

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Evaluación de Recubrimiento a Semillas de Maíz con Productos Químicos y
Biológicos para Contrarrestar *Fusarium moniliforme*

Por:

LIZBETH LUNA AGAPITO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México
Octubre 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Evaluación de Recubrimiento a Semillas de Maíz con Productos Químicos y
Biológicos para Contrarrestar *Fusarium moniliforme*

Por:

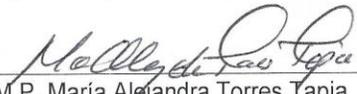
LIZBETH LUNA AGAPITO

TESIS

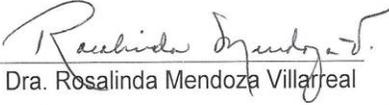
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

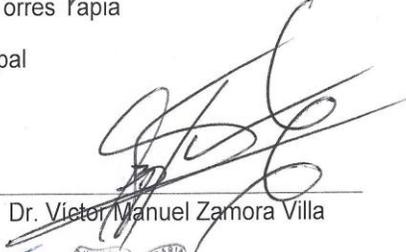
Aprobada por el Comité de Asesoría:


M.P. María Alejandra Torres Tapia

Asesor Principal


Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal

Coasesor


Dr. Víctor Manuel Zamora Villa

Coasesor


Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de la División de Agronomía


División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México
Octubre 2016

DEDICATORIA

A mis abuelos

Sr. Juan Agapito Hernández (+)

Sra. Cristina Martínez cruz

Por aceptarme en su familia, cuidarme y demostrarme su cariño y enseñarme a que debía superarme para poder tener una vida mejor por brindarme todo su apoyo en mi formación académica mi abuela una mujer fuerte y luchadora que siempre supo darme los mejores consejos y a mi abuelo aunque ahora ya no este conmigo él siempre me cuido y me inculcó buenos valores para que me convirtiera en una persona de bien y hoy tengo la satisfacción de haber concluido mi carrera profesional y poder con todo mi cariño darles gracias por su apoyo, confianza y principalmente por su esfuerzo.

A MIS PADRES:

Rogelio Luna Maldonado por brindarme su apoyo moral y económico para que pudiera continuar con mi carrera profesional gracias por todo su esfuerzo y confianza.

Martha Agapito Martínez por su apoyo moral y por la confianza que deposito en mí.

A MIS HERMANOS Y HERMANAS: (+) Ricardo, Rogelio, Raúl, José, Cindy y Clarita por todo su cariño, apoyo y por todos los buenos momentos que hemos pasado juntos.

A MIS TÍAS:

María Alicia Agapito Martínez y Nereida Agapito Martínez por su apoyo y su cariño brindado y por alentarme a seguir adelante.

A TODOS MIS TÍOS Y TÍAS que me han brindado cariño, apoyo y confianza.

A MI NOVIO: Víctor Sarmiento Ruiz

Por tu gran amor, apoyo, cariño, confianza y por todos esos lindos momentos que hemos compartido, por darle tanta alegría a mi vida, llenarla de momentos felices y por haber aceptado compartir tu vida a mi lado te amo.

A mi “ALMA TERRA MATER” por darme las armas necesarias y hacer de mí una buena profesionista.

AGRADECIMIENTOS

A mis amigas: Claudia, Marianne, Dulce, Lizbeth que me brindaron su amistad y apoyo de manera incondicional en los buenos y malos momentos haciendo de esta manera más amena la estancia.

A la M.C. María Alejandra Torres Tapia; por haber permitido la realización de este trabajo; y además por la paciencia que me tuvo; sin su ayuda no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

A la Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal por su colaboración en la revisión de este trabajo.

Al Dr. Víctor Manuel Zamora Villa por su colaboración y disponibilidad.

A todos los maestros que en el transcurso de la carrera contribuyeron en mi formación, para crecer profesionalmente lo cual me motiva a seguir preparándome.

Por ultimo agradezco a todas las personas que en su momento me brindaron su apoyo y amistad de manera incondicional.

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo el control biológico del hongo *Fusarium moniliforme* mediante el tratamiento de las semillas de maíz inoculadas con bacterias del género *Bacillus*, el experimento fue llevado a cabo en el laboratorio de tecnología de semillas. Destacando que se inocularon los sustratos con las concentraciones del hongo $1 \cdot 10^2$, $1 \cdot 10^3$ y $1 \cdot 10^4$ conidias/ml y un sustrato testigo en donde posteriormente se sembraron las semillas de maíz variedad Cafime inoculadas con *Bacillus subtilis*, *Bacillus firmus*, *Bacillus pumilus* a diferentes dosis y combinaciones. Con un diseño de parcelas divididas con arreglo completamente al azar donde la parcela grande fueron los sustratos inoculados y la parcela chica los tratamientos aplicados, donde fueron 8 tratamientos con 4 repeticiones cada uno. Se evaluó la capacidad de germinación que comprendió a las variables de calidad como son: plántulas normales, plántulas anormales y semillas sin germinar también se evaluó el vigor bajo las variables de longitud media de plúmula, longitud media de radícula y peso seco.

Los resultados obtenidos ubican al T7 inoculado con *Bacillus subtilis* más *Bacillus firmus* en dosis iguales de 250 ml/100 kg de semilla como el mejor con porcentajes de capacidad de germinación de 64.56 PN y 10.93 PA. Y medidas de longitud de radícula con 20.31 cm. Además de ser la mejor alternativa para el control del hongo *Fusarium moniliforme* a concentraciones de $1 \cdot 10^2$, $1 \cdot 10^3$ y $1 \cdot 10^4$ conidias/ml.

Palabras clave: Control biológico, *Fusarium moniliforme*, sustratos, tratamientos, *Bacillus subtilis*, *Bacillus firmus* y *Bacillus pumilus*.

Correo electrónico; Lizbeth Luna Agapito, lizbeth_482@hotmail.com

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS	ii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo específico.....	2
Hipótesis	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Importancia del cultivo de maíz	4
Producción mundial	5
Producción nacional.....	7
Enfermedades en maíz de importancia económica	8
Características del hongo <i>Fusarium moniliforme</i> (Sheld.)(<i>Gibberella fujikuroi</i>) .	11
Distribución del hongo	11
Diseminación y factores favorecen su desarrollo	13
Métodos de control	14
Género <i>Bacillus</i>	16
<i>Bacillus subtilis</i>	18
<i>Bacillus firmus</i>	20
<i>Bacillus pumilus</i>	21
Tratamientos de semillas	23
Tratamientos biológicos en semillas	25
III. MATERIALES Y METODOS	27
Material genético	27
Tratamientos evaluados.....	27
Metodología	28
Variables evaluadas.....	30
Capacidad de germinación.....	31
Vigor	34

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
Capacidad de germinación	38
Vigor	47
V. CONCLUSIONES	58
VI. LITERATURA CITADA	59

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
4.1	Parámetros de calidad en las pruebas de capacidad de germinación.....	39
4.2	Parámetros de calidad en las pruebas de vigor de LMP,LMR,PS.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
2.1	Producción mundial de maíz, 2005/06-2015/16*(millones de toneladas). Fuente PSD-USDA2015.....	5
3.1	Propagación del hongo (<i>Fusarium moniliforme</i>) a temperatura ambiente por 15 días.....	28
3.2	Conteo de conidias para la inoculación en tres concentraciones de $1 \cdot 10^2$, $1 \cdot 10^3$ y $1 \cdot 10^4$ conidias/ml de <i>Fusarium moniliforme</i>	29
3.3	Siembra de 20 semillas tratadas con productos biológicos y químicos en sustrato estéril inoculando a $1 \cdot 10^2$, $1 \cdot 10^3$ y $1 \cdot 10^4$ conidias/ml de <i>Fusarium moniliforme</i>	29

3.4	Las charolas fueron llevadas a un cámara de germinación de $25 \pm 1^{\circ}$ C a los 7 días se evaluó la capacidad de germinación y vigor.....	30
3.5	Conteo de plántulas normales 7 días después de la siembra.....	31
3.6	Conteo de plántulas anormales 7 días después de la siembra.....	32
3.7	Conteo de las semillas sin germinar 7 días después de la siembra.....	33
3.8	Toma de medida de longitud de plúmula con ayuda de una regla a los 7 días después de la siembra.....	34
3.9	Toma de medida de longitud de radícula con ayuda de una regla a los 7 días después de la siembra.....	35
4.0	Colocación de las bolsitas con las plántulas en la estufa para su secado y posterior pesado.....	36
4.1	Prueba de comparación de medias entre sustratos inoculados en la prueba de capacidad de germinación.....	41
4.2	Prueba de comparación de medias entre tratamientos aplicados para capacidad de germinación.....	43
4.3	Sustratos inoculados por los tratamientos aplicados a la capacidad de germinación.....	45
4.4	Prueba de comparación de medias entre sustratos inoculados para las variables de LMP YLMR.....	48
4.5	Prueba de comparación de medias entre tratamientos aplicados para las variables de LMP Y LMR.....	50
4.6	Sustratos inoculados por los tratamientos aplicados a las variables de LMP Y LMR.	52

4.7	Prueba de comparación de medias entre sustratos inoculados para la variable de peso seco.....	53
4.8	Prueba de comparación de medias entre tratamientos aplicados para la variable PS.....	54
4.9	Sustratos inoculados por los tratamientos aplicados a la variable PS.....	56

I. INTRODUCCIÓN

Nuestro país constituye un amplio campo para el estudio de hongos, por su variedad de climas, existe una gran diversidad de hongos altamente adaptables, que se encuentran presentes en prácticamente todos los ecosistemas. Si bien en su mayoría cumplen con una función indispensable y benéfica, existen algunas especies que, desde el punto de vista humano, son dañinas o indeseables de que se presenten en gran volumen, dado que son los organismos que más afectan a los cultivos de importancia comercial (Ochoa, 2012)

Los productos agrícolas son susceptibles al ataque de microorganismos, destacando los hongos fitopatógenos de suelo como *Verticillium*, *Pythium*, *Fusarium* entre otros. De los cuales estos últimos géneros son los dos agresores de raíces más comunes, bien conocidos por los agricultores, ya sea en campo abierto o bajo cubierta; son invasores muy feroces, que a menudo son la causa de la destrucción total de una cosecha.

En tecnología de semillas uno de los aspectos más importantes para la conservación de la misma es el tratamiento que en muchas de las empresas lo emplean de forma preventiva u correctiva, de tal manera que el tratamiento de semillas es uno de los métodos de protección vegetal económicamente más accesible y además compatible con el ambiente y consiste en aplicar una cantidad pequeña de ingrediente activo directamente formando una cubierta para proporcionar protección ante la presencia de plagas y enfermedades para asegurar el establecimiento de plantas sanas y vigorosas.

Otra medida alternativa es el control biológico, que se define como la manipulación directa o indirecta por parte del hombre de los agentes vivos que de forma natural tienen la capacidad de control. Esta manipulación provoca un incremento de su capacidad de inhibición de los patógenos que en los últimos años ha sido objeto de estudio con resultados favorables en el control de algunas enfermedades en postcosecha (Ramón y Rodas, 2007).

En las zonas o regiones al norte de México los cultivos como algodón, garbanzo, maíz, sorgo y soya, (calabaza) son unas de las especies que tienen más vulnerabilidad hacia estos agentes patógenos; por ello, la empresa Bayer de México S. A de C.V. ha generado una serie de tratamientos de tipo biológico a base de bacterias, que en conjunto con el Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS), se evaluó la efectividad como tratamiento directo en semilla de maíz, con la finalidad de reunir información para su recomendación de uso de la nueva alternativa de control hacia estos patógenos a través de los siguientes objetivos e hipótesis.

Objetivo General

- Determinar la efectividad contra *Fusarium moniliforme* y la calidad fisiológica al recubrir semillas de maíz con productos biológicos a base de bacterias.

Objetivo específico

- Comparar e identificar la efectividad de tres productos biológicos a base de bacterias en diferentes dosis y un químico comercial como tratamiento a semillas de maíz para contrarrestar diferentes concentraciones del hongo fitopatógeno *Fusarium moniliforme* mediante pruebas fisiológicas en condiciones de laboratorio.

Hipótesis

- De los recubrimientos de productos biológicos y dosis, al menos uno tiene una respuesta efectiva como tratamiento en semillas contra la presencia de al menos una concentración del hongo fitopatógeno *Fusarium moniliforme* en la variedad de maíz evaluada.
- Alguna de las combinaciones de recubrimientos químicos y biológicos es efectivo contra la presencia de al menos una concentración del hongo fitopatógeno *Fusarium moniliforme* en la variedad de maíz evaluada.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia del cultivo de maíz

México es centro de origen y diversidad de maíz, un cultivo de importancia global. Dentro de México, el maíz es un alimento básico que provee carbohidratos, conformando un elemento central de las dietas de consumidores urbanos y rurales. Adicionalmente, este cultivo tiene un gran valor cultural, representando el origen de la vida en muchas de las cosmologías de los grupos indígenas de México y otros países de América Central. El maíz también tiene una importancia más allá de México ya que este es un alimento básico que es cultivado por agricultores pobres en África y Asia, y este también es un producto comercializado en los mercados mundiales, formando la base de las cadenas agroindustriales, produciendo productos de fécula y proteína (FAO, 2013).

En el contexto de intereses recientes por los biocombustibles, se ha discutido que el maíz también puede ser un contribuyente potencial en la oferta de energía global. La diversidad de maíz en México ha afianzado los programas de mejoramiento, creando variedades de maíz de alto valor o adaptadas localmente que se cultivan mundialmente. Por lo tanto, entender como la diversidad de maíz es mantenida y circulada en México es de gran importancia para la agricultura a nivel mundial (FAO, 2013).

Producción mundial

Entre los ciclos comerciales 2004/05 y 2014/15, como se muestra en la Figura 2.1 la producción de maíz en el mundo representó un crecimiento promedio anual de 3.5 %, para ubicarse en este último en 1,008.7 millones de toneladas, lo que representa el nivel de producción más alto de la historia. Las expectativas para el 2015/16 ubican la producción mundial de maíz con una reducción de 3.6 por ciento en relación a 2014/15, lo que se traduce en 972.6 millones de toneladas.

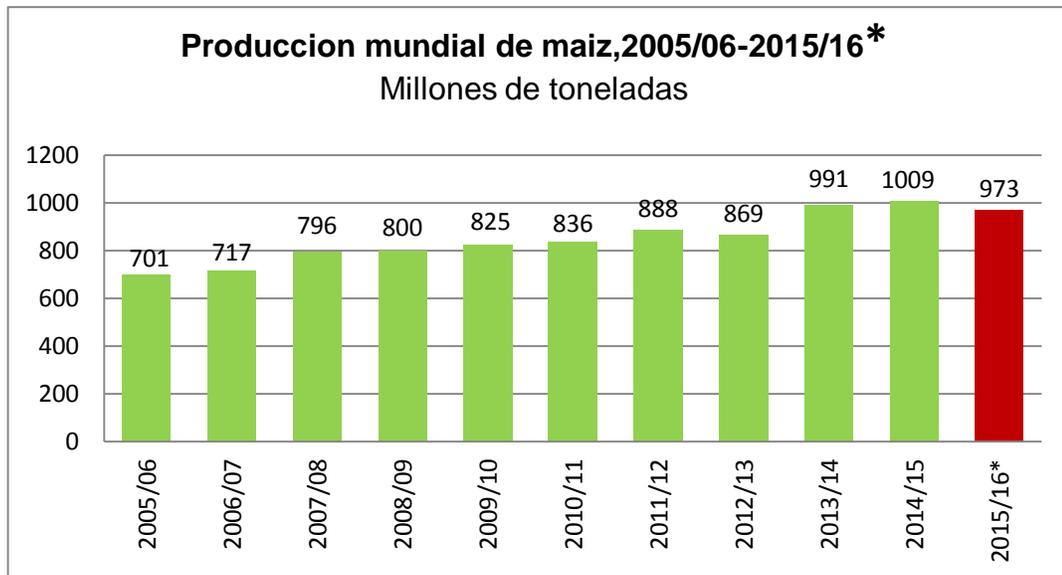


Figura 2.1 Producción mundial de maíz, 2005/06-2015/16*(millones de toneladas). Fuente: PSD- USDA 2015

El volumen de producción histórico alcanzado en 2014/15 derivó de una superficie cosechada de 178.8 millones de hectáreas y rendimientos promedio de 5.64 ton por hectárea, mismos que se ubican como el rendimiento más alto de la historia. El descenso estimado en el volumen de producción en el ciclo 2015/16 será consecuencia de una reducción de 1.0 por ciento en la superficie cosechada global, lo que se traduce en 177.1 millones de hectáreas, así como una reducción de 0.15 ton en los rendimientos por hectárea estimados, mismos que se estiman en 5.49 ton por hectárea.

