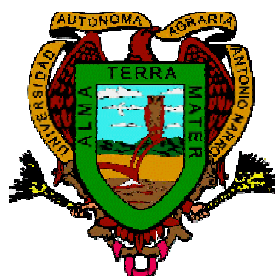


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



**Detección e Identificación de Hongos en Semillas de Tres Materiales Criollos de Maíz
en la Región de Venustiano Carranza, Chiapas.**

Por:

ABRAHAM MONTES DE OCA MALDONADO

TESIS

Presentada Como Requisito Parcial

para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRONOMO PARASITÓLOGO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Abril de 2003

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

**Detección e identificación de hongos en semillas de tres materiales criollos de maíz en
la región de Venustiano Carranza, Chiapas.**

Presentada Por:

ABRAHAM MONTES DE OCA MALDONADO

TESIS

**QUE SE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADO COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE INGENIERO
AGRÓNOMO PARASITÓLOGO.**

APROBADA POR:

**M.C. Abiel Sanchez Arizpe
PRESIDENTE DEL JURADO**

**M.C. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda
SINODAL**

**M.C. Ma. Magdalena Rodriguez Valdez
SINODAL**

**M.C. Leopoldo Arce Gonzalez
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO. ABRIL DEL 2003

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por darme la vida de seguir estudiando y lograr mi sueño dorado, el de ser un profesionalista. Gracias.

A LA UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Por aceptarme y permitirme ser un de sus tantos estudiantes y así poder realizar satisfactoriamente mis estudios, ya que sin sus bondades no podría culminar mi carrera. Siempre pondré en alto tu nombre (ALMA, TERRA, MATER).

Al Dr. ABIEL SANCHEZ ARIZPE Por su valioso tiempo dedicado a las asesorías, apoyo en los materiales utilizados, tanto en los de laboratorio como en la parte escrita. Así como la revisión de este trabajo. Gracias doctor.

A LA MC. ELIZABETH GALINDO CEPEDA Y A LA MC. MAGDALENA RODRIGUEZ V. por su valiosa colaboración y participación incondicional en la revisión de este trabajo.

AL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA Por permitirme realizar todas las actividades de mis estudios y la realización de este trabajo. Y todos los maestros que contribuyeron en mi formación.

A todos mis compañeros de la generación **XCIV**, y a los que no egresaron por razones ajenas, gracias por compartir grandes momentos juntos dentro y fuera de la universidad.

A todos mis amigos de Venustiano Carranza, en especial el equipo de fut-bol del barrio “El Herraaje”

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

JUANITA MALDONADO DE LA CRUZ

GILBERTO MONTES DE OCA OCAMPO

Gracias por el amor y esfuerzo hecho en mi persona, para ser un hombre de bien y a la vez un profesionalista, ya que sin la presencia de alguno no hubiera podido culminar esta meta. Este trabajo es para ustedes.

A MIS HERMANOS:

JUAN GILBERTO MONTES DE OCA MALDONADO

RIGOBERTO MONTES DE OCA MALDONADO

BEATRIZ ARIANA MONTES DE OCA MALDONADO

Gracias, porque a pesar de la distancia, siempre me estuvieron apoyando, a un en los momentos más difíciles.

A MIS ABUELITOS:

ROSARIO DE LA CRUZ

JUAN MALDONADO

LUCIANA OCAMPO

ABRAHAM MONTES DE OCA (+)

Gracias por sus consejos y enseñanzas que me han servido para salir adelante.

A MIS TIOS Y PRIMOS gracias por el apoyo brindado, así como sus consejos. No olvidando a mis tíos Alejandro y Lupita.

INDICE DE CONTENIDO

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIA	v
INTRODUCCIÓN	1
Objetivos.....	3
Hipótesis.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Importancia de los Hongos en Semillas de Maíz.....	4
Importancia de las Pruebas de Sanidad.....	5
Prueba de Sanidad para Hongos.....	8
Hongos Transmitidos por Semilla.....	9
Hongos de Campo.....	9
Hongos de almacén.....	9
Factores que Favorecen el Desarrollo de los Hongos en la Semilla.....	10
Humedad.....	10
Temperatura.....	11
Condiciones del Grano o Semilla.....	12
Producción de Aflatoxinas.....	12
Importancia de los Hongos de suelo.....	13
Descripción de <i>Penicillium</i>	14
MATERIALES Y MÉTODOS	16
Prueba con Papel Secante y Congelación.....	16
Prueba de Germinación de la Semilla en toallas de Papel Enrolladas.....	17
Prueba de vigor y Envejecimiento Acelerado.....	18
Análisis Estadístico.....	19
RESULTADOS	20
Análisis de Varianza.....	21

