poca variabilidad genética en el país, la cual ha sido una de limitante importante para su mejoramiento genético. Su principal uso fue alimentar a los animales, cuya dieta era completada con maíz y teocintle. La avena introducida fue una mezcla de especies de *Avena sativa* y *A.bizantina*(Jiménez, 1992).

El cultivo de la avena destaca en México como una fuente importante de alimento para el ganado; como forraje verde, o henificado y en la elaboración de alimentos balanceados. Su intervalo de adaptación es amplio, ya que se produce en forma satisfactoria desde las partes altas, frías y lluviosas hasta ambientes semiáridos.

Actualmente Chihuahua es el principal estado productor de avena en México, con el 69.3% del volumen la producción entre los años de 2007 a 2009. El Estado de México, Durango, Zacatecas e Hidalgo le siguen en importancia y

cuentan con el 11.5%, 9.4%, 4.6% y 3.5% de la producción respectivamente (Financiera Rural, 2010).

Uno de los principales problemas que afronta el cultivo de la avena son los daños ocasionados por las enfermedades, que pueden ser virales, fungosas u ocasionadas por cualquier otro agente externo. Pero entre estas destacan las del tipo fungoso, ocasionando daños directos e indirectos a las plantas y a su producción, afectan significativamente la calidad de la semilla. Estas enfermedades interfieren en el desarrollo del cultivo desde el momento en que la semilla es depositada en el suelo, hasta el momento en que la planta ha producido ya la semilla.

Entre las principales enfermedades del tipo fungoso que ataca al cultivo de avena se destacan los carbones del grano, el principal síntoma que presenta esta enfermedad es que la inflorescencia, excepto el raquis, es remplazada por masas de esporas de carbón (CIMMYT, 2010).

Este hongo sobrevive en forma de micelio latente en el embrión de la semilla, manifestándose los síntomas después de espigar. Durante la floración, las espigas pueden ser infectadas por esporas transportadas por el viento (INFOAGRO, 2009).

Por lo tanto los hongos pueden ser transmitidos en el embrión y esta infección quizás tenga un lugar esencial en el ciclo del hongo. Los hongos

imperfectos atacan frecuentemente a las semillas de cosechas (Neergaard, 1979).

Mendoza (1990) menciona que la economía agrícola mundial sufre anualmente significativas pérdidas que fluctúan entre el 7 y 10 por ciento de la cosecha total debido a enfermedades causadas por agentes de diversa índole, entre los cuales figuran: hongos, bacterias y virus. Muchos microorganismos disminuyen cualitativamente y cuánticamente, algunos bajan la calidad de la semilla por causar decoloraciones graves al valor comercial de la semilla, particularmente cuando el grano es para consumo, otros efectos o daños a la semilla por los hongos son: abortos de semillas, arrugamiento, granos pequeños y otras alteraciones fisiológicas.

Menciona Neergaard, (1979),que la producción de sustancias tóxicas en la semilla está asociada con la presencia de hongos que atacan a los granos o semillas en almacén.

Por esta razón este proyecto bajo la hipótesis se espera que al menos la mitad de embriones observados y evaluados respectivamente, estén infectados con diferentes patógenos y principalmente se encuentre carbón volador (*Ustilago avenae*) ya que estos hongos están asociados a los patógenos que son transmitidos por semillas, por el cual corresponden a causar daños severos cuando no se toman medidas de control siendo, certificadas o desinfectadas por microorganismos transmisores de semillas.

JUSTIFICACIÓN

La información existente acerca de la situación del cultivo de la avena en los estados de México es inadecuada, ya que no está actualizada por lo consiguiente se consideró realizar la presente investigación sobre acerca de las enfermedades fungosas más importantes del grupo de los carbones, patógenos que son una limitante para el sistema de producción en el cultivo de avena, en estados productivos y que causa un severo daño en su rendimiento.

En este caso el problema que enfrenta el cultivo de avena y otros cultivos de cereal, es por carbón volador, un hongo que a su vez provoca daños muy severos y que se encuentra en la semilla, provoca daños muy severos a la espiga de la avena y que solo deja desnudo el raquis de la planta en comparación con otras enfermedades fungosas que ataca al cultivo.

El presente trabajo, tiene la finalidad de proporcionar información para la identificación de algunos patógenos internos en la semilla y que son transferidos en ellas, en los cultivos de cereales en zonas productoras y que es de mucha importancia ya que provocan un cebero daño sin ser diagnosticadas o que simplemente su sintomatología no les permite hacer un diagnostico oportuno, para detectar a tiempo el problema.

OBJETIVOS

Objetivo General

Detección de patógenos presentes en semillas de avena (*Avena sativa*) de la variedad Kooker 234 de la cosecha de 1995 de la región de Pachuca Hidalgo.

Objetivo Específicos

- 1. Determinar la incidencia de embriones contaminados de patógenos.
- Detectar el carbón volador (Ustilago avenae) en los embriones de avena (Avena sativa).

HIPÓTESIS

Se espera al menos que la mitad de embriones de avena estén infectados con diferentes patógenos y una incidencia de 20% con el hongo *Ustilago avenae*.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia del Cultivo de Avena (Avena sativa) en México.

La avena ocupa el séptimo lugar entre los granos y cereales producidos en el mundo, con el 1.2% de la producción entre los ciclos 2000/01 y 2010/11. Los principales cereales y granos cuentan con las siguientes participaciones: maíz (34.9%), trigo (30.3%), arroz (20.6%), cebada (6.9%), sorgo (3.0%) y el mijo (1.5%) (Financiera Rural, 2010).

A nivel mundial más del 90 % de la energía consumida por el ganado herbívoro proviene de los forrajes, lo anterior es debido a que proveen una elevada concentración de proteína y energía a un bajo costo, considerando las altas producciones de materia seca (MS) por unidad de superficie (Givens *et al.*, 2002).