La reducción esperada en la superficie cosechada de maíz en el mundo es estimulada por las expectativas de reducción en la superficie cosechada de Estados Unidos y Brasil, consecuencia de los bajos precios del grano observados durante los últimos meses recientes que desincentivan a los productores de maíz en esos países. La producción estimada para el ciclo 2015/16 en los principales países productores se ubica a la baja, con excepción de la producción en China. Por un lado, la producción en Estados Unidos, el principal productor de maíz en el mundo con una participación de 35.9% de la producción total mundial, se estima con un descenso de 4.6% en relación al ciclo 2014/15, lo que se traduce en 344.3 millones de toneladas. Lo anterior ante los bajos precios de referencia que desincentivan a los productores.

De igual manera, la producción en Brasil, la Unión Europea y Ucrania, tercer, cuarto y quinto productor mundial respectivamente, estiman reducciones significativas en su producción. USDA estima que la producción brasileña caiga un 5.9 por ciento, para ubicarse en 80.0 millones de toneladas. Lo anterior ante una menor superficie sembrada misma que se destinará a la siembra de soya, cuyos precios de referencia son más atractivos para los productores.

https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/61952/Panorama_Agroalimentario_Maiz_2015.pdf

Producción nacional

El mercado nacional de maíz en grano se encuentra en un periodo de recuperación después de registrar el volumen de producción más bajo de los últimos 10 años durante 2011. Así, el programa de producción nacional estima un volumen de 24.95 millones de toneladas durante el año agrícola 2015. De igual manera, el consumo de maíz en el país continúa en aumento, siendo impulsado tanto por incrementos en el consumo de maíz blanco como de maíz amarillo.

Las importaciones de maíz al país continúan en aumento, pues durante 2014 aumentaron 45.7% en relación a 2013. Por otro lado, las exportaciones mexicanas de maíz totalizaron 0.39 millones de toneladas en 2014. Los precios al productor de maíz blanco y amarillo han presentado niveles bajos durante los últimos meses, ante la disponibilidad del grano en el mercado internacional y nacional.

Debido a la integración de los precios nacionales a los precios internacionales de maíz, se estima que los precios continúen deprimidos hasta mediados del 2016. Entre los años agrícolas 2014 y 2015 la producción de maíz grano en México ha crecido a una tasa media anual de 2.6 por ciento para totalizar 23.27 millones de toneladas durante el año agrícola 2014. La composición por tipo de maíz muestra que durante el año agrícola 2014 el 89 % de la producción total correspondió a maíz blanco, 10.4% maíz amarillo y el restante 0.6 por ciento a otros tipos de maíz. Es de resaltar que la proporción de maíz amarillo se ha incrementado de 4.9 por ciento en el año agrícola 2004 a 10.4 en 2014.

El programa de producción 2015 de SIAP-SAGARPA estima un incremento a tasa anual del 7.2% para ubicarse en 24.95 millones de toneladas, el nivel más alto de los últimos quince años en el país.

Enfermedades en maíz de importancia económica

El Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT®) (2004), generó un manual que sirve de guía a los técnicos agrícolas y los productores de maíz en el campo, para la identificación de más de 50 enfermedades que afectan los cultivos de maíz causadas por cuatro principales agentes: hongos, bacterias, virus y mollicutes, donde las enfermedades fúngicas se presentan en: enfermedades foliares, pudriciones de tallo, carbonos y pudriciones de mazorca. La mayoría de estas enfermedades son de importancia económica, mientras que otras, aunque no lo son, tienen la probabilidad de llegar a serlo.

Algunas de las enfermedades que se pueden presentar en maíz es la **pudrición de la mazorca**, causada por hongos, principalmente del género *Fusarium*, es una de las enfermedades más dañinas del maíz en el mundo, pues en países desarrollados llega a reducir el rendimiento en más del 40%. En México, *F. moniliforme* es el más frecuente en las mazorcas, es el más adaptado a ambientes que van desde el templado al tropical. En el altiplano de México, en donde se siembran más de 3, 500,000 hectáreas de maíz, puede haber pérdidas superiores en 30% y en el sureste de México, este mal es un factor limitante en la producción (Apodaca y Quintero, 2013).

CIMMYT (2013) informó sobre los datos de pérdida de rendimiento y mencionó que es difícil determinar las pérdidas por las pudriciones de tallo y mazorca. Sin embargo, grandes pérdidas son posibles bajo la infesta de niveles graves de esta enfermedad.

Los agentes principales asociados a la pudrición de mazorca más importantes en el mundo son *Fusarium verticillioides* (*Fusarium moniliforme*), *Fusarium graminearum*, *F. proliferatum* y *F. subglutinans*. En México, *F. verticillioides* es el más frecuente en las mazorcas, es el más adaptado a ambientes que van desde el templado al tropical.

En el norte de Sinaloa se ha detectado a *F. oxysporum* como la especie más frecuentemente asociada a la pudrición de tallos, este hongo también puede atacar mazorcas. La especie que aparentemente predomina en mazorcas y granos almacenados es *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (syn: *F. moniliforme*).

Las semillas son importantes fuentes de inóculo de patógenos, entre ellos de varias especies de *Fusarium*. Para el cultivo de maíz, las especies de *Fusarium* más importantes en semilla son *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans* (los 3 denominados previamente como *F. moniliforme*), *F. graminearum*, *F. sporotrichioides*, *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. equiseti*. De todos ellos *F. verticillioides* y *F. graminearum* son los más frecuentes. La incidencia de *F. verticillioides*, es alta (mayor al 20% y hasta 100%), en cambio la incidencia de *F. graminearum* es baja. En general *F. graminearum* presente en un lote de semillas produce tizón de plántulas, pero generalmente las semillas infectadas son eliminadas durante la limpieza.

En el caso de sembrar semillas infectadas el efecto directo será la reducción de plántulas y el indirecto la contaminación del suelo. En cambio *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (syn: *F. moniliforme*) puede estar presente en semillas asintomáticas, y no es frecuente que reduzca el soporte de las plántulas, pero su presencia en semilla implica su transmisión a la planta, vía sistémica o endofítica (Carmona y Scandiani, 2009). La transmisión y la infección sistémica de *F. verticillioides* es común y puede ocurrir en un amplio rango de temperaturas.

Alezones y Gonzales (2009) reportaron la pérdida del valor cultural de semillas de maíz así como la muerte y pudrición de plántulas o "Damping off", causadas por hongos del suelo, llevados en la semilla y transmitidos, representan uno de los problemas fitosanitarios más importantes para este cultivo a nivel mundial. *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (syn: *F. moniliforme*) es uno de los hongos que se encuentra con frecuencia infectando semillas de maíz.

La presencia de este hongo en condiciones ambientales favorables para su desarrollo afecta significativamente el establecimiento de plántulas y el rendimiento final del cultivo debido a la baja población de plantas al momento de la cosecha y a la disminución del vigor.

Por lo cual Gleen *et al.* (2002) mencionaron, que *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (syn: *F. moniliforme*) es un hongo que impacta económicamente debido a sus efectos, daños sobre la planta y salud de los animales y sobre la calidad de sus productos todo lo anterior ocasionado por las fumonisinas (FB1, FB2 y FB3) que produce *Fusarium verticilloides* estas toxinas pueden causar leucoencefalomalacia en equinos, edema pulmonar en cerdos, cáncer de hígado en ratas y han sido asociadas a la ocurrencia de cáncer de esófago y defectos de tubo neural en humanos (Iglesias *et al.*, 2011).

En cuanto a los cultivos donde más se presenta sigue siendo el cultivo de maíz (*Zea mays*) es el huésped primario para *F. verticillioides*. El cual es un patógeno cosmopolita que se encuentra en la mayoría de los suelos donde ha crecido el maíz. Es capaz de infectar las plantas de maíz sin provocar síntomas evidentes, e infectar también el grano (Marasas *et al.*, 1984) citado por (Velluti, 2002).

Los granos de maíz son altamente vulnerables a la degradación por micotoxinas; se presentan principalmente en condiciones climáticas secas y calurosas, por daño de los insectos a la mazorca y debido a los bajos niveles de resistencia (Agrios 2005). Ferreyra (2010) mencionó que *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (syn: *F. moniliforme*) es un patógeno que afecta al rendimiento y la calidad del cultivo y el contenido de fumonisinas en granos, un hongo nocivo para la salud humana.

Características del hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld.)(*Gibberella fujikuroi*)

Presenta peritecios de color violeta con centrum tipo nectria, como *Gibberella*; ascas cilíndricas adelgazadas hacia la base; ascosporas ovales a elípticas con los extremos redondeados bicelulares.

Fase conidial caracterizada por microconidios abundantes, formando cadenas largas o cortas, hialinas, unicelulares macroconidias angostas, de paredes delgadas, septadas (3 a 5 septas transversales), folcadas (Romero, 1993). Menciona que el hongo posee un micelio extendido y algodonoso frecuentemente con matices rosas, púrpuras o amarillos; conidióforos variables delgados simples o cortos y robustos, solos o agrupados en un esporodoquio conidias hialinas, frecuentemente sostenidas en pequeñas cabezas; macroconidias con varias células delgadas, curvadas o encorvadas de forma típica de canoa; macroconidia celular ovoide y oblonga, nacen solas o en cadena.

Distribución del hongo

En términos generales, hay especies que prefieren climas tropicales, climas cálidos y áridos o climas templados, y un cuarto grupo que tiene un rango cosmopolita. Una preocupación con muchos de la especie en el cuarto grupo es que pueden ser grupos de especies hermanas, que son morfológicamente indistinguibles, pero genéticamente distintas, que aún tiene que ser resuelto adecuadamente.

Por ejemplo, la pudrición del tallo de las plantas de maíz requiere de climas cálidos y zonas secas, como Kansas donde es más probable que la enfermedad sea causada por *F. verticillioides*, mientras que la misma enfermedad en las zonas húmedas frías tales como Minnesota o las tierras altas de México es más probable que sea causada por *F. subglutinans*. (Summerell *et al.*, 2003).

Otros autores, reportaron que *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (syn: *F. moniliforme*) es más común en las regiones calientes y secas, durante el

crecimiento y desarrollo de la planta de maíz, especialmente antes o durante la polinización (Williams y Munkvold, 2008).

Así mismo se asegura que *Fusarium* es un género de hongos con una distribución universal, presentes y con gran importancia económica ya que son habituales fitopatógenos (Monzón y Rodríguez, 2013).

García y Martínez (2010) comentaron que existen registros de que esta especie ha sido aislada de mazorcas de maíz de los estados de Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Puebla y de Nuevo León, así como de *F. graminearum*, que fue aislada de mazorcas de maíz procedentes del Estado de México, Michoacán y Yucatán.

Clements *et al.* (2003) mencionaron que *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (sinónimo = *F. moniliforme* J. Sheld.) y *F. proliferatum* (Matsushima) Nirenberg dos especies que se encuentran en todo el mundo en las zonas templadas, regiones donde se produce maíz.

Bush *et al.* (2004) reportaron a *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (syn: *F. moniliforme*) y su putrefacción y contaminación por fumonisinas son problemas graves para los productores de maíz, sobre todo en el sureste de Estados Unidos.

Summerell *et al.* (2003) comentaron que el hongo puede ser transportado por el suelo, aire, o llevada en residuos vegetales, y pueden ser recuperados de cualquier parte de una planta de la raíz más profunda a la más alta flor.

Diseminación y factores que favorecen su desarrollo

Existen varias formas las cuales pueden favorecer a la diseminación del hongo *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (syn: *F. moniliforme*) entre los cuales podemos mencionar al hombre, animales, agua, viento e insectos que juegan un papel importante en el incremento de infecciones en las plantas.

CIMMYT (2013) informó que hay insectos tales como el barrenador Europeo del maíz, son transporte para las esporas de *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (syn: *F. moniliforme*) entre plantas o causar daño a las plantas, todo esto mencionado permiten a los hogos que infecten la planta, también se ha reportado como un vector.

Cardwell *et al.* (2000) reportaron que muchos hongos entran en la mazorca a través de los vellos del jilote, a menudo las esporas son trasportadas por insectos como lepidópteros y coleópteros. Lepidópteros barrenadores son considerados entre las más importantes plagas de insectos del maíz en África. Tres especies de barrenadores del tallo, *Sesamia calamistis* Hampson (Noctuidae), *Busseola fusca* Fuller (Noctuidae), y *Eldana saccharina* Walker (Pyralidae) se sabe que provocan la pérdida de rendimiento significativa en África Occidental. Estas especies de barrenadores se alimentan de los tallos de las plantas, así como granos de maíz causando entradas para *F. verticillioides*.

F. verticillioides (Sacc.) Nirenberg (syn: *F. moniliforme*) es más común en las regiones con temporadas cálidas y sobre todo muy húmedas y/o secas, se presenta especialmente antes o durante la polinización. *F. verticillioides* crece bien a temperaturas por encima de 26 ° C. La temperatura óptima calculada y máxima para el crecimiento de *F. verticillioides* son 31 y 35 °C, respectivamente, y 22 a 24 °C es la rango mínimo sugerido para el crecimiento. Sin embargo, a temperaturas inferiores a 20 °C, puede incrementar su desarrollo influenciado por la disponibilidad de agua en el sustrato, aún si el cultivo de maíz experimenta

estrés, llegando a sobrevivir por lo menos por un año, en residuos de cultivo enterrados o en la superficie del suelo (Williams y Munkvold 2008).

Martínez *et al.* (2010) mencionaron, varias vías de entrada del hongo a la espiga de maíz. Una de las más importantes es la infección de los granos a través de los estigmas, no obstante, la transmisión por semilla y tallo también lo pueden ser, sobre todo en el momento de infección de los granos de maíz depende de la especie fúngica actuante, siendo la principal vía de entrada los estigmas luego de la polinización.

Además del papel que desempeñan la temperatura y la humedad, como factores que favorecen al desarrollo del hongo al causar la severidad de la pudrición de la mazorca, existen otros factores como agentes oportunistas asociados que predisponen a la planta a un mayor daño de pudrición, como son los insectos masticadores como el gusano elotero (*Helicoverpa zea*), cogollero (*Spodoptera frugiperda*) y larvas de mosquita pinta (*Euxesta sp.*) quienes abren vías de entrada para *Fusarium*.