DISCUSIÓN.....	24
CONCLUSIONES.....	26
BIBLIOGRAFÍA.....	27
APÉNDICE.....	31

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
3.1	Hongos Detectados en los tres Materiales Criollos de Maíz.....	20
4.1	Incidencia de Hongos Portados en los tres Materiales Criollos de Maíz.....	21
4.2	Germinación de los tres Materiales Criollos de Maíz.....	22
4.3	Vigor en los Diferentes Materiales Criollos de Maíz.....	23
7.1	Análisis de Varianza par el Hongo <i>Hansfordia</i> en los tres Materiales Criollos de Maíz.....	31

INTRODUCCIÓN

El maíz es una planta originaria de América, es uno de los tres cereales más importantes a nivel mundial (además del arroz y trigo), y el número uno en México. Los volúmenes de producción del grano se ubican entre 550 y 600 millones de toneladas, correspondiendo a México aportar alrededor del 3% del total.

El maíz se cultiva en México en una superficie de 7 millones de hectáreas y bajo condiciones muy diversas, aunque la mayor parte se produce en las áreas de temporal. De esta superficie solo el 50% presenta condiciones ecológicas favorables, el resto se cultiva bajo condiciones marginales.

Históricamente el maíz es la base de la alimentación Mexicana, por la superficie que ocupa y el número de productores que lo siembran. Aproximadamente el 75% de la población nacional aprovecha este cereal, la mayor parte de las calorías contenidas en su alimentación. En lo referente al consumo per cápita el maíz ocupa el primer lugar, ya que la población lo consume cuatro veces mas que el frijol, diez veces mas respecto al trigo, y cincuenta veces mas que a la carne.

Las enfermedades de las plantas son uno de los factores naturales que afectan la productividad agrícola. Es común ver los cultivos destruidos por los patógenos que llegan a causar daños tan graves, que la cosecha se pierde totalmente.

El 90% de los cultivos destinados a la alimentación humana y animal requieren el uso de semillas; de ahí que éstas sean el principal insumo para la producción de alimentos de origen vegetal. Por otra parte se señala que alrededor de 12% del potencial de la producción agrícola se pierde debido a las enfermedades, que en términos de cantidad significan aproximadamente 550 millones de toneladas.

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

Las enfermedades que atacan al cultivo del maíz pueden causar severas mermas en la producción y dado que el cultivo es de muy baja rentabilidad lo más recomendable para una mejor producción sería adquirir la semilla de buena calidad para la siembra y así garantizar una mejor producción.

Objetivo

Detección e identificación de hongos en semillas de tres materiales criollos de maíz en la región de Venustiano Carranza, Chiapas.

Hipótesis

En la región de Venustiano Carranza, Chiapas existe una baja incidencia de hongos en los tres materiales criollos de maíz, debido a que no se ha presentado ni un caso importante de enfermedades.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia de los Hongos en Semillas de Maíz

Los hongos son los patógenos más importantes de las plantas, y también en cuanto a patógenos transportados en las semillas (Moreno 1996).

Al maíz lo afectan numerosas enfermedades, dentro de ellas las fungosas que provocan serios daños ya que anualmente en las zonas maiceras se presentan desde ligeros decrementos hasta pérdidas totales de la producción.

Entender el efecto del ambiente en el desarrollo de una enfermedad es bastante complejo puesto que es el resultado de la conjugación del ambiente favorable, hospedante susceptible y patógeno virulento siendo la temperatura el factor determinante de la incidencia estacional de las enfermedades (Navarrete, 1986).

Este cultivo se ve afectado por hongos acarreados en las semillas, y también por hongos del suelo. Alrededor de diez géneros de hongos se combaten con el tratamiento de semillas; uno de los más importantes es *Fusarium*, con especies como *Fusarium moniliforme* Sheld y *F. graminearum* Schwabe, frecuentemente involucradas en daños a semillas, plantulas, plantas adultas y mazorcas, a las que causan pudriciones (Moreno, 1996).

En cuanto a los “hongos de campo”, estos infectan los granos de la mazorca desde el cultivo y sobreviven en estado latente en el endospermo de la semilla, principalmente en el escutelo, reanudando de inmediato sus funciones vitales en presencia de factores adecuados de temperatura y humedad (Moreno, 1995). Ocasionalmente, además la pronta muerte del embrión, con lo cual la semilla pierde su viabilidad, siendo más susceptibles aquellas variedades de endospermo muy amiláceo (Castaño, 1978).

MacGee (1988) hace referencia de las principales enfermedades del maíz, mencionando las que son portadas y transmitidas por semillas, así como su agente causal y entre estas se encuentran las pudriciones del tallo, raíz y mazorca, ocasionadas por el género *Fusarium*.

Importancia de las Pruebas de Sanidad

La sanidad de la semilla se refiere principalmente a la presencia o ausencia de organismos causantes de enfermedades: hongos, bacterias, virus y plagas de animales e insectos, pero también pueden estar involucradas condiciones fisiológicas, tales como deficiencia de microelementos (Moreno, 1996).