En México La superficie de la avena ha disminuido en casi la mitad y la producción en 30% desde los años 80′s. En el año 1983 se alcanzó un máximo de 152 mil hectáreas sembradas y en 1984 un máximo de 186 mil toneladas producidas. Posterior a estos años la siembra y producción de avena disminuyeron y han sido variables. En 2009 se sembraron 76 mil hectáreas de avena en el país y se produjeron 130 mil toneladas de este cereal. Representando respectivamente una disminución de 26.9% y 11.9% en relación con el año anterior. Los rendimientos han sido muy variables del año 2000 al año 2009, en que han oscilado entre 1.41 a 2.03 toneladas por hectárea (Financiera Rural, 2010).

Distribución Geográfica e Importancia Económica

A nivel nacional, el área productora que más destaca por su superficie

sembrada es Chihuahua es el principal estado productor de avena grano en

México, con el 69.3% del volumen la producción entre los años de 2007 a

2009. El Estado de México, Durango, Zacatecas e Hidalgo le siguen en

importancia. A nivel mundial encontramos a la Unión Europea, Rusia, Canadá,

Estados Unidos y Australia. Entre estos cinco países se cosechó el 74.9% de la

superficie mundial de avena y se produjo el 82.2% del cereal (Financiera Rural,

2010).

El cultivo de la avena tiene una gran importancia a nivel mundial ya que la

mayor parte de la dieta (Judd et al., 2002), de los seres humanos proviene de

las gramíneas, tanto de una forma directa (granos de cereales, harinas y

aceites), como indirecta (carne, leche y huevos que provienen del ganado y las

aves que se alimentan de los pastos o granos).

Posición Taxonómica

De acuerdo a Márquez (1990) el cultivo de avena ha sido clasificado

taxonómicamente de la siguiente manea:

CLASE

Liliopsida

ORDEN

Poales

FAMILIA

Poaceae

TRIBU

Aveneae

GÉNERO

Avena

ESPECIE

A. sativa

7

Morfología del Cultivo

Raíz

La planta de avena posee un sistema radical potente, sus raíces son fibrosas, más abundantes y más profundas que otros cereales. La aparición de la radícula, seguida casi inmediatamente por las raíces seminales, corresponde a la primera etapa de la germinación. Estas raíces embrionarias presentan pocas ramificaciones y crecen solo hasta que las plantas alcanzan un estado promedio de tres hojas (Aguado, 1978).

El desarrollo radicular, tanto de las raíces seminales como de las secundarias, es proporcional a la temperatura. El crecimiento cesa en el espigado, e incluso puede llegar a degenerar durante el periodo de formación de grano (López, 1991).

Luego de iniciada la etapa de encañado, las raíces principales y los entrenudos de la parte aérea se van desarrollando en forma relativamente rápida; estos entrenudos, que varían en longitud y diámetro, presentan nudos prominentes, los cuales alcanzan un número promedio de seis en los cultivares más precoces y de siete en los cultivares mas tardíos(Bonnett, 1961).

Tallos

Los tallos son generalmente herbáceos (en gramíneas de césped) o huecos (en el bambú), aunque hay excepciones, como los tallos medulares del maíz y los leñosos de algunos bambúes.

Hojas

A partir del estado de la segunda hoja, comienza el crecimiento de macollos desde yemas ubicadas en los subnudos del eje principal. Los macollos corresponden a brotes laterales y su desarrollo sigue el mismo modelo del tallo principal; así un macollo va emitiendo hojas y produciendo raíces adventicias durante su desarrollo vegetativo. Las plantas deben llegar a producir entre tres y cuatro macollos, siendo común que uno o dos de los macollos de formación más tardía no logren aportar al rendimiento (Bonnett, 1961).

Las etapas de crecimiento y desarrollo, sin importar la variedad, localización o estación del año, son a menudo identificadas por el número de hojas desarrolladas. Las etapas de desarrollo se basan en un sistema común usando para todos los cereales de grano pequeño, el cual se le asignan números del cero al nueve. Algunas etapas pueden ser subdivididas (Reeves Y Sraon, 1976).

Flores

La diferenciación de la panícula ocurre simultáneamente con el inicio de la elongación de los entrenudos; el mayor incremento en el tamaño de la panícula, se produce durante el proceso de elongación del pedúnculo (Aitken, 1977).

La Inflorescencia esta es una panícula o panoja abierta, suelta y de tipo compuesta la cual presenta un eje principal o raquis central frágil, y ejes o raquis secundarios que corresponden a ramas provenientes del eje principal, el cual presenta ramas laterales, cada uno de los cuales se ramifica a la vez en la

misma forma, y en el extremo de estas ramificaciones van las espiguillas. Los ejes secundarios son largos, finos, sencillos o compuestos y sostienen en cada uno un pequeño número de espiguillas, que llevan de dos a cuatro flores, de las cuales solo dos son fértiles (Aguado, 1978).

Las flores van dispuestas sobre un pequeño raquis o raquilla, en cuya base hay dos glumas. Las glumas son membranosas y de color variable, según las variedades, que pueden ser de color blanco, amarillo, rojizo, gris o negro, terminan en punta y tienen de tres a siete nervaduras bien marcadas y una raquilla muy poco pronunciada, son anchas y más largas que las flores (Aguado, 1978).

La espiguillas de avena nacen separadamente en las ramas que salen en los nudos de los tallos de la inflorescencia, cada espiguilla está unida por un pedúnculo, estas espiguillas están protegidas por dos láminas a modo de glumas que envuelven al grano, una espiguilla de avena puede contener 1, 2 ó 3 granos, pero para modo de identificación sólo se toman los granos primarios de las espiguillas de la parte alta de la panícula (INSP, 1976).

