

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Hongos Portados en Semilla de Maíz (*Zea mays*) de Tepalcingo, Morelos

Por:

JOSÉ LUIS ARISPE VÁZQUEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Noviembre de 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Hongos Portados en Semilla de Maíz (*Zea mays*) de Tepalcingo, Morelos

Por:

JOSÉ LUIS ARISPE VÁZQUEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

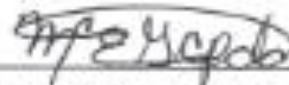
Aprobada por el Comité de Asesoría:



M.C. Abiel Sánchez Arizpe
Asesor Principal



M.C. Epifanio Castro del Ángel
Coasesor



Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda
Coasesor



Dr. Gabriel Sallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía



Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Noviembre de 2016

AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme permitido vivir hasta este día, haberme guiado a lo largo de mi vida, por ser mi apoyo, mi luz y mi camino. Por haberme dado la fortaleza para seguir adelante en aquellos momentos de debilidad.

A mi universidad por haberme aceptado para formar parte de ella y brindado todas las herramientas necesarias para poder seguir adelante.

Al Mc. Abiel Sánchez Arizpe por todo el apoyo brindado a lo largo de la carrera, por su tiempo, amistad y por los conocimientos que me transmitió.

A la Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda por sus consejos y orientación en todo momento.

A la Dra. Yisa Maria Ochoa Fuentes por su apoyo incondicional en todo el transcurso de la carrera.

Al Mc. Epifanio Castro del Ángel por su tiempo, consejos, apoyo y sobre todo por su amistad brindada durante todo este tiempo.

A la Dra. Erika Ríos Herrera por su apoyo en el laboratorio para la realización del experimento.

A Mc. María del Socorro Bahena García por su ayuda en el laboratorio de semillas, por cada detalle y momento dedicado para aclarar cualquier tipo de duda que me surgiera

Al Dr. F. Martin Tucuch Cauich por haberme permitido realizar mis prácticas profesionales dentro de la empresa Green Corp.

A todos ellos,
muchas gracias de corazón.

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado, y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida. Sobre todo por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

ANTONIO, VICTORIA

A MI HIJO

Por tu amor, tus sonrisas, por ser mi impulso a seguir adelante, nunca darme por vencido y ser una mejor persona día a día.

OMAR ALEJANDRO

A MIS TÍOS

Por haberme apoyado durante todo este tiempo, brindándome sus consejos y sobre todo por su amistad.

JACOBO, DANIEL, ADRIÁN, PEDRO, CARLOS

A MIS HERMANOS

Por su apoyo y cariño incondicional tanto en los momentos más difíciles como alegres.

ALBERTO, CLAUDIA AZALIA

A MIS AMIGOS

Por su amistad durante todo este tiempo.

Margarito, Gustavo, Alfredo, Pedro, Leonel, Luis, Perla, Leydi, Mary, Abigail, Estefany, Yola, a ellos y muchos más.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIA.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE CUADROS	ix
RESUMEN	x
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	2
HIPÓTESIS	2
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Importancia Económica de las Enfermedades en Maíz	3
Producción Mundial.....	3
Producción Nacional	3
Aportación del Estado de Morelos en la Producción Nacional de Maíz	4
Definición de Calidad de la Semilla	4
Enfermedades en Maíz Transmitidas por Semilla	5
Hongos Importantes en Granos y Semillas de Maíz	5
Importancia del Género <i>Fusarium</i>	6
Clasificación Taxonómica de <i>Fusarium verticillioides</i>	6
Características de <i>Fusarium verticillioides</i>	6
Importancia Económica de <i>Fusarium verticillioides</i>	7
Micotoxinas Producidas por <i>Fusarium verticillioides</i>	7
Ciclo de Vida	8
Diseminación.....	9

Distribución Geográfica	10
Características del Género <i>Aspergillus</i>	10
Clasificación Taxonómica del Género <i>Aspergillus</i>	11
Importancia del Género <i>Aspergillus</i>	11
Características del Género <i>Penicillium</i>	11
Clasificación Taxonómica del Género <i>Penicillium</i>	12
MATERIALES Y MÉTODOS	13
Ubicación del Experimento.....	13
Material Genético	13
Pruebas de Sanidad de la Semilla	13
Prueba papel secante y congelamiento	13
Preparación de medio de cultivo	16
Aislamiento de los patógenos	17
Preparación de laminillas	17
Evaluación final	18
Análisis estadístico.....	18
Prueba de Germinación.....	18
Pasteurización del suelo	18
Germinación.....	19
Evaluación.....	19
Análisis estadístico.....	20
Prueba de Vigor	20
Prueba de vigor con estrés complejo	20
Evaluación.....	21
Análisis estadístico.....	22

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
CONCLUSIÓN	28
BIBLIOGRAFÍA	29
APÉNDICE	36

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Distribución de <i>Fusarium verticillioides</i>	10
Figura 2. Departamento de Parasitología.....	13
Figura 3. Establecimiento del ensayo.....	14
Figura 4. Desinfección de la semilla	14
Figura 5. Siembra de las semillas	15
Figura 6. Charolas en el congelador	15
Figura 7. Charolas en la cámara bioclimática.....	16
Figura 8. Preparación de medios	16
Figura 9. Aislamiento de los patógenos.....	17
Figura 10. Identificación de hongos fitopatógenos	17
Figura 11. Pasteurización de suelo	18
Figura 12. Prueba de germinación de la semilla	19
Figura 13. Plántulas normal y anormales	19
Figura 14. Aplicación de Tiabendazol	20
Figura 15. Tratamientos en forma de tacos.....	21
Figura 16. Tratamientos en la cámara de germinación	21
Figura 17. Macro y microconidias de <i>Fusarium verticillioides</i> aislado de maíz.....	23
Figura 18. Microconidias en cadena de <i>Fusarium verticillioides</i>	24
Figura 19. Conidióforo del hongo <i>Penicillium</i> en semilla de maíz	24
Figura 20. Conidios de <i>Alternaria</i> sp	25