La semilla de gran calidad no solo debe estar exenta de enfermedades transmitidas por la semilla si no que también debe tener una gran capacidad de germinación y vigor (Warham et al, 1996).

En muchas partes del mundo, las pruebas para enfermedades de semillas forman parte integral de las inspecciones de rutina para calidad de semillas, sin embargo en Norteamérica, las pruebas patológicas no son tan importantes como las pruebas de pureza y germinación (Copeland y McDonald, 1985).

Las semillas son portadoras de una microflora que varía según la especie hospedera. Esto se aplica especialmente a las microfloras arraigadas a más profundidad, aunque en la superficie también puede haber muchos huéspedes accidentales. La microflora transmitida por la semilla puede ser identificada empleando pruebas de sanidad de las semillas (Warham et al, 1996).

Moreno (1996) menciona que las pruebas de sanidad son importantes por tres razones:

1. El inóculo es portado por la semilla y puede dar lugar al desarrollo progresivo de enfermedades en el campo y reducir el valor comercial del cultivo.
2. Los lotes de semilla importados pueden introducir enfermedades en nuevas regiones. Por lo tanto, es necesario realizarlas para satisfacer los requerimientos cuarentenarios.
3. Pueden elucidar la evaluación de las plantulas y las causas de una germinación deficiente o del establecimiento en campo y por consiguiente suplementar las pruebas de germinación.

Peretti (1994), menciona que el conocer el estado sanitario de un lote de semillas permite evitar la transmisión de nuevas enfermedades o el incremento del área infectada ya existente implementando medidas preventivas.

Los procedimientos de las pruebas de sanidad de semillas deben ser efectuados por personal que haya tenido adiestramiento básico y algunos requieren equipo especial (Fenwick, 1988).

McGee (1983), menciona que las enfermedades de semillas pueden algunas veces ser detectadas por examen visual de semillas secas, aunque estos métodos de evaluación raramente, son lo suficientemente sensitivos para el valor práctico. Otros métodos envuelven una u otra prueba de semillas sembradas en medios de cultivos, incubando estas en papel secante o plantándolas en arena o en mezclas en suelo con arena.

Agarwal y Sinclair (1987), Mencionan que más de un método puede estar disponible para la detección de un patógeno de semillas en particular, la selección de un método depende del propósito de las pruebas que pueden ser certificación, tratamientos y cuarentenas. En general el método debe ser simple y rápido y los resultados deben ser reproducibles y confiables con respecto a la función en campo. Las características de infección de un patógeno deben ser reconocidas con facilidad y certeza.

Los mismos autores, señalan, que los métodos para la detección de microorganismos y virus van desde la simple observación visual hasta sofisticadas técnicas como la microscopía electrónica y serología.

El desarrollo de métodos y técnicas de detección, son medidas de suma importancia para poder determinar la presencia de microorganismos en semillas y determinar si éstas causan o no problemas en la dispersión; mediante esta información se tendrán elementos para informar al agricultor y campesinos sobre la calidad de la semilla (Zillinsky, 1984).

Pruebas de Sanidad para Hongos

Copeland y McDonald (1985), citan que diversos hongos patógenos de semillas pueden detectarse por medio de inspecciones visuales en las muestras de semillas.

Agarwal y Sinclair (1987), mencionan que muchos hongos pueden ser detectados haciendo observaciones directas en semillas secas usando microscopio estereoscópico o una lupa para detectar decoloraciones en semillas anormales, morfológicas o estructuras fructíferas asociadas con las semillas.

Neergaard (1979), menciona que la sanidad de las semillas no contempla solamente aquellos patógenos que son por regulaciones cuarentenarias y patógenos que son internacionalmente diseminados pero también los patógenos que no tienen potencialidad patogénica en el campo.

Usualmente solo unos pocos de los patógenos que afectan las semillas son importantes con respecto a un cultivo que en un área en particular. Están cubiertos por programas de certificación de sanidad de semillas sin embargo, estas evaluaciones de certificación no cubren todos los rangos de sanidad de las semillas.

Hongos Transmitidos por Semillas

Christensen (1972), señala que los hongos de las semillas pueden ser divididos convenientemente en dos grupos que son: **hongos de campo y hongos de almacén.**

Hongos de campo

Moreno y Zamora (1978), señalan que la dispersión de un número grande de hongos depende de la transmisión de esporas a través del aire en largas o cortas distancias y su depósito en huéspedes adecuados. Los hongos patógenos de las semillas, no están sujetos a estas restricciones.

Agarwal y Sinclair (1987), mencionan que un gran porcentaje de los patógenos de plantas son parásitos facultativos, saprófitos facultativos capaces de usar nutrientes de tejidos de plantas podridas o infectando tejido vivo, otros hongos son parásitos obligados que crecen y se reproducen en asociación íntima con un limitado rango de plantas vivas.