Semillas

La Semilla (grano), el color dado por la lema o cascara es una característica taxonómica muy constante en el género Avena sin embargo es modificado por el medio; usualmente es más oscuro que el normal en climas húmedos y cuando se alarga la cosecha, otros factores por el cual se puede modificar es en la henificación ya que se decolora el grano. El color de grano puede ir desde crema ligero hasta café oscuro en condiciones adversas, en

condiciones normales o buenas se tiene las siguientes tonalidades: blanco, crema, amarillo, claro, café claro y negro (Jiménez, 1992).

Cada semilla está contenida en un fruto llamado cariópside el cual exteriormente presenta una estructura denominada pericarpio; éste corresponde a la fusión de las paredes del ovario y se presenta unido a la testa de la semilla. Esta última está conformada internamente por el endospermo y el embrión, el cual a su vez está constituido por la coleorriza, la radícula, la plúmula u hojas embrionarias, el coleópilo y el escutelo o cotiledón (Bonnett, 1961).

Carbones del Grano de Pequeñas Gramíneas

De acuerdo a Agrios (2005), menciona que los carbones de las plantas producidos por los Basidiomycetes del orden Ustilaginales se encuentran en todo el mundo y hasta este siglo fueron la causa de graves pérdidas en los granos. Algunos carbones infectan semillas o plántulas antes de que emerjan del suelo y se desarrollan en el interior de las plántulas hasta que alcanzan la inflorescencia. Otros sólo producen infecciones locales en las hojas, tallos y otros órganos. Las células de los tejidos afectados son destruidas y reemplazadas por las esporas negras del carbón, o primero son estimuladas para que dividan y crezcan a tal grado que producen un hinchamiento o agalla de tamaño variable y son entonces destruidas y reemplazadas por las esporas negras del carbón. Estas esporas están presentes en masas denominadas soros, los cuales pueden mantenerse firmemente unidos sólo temporalmente por medio de una membrana delgada y débil o por una de cierta durabilidad.

Los Patógenos: Ustilago nuda y U. tritici.

El micelio es hialino cuando crece en la planta, pero cambia a color café cuando casi ha llegado a la madurez. Las células miceliales se transforman en teliosporas cafés, esféricas y equinucleadas, las cuales germinan con rapidez y producen un basidio que consta de 14 células. El basidio no forma basidiosporas, pero sus células germinan y producen hifas uninucleadas cortas que se fusionan en pares y producen un micelio dicariótico que es capaz de producir infección. Las pérdidas debidas a dicha enfermedad pueden ser hasta de un 10 ó 40% en ciertas localidades en un determinado año (Agrios, 2005).

Sintomatología del Carbón Volador en Avena y Cebada

Esta enfermedad ocasiona daños al destruir los granos de las plantas que ha infectado y al manchar disminuye la calidad del grano de las plantas no infectadas después de la cosecha.

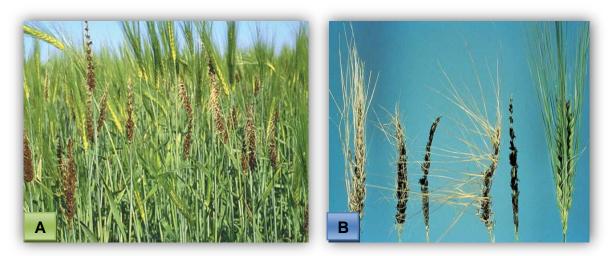


Figura 1. Síntomas del carbón volador de los cereales A) de campo con las espigas de cebada infectadas con carbón volador causado por *Ustilago nuda*. B) detalle de las espigas sanas (Derecha) y varias espigas infectadas con carbón volador.

(Fig. 1) Fuente: Agrios, 2005

Por lo general, el carbón volador no produce síntomas visibles sino hasta que

la planta ha producido su espiga. En ocasiones, las plantas atacadas forman

sus espigas antes que las sanas, de ahí que las cabezuelas infectadas a

menudo se proyecten sobre las de las plantas sanas. En una planta infectada

es frecuente que todas las cabezuelas, así como las espiguillas y granos, sean

atacadas por el carbón, aunque algunas de ellas en ocasiones escapan a la

infección. En las espigas infectadas, cada espiguilla se transforma por completo

en una masa carbonosa que consta de esporas de color verde olivo (fig. 1).

Dicha masa es cubierta inicialmente por una delicada membrana grisácea que

en poco tiempo se rompe y liberan a las esporas polvorientas del hongo. Estas

esporas son entonces llevadas por el viento y dejan al raquis como un tallo

desnudo (Agrios, 2005).

Carbón Volador o Desnudo de la Avena

Taxonomía y Descripción

De acuerdo con Agrios (2005) ubica el género Ustilago avenaede la siguiente

manera:

Reino:

Fungí

Phyllum:

Basidimycota

Clase: Basidiomycetes

Orden: Ustilaginales

Género: Ustilago

Especie: avenae

13

Las teliosporas son esféricas a subesfericas, pardo verduzco claro a negro, finamente equinuladas, de 4-8µm de diámetro; la masa de esporas es pardo verduzco oscuro. *U. avenae*se distingue de *U. hordei* por la equinulación superficial de las esporas, lisas en esta ultima especie; el hongo se parece a *U. nuda,* el carbón semidesnudo de la cebada, que en general se considera como un sinónimo de *U.avenae*.

Huéspedes

El huésped principal es la avena, pero se encuentra sobre una amplia gama de especies de *Avena*, entre ellas *A. fatua* y *A. nuda*(Neergaard, 1979).

Distribución Geográfica

Está distribuida en todo el mundo, pero las razas patogénicas están limitadas a regiones, según los cultivares utilizados.