Métodos de control

Un método es el **control químico**, dado a través del tratamiento químico a semillas, es de protección vegetal económicamente más accesible y ampliamente recomendado para combatir la pudrición de la mazorca en sus primeras etapas. Este método consiste en aplicar una cantidad pequeña de ingrediente activo directamente como los fungicidas, formando una cubierta para proporcionar una serie de aspectos benéficos a la semilla como son: protección ante la presencia de enfermedades, asegurar el establecimiento de plantas sanas y vigorosas, ayudar a preservar el potencial de rendimiento, evitar pérdidas de granos y semillas al impedir el desarrollo de las enfermedades transmitidas por el suelo (Aveling *et al.*, 2012).

En general el tratamiento se utiliza por tres razones; para el control de hongos transmitidos por el suelo, para controlar patógenos transmitidos en la

superficie de las semillas y para el control de enfermedades que se encuentran en el interior de las semillas.

Tradicionalmente, el tratamiento de semillas de maíz se ha logrado con algunos fungicidas, como captan y tiabendazol, los más utilizados; sin embargo, existen otros productos como el fudioxonil, metalaxil, tiofanato metílico, pyraclostrobin y tilifluanida, con un espectro más amplio de ingredientes activos. El uso de mezclas de productos con un modo de acción complementario para el tratamiento de semillas, ha sido una estrategia que además de ampliar la gama de patógenos que controlan, impiden la generación de resistencia a la población objetivo de microorganismos de estos productos (Matos *et al.*, 2013).

La necesidad de reducir el uso de fungicidas químicos y productos fitosanitarios de síntesis ha dado paso a la práctica de la inoculación. En efecto, la demanda impuesta por la sostenibilidad está conduciendo al uso de estrategias que mantengan una protección al medio ambiente, dando lugar al siguiente método.

El **control biológico**, en su definición más sencilla, significa “la regulación de un organismo como consecuencia de la actividad de otro, lográndose con ello un equilibrio poblacional”. Esta actividad en el ámbito de la agricultura, significa la regulación de la población de un organismo que está afectando al cultivo y generando pérdidas económicas (plaga), mediante la acción de otro que naturalmente ha sido diseñado para ejercer dicha función (Rodríguez *et al.*, 2010).

Nicholls (2008), reportó que el control biológico es una forma de manejar poblaciones de animales o plantas. Consiste en el uso de uno o más organismos para reducir la densidad de una planta o animal que causa daño al hombre. Así, el control biológico puede definirse como el uso de organismos benéficos (enemigos naturales) contra aquellos que causan daño (plagas), además de ayudar en la sustentabilidad del ambiente, aportan compuestos químicos favorecedores en el

desarrollo de la planta o en sí mismo el desarrollo del organismo ayuda en el control de la enfermedad en una condición simbiótica.

En este contexto el uso de inóculos microbianos, incluyendo algunos que se han modificado genéticamente, está cobrando nuevamente interés. Los microorganismos más usados pertenecen a los géneros: *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Trichoderma* y *Streptomyces*, entre otros (Sid *et al.*, 2000).

Género *Bacillus*

El género *Bacillus* incluye formas bacilares, aerobias y anaerobias facultativas, Gram positivas, formadoras de endosporas, móviles, catalasa positivas, con hemólisis variable y un crecimiento activo en un rango de pH de 5,5 - 8,5 (Layton *et al.*, 2011).

Las especies de *Bacillus* son dominantes en las fermentaciones microbianas y algunas como *B. subtilis* y *B. licheniformis* son denominadas GRAS (Generalmente Consideradas Como Seguras) por la Administración de Alimentos y Drogas. Producen y secretan grandes cantidades (20 - 25 gL⁻¹) de enzimas extracelulares incluyendo proteasas, amilasas, quitinasas, lipasas, xilanasas, pululaninas y celulasas, entre otras y pueden desarrollar en sustratos con un rango muy amplio de pH.

También se encuentran especies entomopatógenas como *B. thuringiensis*, *B. sphaericus*, *B. popilliae* y *B. lentimorbus*, utilizados como biopesticidas. A su vez, *B. licheniformis*, *B. polymyxa*, *B. circulans* y *Brevibacillus brevis* (antes *B. brevis*) producen antibióticos, entre los que destaca la bacitracina. Por su parte, *B. subtilis* se usa para la síntesis de nucleótidos, vitaminas y *B. megaterium* sintetiza plásticos degradables (Schallmey *et al.*, 2004).

El género *Bacillus* descrito por primera vez por Cohn, incluye más de 100 especies ubicuas. En una etapa temprana de la clasificación se consideraban el crecimiento aerobio, la respuesta positiva en la tinción de Gram, la forma bacilar y

la formación de endosporas; no obstante, la heterogeneidad en la fisiología, ecología y genética dificultaba la generalización.

En la actualidad con base a la secuencia del ARNr 16S, este género se ha subdividido en cuatro grupos:

- El primero pertenece a *Bacillus* senso estricto con 27 especies, entre las que se considera *B. subtilis*.
- El segundo conocido como sensu lato incluye bacilos formadores de esporas redondeadas, destacando *Bacillus cereus*, *B. thuringiensis* y *B. anthracis* y unidos a éstos se encuentran algunas taxas esporógenos como *Coryphanon*, *Exiguobacterium*, *Kurtia* y *Planococcus*.
- El tercer grupo tiene diez representantes, mencionándose *B. polymyxa* y *B. macerans*, reclasificados en el nuevo género *Paenobacillus*.
- El cuarto grupo, se encuentra formado por los nuevos géneros *Aneurobacillus* y *Brevibacillus* (Tejera *et al.*, 2011).

Los efectos del género *Bacillus* destacan por la degradación de la mayoría de sustratos derivados de plantas y animales, producción de antibióticos, desnitrificación, fijación de nitrógeno, litrofia facultativa, acidofilia, alcalofilia, psicofilia, termofilia y parasitismo. Su ciclo de vida se divide en crecimiento vegetativo y esporulación.

Durante la primera fase, la bacteria crece en forma exponencial, cuando se encuentra en un medio donde las condiciones son favorables. A su vez, cuando los nutrientes escasean, la bacteria esporula, formando unas endospora que puede permanecer viable en el ambiente por largos periodos, hasta que las condiciones se tornen favorables para volver a su forma vegetativa. Se aíslan de ambientes acuáticos y terrestres, rizosfera y tejidos internos de las plantas, destacando *Bacillus subtilis*, *B. megaterium* y *B. cereus*. También, existen cepas muy virulentas asociados a humanos y animales como *B. cereus* y *B. anthracis* (Layton *et al.*, 2011., Tejera *et al.*, 2011).

Bacillus subtilis

Clasificación taxonómica

Ehrenberg, 1835, & Cohn, 1872, clasifican a *Bacillus subtilis* de la siguiente manera:

Reino:	Bacteria
Filo:	Firmicutes
Clase:	Bacilli
Orden:	Bacillales
Familia:	Bacillaceae
Género:	<i>Bacillus</i>
Especie:	<i>subtilis</i>
Nombre binomial:	<i>Bacillus subtilis</i>

Fuente: (Urquizo, 2009)

Hábitat

Urquizo (2009), menciona que: *Bacillus subtilis* es una bacteria Gram positiva, Catalasa positiva comúnmente encontrada en el suelo. Un miembro del Género *Bacillus*, *B. subtilis* tiene la habilidad para formar una resistente endospora protectora, permitiendo al organismo tolerar condiciones ambientalmente extremas. A diferencia de varias especies, *B. subtilis* ha sido clasificada históricamente como un aerobio obligado, aunque recientes investigaciones han demostrado que esto no es estrictamente correcto.

Características morfológicas

Yáñez (2012), indica que: *Bacillus subtilis* se caracteriza por ser un bacilo, Gram-positivo, aerobio estricto, aunque puede crecer en vía anaeróbica, productor de endospora, de antibióticos y matriz extracelular que comúnmente se encuentra en el suelo. El potencial de *B. subtilis* se basa en su capacidad para producir una amplia gama de moléculas bioactivas, que muestran fuertes propiedades antifúngicas, con una baja toxicidad, alta biodegradabilidad y características amigables con el medio ambiente en comparación con los pesticidas químicos.

Mecanismos de acción

Según estudiantes y docentes de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, D.C. (2011). Los mecanismos de *Bacillus subtilis* son:

- a) Competencia por nutrientes: La competencia más común es por nutrientes esenciales para el desarrollo de las funciones microbianas vitales; reproducción, nutrición, respiración y/o metabolismo, de esta manera se delimita la colonización de otras especies patógenas.
- b) Competencia por espacio: El desarrollo de un microorganismo sobre determinada área, inhibe de cierto modo la invasión de otros.
- c) Interacción directa con el patógeno: Se destaca la interacción directa entre los antagonistas y los patógenos, considerada por varios autores como; una simbiosis antagónica, que es la capacidad que posee uno de ellos (antagonista) de alimentarse de otro microorganismo, que en el contexto del biocontrol es un agente patógeno. Este mecanismo está mediado básicamente por la lisis enzimática, la cual permite la degradación de las estructuras fúngicas parasitadas para su utilización como fuente de factores.
- d) La predación: consiste en la utilización de materia orgánica como fuente nutricional por parte del antagonista, de la que puede hacer parte el patógeno, lo cual es muy ocasional.

Bacillus subtilis* vs *Fusarium

B. subtilis puede inhibir la colonización de las raíces por *F. verticilloides* y prevenir la infección endófitas y reducir la contaminación de los granos de maíz por fumonisinas, mediante tratamiento de semilla con este agente de biocontrol (Cavaglieri *et al.*, 2005).

Bacillus firmus

Clasificación taxonómica

División: Firmicutes

Familia: Bacillaceae

Género: *Bacillus*

Especie: *firmus*

Características morfológicas

Bacteria Gram positiva, su endospora es en forma elipsoidal, *Bacillus firmus* es considerada una rizobacteria promotora del crecimiento vegetal (PGPR) fosfato solubilizadora ya que aumenta la disponibilidad de fósforo para las plantas. Se ha reportado como bacteria componente de la rizosfera del roble (*Quercus sp*) que junto con otras especies *B. brevis* y de *Streptomyces* mejoran la sanidad del árbol y estimulan el crecimiento de la raíz de canola (Mohammad *et al.*, 1993).

<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis404.pdf>

Acción del *Bacillus firmus*

El género *Bacillus* contiene cientos de especies bacterianas que desarrollan efectos de estimulación de crecimiento los cuales se dividen en mecanismos indirectos y directos. Los mecanismos indirectos son aquellos donde la bacteria sintetiza antibióticos u otros compuestos que tienen un efecto inhibitorio sobre organismos fitopatógenos. Los segundos son aquellos donde la bacteria puede influir positivamente en el crecimiento de la planta por medio de la síntesis y excreción de sustancias fitoestimuladoras, que pueden incluir diversos tipos de fitohormonas como las auxinas o citocininas, compuestos orgánicos volátiles e incluso activando la producción in planta de compuestos que refuerzan la inmunidad vegetal como ácido jasmonico, ácido salicilico y fitoalexinas (Ahmad *et al.*, 2008). Es de aquí de donde algunos investigadores realizaron trabajos utilizando a la bacteria *Bacillus firmus*. (Ahmad *et al.*, 2008).

Lagunas *et al.*, 2001. Utilizó a la bacteria *Bacillus firmus* como controlador biológico de *Phytophthora capsici* en Jitomate. Y al evaluar su potencial antifúngico también observo que la inoculación con *Bacillus firmus* había aumentado la germinación en 6.0 %.

Bacillus pumilus

Clasificación taxonómica

División: Firmicutes

Familia: Bacillaceae

Género: *Bacillus*

Especie: *pumilus*

https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bacillus_pumilus

Hábitat

Se considera una bacteria ubicua en la naturaleza, ya que ha sido aislada de varios hábitats: suelo (Garbeva *et al.*, 2003), plantas y restos vegetales (Choudhary and Johri 2008), asociada a animales (Coorevits *et al.*, 2008) al mar y sedimentos marinos (Miranda *et al.*, 2008), alimentos fermentados (Meerak *et al.*, 2008), varias superficies ambientales (Porwal *et al.*, 2009), además de sitios poco comunes para el aislamiento de microorganismos como en una aeronave espacial (Kempf *et al.*, 2005).

Entre las relaciones ecológicas que mantienen *B. pumillus* en los diversos hábitats en los que se encuentra, una de las más interesantes es la que mantiene con las plantas. Esta especie de bacteriana es frecuentemente encontrada en las raíces de plantas, a las que provee protección previniendo la germinación de las esporas de algunos hongos como *Rhizoctonia* y *Fusarium* (Anderson, 2002).

Características morfológicas

Bacillus pumilus es una bacteria formadora de esporas que es en forma de bastón, Gram-positivas, y aeróbico. Algunos efectos de *B. pumilus* que se están

investigando son su participación en la conservación de heno bacteriana, y el uso de *B. pumilus* plásmidos en los sistemas de transferencia de genes. Las proteasas de *B. pumilus* se utilizan en diversas industrias. Alimentos, industrias químicas, detergentes y productos de cuero se pueden beneficiar de las proteasas de *B. pumilus*. El uso de los plásmidos de *B. pumilus* y la inserción de otros plásmidos a la ayudante de bacterias en diversas industrias, y como antimicrobianos y antifúngicos.

https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bacillus_pumilus

Es una bacteria con bajo contenido en G (guanina) Y C (citosina) en su genoma. Es una especie considerada mesófila, aunque también existen cepas que pueden ser termófilas y alcalofilas (Moallic *et al.* 2006). Hasta el momento se han descrito 395 cepas pertenecientes a esta especie. Morfológicamente, *B. pumillus* crece como una colonia lisa que se vuelve amarilla conforme avanza el tiempo de incubación. Es una especie móvil (posee flagelo), β - hemolítica en agar sangre, catalasa positiva, tolerante a las sales y susceptibles a la penicilina y no crece bajo estrictas condiciones anaeróbicas (Porwal *et. al.*, 2009).

Fisiología y composición

Las características celulares de *B. pumilus* son sinónimo de otras especies del género *Bacillus*, incluyendo *B. subtilis*, *B. megaterium*, y *B. cereus*. Desempeñan un papel en la adhesión a las células huésped y otras superficies que se encuentran en el medio ambiente, así como los principales antígenos de superficie.

Estos ácidos están compuestos de fosfatos poliglicosilo (es decir, glicerol-P o ribitol-P) con mono y disacáridos en las unidades de repetición. Los fosfatos dentro de las cadenas de ácidos teicoicos dan la superficie celular de una carga global negativa, lo que permite la absorción eficiente de diversos cationes tales como Ca^{2+} y Mg^{2+} en la célula. Su capacidad de diferenciarse en una endospora hace *B. pumilus* altamente resistente a ambientes oligotróficos, H_2O_2 , la desinfección química, y otras condiciones adversas.

Tratamientos de semillas

La Federación Internacional de Semillas (FIS) en 1999, afirmó que el tratamiento de semillas es la aplicación de técnicas y agentes biológicos, físicos y químicos, que proveen a la semilla y a la planta frente ataques de insectos y enfermedades transmisibles por la semilla.

Mencionando la FIS en el párrafo anterior la industria semillera y de productos para el tratamiento de semillas tiene una historia de trabajo en conjunto para brindar al agricultor semillas de alta calidad, por eso mismo está continuamente en un proceso de transición y de desarrollo.

Los productos modernos para el tratamiento de semillas deben lograr estándares de alta seguridad y eficacia, los nuevos principios activos y formulaciones proveen un largo periodo de control, amplio espectro y control sistémico de enfermedades e insectos (dependiendo del principio activo específico), los nuevos productos formulados utilizados por los agricultores y productores de semillas se componen a menudo de algunos principios activos, agentes coadyuvantes y colorantes seguros para la semilla, el medio ambiente y el usuario.(www.los – seibos.com., 1999).