Hongos de almacén

Moreno y Zamora (1978), señalan que el desarrollo de los hongos en el grano antes o durante el almacenamiento lleva una reducción en el valor de la cosecha por pérdida de peso y deterioro en la calidad del grano. Más importante es el hecho de que esta contaminación resulte ser un riesgo para la salud humana y animal como: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* y *Alternaria*.

Moreno (1988), cita la relación de los hongos que invaden a los granos almacenados, en la década de los 50,s. el Dr. Clyde Christensen de la Universidad de Minesota, acuñó a los términos de “Hongos de almacén” u hongos de granos almacenados para referirse a los hongos que invaden los productos agrícolas de almacén. Estos hongos son principalmente especies de *Aspergillus* y *Penicillium*.

Por otra parte, Sinclair y Shurtlerff (1975), dicen que la alta humedad relativa y la temperatura son indicios para que la semilla almacenada sea atacada por hongos de almacén, los cuales pueden llevar la producción de plántulas con impedimentos de desarrollo, cotiledones podridos y plúmulas con crecimiento reducido.

Factores que Favorecen el Desarrollo de los Hongos en la Semilla

Moreno (1995), menciona que es pertinente aclarar, que ciertos hongos de los que normalmente se consideran como hongos de almacén son capaces de crecer en los granos en el campo, como los son: *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, así como algunas especies de *Penicillium*.

A) **Humedad.** El factor más importante en la conservación de los granos es la humedad, tanto el ambiente como la humedad relativa, como el agua contenida en los granos, ya que la disponibilidad es determinante en el desarrollo de los insectos y de los hongos de almacén, en cambio los hongos requieren de humedades muy altas para su desarrollo. Los hongos de almacén que más daño causan a los granos y semillas requieren

de humedades relativas superiores al 75%. Es sumamente importante que se entienda que la humedad contenida en los granos y semillas se distribuye en forma no uniforme, no solamente dentro de la masa del grano, sino de grano en grano.

Por lo que las cifras que se obtienen así determinan humedad se cual sea el método empleado para su determinación, siempre serán un promedio, debiéndose considerar las implicaciones que esto tiene para el adecuado manejo de los granos y semillas.

Por estas razones es obvia la necesidad de determinar con precisión la humedad de los granos en los sitios y bodegas, tanto en su entrada como en su almacenamiento. Para lograr esto es necesario tener muestras que representan el grano o las semillas de los volúmenes por describir o almacenar.

Los equipos para determinar humedad, actualmente son muy precisos y los problemas que presentan son originados por el mal cuidado de ellos y por la inexperiencia de los que operan. El departamento de agricultura de los Estados Unidos tiene como equipo oficial el Motomco, para las determinaciones de humedad en el comercio de los granos y el método de secado en la estufa como método de referencia para maíz.

B) Temperatura. La temperatura es el segundo factor en importancia para el crecimiento de estos hongos, lo que puede crecer desde temperaturas que llevan el calentamiento de los granos en ocasiones hasta su combustión.

A temperaturas bajas el crecimiento es lento, incrementándose a medida que la temperatura es mayor, la temperatura del grano se mide por medio de termopares y a falta de estos con sondas provistas con termómetros.

C) **Condición del Grano o Semilla.** La cosecha mecánica de los granos y semillas, así como el posterior manejo, son fuente de daño físico que facilita la entrada de los hongos e insectos, y la basura que acompaña el grano, impiden el paso del aire y favorecen el desarrollo de los insectos y hongos por tener siempre humedades más altas que el grano. El grano con daño físico está más expuesto a ser invadido por los hongos, debido a que gana humedad rápidamente, y no ofrece ninguna resistencia a la penetración de las hifas del hongo. Las semillas no deben ser analizadas no solo por su poder germinativo, si no también a su vigor, parámetro que puede dar una idea muy clara de su capacidad de almacenamiento.

D) **Producción de Aflatoxinas.** Por ser un problema grave de sanidad pública y animal se tratarán aún cuando sea en forma breve, las condiciones que favorecen la producción de estos metabolitos. La producción de aflatoxinas depende de varios factores, entre los principales se encuentran las cepas toxígenas del sustrato y su condición, la microflora asociada, las condiciones de humedad y temperatura, y las atmósferas del almacenamiento.

Moreno (1995), cita que las dos especies que actualmente se reconocen como únicas productoras de aflatoxinas son las antes mencionadas: *Aspergillus flavus* y *Alternaria* sp., sin embargo frecuentemente se les ha atribuido a otros la capacidad de producción de aflatoxinas sobre todo en el laboratorio, sin que este corroborado en la práctica del manejo comercial de los granos. Una de los más recientes casos es el de *Aspergillus ruber*. En el laboratorio muchos hongos pueden producir diferentes sustancias que no son capaces de producir bajo condiciones naturales y se deben considerar como toxinas de laboratorio.