Enfermedad

U.avenae causa un carbón desnudo. Los soros pulverulentos pardo verduzco oscuros sustituyen a los granos; normalmente las glumas quedan completamente destruidas y las masas de esporas se liberan fácilmente. Puede producir la muerte de las plántulas; en la hoja bandera pueden desarrollarse lesiones y masas de esporas; los síntomas dependen en gran parte del cultivar de huésped y de la raza patogénica (Neergaard, 1979).

Epidemiologia

Pueden distinguirse dos ciclos de la enfermedad. Las teliosporas transportadas por el viento desde las panículas atacadas llegan hasta los órganos de las flores abiertas produciendo infección de pericarpio y de la pared interna de las glumas o, alternativamente, las esporas diseminadas posteriormente permanecen como contaminantes entre las cariópsis y las glumas, o se alojan en la superficie de estas durante la trilla.

La infección sistémica se desarrolla a partir de semilla infectada (infección a flor y a plántula) o como infección de plántula debida a las esporas que contaminan la semilla. El tipo de infección a la semilla, según sea el ciclo de la enfermedad, repercute sobre el método a aplicar para tratar la semilla, y probablemente explica porque en los USA y en otros lugares ha sido más difícil reducir la infección del carbón desnudo de la avena que la del carbón vestido (*Ustilagohordei*) (Neergaard, 1979).

Importancia Económica

En la mayor parte del mundo el carbón desnudo de la avena es más frecuente que el vestido; en los países en desarrollo se dan infecciones graves, poco comunes en países con una agricultura técnicamente avanzada, entre ellos los de Europa, debido al uso sistemático desde los años veinte de fungicidas organomercúricos (Neergaard, 1979).

Ciclo Patológico de los Carbones Voladores del Trigo y de la Cebada Producidos por *Ustilagotritici* y *U. nuda*

Ambospatógenos invernan en forma de micelio latente en el cotiledón (en ocasiones llamado el escutelo) de los granos infectados. Cuando se siembran, los granos infectados comienzan a germinar, el micelio reanuda sus actividades y crece intercelularmente a través de los tejidos del embrión y de la plántula joven hasta que llega a la zona de crecimiento de la planta. Cuando la planta forma su espiga, e incluso antes de que emerja, el micelio invade todas las espiguillas jóvenes donde crece intercelularmente y destruye la mayor parte de los tejidos de la espiga, excepto al raquis. La liberación de esporas coincide con la apertura de las flores en las plantas sanas. Las teliosporas que se depositan sobre las flores germinan mediante la formación de un basidio, en el cual se forman las hifas haploides. Una vez el micelio dicariótico resultante penetra en la flor a través del estigma o por las paredes del ovario joven y se establecen en el pericarpio, integumentos, etc., así como en los tejidos del embrión antes de que los granos lleguen a la madurez. El micelio pierde entonces su actividad y entra en reposo, principalmente en el escutelo, hasta que germina el grano infectado (Agrios, 2005).

Importancia de la Transmisión de Enfermedades por Semilla

De acuerdo a Zillinsky (1984),el desarrollo de métodos y técnicas de detección, son medidas de suma importancia para poder determinar la presencia de microorganismos en semillas y determinar si éstas causan o no problemas en

la dispersión; mediante esta información se tendrán elementos para informar al agricultor y campesinos sobre la calidad de la semilla.

Infección de la Semilla

Menciona García (1984), que las entradas del patógeno a las semillas. Son operaciones de la cosecha y trilla, con sus movimientos de masas vegetales provocan la presencia del inóculo sobre la cubierta de las semillas. Cuando el inoculo infesta las semillas, el mecanismo de entrada puede ser:

- La infección se realiza a través de la flor, principalmente por el pistilo (carbón desnudo, cornezuelo en cereales y gramíneas, virosis transmitidas por el polen).
- Por el patógeno que invade las espigas, vainas y otro tipo de fruto de donde pasa directamente a las semillas en formación.
- El patógeno se mueve por el sistema vascular de la planta es infectada y a través de este sistema penetra en las semillas en formación.
- Las semillas se encuentran expuestas a las esporas llevadas directamente por el viento y el agua de la lluvia, la infección se realiza a través de las cubiertas de la semilla.

Mecanismos de Infección de Semillas

En cualquier observación de los mecanismos de transmisión de la semilla debe hacerse entre dos procesos o condiciones:

- Establecimiento de un patógeno dentro o sobre la semilla, esto implica que el patógeno está en la semilla.

 Transferencia del patógeno y establecimiento de infección en la planta para la semilla, esto implica que el patógeno es transmitido por la semilla.

Un patógeno puede o no ser transmitido por semilla. Esto es asumido razonablemente de la transmisión por semilla establecida científicamente por un patógeno solamente cuando algún otro medio de transmisión es excluido, semejante como transmisión por aire, suelo, residuos de plantas vectores, etc. (Neergaard, 1979).

Los hongos desde la germinación de la semilla ocasionan infestaciones, iniciándose la fuente de infección (Neergaard, 1979). Se mencionan 7 combinaciones de sitio de infección (intraembrional, extraembrional, contaminación de la semilla e infección de órganos específicos) y tipos de infección (sistémico, infección local y saprofito).

Sanidad de Semillas

Puesto que las semillas son portadoras de patógenos y de otros organismos, muchas veces no producen síntomas, para su detección es necesario que se utilicen técnicas de laboratorio específicas. Muchos de los organismos que producen daños considerables a las semillas son graves parásitos de semillas y reducen el rendimiento cualitativo y cuantitativamente, mientras que otros, incluidos saprofitos facultativos y parásitos de debilidad, pueden bajar la calidad de las semillas al causar decoloración o manchas, lo cual deprecia seriamente el valor comercial de aquellas. Estos daños pueden ser producidos por hongos, por bacterias, por virus o bien por otros organismos como pueden ser los nematodos (González *et al.*, 2004).

Para evaluar los hongos contaminantes que se transmiten en la superficie de las semillas tales como el tizón, el moho, el mildéu polvoso y la roya se recurre a las técnicas del lavado de la semilla (Rao *et al.*, 2007).