El término tratamientos de semillas describe tanto productos como procesos, la utilización de productos y técnicas específicas puede proveer un mejor ambiente de crecimiento para la semilla y las plántulas.

Los tratamientos abarcan desde el curado básico hasta el recubrimiento y el peleteo:

- Curado. Es el método más común para el tratamiento de semillas, se trata con un producto de formulación en polvo, líquida o en forma de emulsión puede ser realizado tanto en el campo como en forma industrial.
- Recubrimiento. Se utiliza una formulación que permite mejorar la adherencia a la semilla.

- Peleteo: Es el tratamiento más sofisticado, consiste en una modificación física de la semilla para mejorar el vigor y el manipuleo.

La peletización de la semilla, es originalmente proyectada para el aumento del tamaño y el cambio en la estructura de algunas semillas muy pequeñas y de forma irregular, para facilitar la precisión y la singularidad de la siembra.

Ortega 2006, describe las características entre semillas recubiertas y pildoradas. La primera consiste en aplicar sobre la superficie de la semilla pesticida, nutriente o bacteria nitrificadoras.

La pildoración consiste en recubrir la semilla de un material inerte como la arcilla, al cual se le puede añadir insecticidas y fertilizantes. Se busca que la píldora sea lo suficientemente pesada para permitir su manejo, pero capaz de disgregarse en el suelo. Con esto se busca aumentar el tamaño.

Resalta que a diferencia de la pildoración, el recubrimiento inerte se adapta a la forma individual de las semillas y no modifica su tamaño

Con respecto a la semilla existen tres tipos de recubrimientos:

- I. Semillas recubierta, incrustada o encostrada: es una sola semilla con su forma original recubierta de forma sencilla.
- II. Gránulos de semilla: semilla para sembrar más o menos cilíndricas que contienen 3-4 semillas, más material de cobertura que puede tener pesticidas, colorantes y otros aditivos.
- III. Semillas pildoradas: son unidades más o menos esféricas destinadas a la siembra de precisión, contiene una sola semilla cuya forma y tamaño no se distingue exteriormente, mezcladas con pesticidas, colorantes y otros aditivos (www.educarm.es).

Varias cubiertas han sido propuestas para las semillas con objeto de aumentar la germinación o hacer la plantación de la semilla más fácil y más eficiente.

Vásquez 2002, comenta que para peletizar las semillas debe consistir en formar una especie de pellet recubriéndolas con un adherente y después con el inoculo o medio portador de los hongos, bacterias, microorganismos o sustancias bioactivas que sirven de biofertilizante.

Sampaio 1992, menciona que en recubrimiento de semillas se emplean básicamente dos tipos de materiales: los adhesivos y los de cobertura y acabado.

Las semillas son mezcladas con un adhesivo de manera que cada semilla sea recubierta.

Los adhesivos deben ser solubles en agua y son generalmente utilizando los polímeros orgánicos, amidos, resinas naturales, azúcares, colas de origen animal y mucilagos vegetales que son dispersos en agua para producir un fluido pulverizable, luego son agregados los sólidos de recubrimiento.

El recubrimiento no debe ofrecer resistencia a la radícula y a la estructura que va formar la parte aérea de la planta, permitiendo así el paso de agua y oxígeno para que el embrión comience a desarrollarse naturalmente (Baudet y Wolmer, 2004).

http://servicios.educarm.es/templates/portal/ficheros/websDinamicas/20/reproduccion_vegetal_la_semilla..pdf

Tratamientos biológicos en semillas

Los tratamientos biológicos están basados en el antagonismo que los microorganismos puedan presentar entre sí. El principal objetivo del tratamiento de semillas con agentes biológicos es proteger las semillas sanas contra los agentes patogénicos existentes en el suelo. La aplicación práctica de los controles biológicos en lotes de semillas ya infectadas con patógenos es mucho más difícil, especialmente en los casos en que el patógeno está localizado internamente en las semillas.

El control biológico de patógenos transmitidos por semillas se realiza a través de tres mecanismos, la inducción de resistencia, la competencia o eliminación del patógeno y la producción de antibióticos. En el primer caso no se conocen ejemplos de investigación en semilla. En el segundo caso, el patógeno es excluido en función de la competencia por nutrientes o espacio en el medio. El tratamiento de semilla de arveja con *Trichoderma hamatum* y quitina que es una fuente de alimento para *T. hamatum*, propició un mejor control de caída de plantas, que el tratamiento solo con el microorganismo.

En el tercer caso se puede considerar la aplicación de *Agrobacterium radiobacter*, raza AK- 84, para el control de las agallas del cuello. La raza mencionada produce un antibiótico llamado bacteriocin que es efectivo solamente para razas sensibles de *Agrobacterium tumefaciens*. Otros microorganismos factibles de usarse en tratamientos de semillas son *Bacillus subtilis* y *Streptomyces griseoviridis*, este último efectivo contra *Fusarium*, *Alternaria* y *Phomopsis*.

<http://repiica.iica.int/docs/BV/AGRIN/B/F03/XL2000600205.pdf>

III. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Ensayos de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas (CCDTS), localizado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Saltillo Coahuila, México; la cual se encuentra ubicada a 25° 22" latitud Norte y 101° 00" longitud Oeste, con una altitud de 1742 m.s.n.m. y presenta una temperatura media anual de 19.8°C.

Material genético

Se utilizó semilla de maíz Variedad Cafime producida en PV 2014 y almacenada en condiciones favorables para su conservación.

Tratamientos evaluados

Se aplicaron ocho tratamientos, basados en productos biológicos de bacterias del género *Bacillus*, teniendo como tratamiento (T1) testigo, utilizando solamente agua destilada; tratamiento (T2) *Bacillus subtilis* aplicando 25mL/100kg de semilla; tratamiento (T3) *Bacillus subtilis* en una dosis de 250 ml/100kg de semilla; tratamiento (T4) *Bacillus pumilus* con 25 ml/100kg de semilla; tratamiento (T5) *Bacillus pumilus* con 250 ml/100kg de semilla; tratamiento (T6) *Bacillus subtilis* más *Bacillus firmus* en dosis iguales de 25 ml/100 kg de semilla; tratamiento (T7) *Bacillus subtilis* más *Bacillus firmus* en dosis iguales de 250 ml/100 kg de semilla y tratamiento (T8) Máximum XL (metalaxil; tratamiento

químico comercial) utilizado a una dosis recomendada de 200 ml/100kg de semilla.

Metodología

Para la realización del estudio, se trabajó en tres etapas: una fue la Propagación del hongo *Fusarium moniliforme in vitro* a partir de una cepa pura en un medio de cultivo de Papa Dextrosa Agar (PDA) líquido, a temperatura ambiente y agitación constante por 15 días (Figura 3.1).



Figura 3.1 Propagación del hongo (*Fusarium Moniliforme*) a temperatura ambiente por 15 días.

En la segunda etapa, una vez proliferado el hongo, se llevó a cabo el conteo de conidias con ayuda de una cámara de Neubauer para determinar su concentración inicial en la proliferación (Figura 3.2); procediendo a realizar los cálculos correspondientes y obtener tres diluciones de N0. De conidias /ml del hongo a $1 \cdot 10^2$, $1 \cdot 10^3$ y $1 \cdot 10^4$ conidias/ml mediante la siguiente ecuación:

$$\text{No. de conidias C.P.C} \cdot 10.000 = \text{No. conidias/ml.}$$

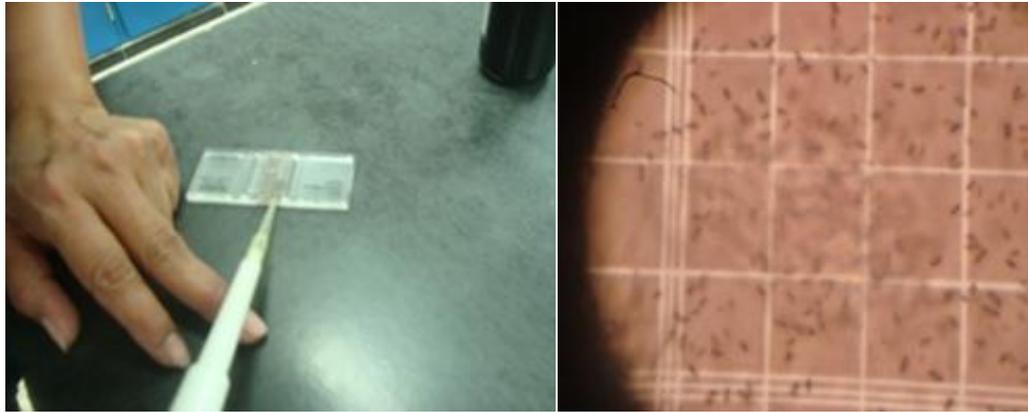


Figura 3.2 Conteo de conidias para la inoculación en tres concentraciones de $1 \cdot 10^2$, $1 \cdot 10^3$ y $1 \cdot 10^4$ conidias/ml de *Fusarium moniliforme*

Hechas las diluciones, se inocularon a 5 kg de sustrato peat most estéril, después se llenaron las charolas de plástico de 14.5 cm x 22.5, todo este proceso se llevó a cabo en condiciones estériles y en una campana de flujo laminar para evitar contaminación del medio ambiente (Figura 3.2).



Figura 3.3 Siembra de 20 semillas tratada con productos biológicos y químicos en sustrato estéril inoculando a $1 \cdot 10^2$, $1 \cdot 10^3$ y $1 \cdot 10^4$ conidias/ml de *Fusarium moniliforme*.

En la tercera etapa, se sembraron en cada charola por concentración de conidias/ml del hongo, 20 semillas por repetición de cada tratamiento (Figura 3.3), obteniendo 4 charolas por tratamiento de semilla por cada concentración del hongo *Fusarium moniliforme*; las charolas se sellaron con plástico Klim pack y se identificaron cada una. Al término de la siembra, las charolas se colocaron en una cámara de germinación a 25 ± 1 °C con 8 horas luz y 16 horas de oscuridad por 7 días, haciendo un riego al tercer día con 5 ml de agua destilada estéril con ayuda de una jeringa, tratando de sellar el orificio causado por la aguja. Una vez transcurrido los 7 días, se determinó la capacidad de germinación y vigor.



Figura 3.4 Las charolas fueron llevadas a una Cámara de germinación de 25 ± 1 °C y a los 7 días se evaluó la capacidad de germinación y vigor.

Variables evaluadas

Para evaluar la respuesta fisiológica de los tratamientos se determinó la prueba de capacidad de germinación, la cual comprende las variables de porcentaje de plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA) y semillas sin germinar (SSG); y vigor mediante la longitud media de plúmula (LMP), longitud media de radícula (LMR) y tasa de crecimiento de plántula conocido como peso seco (PS).

Capacidad de germinación

Se realizó mediante las reglas internacionales de la ISTA (2004) y el manual de evaluación de la AOSA (1992).

Plántulas normales. A los 7 días después de la siembra se realizó el conteo de plantas normales, considerando aquellas que tenían totalmente desarrollado el coleptilo lleno de la plúmula y una radícula principal, ambos con un tamaño que permitiera observarse cuando menos cuatro centímetros de emergencia, registrando el valor en porcentaje (Figura 3.5)

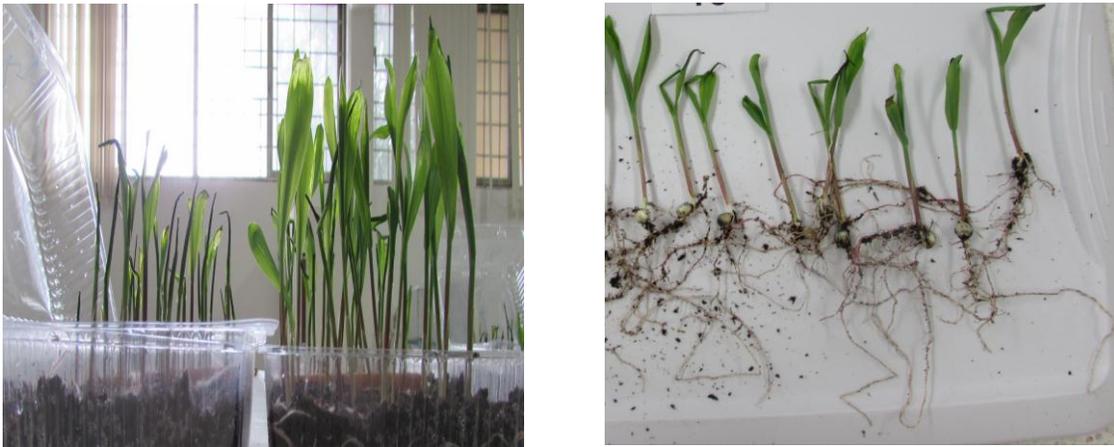


Figura 3.5 Conteo de plántulas normales 7 días de después de la siembra

Plántulas anormales. Su conteo se realizó a los 7 días después de la siembra tomando en cuenta solo aquellas que no cumplían con los requisitos para ser una plántula normal, que tuviera poco desarrollado o mal formación, registrando el valor en porcentaje (Figura 3.6).

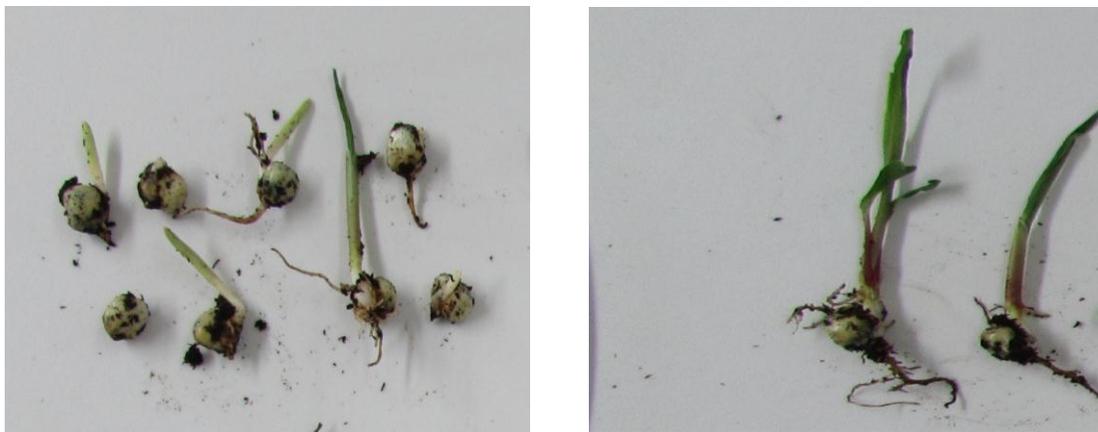


Figura 3.6 Conteo de plántulas anormales 7 días después de la siembra

Semillas sin germinar. Se evaluó a los 7 días después de la siembra, en donde se consideraron a las semillas que presentaron indicio de germinación, registrando el valor en porcentaje (Figura 3.7).



Figura 3.7 Conteo de las semillas sin germinar a los 7 días después de la siembra.

Vigor

Longitud Media de Plúmula. Los datos de esta variable se tomaron midiendo la longitud de la plúmula desde el nudo seminal hasta el borde superior de la plúmula de las plántulas consideradas normales por repetición de cada tratamiento a los 7 días después de la siembra (Figura 3.8), registrando el promedio de la longitud por repetición en centímetros.



Figura 3.8 Toma de medidas a la longitud de plúmula con ayuda de una regla a los 7 días después de la siembra.

Longitud Media de Radícula. Se evaluaron las plántulas normales resultantes de la prueba de capacidad de germinación, los datos se tomaron a los 7 días después de la siembra midiendo la longitud de la radícula con ayuda de una regla y registrando el promedio en centímetros (Figura 3.9).