Importancia de los Hongos del Suelo

El suelo es depósito de toda vida y el laboratorio dentro del cual tienen lugar la mayor parte de los cambios que permiten la continuación de la vida. Al suelo son reintegrados los restos de plantas y animales muertos y ahí se transforman sus estructuras con que fueron conocidos cuando vivos, a materiales nuevamente utilizables por las plantas y animales como fuentes de vida ulterior. En la realización de estos cambios, los hongos juegan un papel significativo, con frecuencia empezando el proceso sobre plantas y animales vivos y continuándolo hasta después de su muerte. En tales casos, los hongos llegan a ser considerados organismos causales de enfermedades en plantas y animales, pasando a ser incumbencia de fitopatólogos o médicos. El hombre también se encarga de promover ciertas actividades fungosas bajo condiciones controladas, a fin de aprovechar los productos que se obtienen del crecimiento de los mohos; los hongos implicados conciernen entonces al microbiólogo y al bioquímico. Además las esporas de estos hongos son a menudo transportadas por el viento, y si la cantidad es suficiente, pueden crear condiciones en personas susceptibles que las respira, semejantes a los síntomas causados por el polen; su reconocimiento en este caso, interesa al médico.

Como consecuencia de la condición anemófora de sus esporas, los hongos alcanzan muchas superficies húmedas causando pudriciones. Los alimentos almacenados, tanto para hombres como animales, las tablas de fibra comprimida, los productos derivados del corcho, el triplay, las telas y artículos de cuero, a aun las pinturas caseinadas, son susceptibles al mildiú bajo ciertas condiciones de humedad y temperatura (Gilman, 1963).

Descripción de *Penicillium*

El género *Penicillium* tiene conidioforos largos, septados, lisos o rugosos, individuales o en sinemas, ramificados cerca del ápice en uno, dos o más verticilos, que le dan aspecto de una escoba; ramas terminadas en áldes o células fértiles productoras de conidios, conidios producidos basipetalamente y unidos en cadena, pero fácilmente separables al madurar, globosos a elípticos y lisos o equinulados. Las especies que se producen sexualmente, por ejemplo: *P. vermiculatum*, *P. stipitatum*, *P. javanicum* y *P. brefeldianum*, originan cleistotecios del tipo *Talaromyces* (los dos primeros) o *Carpenteles* (los dos últimos). El género cuenta con más de 98 especies, muchas de ellas habitantes del suelo y otras fitopatógenas benignas de plantas hortícolas, frutos y granos almacenados (Romero, 1993).

Raper, Thom y fennel (1968), citado por Romero (1993), dividen al género *Penicillium* en tres secciones: Monoverticillata, Biverticillata y Polyverticullata, según el número de verticilos ramales.

Las especies de *Penicillium* que se consideran de almacén, requieren que los productos que invaden tengan contenidos de humedad en equilibrio con humedades relativas de 85 – 90% (actividad el agua 0.85 – 0.90), alrededor de 18 – 2.0% en cereales. Estos hongos pueden crecer a temperaturas muy bajas; inclusive bajo cero, (-2°C). A ciertas especies se les considera hongos toxígenos, capaces de producir diversas micotoxinas entre ellas, patulina (*P. expansum*); ocratoxina (*P. cyclopium* y *P. viridicatum*); citrinina (*P. cyclopium*); islanditoxina (*P. islandicum*) y las rubratoxinas (*P. purpurogenum*). En Japón

se ha sugerido que el consumo del arroz, en el que ha crecido *Penicillium*, es causa de intoxicaciones en el hombre. En Estados Unidos la presencia de *Penicillium* se ha relacionado con intoxicaciones en animales, pero no se ha confirmado con el aislamiento de las toxinas. Las especies de este género reducen el poder germinativo de las semillas almacenadas. Las colonias son de color verde o azul, con lentes de bajo aumento los conidioforos tienen apariencia de cepillos, los conidios se forman en cadenas (Moreno, 1988).

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Fitopatología del departamento de Parasitología, así como en el laboratorio de Semillas del departamento de Fitomejoramiento, de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”.

Prueba con Papel Secante y Congelación

Se seleccionaron 400 semillas de maíz de cada material criollo. Estos son: Napalú, Olotillo y Rocamex.

Siembra

La siembra se llevó a cabo utilizando cajas de plástico transparente y papel secante. Donde de cada grupo de 400 semillas se distribuyeron en ocho repeticiones con 50 semillas por repetición. La siembra se realizó en cajas de plástico transparente. A cada caja se colocaron 2 capas de papel secante húmedo siguiendo con la colocación de las 50 semillas, posteriormente las cajas se sellaron con parafilm y se le anotó los datos para su respectiva identificación. Las cajas se llevaron a incubación a una temperatura ambiente de 25 °C durante 2 días, para después meterlas en el congelador a una temperatura de -20°C durante 1 día. Después de este tiempo se sacan las cajas y se vuelven a dejar a temperatura ambiente (25°C) durante 11 días.