Menciona Arrigada (2000) que el análisis del líquido resultante del lavado de la semilla ayudan a;

- Detectar esporas o micelios.
- Detectar nematodos.
- Detectar presencia de pesticidas evidenciado por sustancias colorantes.

Obtención de Semilla Sana

Tratamientos Físicos

De acuerdo a Gingery (1993), pertenecen a este grupo los tratamientos donde la destrucción de organismos patógenos se hace mediante la acción de un agente físico como calor o radiaciones.

Sin embargo, Arboleda (1997), La temperatura es un factor que se puede utilizar para eliminar estructuras de patógenos e insectos en las semillas cuando las características de las semillas lo permitan.

En 1885, Jensen fue el primero en aplicar el calor en forma de agua caliente para eliminar *Phytophthora infestans* en tubérculos de papa. En 1888, el método fue adoptado para eliminar carbones producidos por *Ustilago nuda* en avena y cebada por inmersión de la semilla en agua a 54,8°C por minutos. También es este género, el agua caliente reduce la infección de la *Alternaria brassicicola* (De Tempe y Binnerts, 1961).

Detección de infecciones internas de la semilla

Sin embargo, De Tempe y Binnerts, (1961), mencionan Una técnica para determinar la presencia de *Ustilagoavenae* en semilla de avena. En la que consiste remojar las semillas con hidróxido de sodio y se tiñen los embriones con lo que se identifican las hifas de este carbón. Puesto que se encuentra internamente del embrión al igual para el caso de trigo y cebada. Se observa con aumentos de 100X, permitiendo detectar de esta manera las características de *Ustilago*spp. Sin embargo coinciden con la metodología de Warham*et al.*, (1996), para detectar hongos patógenos en los embriones de la semillas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Experimento

El presente trabajo se llevo a cabo en el laboratorio de Fitopatología de Parasitología Agrícola, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, cuyas coordenadas son 25° 23′ latitud Norte y 101° longitud Oeste con una altura de 1743 msnm, con una temperatura de 17.2°C y una precipitación media anual de 279.1 mm.

Material Utilizado

Se utilizó avena de la variedad de kooker 234, la semilla evaluada en el presente trabajo fue producida en el municipio de la región de Pachuca Hidalgo. Se ubica en la región centro-oriental de México. Con las coordenadas: al norte, 21° 24'; al sur, 19° 36' de la latitud norte; al este, 97° 58'; al oeste, 99° 53' de la longitud o este. Tiene una superficie de 20.846 km², por su tamaño ocupa el lugar 26 en la República Mexicana, representando el 1,1% de la superficie del país.

Pruebas de Sanidad de la Semilla

Prueba del Embrión para Detectar el Carbón Volador

Se utilizo el método descrito por Warham *et al.*, (1996)que es una prueba estándar de 1000 semillas de avena. Posteriormente las semillas se dejaron reposar en un matraz con una solución de hidróxido de sodio (35g) recién preparado, que contuvo azul de trípano para este caso en avena se reemplazo el azul de trípano por azul de algodón (.35g) y agua destilada (700mL) los cuales funcionan igual para la tinción de

Hongo del carbón en embriones de trigo, avena y cebada. Se realizó a una temperatura ambiente durante 22-24 horas. El utilizar una solución de NaOH más débil o una temperatura más baja hace difícil la extracción,

Extracción de Embriones

Ya obtenidas las semillas remojadas, se lavaron con agua caliente para separar los embriones a través de los pericarpios resquebrajados. Se utilizó una vasija de Fenwick (Flotador de Fenwick) el que es utilizado para lavar los quistes de anguílulas de las muestras de suelo. Se apoyo con una entrada directa de agua caliente en la base del flotador de Fenwick, esto ayudo un poco a separar los embriones y los llevo hacia la parte superior del flotador de Fenwick. Una vez flotados los embriones se atraparon en el borde del flotador con un tamiz de 1 mm y otros tamices de malla más grande para recoger los trozos de endospermo y la cascarilla.

Separación de los Embriones y la Cascarilla

Se logro separar los embriones de la cascarilla y otros desechos. Se mantuvieron en un recipiente que contenía partes aproximadamente iguales de lactofenol (un tercio de glicerol, uno de fenol y uno de ácido láctico) y agua. Ya obtenidos los embriones se limpiaron con lactofenol sin agua. Posteriormente se sumergieron por completo los embriones en glicerol fresco y se colocaron en las minillas de porta objeto en hileras de 10 embriones cada muestra, se evaluó por cada unidad de embrión esto se realizo para facilitar el examen de observación al microscopio.

Evaluación de Embriones Observados

Se examino con cuidado cada embrión bajo un microscopio estereoscopio con un aumento de 100X, usando iluminación desde abajo de la platina. Posteriormente se contaron los embriones infectados y la cantidad total de embriones examinados. La observación de cada unidad de embrión se detecto, esporas de *Ustilago avenae* en muy poca proporción. El micelio se observo ligeramente teñido de color azul en la parte de los tejidos del escutelo, así como también las esporas de un color café dorado, a amarillo. En la evaluación de los embriones observados se detecto otro tipo de hongo en el escutelo del embrión que presentaba, pedazos de micelio y fue identificado como *Cladosporium*spel cual ambos hongos fueron detectados en los embriones evaluados de las semilla de avena.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba del embrión para detectar el carbón volador

Se logro separarel embrión, es decir que brotaron de la cascarilla y del pericarpio. En las cuales las semillas que se dejaron remojar durante 48 hrs se obtuvieron, poca proporción de embriones brotados, por lo consiguiente se dejo a 24 hrs más en reposo.