Figura 3.9 Toma de medidas de la longitud de radícula con ayuda de una regla a los 7 días después de la siembra.

Peso Seco. Una vez que se tomaron todos los datos anteriores, se tomaron las plántulas normales de cada uno de los tratamientos y se metieron en una bolsa de papel estraza, se colocaron dentro de la estufa por 24 horas a 65°C, posteriormente fueron retiradas y pesadas en una balanza analítica de 0.0001 g de precisión, registrando la variable en mg/ plántula (Figura 4.0)



Figura 4.0 Colocación de las bolsitas con las plántulas en la estufa para su secado y posterior pesado.

Diseño experimental

El diseño utilizado en el presente trabajo fue parcelas divididas con arreglo completamente al azar donde la parcela grande fueron los sustratos inoculados y la parcela chica los tratamientos aplicados.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos en el presente trabajo de investigación, fueron analizados mediante el paquete estadístico SAS versión 9.0 (2009), usando el procedimiento ANOVA para analizar como un diseño de parcelas divididas con arreglo completamente al azar con 4 repeticiones para cada tratamiento bajo el siguiente modelo lineal:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + n_{ij} + \delta_k + (\tau\delta)_{ik} + e_{ijk}$$

$$\text{Para } i = 1, 2, \dots, p, j = 1, 2, \dots, r, k = 1, 2, \dots, q$$

Dónde: μ es el efecto de la media general del experimento, τ_i el efecto del tratamiento i usado como parcela grande; n_{ij} es el elemento aleatorio de error sobre la parcela grande), δ_k representa el efecto del subtratamiento k dentro de la parcela grande (ij), $(\tau\delta)_{ik}$ la interacción entre el tratamiento i y el subtratamiento k , e_{ijk} es el error experimental y y_{ijk} representa el valor de la característica en estudio.

Las medias de los factores se compararon mediante la DMS al 0.05 de probabilidad

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Capacidad de germinación

En el Cuadro 4.1, se muestran los resultados del análisis de varianza de las variables de calidad en la capacidad de germinación dados en Plántulas Normales (PN), Plántulas Anormales (PA) y Semillas sin Germinar (SSG); donde en el porcentaje de PN, se observó una significancia en las fuentes de variación de sustrato inoculado y en la interacción sustrato inoculado por tratamiento, indicando que al menos uno de los sustratos trabajados proporcionó un resultado diferente entre los demás, así como al aplicar un tratamiento indico que al menos uno se comportó diferente de los demás; mientras que en la fuente de variación tratamientos no existió significancia, reflejando que los tratamientos se comportaron en general de manera similar. Así mismo, se encontró un coeficiente de variación de esta variable de 15.5 %, teniendo una confiabilidad en los datos obtenidos.

Cuadro 4.1: Parámetros de calidad en las pruebas de capacidad de germinación.

FV	GL	Plántulas normales	Plántulas anormales	Semillas sin germinar
Sustrato inoculado	3	283.68*	213.72*	22.88 ^{NS}
Sust* rep	12	155.67*	64.40 ^{NS}	59.62 ^{NS}
Tratamiento	7	144.16 ^{NS}	129.22*	204.36**
Sust Ino.*Trat	21	150.05*	148.36**	88.39 ^{NS}
E.E	84	86.41	61.95	66.03
% C.V		15.5	47.7	34.7

****Nivel de significancia (0.01), * Nivel de significancia (0.05), NS no significativo**

Dentro de la variable de plántulas anormales, se encontró que las fuentes de variación de sustrato inoculado y tratamientos mostraron una significancia, mientras que en la interacción sustrato inoculado por tratamiento, se mostró una alta diferencia significativa, indicando que al menos uno de los sustratos tuvo un efecto diferente en algún tratamiento. Para esta variable, se presentó un coeficiente de variación de 47.7% (Cuadro 4.1), donde es necesario mencionar que este resultado se debió al hecho de haber obtenido porcentajes de cero.

Sin embargo, como se muestra en el mismo Cuadro 4.1, en la variable semillas sin germinar, en el ANVA se obtuvo una alta significancia en la fuente de variación tratamientos aplicados, lo que nos refleja que al menos uno de los tratamientos de bacterias aplicadas tuvo una respuesta diferente en la presencia de semillas sin germinar, dando un coeficiente de variación de 34.7%.

Comparación entre los sustratos

Una vez dados los resultados del ANVA en la capacidad de germinación, se llevó a cabo una prueba de comparación de medias, donde se encontró que entre los sustratos inoculados en PN, el sustrato testigo (S1) y sustrato inoculado con $1 \cdot 10^4$ conidias/ml (S4), resultaron estadísticamente iguales por estar en el mismo grupo estadístico, los cuales fueron los más sobresalientes con porcentajes de 62.6 y 62.7 cada uno, como se muestra en la Figura 4.1; seguidos por los sustratos $1 \cdot 10^2$ conidias/ml (S2) y $1 \cdot 10^3$ conidias/ml (S3) quienes tuvieron igual porcentaje y por lo tanto se encontraron en el mismo grupo estadístico.

Sin embargo en la variable de PA, se obtuvo que el testigo (S1) destacó numéricamente con un porcentaje de 13.8% siendo el menor valor de anomalías, seguido del sustrato $1 \cdot 10^4$ conidias/ml (S4) que reportó un porcentaje de 14.9 aunque estadísticamente fueron iguales por encontrarse dentro del mismo grupo. Los sustratos $1 \cdot 10^2$ (S2) y $1 \cdot 10^3$ conidias/ml (S3) presentaron los porcentajes de 18.1 y 19.2 quienes estadísticamente estuvieron en el mismo grupo (Figura 4.1).

En la variable de SSG, todos los sustratos fueron estadísticamente iguales al estar en el mismo grupo, aunque numéricamente fueron diferentes con un rango 22.34 a 24.37% (Figura 4.1).

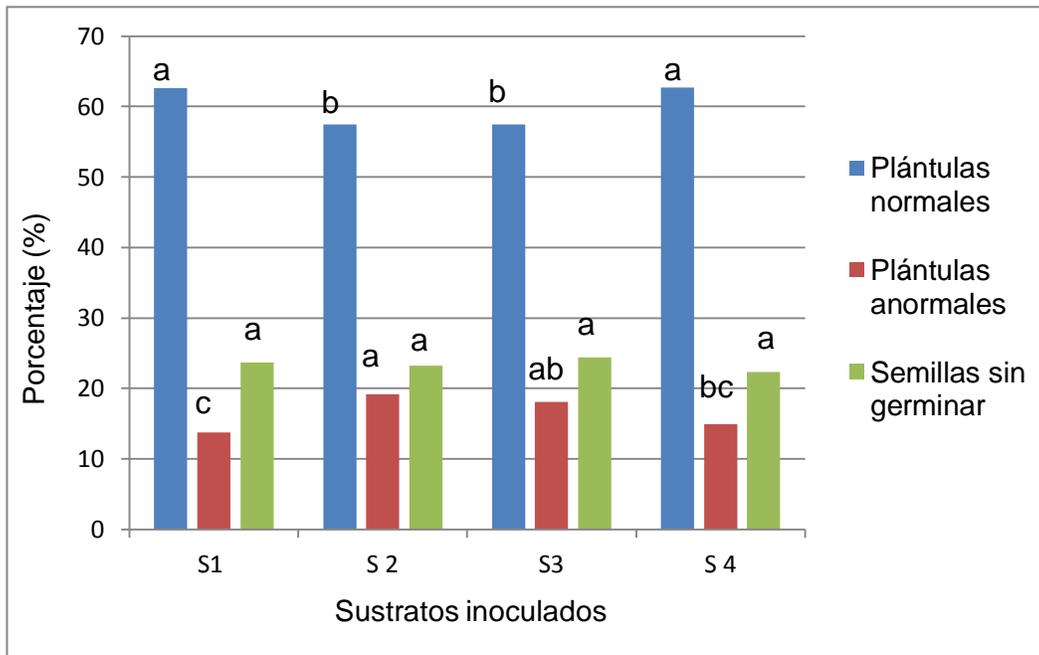


Figura 4.1 Comparación de medias entre sustratos inoculados en la prueba de capacidad de germinación

Es interesante observar que la aplicación de bacterias en la respuesta de la germinación de la semilla de maíz obtuvo un efecto favorable, ya que el sustrato a pesar de tener una concentración mayor de patógeno (*Fusarium*) no logró afectar de manera dramática como se esperaba en los porcentajes de plántulas normales como lo mencionó Alezones y Gonzales (2009), que la presencia de este hongo afecta significativamente el establecimiento de plántulas, pero con la aplicación de bacterias como *B. pumillus*, proveyó posiblemente de protección a la semilla previniendo la germinación de las esporas del *Fusarium* como lo mencionó Anderson (2002), logrando de manera significativa una germinación similar entre el testigo y la más alta concentración de patógeno en el sustrato como se observa en la Figura 4.1.

Se logró ver un efecto del hongo en los sustratos S2 Y S3 por la disminución de PN y el aumento de PA. Esto debido a la probable la acción que realiza *Fusarium* desde la semilla hasta la emergencia produciendo infecciones asintomáticas y sintomáticas en semilla. Sin embargo, una vez que el hongo logra infectar a la semilla afectara la emergencia de la plántula (Yates y Jaworski

2000). Y de esta manera lograra colonizar tejidos de la planta de maíz durante todo su ciclo vegetativo, incluyendo raíz, tallo, mazorca y semillas (White 2004).

Comparación entre tratamientos

En la prueba de comparación de medias entre tratamientos en la variable PN, se encontraron tres grupos estadísticos, donde se destacan los tratamientos T1, T2, T3, T4, T7 y T8 por encontrarse en el primer grupo estadístico con resultados de germinación en PN desde 64.6 a 58.6 % (Figura 4.2); sobresaliendo numéricamente con el valor más alto, al inocular la semilla con *Bacillus subtilis* más *Bacillus firmus* a una dosis de 250 ml (T7) en comparación al testigo (T1). Se logra observar un efecto positivo de las bacterias, y más cuando dos especies están combinadas o por lo menos se refleja el aspecto de protección a la semilla de maíz, con el motivo de que pueda lograr su fisiología en el proceso de germinación sin verse afectada por el patógeno *Fusarium*, como fue el caso de T2, T3, T4 y T8.

En la misma Figura 4.2, se muestra el segundo grupo estadístico formado por T1, T2, T3, T4, T5 y T8 con valores de PN entre 64.1 a 57.8%, siendo el mayor T8; y el último grupo conformado del T1 al T6, siendo el más bajo al inocular la semilla con *Bacillus subtilis* más *Bacillus firmus* a dosis de 25 ml (T6) en comparación al testigo.

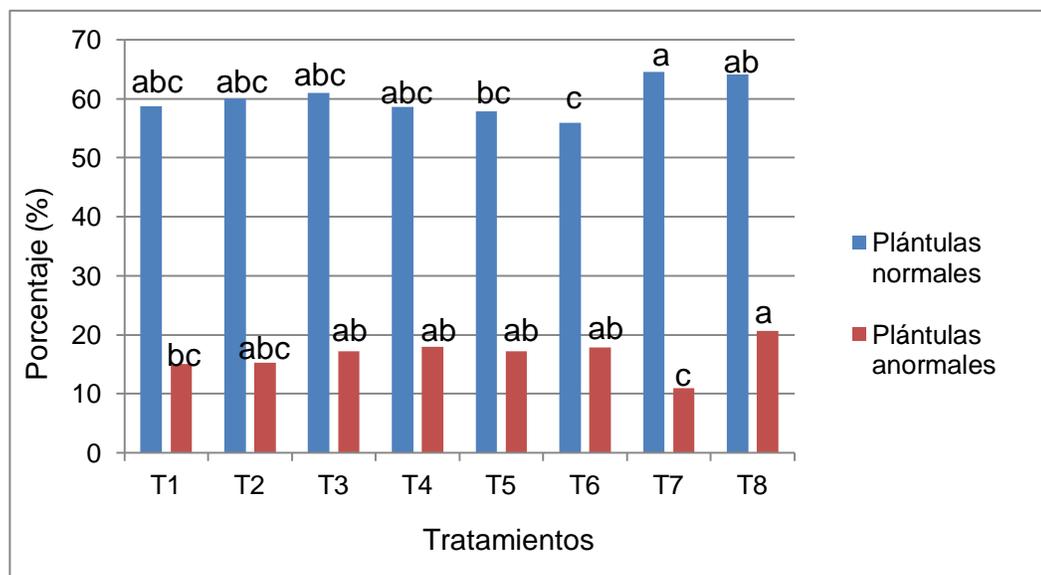


Figura 4.2 Prueba de comparación de medias entre tratamientos evaluados para capacidad de germinación.

En el caso de la prueba de comparación de medias en PA, se obtuvieron tres grupos estadísticos; el primer grupo estadístico lo conformaron los tratamientos T2, T3, T4, T5, T6 y T8 con porcentajes desde 15.3 a 20.6 % (Figura 4.2). A diferencia de T1, T2 y T7 quienes fueron los tratamientos con menor porcentaje y representaron el último grupo estadístico. Donde, entre ellos numéricamente sobresale nuevamente T7 con 10.9 %, al ser inoculada con *Bacillus subtilis* más *Bacillus firmus* en dosis de 250 ml/100 kg de semilla en comparación al testigo (T1) que obtuvo 13.75%.

Resulta importante mencionar que el uso de bacterias o microorganismos promotores de crecimiento tienen la capacidad de producir y excretar citocininas en la rizosfera, e influir positivamente en el crecimiento vegetal (Arkhipova *et al.*, 2005);

Este efecto se debe al mecanismo directo que la bacteria ejerce en el crecimiento de la planta por medio de la síntesis y excreción de sustancias fitoestimuladoras, que pueden incluir diversos tipos de fitohormonas como las auxinas o citocininas, compuestos orgánicos volátiles e incluso activando la

producción in planta de compuestos que refuerzan la inmunidad vegetal como ácido jasmonico, ácido salicilico y fitoalexinas (Ahmad *et al.*, 2008).

Por lo cual todos los tratamientos presentaron una respuesta favorable tal como lo afirman algunos investigadores que realizaron trabajos utilizando bacterias *Bacillus firmus* (Ahmad *et al.*, 2008). Logrando de esta manera obtener resultados positivos, como se logró ver en T7 al mostrar el porcentaje más alto de PN y así mismo también presentó el porcentaje más bajo de PA.

Interacción de sustratos inoculados por tratamientos aplicados

Dentro de la interacción de sustrato por tratamiento para capacidad de germinación se obtuvo para la variable de PN que la interacción del sustrato testigo (S1) con el tratamiento testigo (T1) obtuvo un bajo porcentaje en comparación de las interacciones del sustrato testigo con los tratamientos T2, T3, T4, T6, T7 y T8; a excepción de T5 quien no tuvo efecto en la semilla (Figura 4.3). Sin embargo, de manera general en los resultados obtenidos se logra reflejar el efecto causado por algunas bacterias de diferentes especies, las cuales pueden tener características promotoras de crecimiento por liberar hormonas con funciones específicas, cuando se encuentran éstas en simbiosis dentro de las plantas como crecimiento vegetal, aumento en el sistema radicular, coincidiendo con Chandra *et. al.* (2008); que al tratar semillas de maíz con bacteria *Pseudomonas fluorescens*, mejoró la emergencia e incremento el vigor en la planta.