Evaluación e Identificación

Se observó las colonias fungosas a simple vista ya que estas se desarrollaron muy rápidamente sin esperar hasta los 11 días. Por lo tanto se logró la identificación mediante las claves taxonómicas correspondientes. Se determinó la incidencia de los hongos detectados en los diferentes materiales estudiados, haciéndose en base a la observación de 400 semillas de cada material criollo de maíz.

Prueba de Germinación de la Semilla en Toallas de Papel Enrolladas

Se seleccionaron 200 semillas de maíz de cada material criollo. Estos son: Napalú, Olotillo y Rocamex.

Siembra

Para la realización de la siembra se homogenizó la muestra. Donde cada material fue dividido en cuatro repeticiones de 50 semillas cada una. Estas semillas se separaron a espacios uniformes sobre una toalla de papel húmedo, posteriormente se colocó otra toalla para cubrir las semillas. Las toallas con las semillas se doblaron en forma de rollo, anotando los datos correspondientes de cada material para su identificación y se colocaron en posición vertical dentro de una bolsa de plástico abierta en la parte superior, estas se introdujeron en la cámara germinadora a 25°C de temperatura durante 7 días.

Evaluación

Se determinó las cantidades de plántulas normales, plántulas anormales y semillas no germinadas en cada repetición de 50 semillas (Prueba estándar ISTA, 1985).

Prueba de Vigor con Envejecimiento Acelerado

Se tomaron 600 semillas de maíz de los materiales criollos Napalú, Olotillo, y Rocamex.

Siembra

Para realizar la siembra las semillas fueron divididas en dos repeticiones de 100 semillas por material. Las semillas se colocaron sobre una rejilla de metal galvanizado sostenida por un soporte de metal galvanizado, todo esto dentro de un vaso de precipitado de 250 ml conteniendo 100 ml de agua. Estos recipientes se taparon con un plástico sujetado con ligas y después se colocaron dentro de la cámara de envejecimiento a una temperatura de 42.3 °C durante 96 horas. Al terminar este tiempo de incubación se sacaron los recipientes con las semillas y se realizó la prueba de germinación, las muestras fueron divididas en cuatro repeticiones de 50 semillas de cada material, estas semillas se separaron a espacios uniformes sobre una toalla de papel húmedo, después se colocó otra toalla para cubrir las semillas, las toallas con las semillas se doblaron en forma de rollo, anotando los datos correspondientes de cada material para su identificación y se colocaron en una bolsa de plástico abierta en la parte superior, estas se introdujeron en una cámara germinadora a 25 °C de temperatura en posición vertical durante 7 días.

Evaluación

Después del tiempo señalada se determinó la cantidad de plántulas normales, plantulas anormales y semillas no germinadas (muertas) en cada repetición de 50 semillas (Prueba Estándar ISTA, 1987).

Análisis Estadístico

Con los datos obtenidos de la prueba de papel secante y congelación, se hizo un análisis de varianza para un diseño completamente al azar. Para los materiales criollos de maíz que tuvieron diferencias significativas en la incidencia de los hongos se hizo una comparación de medias con la prueba de Diferencia mínima Significativa (DMS).

RESULTADOS

Al analizar las muestras de los materiales de maíz se encontró que aparecieron 3 géneros de hongos en las semillas. Los hongos detectados en las diferentes muestras se encontraron en todas las cajas (repeticiones), excepto *Chloridium* sp., que en algunas cajas no aparecieron.

Para la identificación des estos hongos se utilizaron las claves de Barnet and Hunter (1972).

Cabe señalar que el material Napalú demostró ser más susceptible a la presencia de estos saprófitos, ya que presentó mayor crecimiento de hongos en poco tiempo, en comparación a los otros materiales.

Cuadro 3.1 Hongos detectados en los tres materiales criollos de maíz de la región de Venustiano Carranza, Chiapas. Departamento de Parasitología. UAAAN 2003.

Materiales Criollos Utilizados	Hongos Detectados		
Napalú	<i>Hansfordia</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Chloridium</i> sp.
Olotillo	<i>Hansfordia</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Chloridium</i> sp.
Rocamex	<i>Hansfordia</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Chloridium</i> sp.

La microflora de las semillas se determinó empleando la prueba con papel secante y congelación; donde se obtuvo los siguientes resultados:

Evaluando a cada uno de los materiales se encontró que los hongos tienen una incidencia muy alta, excepto *Chloridium* sp. Donde *Hansfordia* sp. presentó una incidencia mayor del 95%, mientras que *Penicillium* sp. obtuvo una incidencia mayor del 80%, y por último *Chloridium* con una incidencia menor del 38%.