Figura 2. Proceso para hacer brotar los embriones de la cascarilla y el pericarpio A) semillas reposadas durante 48 hrs B) la misma prueba dividida en dos matraces de 500ml durante 24 hrs más C) embriones brotados con un total de 72 hrs de reposo.

Al realizar esta prueba, durante 48 hrs se encontró que no toda las semillas de la muestra presentaban resultados de embriones brotados uniforme, en la cual una de las posibles causas se puede observar que no fue el suficiente tiempo para realizar dicho experimento, como también se determina que en el matraz de 1000 mL las semillas no tuvieron suficiente espacio para que el hidróxido de sodio penetrara hasta el lugar del embrión. Cabe mencionar que la función del Hidróxido de sodio en las semillas daba lugar a un hinchamiento entre la cascarilla, pericarpio y el embrión dejando así la fácil tinción del azul de algodón.

Extracción de Embriones

Una vez brotados los embriones. Se realizo un lavado para separar los embriones de la semilla, con el Flotador de Fenwick que consistió en una entrada de agua caliente hacia la base del flotador, obteniendo así los embriones lavados y casi limpios de desechos de la semilla (Warham*et al.,* 1996).







Figura 3. Desarrollo del lavado de los embriones A) Flotador de Fenwick con una entrada directa de agua caliente B) Lavado de los embriones (agua caliente) C) Embriones atrapados en el tamiz y depositado en un vaso de precipitado.

De Tempe y Binnerts (1961) mencionan que la acción de remojar y lavar las semillas con agua caliente permite que los síntomas y signos de la enfermedad sean más visibles en el análisis interno de las semillas de gramíneas.

Separación de los Embriones

En esta prueba se muestra como aun de ser lavados los embriones, se obtuvieron con menos desechos de la semilla. Volviendo a realizar un colado fino para obtener más limpios los embriones.

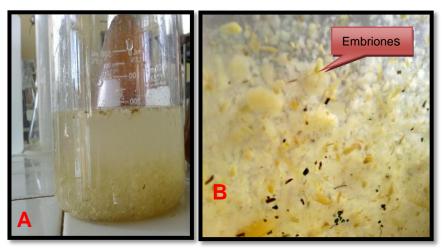


Figura 4. Obtención de embriones A) recipiente con lactofenol y los embriones recuperados B) embriones a evaluar.

Una vez finalizado el proceso de separación y lavado de los embriones, se mantuvieron en un recipiente con partes iguales de Lactofenol. Se mantuvo a una temperatura de 4°C en un refrigerador, a esta temperatura que se encontraban era muy adecuada para el proceso de la observación.

Evaluación de Embriones

En esta prueba muestran como fueron colocados y analizados cada embrión por cada unidad para la observación. Se determino el porcentaje de infección de los hongos que son transmitidos por semillas de avena. En este caso del cultivo de avena se detectaron dos tipos de hongos en los embriones observados.



Figura 5. Monta de embriones A) gotero con embriones B) papel filtro con embriones teñidos C) colocación de los embriones por medio de una aguja a un portaobjeto.

La utilización de un gotero, aguja de disección y el papel filtro facilito el traslado del embrión a él portaobjeto (figura 5). El cual de cada 10 embriones colocados en el portaobjeto, algunos mostraban infecciones por *Ustilago avenae*o por otro hongo diferente. Las características para identificar al hongo se realizo con el aceite de inmersión bajo la vista de un microscopio con objetivos de 40X a 100X.

Se utilizo el método descrito por Warham *et al.*, (1996), el cual se determino el porcentaje de infección por carbón volador, según la cantidad de embriones infectados y el número de embriones examinados, y no por la cantidad de semillas remojadas.

Detección de Carbón Volador (Ustilago avenae) en Embriones.

De acuerdo con Rennie y Seaton (1975), mencionan que al realizar pruebas con embriones, para la detección de carbón volador en cereales se tiene una ventaja de obtener resultados rápidos, y seguros sin influencia ambiental.

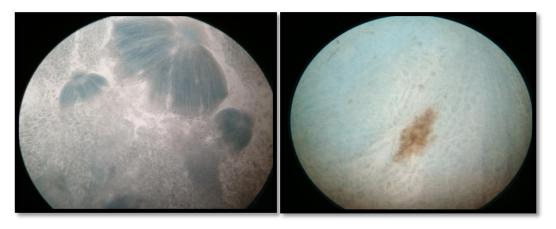


Figura 6.Masa de embriones observados en el microscopio A) embrión sano B) embrión infectado por esporas de *Ustilago avenae*.

Sin embargo, Rennie y Seaton, (1975) mencionan en un estudio realizado que en el cultivo de cebada se encuentra presente *Ustilago nuda* en el embrión de la semilla de cebada al igual que en el cultivo de avena y trigo.

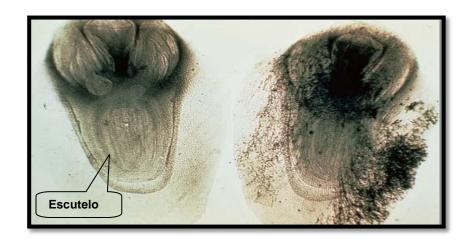


Figura 7. Bajo la vista de un microscopio se muestra el micelio del hongo y las esporas del carbón en un embrión (Derecha) de cebada infectado.

(Fig. 7) Fuente: Agrios, 2005

En el estudio realizado por De Tempe y Binnerts, (1961) mencionan que *Ustilago* spp se encuentra presente dentro del embrión. De acuerdo con el estudio realizado en los embriones de avena se detecto esporas de *Ustilago* spp en el hospedero de avena por el cual la especie corresponde a *Ustilago* avenae.