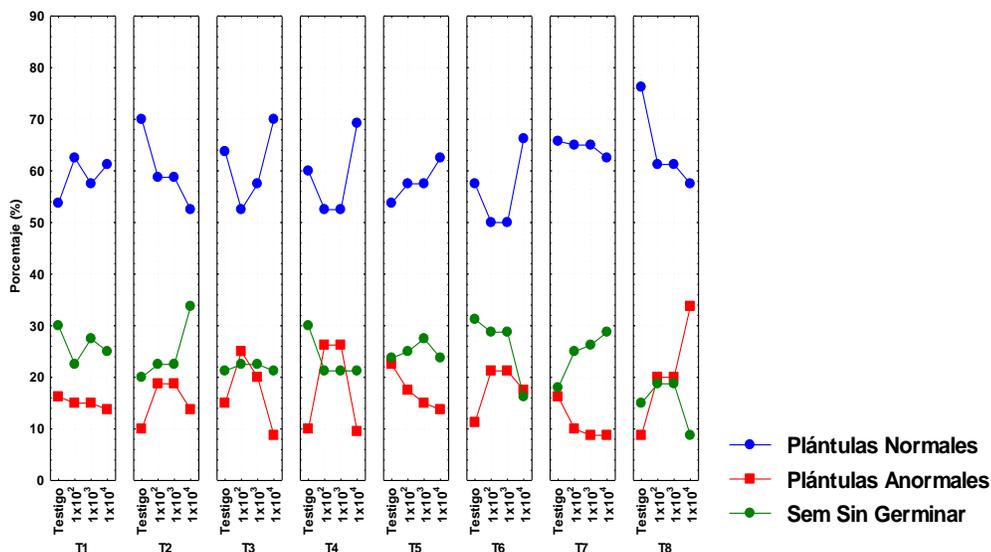


Figura 4.3 Sustrato inoculado por el tratamiento aplicado a la capacidad de germinación

En la misma Figura 4.3, se observa que la interacción del sustrato 1×10^4 conidios/ml (S4) con el T1 proporcionó un porcentaje de germinación más alto con 61.2, que la interacción del sustrato testigo (S1) en el mismo tratamiento por obtener 53.6. Así mismo, cuando S4 al interactuar con T2 su resultado no fue favorable por obtener 52.5% y presentar un porcentaje de PA con 13.8; sin embargo, al interactuar con los tratamientos T3, T4, T5, T6 y T7 proporcionó porcentajes de PN desde 70 a 57.5, más altos que el testigo absoluto (S1*T1).

Cabe señalar, que en la interacción de todos los sustratos por el T7, tuvieron una respuesta favorable en las PN, decayendo conforme aumento la concentración del hongo *Fusarium*, siendo el menor valor 1×10^4 conidios/ml (S4), teniendo además una disminución de PA y aumento de SSG, posiblemente las bacterias (*Bacillus subtilis* y *firmus*), pudieron haber manteniendo al hongo en límite para no causar daño a la germinación mediante los mecanismos indirectos. Como el de sintetizar antibioticos u otros compuestos de tipo lipopeptidico que ejercen un efecto inhibitorio sobre organismos fitopatogenos (Leclere *et al.*, 2005; Leon *et al.*, 2009). Lo cual ha sido confirmado por Chen *et al.*, (2009) que habla

en particular, sobre como los lipopeptidos pueden suprimir el crecimiento de fitopatogenos.

Aunado a ello, los tratamientos T3, T4, T5 y T6, lograron reflejar el efecto de protección en la semilla aún en la alta concentración del hongo como fue a $1 \cdot 10^4$ conidias/ml (S4); pero en las concentraciones de S2 y S3, en los tratamientos T3, T4 y T6 se vieron afectadas en la germinación como se muestra en la Figura 4.3, posiblemente por el efecto antagónico que las bacterias presentan contra los hongos fitopatogenos, brindando a la semilla la protección necesaria para poder mantener al hongo en un margen de daño mínimo, aunque el uso de más de un organismo, pudo ejercer un efecto negativo en la germinación puesto que al ser más de una bacteria ya sea a concentración baja o alta elimina al patógeno, y éstas siguen liberando sustancias antagónicas que a futuro reforzaran las plántulas; y así mismo, siguen liberando sustancias promotoras de crecimiento que ayuden a las plántulas, siempre y cuando no excedan sus concentraciones, pues podría causar un efecto inverso como el observado por Nikitina *et al.*, (2004) quien reportó una sensibilidad específica de las semillas ante las diferentes sustancias inductoras producidas por las bacterias y sus concentraciones respectivas. Por ejemplo, dependiendo de las concentraciones usadas las lectinas producidas por *Azospirillum* spp. pueden estimular o inhibir la tasa de germinación de semillas de trigo.

En general, en la misma Figura 4.3, se observó que en la variable PA, en la interacción sustratos con el tratamiento absoluto, los resultados fueron similares siendo en la interacción de $1 \cdot 10^2$ conidias/ml (S2) y $1 \cdot 10^3$ conidias/ml (S3) con los tratamientos T2, T3 y T4 donde la cantidad de anomalías comenzó a elevarse. Aunque en T5 y T7 en los sustratos $1 \cdot 10^2$, $1 \cdot 10^3$ y $1 \cdot$ conidias/ml (S2, S3 y S4) tuvieron resultados similares menores al sustrato testigo (S1).

Sin embargo, en los sustratos $1 \cdot 10^2$ y $1 \cdot 10^3$ conidias/ml (S2 y S3) nuevamente afectaron también a los tratamientos T6 y T8, por presentar mayor anomalía, aunque en el caso de T8, sus anomalías llegaron a ser mayores

aún en el sustrato $1 \cdot 10^4$ conidias/ml (S4) con 33.8 en comparación al sustrato testigo que fue de 8.75% (Figura 4.3).

Vigor

En el Cuadro 4.2, se presentan los cuadrados medios, niveles de significancia y coeficientes de variación para las variables de LMP, LMR y PS; donde la variable de LMP obtuvo en las fuentes de variación sustrato inoculado, alta diferencia significativa; en tratamientos significancia, dando a conocer que al menos uno de los sustratos estudiados y tratamientos aplicados, se comportó diferente a los demás; mientras tanto la interacción de sustrato inoculado por tratamiento no mostró significancia, generando un coeficiente de variación de 9.71% lo que le da confiabilidad a los resultados.

Cuadro 4.2. Parámetros de calidad de las pruebas de vigor de LMP, LMR Y PS.

FV	GL	Longitud Media de Plúmula	Longitud Media de Radícula	Peso Seco
Sustrato inoculado	3	6.27**	38.80**	181.02 ^{NS}
Sust* rep	12	1.09 ^{NS}	10.34 ^{NS}	107.96 NS
Tratamiento	7	2.42*	14.63*	246.46*
Sust. inoc*Trata	21	1.41 ^{NS}	12.75*	217.30**
E.E	84	1.04	7.22	93.59
% C.V		9.71	14.16	16.86

**** Nivel de significancia (0.01) *Nivel de significancia (0.05) NS no significativo**

El resultado del ANVA para la variable LMR, mostró alta significancia en la fuente de variación sustrato inoculado indicando que al menos uno de los sustratos se comportó diferente de los demás, significancia en las fuentes de variación tratamientos, así como la interacción sustrato inoculado por tratamiento mostrando que al menos uno de los sustratos tuvo un efecto diferente en algún tratamiento, con un coeficiente de variación fue de 14.16%.(Cuadro 4.2).

Para la variable de PS, el análisis de varianza no encontró diferencia significativa en los sustratos inoculados, pero si se encontró significancia en la

fuente de variación tratamientos lo cual demostró que alguno tratamiento tuvo un comportamiento diferente, y alta significancia en la interacción sustratos inoculados por tratamientos indicando que al menos uno de los sustratos tuvo un efecto diferente en algún tratamiento, obteniendo un coeficiente de variación de 16.86%.

Comparación de medias entre sustratos

Una vez obtenidos y analizados los datos del ANVA, en las pruebas de vigor se procedió a realizar una prueba de comparación de medias; donde, en la variable LMP, el sustrato testigo (S1), sobresalió de los demás sustratos con una longitud promedio de 11.18 cm (Figura 4.4), seguido de los demás sustratos que estadísticamente se encontraron en el mismo grupo estadístico indicando un comportamiento similar entre ellos, sin verse afectado drásticamente por la concentración del hongo.

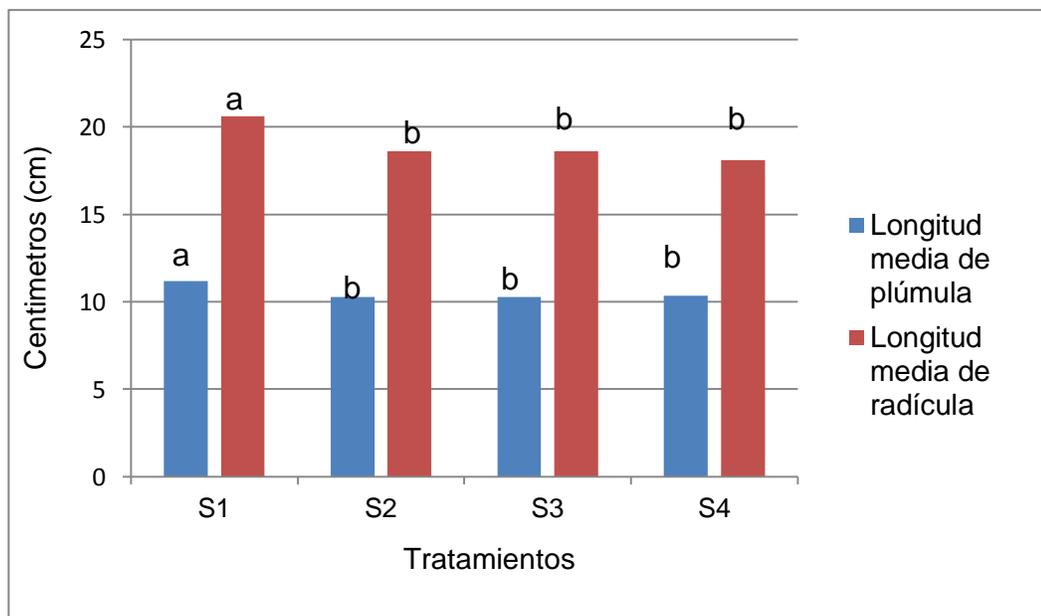


Figura 4.4 Prueba de comparación de medias entre sustratos inoculados para las variables de LMP y LMR.

Respuesta similar, se encontró en la variable LMR, donde nuevamente el sustrato testigo (S1), obtuvo el mayor promedio de longitud con 20.59 cm, seguido

de los demás sustratos inoculados formando el segundo grupo estadístico (Figura 4.4).

El efecto del hongo no fue severo puesto que los resultados obtenidos fueron favorables coincidiendo con Rodríguez *et al.*, (2008) quien evaluó la efectividad biológica in vitro de bacterias como *P. fluorescens* y *Burkholderia sp.* Contra *Fusarium moniliforme*, y determino que inhibió un 68% el crecimiento del fitopatógeno. En pruebas in vivo estas bacterias disminuyeron los síntomas del hongo, cuando las plantas de maíz se inocularon con estas bacterias y posteriormente se sembraron en suelo infectado con el hongo.

Comparación medias entre tratamientos

Dentro de la comparación de medias entre tratamientos para la variable de LMP, se observaron tres grupos estadísticos, donde los tratamientos T3, T4, T5, T6, T7 y T8 conformaron el primer grupo, siendo el T6 numéricamente mayor con una longitud media de 11 cm, seguido de T7 con 10.95 cm (Figura 4.5), el segundo grupo estadístico, lo formaron los tratamientos T1, T3, T4, T5, T8 con valores desde 10.58 a 10.20 cm; el último grupo fue conformado por T1 y T2, siendo este último de más baja longitud en comparación de los demás tratamientos con 9.80 cm (misma Figura 4.5).

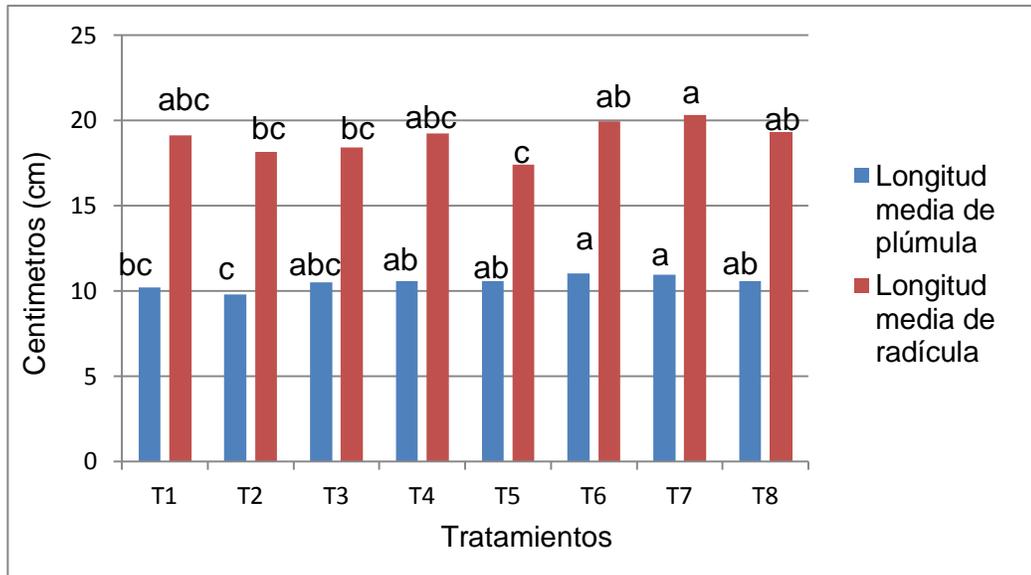


Figura 4.5 Prueba de comparación de medias entre tratamientos evaluados para las variables de LMP Y LMR.

En el caso de la variable LMR, la prueba de comparación de medias resultó con tres grupos estadísticos, de los cuales el primero estuvo formado por los tratamientos T1, T4, T6, T7 y T8, donde T7 destacó numéricamente con una longitud media de 20.3 cm, mientras que en el segundo grupo, se encontraron los tratamientos T1, T2, T3, T4, T6 y T8 con valores iguales. Así mismo, los tratamientos del T1 al T5 formaron el último grupo estadístico, donde T5 presentó la longitud media más baja con 17.4 cm, como se muestra en la Figura 4.5.

Como se ha venido observando, el efecto de las bacterias ha sido muy claro, a mayor concentración mejores resultados se obtuvieron principalmente en la zona radicular de las plantas, dado aún al inocular la semilla con bacterias pudieron ejercer efecto permitiendo el crecimiento favorable de las plántulas, concordando con los estudios de diferentes especies inoculadas con bacterias en distintas investigaciones obteniendo crecimiento aéreo-raíz en plántula y mayor biomasa, además de promover desarrollo de raíces laterales y crecimiento de pelos radiculares, así Martín *et. al.*, (2004) han reportado de *C. chinense* inoculadas con *A. brasilense*; Sharafzadeh, (2011) en *Capsicum annunm* con

Pseudomonas sp. y *Azospirillum sp.*; Luna *et. al.*, (2010) en limón (*Citrus aurantifolia*) con *Bacillus cereus*, *Bacillus simplex* y *Bacillus sp.*

Interacción de los sustratos inoculados por los tratamientos aplicados a las variables longitud media de plúmula y longitud media de radícula.

En la Figura 4.6, se observa que la interacción de sustratos por tratamientos en la respuesta de LMP fue muy similar. Sin embargo, en LMR, se logra observar que el sustrato absoluto (S1) presentó el mejor comportamiento a lo largo de la aplicación de los tratamientos, partiendo del tratamiento absoluto (T1), que obtuvo una longitud de 22.3 cm comparada con el resto de sustrato, seguidos los tratamientos T2, T3, T4, T6, T7 y T8, sobresaliendo el tratamiento T7 una longitud promedio 23.12 cm. Cabe mencionar que el S1 con el tratamiento T5, fue la excepción en la respuesta, ya que se presentó una longitud inferior a los sustratos S2 y S3 con 13.6 cm, pero en S4 vuelve a decaer la longitud hasta 16.9 cm.