Estos números se obtuvieron mediante la realización de una media de todas las repeticiones que se le realizaron a cada material.

Cuadro 4.1 Incidencia de Hongos portados en los tres materiales criollos de maíz en la región de Venustiano Carranza, Chiapas. Departamento de Parasitología. UAAAN 20003.

Materiales Criollos Utilizados	Incidencia de Hongos (%)		
	<i>Hansfordia</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Chloridium</i> sp.
Napalú	99.5	82.25	37.25
Olotillo	97.75	88	13.75
Rocamex	95.5	91	21.5

Análisis de Varianza

El análisis de varianza realizado para la incidencia de hongos en las semillas nos mostró que, en el hongo *Hansfordia* sp. tuvo diferencia significativa en los diferentes

tratamientos (materiales criollos), ver apéndice (cuadro 7.1). Mientras que *Penicillium* sp. y *Chloridium* sp. no presentaron diferencias significativas en los tratamientos evaluados, por lo que no se les realizó el análisis de varianza.

De acuerdo a la comparación de medias los materiales criollos Napalú y Olotillo presentan mayor incidencia del hongo *Hansfordia* sp. ver apéndice (cuadro 7.1).

Como se puede ver en el cuadro 4.2, las semillas en cuanto a germinación esta muy bien, esto quiere decir que no afectaron los hongos la germinación, debido a que son saprófitos, menos *Penicillium* sp. Al momento del conteo se observó que algunas plántulas presentaban micelio de hongos.

El porcentaje de germinación se obtuvo mediante el promedio de los números de plantulas normales en las cuatro repeticiones. Se redondeó el porcentaje medio al número entero más cercano.

Cuadro 4.2 Germinación de los tres materiales criollos de maíz en la región de Venustiano Carranza, Chiapas. Departamento de Parasitología. UAAAN 2003.

Material Criollo Utilizado	% de Germinación
Napalú	100
Olotillo	100
Rocamex	99

Como se puede ver en el cuadro 4.3, los resultados de vigor de las semillas son alentadores ya que los tres materiales se comportaron semejantes,. Siendo Rocamex el de mayor porcentaje con 95%, siguiendo Napalú con 92%, y por ultimo Olotillo con el 81%.

El porcentaje de semillas vigorosas (normales) es el promedio de las cantidades de plántulas normales en las 2 repeticiones. Se redondea el porcentaje medio al número entero más cercano.

Cuadro 4.3 Vigor en los diferentes materiales criollos de maíz de la región de Venustiano Carranza, Chiapas. Departamento de Parasitología. UAAAN 2003.

Materiales Criollos Utilizados	Vigor (%)		
	Normales	Anormales	Muertas
Napalú	92	6	1
Olotillo	81	15.5	4
Rocamex	95	2	3.5

DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos nos indican que los hongos detectados no afectan a las semillas en la germinación y el vigor.

La presencia de estos microorganismos en las semillas es debido quizá, a que el papel secante les proporcionó la humedad requerida, ya que estos hongos se desarrollan muy bien en lugares húmedos.

El hongo que primero se estableció fue *Hansfordia* sp., presentando un comportamiento agresivo, expandiéndose rápido sobre las semillas, porque fue el que más presentaba crecimiento micelial abundante sobre las semillas.

La no presencia de hongos patógenos a la semilla de maíz, puede deberse a que estos hongos están mejor adaptados a las condiciones que prevalecen en la región.

De acuerdo con el análisis de varianza, el nivel de incidencia del hongo *Hansfordia* sp. depende de los materiales criollos de maíz, y coincide con lo observado en el trabajo, ya que el material Napalú presento un rápido crecimiento de este hongo, a comparación de los otros materiales.

La germinación obtenida es la que se requiere para tener una semilla de calidad como lo indica Warham et al en 1996, mencionando que una buena germinación puede ser un indicador claro de que el comportamiento del lote de semilla es eficiente.

El vigor de las semillas analizadas son buenos, indicando el tener plantas sanas en el campo: esto coincide con lo dicho Warham et al en 1996, los lotes de semilla de gran vigor soportarán mejor las condiciones adversas que los lotes con un nivel de vigor bajo.

CONCLUSIONES

La semilla de maíz de la región de Venustiano Carranza, Chiapas, utilizada en el presente trabajo trae presencia de dos géneros de hongos saprófitos y uno considerado de almacén, que son: *Hansfordia*, *Chloridium* y *Penicillium*.

Hansfordia sp. y *Penicillium* sp. tuvieron una incidencia muy alta en los tres materiales evaluados. Mientras que la presencia de *Chloridium* sp. no fue muy significativa.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la presencia de estos contaminantes no tiene efecto en la calidad de la semilla.