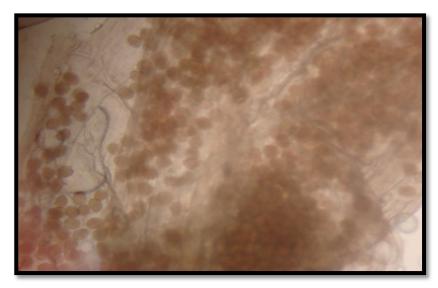


Figura 8. Esporas de *Ustilago avenae* en embriones de avena.

De acuerdo a Zillinsky (1984), identifica que *Ustilago* spp, muestra esporas globosas a subglubosas u ovoides, 6-9 µm de color amarillo marrón a marrón oliváceo con la superficie minuciosamente equinulado. El cual son patógenos de cereales que producen masas de esporas (teliosporas), que se encuentran interno en la semilla. Por lo consiguiente son patógenos que se transmiten por la semilla y/o por el suelo.

El estudio realizado y De acuerdo a Rennie y Seaton (1975), muestra que esta prueba realizada se detecto *Ustilago avenae*, en los embriones el cual se presento esporas en el interior del embrión infectado. Cabe destacar que la infección por carbón volador (*Ustilago avenae*) no fue muy alto el porcentaje de infección en los embriones el cual se obtuvo una incidencia de 7.75 por ciento.

Cladosporiumsp

En el estudio realizado se detecto otro hongo diferente a *Ustialgo* avenae debido a las características morfológicas y claves taxonómicas que autores definen a *Cladosporium*sp. Se detecto como un contaminante o saprofito que se trasmite por semillas de cereales (Barnett y Hunter, 1972).

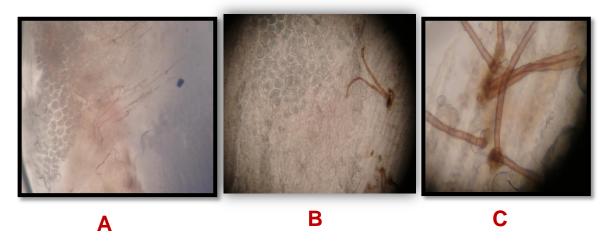


Figura 9. Estructuras del hongo *Cladosporium*spA) presenta ramificaciones B) y C)pedazos del micelio de *Cladosporium*spencontrado en la superficie del embrión de la semilla de avena.

Debido a los resultados obtenidos de este estudio se encontró una incidencia de 17.25 por ciento de daños causado por *Cladosporium*sp, en los embriones de las semillas evaluadas.

De acuerdo a Romero (1980), reporta a *Cladosporium*spcon características morfológicas de micelios encontrados en las semillas de cereales. Mismas características que muestra (figura 9) en esta prueba realizada se encontró partes del micelio de este género en semillas de avena.

Barnett y Hunter (1972) mencionan la biología de *Cladosporium*sp, presenta micelio de color café a purpura. Posee conidióforos elongados, obscuros,

levantados, ramificados cerca del ápice agrupado o simples, conidias oscuras, de 1 o 2 células, variables en forma y tamaño, ovoides, cilíndricas o irregulares, algunas con forma típica de limón, se reconoce como parásito en plantas o saprofito.

Sin, embargo Romero (1980), menciona que su epidemiologia de *Cladosporium*sp.No se reproduce sexualmente, sobrevive como micelio y esclerocios, dentro o en la superficie de la semilla, y en residuos de plantas enfermas que se quedan en el campo.

Cladosporiumsp, corresponde a los hongos que son trasmitidos por semillas en campo. Que invaden las semillas en las plantas en desarrollo y requieren para su crecimiento una cierta humedad, el tiempo de aparición de este hongo durante el almacenamiento de la semilla depende de las condiciones por lo general su actividad se reduce (Silva, 1993). También persiste este género en el grano de cereales si están suficientemente secos (Lacey 1989).

Recientemente Carmona (2008) muestra que tanto *Ustilagoavenae* y *Cladosporium*sp, son patógenos transmitidos por semillas de trigo, cebada y avena por lo tanto está directamente relacionada en la continuidad del ciclo biológico de los patógenos de una generación a otra del hospedante.

Recientemente Khanzada *et al.*, (1980) realizo también esta prueba para la detección de *Ustilago nuda* que infecta a los embriones de las semillas, en este caso para el cultivo de trigo, muestra que la presencia de este hongo en

los tejidos de la semilla puede ser observada, por tinción, también es utilizada para la detección de *Ustilagotritici*. Demuestra que ambos patógenos se encuentran internamente en la semilla y que afecta a los embriones, al igual se extraen con NaOH (5%) y después se tiñen con azul de tripano, posteriormente los embriones se separan del endospermo haciendo pasar las semillas a través de diferentes tamices. El micelio del patógeno se observa teñido por el azul de tripano y es observo bajo la vista de un microscopio (Feodorova, 1987).

Esta misma prueba coinciden con el estudio realizado para la detección de carbón volador (*Ustilago avenae*) en las semillas de avena que muestra que se detecto la presencia de este hongo en los embriones evaluados. Sin embargo, algunos patógenos no se encuentran internamente o bien se encuentran en la superficie de la semilla en cantidad muy baja como fue el caso de *Cladosporium*sp, un contaminante que se detecto en esta prueba. Se analizaron 800 embriones en total el cual resultaron 200 infectados con problemas de hongos como fue *Ustilagoavenae* y *Cladosporium*sp. Reportados ambos hongos como patógenos transmitidos internamente en la semilla de granos pequeños de cereal, que en este caso la prueba se realizo con semillas de avena.

CONCLUSIÓN

Se detecto carbón volador (*Ustilago avenae*) portado en las semillas de la región de Pachuca Hidalgo de la variedad Kooker 234 perteneciente de la cosecha de 1995. La presencia de este hongo, se encontró con una incidencia baja lo mismo para *Cladosporium* sp, patógeno que está asociado en la transmisión de enfermedades por semillas, ambos hongos se localizaron internamente como también en la cubierta de la semilla.