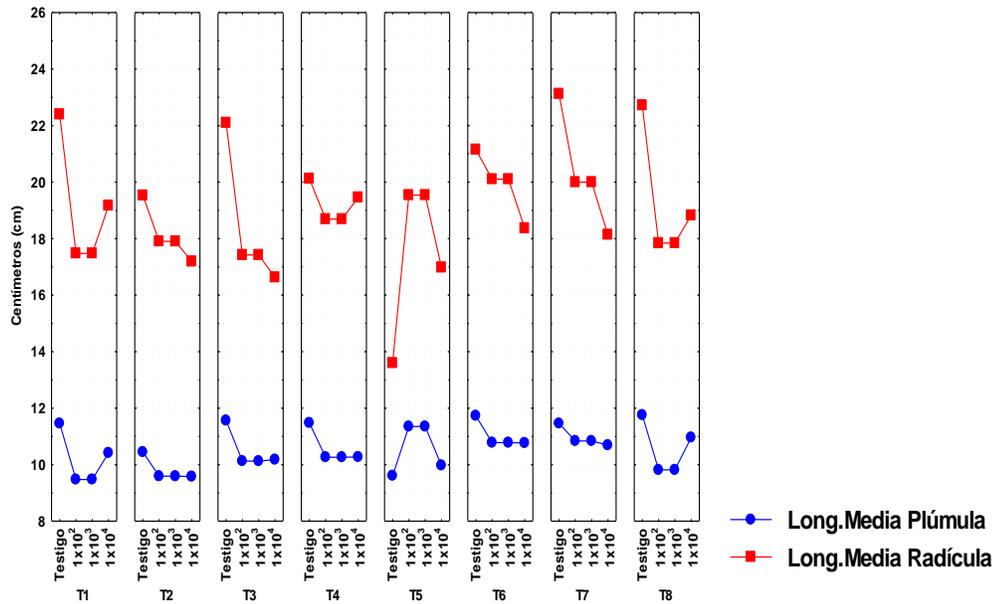


Figura 4.6 Sustratos inoculados por los tratamientos aplicados a las variables LMP y LMR.

Comparación de medias en PS

En la prueba de comparación de medias entre sustratos inoculados de la variable PS, se observó que en el primer grupo estadístico se encontró el sustrato testigo (S1), $1 \cdot 10^2$ conidias/ml (S2) y $1 \cdot 10^3$ conidias/ml (S3), sobresaliendo numéricamente los dos últimos con un valor igual de 59.26 mg/plántula; y el segundo grupo estadístico lo formaron S1 y S4 ($1 \cdot 10^4$ conidias/ml), con pesos de 56.72 y 54.30 mg/plántula respectivamente (Figura 4.7).

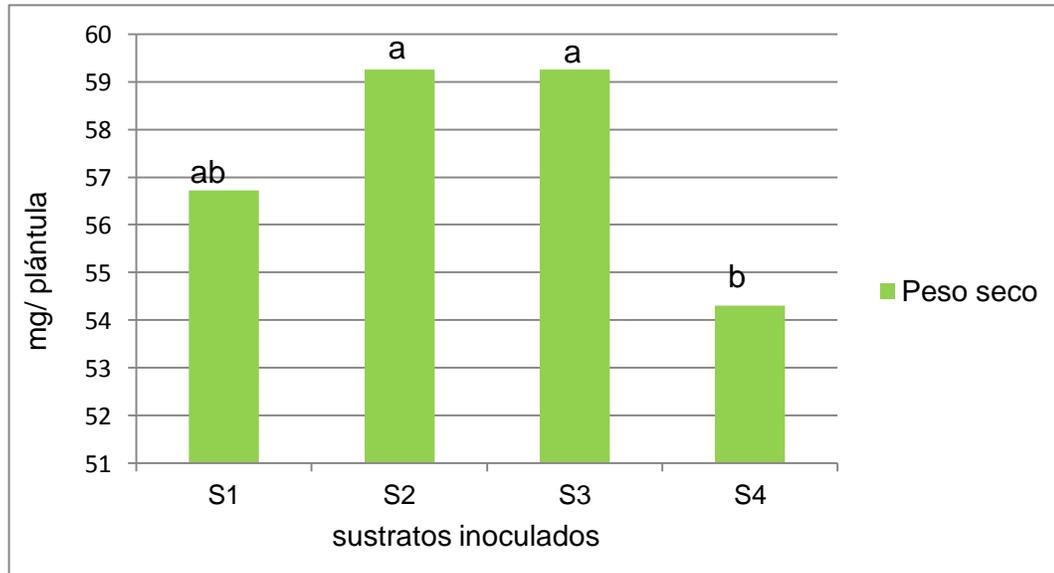


Figura 4.7 Prueba de comparación de medias entre sustratos inoculados para la variable de PS.

Comparación de medias entre tratamientos

Dentro de la comparación de medias entre tratamientos para la variable de peso seco se encontraron dos grupos estadísticos, el primer grupo estadístico conformado por los tratamientos T1, T3, T4, T6, T7 y T8 con resultados desde 61.6 a 55.6 mg/ plántula (Figura 4.8); sobresaliendo numéricamente por muy poco valor al inocular la semilla con Máximo XL utilizado a una dosis recomendada de 200 ml/100kg de semilla (T8) en comparación a T4, T6 y T7, que muy bien pueden estar a la altura de un tratamiento químico como Máximo XL.

Lo anterior permite reflejar que algunas bacterias pueden ser usadas de forma preventiva, por tener resistencia natural a plagas y enfermedades, como es *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Trichoderma* y *Bacillus* (Reinoso *et al.*, 2006; Izzeddin y Medina, 2011), sobresaliendo *B. subtilis* por producir antibióticos y otras sustancias con capacidad antifúngica (Ezziyani *et al.*, 2004) y competir con un tratamiento químico, que a pesar de ser el método tradicional y tener espectro más amplio de ingredientes activos (Matos *et al.* 2013); Se puedan tener alternativas en asegurar el establecimiento de plantas sanas y

vigorosas, ayudando a preservar el potencial de rendimiento, e impedir el desarrollo de las enfermedades transmitidas por el suelo convencional, brindando protección a las plántulas ante la presencia de enfermedades (Aveling *et al.*, (2012); Moechning *et al.*, (2013), ya se ha con bacterias o con un tratamiento químico convencional.

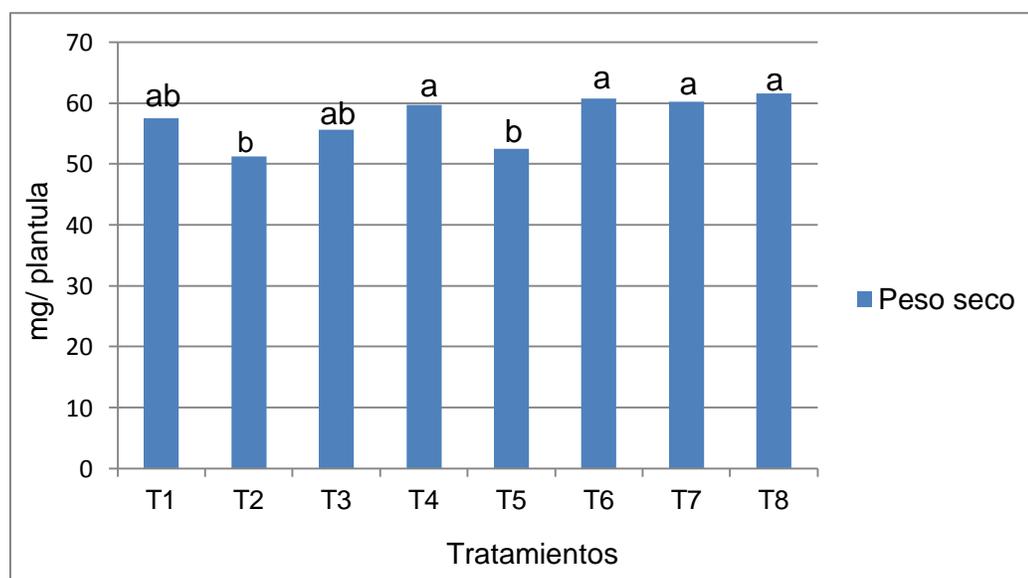


Figura 4.8 Prueba comparación de medias entre tratamientos evaluados para la variable de PS.

En la misma Figura 4.8, se muestra el segundo grupo estadístico formado por T1, T2, T3 y T5, con valores de 57.5 a 51.20%.

Interacción de los sustratos por los tratamientos aplicados la variable peso seco.

Dentro de la interacción de los sustratos inoculados por los tratamientos aplicados a la variable peso seco se obtuvo que la interacción del sustrato testigo con el tratamiento testigo ($S_1 \times T_1$) dio un peso de 65.6 mg/ plántula (Figura 4.9); esta respuesta posiblemente se debió a que el sustrato no estuvo infectado con el hongo y la semilla no estaba inoculada con bacteria, lo que le permitió a la semilla germinar y desarrollarse por su propia calidad genética, física, fisiológica y sanitaria, además de la interacción entre ellas, mismas que se determinan durante

el ciclo biológico de la planta materna (Sierra *et al.*, 2008), dando lugar a plantas completas con variable peso, traducido en vigor.

Sin embargo, se observó un marcado descenso al interactuar con T2, donde presentó un valor de 53.3mg/ plántula mientras que su interacción con los tratamientos T3 y T4 la respuesta de peso seco fue muy similar (63.2 y 63.6 mg/plántula, respectivamente); cuando la semilla se inoculó con T5, se logró ver un efecto negativo en la acumulación del peso de la plántula siendo el más bajo con 28.8 mg/plántula, mientras que al aplicar T6, T7 y T8, volvió a elevar el peso desde 64 a 53.4 mg/ plántula, pero por debajo de la media de la interacción entre el sustrato por el tratamiento absoluto (S1*T1).

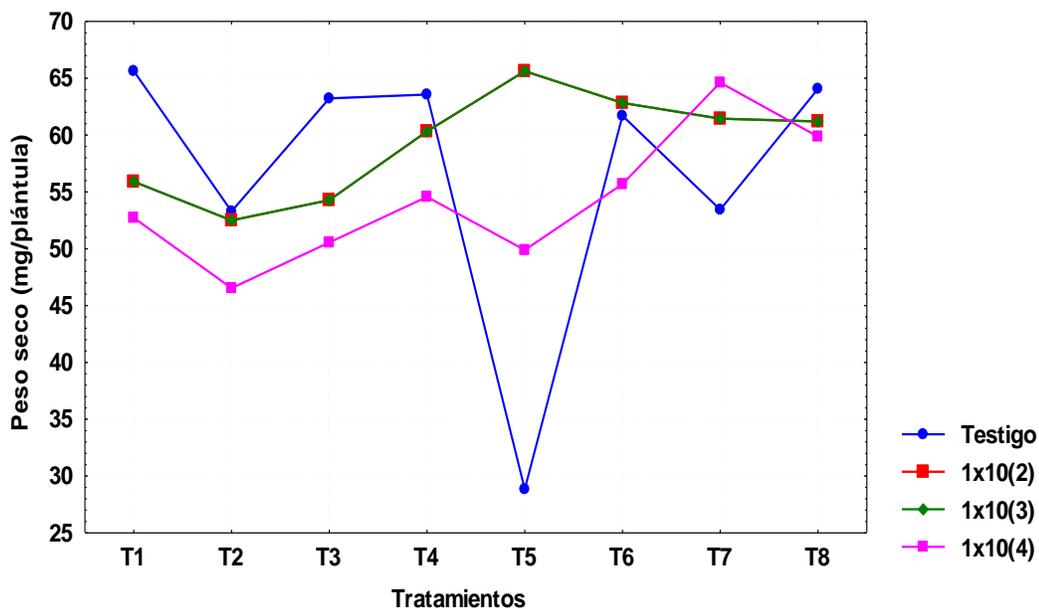


Figura 4.9 Sustrato inoculado por el tratamiento aplicado a la variable de PS.

Cabe señalar, que la interacción de los sustratos 1×10^2 conidias/ml (S2) y 1×10^3 conidias/ml (S3), en los diferentes tratamientos mostraron resultados iguales que van de 65.6 a 52.5 mg/ plántula; destacando que el T5 inoculado con *Bacillus pumilus* a 250 ml/100kg de semilla, mostró una respuesta positiva en la acumulación de materia seca de la plántula con 65.6 mg/ plántula; caso contrario del testigo.

Así mismo, la interacción del sustrato 1×10^4 conidias/ml (S4) con los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5 y T6, obtuvo los pesos secos más bajos desde 55.7 a 46.5 mg/plántula, aumentando considerablemente en el T7, hasta llegar a 64.6 mg/plántula y descendiendo nuevamente en el T8 a 59.9 mg/plántula.

Este tipo de comportamiento en las interacciones estudiadas, demuestra la actividad de las bacterias, por la liberación de sustancias que ayudan o ejercen efectos de crecimiento vegetal sobre las plántulas con el crecimiento de radícula, coleoptilo, incremento de peso húmedo y peso seco en la planta, generado por la acumulación de citocininas y elevados niveles de otras hormonas, como ácido

indol-3-acético (IAA) y el ácido abscísico (ABA) todas ellas dadas al inocular *Bacillus* (Arkhipova *et al.*, 2005) , así mismo al tener ese efecto controlador en los hongos de forma preventiva o de resistencia como se mostró en el estudio.

V. CONCLUSIONES

Acorde a los resultados obtenidos podemos concluir lo siguiente:

- El recubrimiento de semilla de maíz, con productos biológicos a base de bacterias del género *Bacillus*, pueden competir con los tratamientos químicos comerciales, debido a su actividad directa e indirecta que desarrollan, teniendo un efecto en el control del hongo fitopatógeno *Fusarium moniliforme*, así como en la respuesta fisiológica de la semilla.
- El recubrimiento de semilla con bacterias del género *Bacillus* estudiadas, marcaron una respuesta diferente en la calidad fisiológica de la semilla, descartando que la combinación de bacterias produce una efecto mayor y positivo en tal respuesta; donde la inoculación de *Bacillus subtilis* más *Bacillus firmus* en dosis iguales de 250 ml/100 kg de semilla (T7), sobresalió en la capacidad de germinación y vigor de la semilla.
- La combinación de bacterias del género *Bacillus*, tiene un efecto positivo en la germinación y vigor de la semilla, aún en condiciones de sustrato infectado por *Fusarium moniliforme*, destacando nuevamente la combinación de *Bacillus subtilis* más *Bacillus firmus* en dosis iguales de 250 ml/100 kg de semilla (T7), compartiendo el mismo efecto que un tratamiento químico comercial en concentraciones de $1 \cdot 10^3$ y $1 \cdot 10^4$ conidias/ml (S3 y S4); lo cual puede ser utilizado como producto alternativo en el control del fitopatógeno en la producción de semilla orgánica.