BIBLIOGRAFIA

Agarwal, V. K. and J. B. Sinclair. 1987. Principales of Seed Pathology. Vol. I. C.R.C., inc. U.S.A. 176 p.

Barnet, H. L. And B. B. Hunter. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. Macmillian Publishing Company. U.S.A. 218 p.

Castaño, J. J. 1978. Enfermedades del Maíz en Colombia. Noticias Fitopatológicas. Vol. 4. Núm. 2 ICA. Colombia.

Castro, V. A. 1997. Identificación de Especies de Fusarium en Semillas de Maíz de la Tesis. UAAAN. México. 42 p.

Christensen, C.M. 1972. Microflora and seed deterioration. In: Viability of Seed. E. H. Roberts. Syracuse University Press. Great Briain. 59-93 p.

Copeland, L. O. and M. B. McDonald. 1985. Principles of Seed Science and Technology. Second Edition. McMillan Publishing Company. U.S.A. 221 p.

Díaz, V. D. 2000. Detección e Identificación de Hongos Presentes en Semillas de Maíz de la Región Lagunera. Tesis. UAAAN. México. 61 p.

Fenwick K., A. 1988. Seed Producción of Agricultural Crops. First Edition. Longman Scientific and Technical. Great Britain. 227 p.

Gilman, J. 1963. Manual de Hongos del Suelo. Primera Edición. Compañía Editorial Continental. México. 572 p.

International Seed Testing Association 1985. International Rules for Seed Testing 1985. Seed Science and Technology 13 (2); 299-520.

International Seed Testing Association. 1987. Handbook of vigor Testing Methods. ISTA, Switzerland.

Luna, F. M. y M. C. Carrillo. 1993. Prueba de Variedades de Maíz y Dosis de Nitrógeno Bajo Riego en Zacatecas. Vol. 1. Investigación Científica. UAZ. México. 60 p.

McGee, C. D. 1983. Seed Health: An Important quality in., Proceedings Short Course for Seedmen. Mississippi State. U.S.A. Vol. 21. 7-15 p.

McGee, C. D. 1988. Maize Diseases. A Reference Source for Seeds Technologists. APS PRESS the American Phytopathological Society. St. Paul Minnesota. P 13-16. U.S.A.

Moreno, M. E. 1988. Manual para Identificación de Hongos en Granos y Sus Derivados. Primera Edición. UNAM. México. 109 p.

Moreno, M. E. 1995. Los Hongos de Almacén y las Micotoxinas. I Curso-Taller Internacional sobre Métodos para la Detección de Patógenos en Semillas. Memorias. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Moreno, M. E. 1996. Análisis Físico y Biológico de Semillas Agrícolas. Tercera Edición. UNAM. México. 393 p.

Moreno M. E. y Zamora. 1978. Guía para evitar problemas causados por hongos y en semillas y granos almacenados. Merck Sharp and Dohme. México. 1-23 p.

Navarrete, M. R. 1986. Factores Ambientales y Biológicos que influyen en el desarrollo de la enfermedad “Germinación Prematura” del Maíz causada por *Fusarium moniliforme* sh. Tesis de Maestría en Fitopatología. Colegio de Posgraduados. Montecillo. México.

Neergaard, P. 1979. Seed Pathology vol. 1 Ed. McMillan Press Ltd. London.

Peretti, A. 1994. Manual para el Análisis de Semillas. Primera Edición. Editorial Hemisferio Sur. Argentina. 281 p.

Romero, C. S. 1993. Hongos Fitopatógenos. Primera Edición. Universidad Autónoma Chapingo. México. 347 p.

Sinclair, J. B. and M. C. Shurtleff. 1975. Compendium of soybean diseases. University of Illinois. 69 p.

Sosa-Moss, C. 1996. Técnicas para el Diagnóstico de las Enfermedades de las Plantas. Primera Edición. IICA. México. 223 p.

Taller Nacional de Especialidades de Maíz (2°).1999. Memoria. UAAAN. México. 186 p.

Warham, et al.1996. Ensayos para la Semilla de Maíz y de Trigo. CIMMYT. México. 84 p.

Zillinski, F. J. 1984. Guía para la Identificación de Enfermedades de Cereales de Granos Pequeños. CIMMYT. 91-92 p.

APENDICE

Análisis de Estadístico

Cuadro 7.1 Análisis de varianza para el hongo *Hansfordia* en los tres materiales criollos de maíz.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	2	64.328125	32.164063	12.1702* *	0.001
Error	21	55.500000	2.642857		
Total	23	119.828125			

C.V. = 1.67 %

** = Altamente significativo

Resultados de la Comparación de Medias

	Tratamiento	Media
1	99.5000 A	
2	97.7500 AB	
3	95.5000 B	

Nivel de Significancia = 0.01

Valor de la DMS = 2.3012

Donde:

T1 = Napalú.

T2 = Olotillo.

T3 = Rocamex