LITERATURA CITADA

- Agrios G. N., 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Ed. Elsevier Academic Press. San Diego, California. 922 pp.
- Aguado M., A. M. 1978. Diez temas sobre los cereales. Tercera edición. Ministerio de Agricultura. Publicaciones de extensiones agrarias. Madrid, España. pp. 102-107.
- Aitken, Y. 1977. Conceptos agronómicos y producción foliar. Agrociencia 28: 115-143.
- Arboleda O. 1997. Plagas de semillas forestales en América central y el Caribe. Ed. Bib. Orton IICA / CATIE.
- Arrigada V. 2000. Semillas: Inspección, análisis, tratamiento y legislación. pp. 6-76.
- Barnett, H. L. y Hunter, B. B. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Third Ed. Burgess publishing company, Minnesota. 235 pp.
- Bonnet, O. T. 1961. The oat plant: its histology and development. Boletin 672.

 University of Illinois. Agricultural Experiment al Station, Urbana, Illinois,

 EUA. 112 p.
- Carmona, M. 2008. Patógeno transmitidos por Semilla. Disponible en: http://www.aapresid.org.ar/contenido.asp?tid=3
- Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). 2010. Enfermedades causadas por Hongos. Consultado el 26 de Abril del 2010 en la pagina. http://www.cimmyt.org/spanish/docs/fieldquides/enfplagastrigo/Hongos.pdf

- De Tempe J., Binnerts J. 1961. Introduction to Methods of seed health testing. Seed Sci Technol. 7: 601-636.
- Feodorova R. N., 1987. New and improved methods of detecting smuts in wheat and barley seeds.BiulInstHodowli i AklimRos'lin 201: 253–256.
- Financiera Rural. 2010. Monografía de la Avena y Semilla de Avena para Siembra.

 Tomado de:

 http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/Monograf%C3%ADa%20Avena%20(oct%2010)%20vf.pdf.

 Consultado el 09 de enero 2012.
- García A. M., 1984. Patología Vegetal Práctica. Ed. México Limusa: pp. 121-137.
- Gingery R. G., 1993. Fluorescent antibody comparison of the effects of gamma and microwave irradiation of wheat grain on its microfloral contamination test viruses. Serological methods for detection and identification of viral and bacterial plant pathogens. pp 287-293. In: a laboratory manual. R. Hampton, E. Ball, S. De Boer Eds. APS Press. St. Paul, Minnesota EEUU.
- Givens, D. I., E. Owen, R. F. E. Axford y H. M. Omed. 2002. Forage evaluation in ruminant nutrition. CABI Publishing. London, UK.
- González A., Mendoza C., Tello J C. 2004. Microorganismos patógenos transmitidos por semilla de judía tipo granja asturiana. Saneamiento de semilla. Serida KRK Oviedo.
- INFOAGRO. 2009. El cultivo de Trigo. Consultado el 15 de Marzo del 2009 en la pagina. http://www.infoagro.com/herbaceos/cereales/trigo.htm

- Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Viveros (INSPV). 1976. Apuntes sobre identificación de cereales, Madrid, España pp. 45-55.
- Jiménez G., C. A. 1992. Descripción de variedades de avena cultivadas en México. SARH, INIFAP, CIRCE, CEVAMEX. (Folleto Técnico No. 3). Chapingo, Edo. De Méx., México. 72p.
- Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P.F., Donoghue M.J. 2002.Plant Systematics: a phylogenetic approach. 2^a.Edición.Sinauer, Sunderland., Massachusetts, USA.
- Khanzada A. K., Rennie W. J., Mathur S. B., Neergaard P. 1980. Evaluation of two routine embryo test procedures for assessing the incidence of loose smut infection in seed samples of wheat (*Triticumaestivum*). Seed SciTechnol 8: 363.
- Lacey J. 1989.Pre- and post- harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products.Journal of Applied Bacteriology symposium. Supplement: 115- 25s.
- López B. L., 1991. Cultivos herbáceos. Vol. 1, CEREALES. Editorial Mundi Prensa. Madrid España. pp. 69-289.
- Márquez, C. L. A. 1990. Rendimiento y calidad de la semilla de avena en relación a la Fertilización, densidad de siembra y zona de producción. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 105 p.
- Mendoza Z. C., 1990. Diagnóstico de Enfermedades Fungosas. UACH. Parasitología Agrícola, México UACH. 259 p.
- Neergaard, Paul. 1979. Seed Pathology. Ed. Mac Millan Press LTD. Gran Bretaña. First edition.839 pp.

- Rao, N.K., J. Hanson, M.E. Dulloo, K. Ghosh, D. Novell y M. Larinde. 2007.

 Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. Manuales
 para Bancos de Germoplasma No. 8. Bioversity International, Roma, Italia.
- Reeves D. L. and Sraon S. H. 1976. How an oat plant develops. Bolletin 645. Agricultural Experiment Station South Dakota State University, U. S. A.
- Rennie, W. J. y Seaton, R. D. 1975. Loose smut of barley. The embryo test a means of assessing loose smut infection in seed stocks. SeedSci. Technol. 3,697-709.
- Romero, C. S. 1980. Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma de Chapingo. México, D. F. 347 p 185.
- Silva, C. A. 1993. Microorganismos y deterioro. En: Aspectos relacionados con el deterioro de las semillas. Revista ICA. 28:140.
- Unión Vegetariana Internacional (IVU) 2006. Disponible en: http://www.ivu.org/Spanish/recipes/
- Warham, E. J., Butler, L. D. y Sutton, B. C. 1996. Ensayos para la semilla de Maíz y Trigo. Manual de Laboratorio. CIMMYT, México, D. F. 84 pp.
- Zillinsky F. J., 1984. Guía para la Identificación de Enfermedades en cereales de Granos pequeños, CIMMYT. Pp. 91- 92