VI. LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2005. Plant pathology. Fifth edition. Ed. Elsevier Academic Press. San Diego, California. Pp. 922
- Anderson, T. 2002. Biological control of soybean diseases. Ins. Gnanamanickam (ed.), Biological control of crop diseases. Marcel Dekker Ltd., New York.
- Ahmad, F. Ahmad I. Khan M.S. 2008. Screening of free living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research* 163:173-81
- Alezones, J. y Gonzales, A. 2009. Efecto de diferentes fungicidas sobre la incidencia de *Fusarium verticillioides*. *Fitopatología de Venezuela* 22: 31-32.
- Apodaca, S. M. A., y J. A. Quintero, B. 2013. Agrosintesis, pudrición de la mazorca. [Documento en línea]. Disponible en: <http://agrosintesis.com/component/content/article/49-front-page/326-pudricion-de-la-mazorca>. [Consulta: agosto 2016].
- Arkhipova, T.N. Veselov S.U, Melentiev AI, Martynenko EV, Kudoyarova GR.2005. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant and Soil* 272:201-209.
- Asghar, H. N. Zahir Z.A, Arshad, M. and Khalig, A. (2002). Plant growth regulating substances in the rhizosphere: microbial production and functions. *Adv. agron* 62: 146-151.
- Aveling, T.A.S. Govender, V., Kandolo, D.S. and Q. Kritzinger. 2012. The effects of treatments wit selected pesticides on viability and vigour of maize (*Zea mays*) seeds and seeding emergence in the presence of *Fusarium graminearum*. *Journal of Agricultural Science* 151:474-481
- Bush, B. J. L. Carson. M.; A. Cubeta, M.; M. Hagler, W. and A. Payne, G. 2004. Infection and fumonisin production by *Fusarium verticillioides* in developing maize kernels. *Phytopathology* 94:88-93.
- Cardwell, K. F.Kling, J. G., Maziya-Dixon, B., and Bosque-Pérez, N. A.2000. Interactions between *Fusarium verticillioides*, *Aspergillus flavus*, and insect infestation in four maize genotypes in lowland Africa. *Phytopathology* 90:276-284.
- Carmona, M. y M. Scandiani (2011). Importancia y control de *F. verticilloides* en semillas de maíz. Propuesta para su manejo. *Fitopatología*. FAUBA. Laboratorio agrícola Rio Paraná. San Pedro. Pp.76
- Cavaglieri, L. Orlando, J., Rodríguez, M.I., Chulze, S., and Etcheverry, M. 2005. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticilloides* in vitro and at the maize root level. *Research in microbiology* 156:748-754.
- Chandra, N.S. Udaya, S.A.C., Reddy, M.S., Niranjana, S.R., Prakash, H.S. Shetty, H.S. and Paulino, M.C.A.N.2008.Seed bioprimering with novel strain of *Trichoderma harzianum* for the control of toxigenic *Fusarium verticilloides* and fumonisinas in maize. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 43(3):264-282
- CIMMYT, 2004. Manual Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en el campo. Programa de Maíz. Cuarta Edición. México, D.F ISBN: 970-648-128-1

- CIMMYT, 2013. *Fusarium* and *Giberella* stalk rot (extended information). [Documento en línea]. Disponible en: <http://maizedoctor.cimmyt.org/index.php/es/plagas-y-enfermedades/236?task=view>. [Consulta: Noviembre 2015].
- Clements, M. J. Kleinschmidt, C. E., Maragos, C. M., Pataky, J. K., and White, D. G. 2003. Evaluation of inoculation techniques for *Fusarium* ear rot and fumonisin contamination of corn. *Plant Disease* 87:147-153.
- Chen, X.H. Koumoutsis A, Scholz R, Schneider K, Vater J, Süssmuth R, Piel J, Borriss R.J. 2009. Genome analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 reveals its potential for biocontrol of plant pathogens. *Biotechnology* 140:27-37.
- Choudhary, D. K. and B.N. Johri. 2008. Interactions of *Bacillus* spp. and plants- with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbial Res* 164:493-513.
- Coorevits, A.V. De Jonghe, J. Vandroemme, R. Reekmans, J. Heyrman, W. Messens, P. De Vos, and M. Heyndrickx. 2008. Comparative analysis of the diversity of aerobic spore-forming bacteria in raw milk from organic and conventional dairy farms. *Sys Appl Microbiol* 31:126-140
- Ezziyani, M. Pérez, S.C. Ahmed, S.A., Requena M.E. Y Candela M.E. 2004 *Trichoderma harzianum* como biofungicida de phytophthora capsici en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). *Anales de Biología*.26:35-45.
- Ferreira, A. 2010. Prometedora alternativa para el control de la infección del maíz. Universidad Nacional de Rio Cuarto. Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químico y Naturaleza, Agosto 2010. [Documento en línea]. Disponible en: <http://infouniversidades.siu.edu.ar/noticia.php?id=1000>. [Consulta septiembre 2015].
- García, A. G. y Martínez, F., R. 2010. Especies de *Fusarium* en granos de maíz recién cosechado y desgranado en el campo en la región de la ciudad de Serdán, Puebla. México D.F. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 81:15-20.
- Garveda, P.J.A. van Veen, and J. D. van Elsas. 2003. Predominant *Bacillus* spp. in agricultural soil under different management regimes detected via PCR-DGGE. *Microb Ecol* 45:302-316
- Gleen, A. E. Gold, S. E. and Bacon, C., W. 2002. Fdb1 and Fdb2, *Fusarium verticillioides* Loci Necessary for Detoxification of Preformed Antimicrobials from Corn. *Appl. Environ Microbiol* 15:91-101.
- Iglesias, J. Preseyo, D. Botta, G., L.; Fauguel, C. y Eyherabide, G., H. 2011. Formación de híbridos resistentes a *Fusarium verticilloides* en maíz. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. [Documento en línea]. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-agricultura/maiz/articulos/fusarium-verticilloides-t3877/417-p0.htm>. [Consulta: junio 2016].
- ISTA, 2004. International rules for seed testing. Bassersdorf, C.H- Switzerland.
- Izzdein, A. N. y Medina, T. L. 2011. Efecto de control biológico por antagonistas sobre fitopatógenos en vegetales de consumo humano. *Centro de Investigaciones Microbiológicas* 15:9.
- Kempf, M.J. Quigley M.S., Chen M., Satomi M.R., Kern y Venkateswaran K. 2005. Aislamiento y caracterización de esporas resistentes de peróxido de hidrógeno de *Bacillus pumilus* de una instalación Asamblea nave espacial. *Astrobiología*, en prensa.
- Lagunas, J. Zabaleta, E. Aranda, S. 2001 *Bacillus firmus* utilizado como controlador biológico de *Phytophthora capsici* Leo. En Jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Instituto de Fitopatogenicidad. México 16:15-29.
- Layton, C. Maldonado, E. Monroy, L. Corrales, L. & Sánchez, L. (2011). *Bacillus* spp: perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. *Nova – Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*, 9(16), 177-187.

- Leclère, V. Béchet M, Adam A, Guez J.S, Wathelet B, Ongena M, Thonart P. Gancel F. Chollet-Imbert M. Jacques P. 2005. Mycosubtilin overproduction by *Bacillus subtilis* BBG100 enhances the organism's antagonistic and biocontrol activities. *Applied and Environmental Microbiology* 71:4577–4584
- León, M. Yaryura. P.M, Montecchia M.S, Hernández A.I, Correa O.S, Pucheu NL, Kerber N.L & Garcia A. F. 2009. Antifungal activity of selected indigenous *Pseudomonas* and *Bacillus* from the soybean rhizosphere. *International Journal of Microbiology* 57:20-49
- Martín, J. C.S. Medina-Peralta, y D. Morales-Avelino. 2004. Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp. en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacquin). *Trop. Subtrop. Agroecosys.* 4: 21-27.
- Martínez, M. Moschini, R., Barreto, D., Bodega, J., Comerio, R., Forjan, H., Piatti, F., Presello, D. and Valentinuz, O. 2010. Factores ambientales que afectan el contenido de fumonisina en granos de maíz 35:277-284.
- Matos, C. S. Barrocas, E.N, Machado, J.C., Alves, FC.2013. Health and physiological quality of corn seeds treated with fungicides and assessed during storage journal of seed science 35(1):10-16.
- Meerak, J. P. Yukphan, M. Miyashita, H. Sato, Y. Nakagawa, and Y. Tahara. 2008. Phylogeny of gamma-polyglutamic acid-producing *Bacillus* strains isolated from a fermented locus bean product manufactured in West Africa. *J Gen Appl Microbiol* 54:159-166
- Miranda, C.O. Martins, and M. Clementino. 2008. Species- level identification of *Bacillus* strains isolates from marine sediments by conventional biochemical, 16S Rrna gene sequencing and inter- tRNA gene sequence lengths analysis. *Antonie Van Leeuwenhoek* 93:297-304.
- Mohammad, G. Szabo, I.M. and Contreras, E.1993. The composition of the rhizoplane micriobiota of sessile oak (*Quercus petraea*). *Acta Botanica Hungarica* 38:301-307.
- Mollic, C.S. Dabonne, B. Colas, and J.P. Sine. 2006. Identification and characterization of a gamma- glutamyl transpeptidase from a thermo- alcalophile strain of *Bacillus pumillus*. *Protein J* 25:391-7
- Monzón, A. y J. L. Rodríguez. T. 2013. SEIMC. Sociedad Española de enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Infecciones causadas por el género *Fusarium*. Instituto de salud Carlos III. Majadahona, Madrid. 6 p.
- Nikitina, V.E.N.V. Bogomolova, E.G. Ponomareva y O.I. Sokolov. 2004. Effect of Azospirilla lectins on germination capacity of seeds. *Biology Bulletin* 31(4): 354-357.
- Nicholson, W.L. N. Munakata, G. Horneck, H.J. Melosh, and P. Setlow. 2000. Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial enviroments. *Microbiol Mol Biol Rev* 64:548-72
- Nicholls, E. C. I. 2008. Control biológico de insectos. Editorial Universidad de Antioquia. Primera edición. Medellin, Colombia. P 1.
- Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura, (FAO), 2013. Consulta sobre la producción mundial del maíz [Documento en línea]. Disponible en: http://www.fao.org/agronoticias/agro-noticias/detalle/en/?dyna_fef%5Buid%5D=143943. [Consulta: agosto 2016].
- Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura, (FAO). 2013. Consulta, la importancia del maíz [Documento en línea]. Disponible en: <http://www.fao.org/economic/esa/seed2d/projects2/marketsseedsdiversity/casestudies/mexico/es/>. [Consulta: Agosto del 2016].
- Porwal, S. S. S. Cheema and V.C. Kalia. (2009). Phylogeny in aid of the present and novel microbial lineages. *Diversity in Bacillus* 4:44-38.

- Ramón V. A. F. Rodas. 2007. El control orgánico de plagas y enfermedades de los cultivos y la fertilización natural del suelo. Venezuela. Pp. 14-16.
- Reinoso, Y. Casadesús, L.; García, A.; Gutiérrez, J.; Álvarez, V. 2006. Aislamiento, selección e identificación de bacterias del género *Bacillus* antagonistas de *Pectobacterium carotovorum*. Fitosanidad. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. 10 (3): 187-191.
- Romero, C.S. 1993. Hongos Fitopatogenos. Universidad Autónoma de Chapingo. 42, 52.
- Rodríguez, A. Heydrich-Pérez, M., Acebo-Guerrero, Y., Velázquez del Valle., M., and Hernández-lauzardo, A. 2008. Antagonistic activity of Cuban native rhizobacteria against *Fusarium verticilloides* (Sacc) Nirenb. In maize (zea mays). Applied Soil ecology 39:180-186
- Rodríguez, M.A. Guillén, S., C.; Uva, M., V.; Segura, M., R.; Laprade, C., S. y Sandoval, F., J. 2010. Proyecto demostrativo con implementación de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) en el cultivo de banano. Dirección de Investigaciones, Centro de Control Biológico. Proyecto REP-Car. Pp. 1-3
- Sid, A.A. Perez- Sánchez C. y Candela M.E. 2000. Evaluation of induction systemic resistance in pepper plants (*Capsicum annum* L.) to phytophthora capsici using *Trichoderma harzianum* and its relation with capsidi accumulation. European J. of Plant pathology. 106:817-824
- Sierra, M. M.; Palafox, C. A. F.; Rodríguez, M.; Espinosa, C. A.; Gómez, M. N.; Caballero, H. F.; Barrón, F. S.; Zambada, M. A. y Vázquez, C. G. 2008. H-520 híbrido trilineal de maíz para el trópico húmedo de México. Agric. Téc. Méx 34:119-122.
- Schallmey, M. Singh, A., & Ward, P. (2004). Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production. Canadian Journal of Microbiology 50(1), 1-17.
- Sharafzadeh, S. 2011. Effects of PGPR on growth and nutrients uptake. IJAET 2: 27-31.
- Summerell, B.A. Salleh, B. y Lesli, J. F. 2003. A Utilitarian Approach to *Fusarium* identification. The American Phytopathological Society 87:117-128.
- Tejera, B. Rojas, M. & Heydrich, M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. Revista CENIC. Ciencias Biológicas, 42(3), 131-138.
- Urquizo, D. (2009). Evaluación de la Eficacia de los Productos *Bacillus subtilis* y Difenconazole para el control de *Alternaria (Alternaria dauci)* en dos cultivares de zanahoria (*Daucus carota* L.). Recuperado el 14 de Octubre de 2012, de <http://dspace.esepoch.edu.ec/bitstream/123456789/317/1/13T0619%20URQUIZO%20DANNY.pdf>
- Velluti, A. P. 2002. Ecofisiología de especies de *Fusarium* productoras de fumosina, zearalenona y deoxinivalenol en maíz: aceites esenciales como inhibidores fúngicos Tesis de Doctorado. Universidad de Lerida, Lerida, Lleida, España. Pp. 2-15.
- White, D.G. 2004. Plagas y enfermedades del maíz. The American phytopathological society. 2da Ed. Mundi- Prensa, México Pp. 77
- Williams, M. A. and Munkvold, G. P. 2008. Systemic infection by *Fusarium verticillioides* in maize plants grown under three temperature regimes. Plant Disease 92:1695-1700.
- Yáñez, V. 2012. Potencial de la cepa CPA-8 de *Bacillus subtilis* como agente de biocontrol de enfermedades de postcosecha en fruta. Recuperado el 10 de Enero de 2013
- Yates, I.E.; Jaworski, A. J. 2000. Differential growth of *Fusarium moniliforme* relative to tissues from 'Silver Queen', sweet maize. Canadian Journal Botanic 78(4):472-480.

Páginas web:

- https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/61952/Panorama_Agroalimentario_Ma_z_2015.pdf(25/agosto/2016).
- <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis404.pdf>(20/ agosto/16).
- <http://repiica.iica.int/docs/BV/AGRIN/B/F03/XL2000600205.pdf> (15/agosto/2016).
- www.educarm.es.(22/julio/16)
- [www.los – seibos.com.](http://www.los-seibos.com), 1999.(20./julio/216).
- https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bacillus_pumilus(21/agosto/16)
- http://servicios.educarm.es/templates/portal/ficheros/websDinamicas/20/reproduccion_vegetal_la_semilla..pdf (21/agosto/ 2016).
- https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/61952/Panorama_Agroalimentario_Ma_z_2015.pdf. (19 /agosto/2016).
- Estudiantes de Bacteriología y docentes investigadoras Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá, D.C. (10 de Noviembre de 2011). *Bacillus spp.*; perspectiva de su efecto biocontrolador. Recuperado el 19 de agosto de 2016, de http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA16_ARTREVIS1_BACILLUS.pdf Eyousef, A., & Carlstrom, C. (2006).
- <http://agrosintesis.com/component/content/article/49-front-page/326-pudricion-de-la-mazorca>. [Consulta: Junio 2016].
- CAB, International. 2011. *Crop Protection Compendium, 2011 Edition*. Wallingford, UK: CAB International. En línea: <http://www.cabi.org/cpc>. Fecha de consulta: 22 de noviembre de 2011.