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Incidencia de los hongos sobre la semilla por tratamiento de acuerdo al color de la colonia	25
Cuadro 2. Incidencia de los hongos sobre la semilla de acuerdo al color	36
Cuadro 3. Análisis de varianza de la incidencia de hongos en las semillas	37
Cuadro 4. Comparación de medias.....	37
Cuadro 5. Análisis de varianza de la germinación.....	37
Cuadro 6. Comparación de medias.....	37
Cuadro 7. Análisis de varianza del vigor	38
Cuadro 8. Comparación de medias.....	38

RESUMEN

En México el maíz es el principal cultivo para la sociedad, enfrentando éste un gran problema con los hongos fitopatógenos que originan pérdidas que ascienden a millones de pesos al año. El daño que ocasionan no sólo se refiere a las pérdidas de producción económica, también a las pérdidas en la producción biológica, es decir a la alteración que existe en el crecimiento y desarrollo de las plantas hospedantes atacadas por estos microorganismos. El género *Fusarium* se destaca como el agente causal de las enfermedades de mayor importancia que producen pudrición de la mazorca y la germinación prematura del maíz.

El objetivo de esta investigación fue la identificación de los hongos presentes en cuatro materiales de maíz del estado de Morelos, así como para conocer su calidad fisiológica. Se trabajó con los siguientes materiales: H-515, H-16, Zapata 2 Amarillo, y un Criollo regional. La prueba de sanidad que se utilizó en primer lugar para la detección de hongos fue la de papel secante y congelamiento, en la cual se utilizaron 800 semillas, donde se establecieron 4 tratamientos con 5 repeticiones, en las cuales cada una con 40 semillas, posteriormente se hicieron aislamientos y en segundo lugar para determinar la calidad de la semilla se empleó la prueba de germinación en charolas y de vigor mediante estrés complejo, los resultados se analizaron mediante el programa estadístico de Nuevo León mediante la prueba de Tukey, los géneros de hongos identificados fueron: *Fusarium*, *Penicillium* y *Alternaria*, con un incidencia que va del 87 al 100 %, y en la calidad abarco del 79 hasta al 96.75% de germinación.

Palabras Clave: Maíz, Hongos, Semilla, Enfermedad.

INTRODUCCIÓN

México es considerado como el centro de origen del maíz, siendo uno de los principales cultivos utilizado para la alimentación. El maíz juega un papel central en la agricultura de todas las culturas indígenas de México, debido a su amplia adaptación a distintos ambientes; a su tolerancia y resistencia a enfermedades, plagas y cambios en las condiciones climáticas y edáficas; a sus múltiples usos como alimento o forraje y gran variedad de productos que se obtienen de esta especie (Cleveland y Murray 1997, Bellon y Brush 1994, Louette *et al.* 1997, Paliwal 2001, Herrera-Cabrera *et al.* 2004, Kato *et al.*, 2009).

La calidad de la semilla es muy importante para lograr altos niveles de productividad, por lo que los cultivos deben manejarse apropiadamente durante todas las etapas de producción, principalmente en las que los factores ambientales, enfermedades, insectos, métodos de cosecha y condiciones de almacenamiento afecten severamente esta. Las semillas constituyen un mecanismo muy importante de dispersión de patógenos a través del tiempo y en el espacio, todas las semillas pueden albergar una amplia variedad de organismos, pudiendo encontrarse en el interior o en la superficie como contaminantes y de esta manera sirve como vehículo de transporte hacia diferentes zonas geográficas (Bernal *et al.*, 2000).

Como se sabe las enfermedades de las semillas son uno de los factores que provocan el deterioro de la misma; además de las condiciones climáticas anteriores a la cosecha, la madurez de la semilla, el daño mecánico, el ambiente de almacenamiento (temperatura y humedad) y de más factores (Moreno, 1993). El impacto directo de hongos en la semilla es considerable. Muchos hongos son parásitos serios de la semilla, reducen cualitativa y cuantitativa producciones de semilla. Otros hongos, incluyendo saprófitos, y parásitos débiles, pueden bajar la calidad de la semilla causando la descoloración que puede desprestigiar seriamente el valor comercial de las semillas (Neergaard, 1977).

OBJETIVOS

- Identificar los diferentes géneros de hongos presentes en los distintos tipos de materiales de maíz.
- Determinar la incidencia de los hongos presentes en los diferentes tipos de materiales de maíz.
- Determinar la calidad fisiológica de los materiales de maíz del estado de Morelos.

HIPÓTESIS

- Se espera encontrar al menos tres hongos de importancia en la calidad de la semilla

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia Económica de las Enfermedades en Maíz

Las pérdidas en el rendimiento de maíz debido a las enfermedades en los Estados Unidos y Ontario, Canadá del año 2012 al 2015 de acuerdo a (Munkvold y Negro 2016), variaron del 2 al 15%, en este caso la pudrición del tallo (*Fusarium verticillioides*) es la quinta o sexta causa más importante de pérdida de rendimiento relacionados con las enfermedades, mientras que la pudrición de la mazorca (*Fusarium* spp y *Aspergillus* spp) se clasificó como la principal que causó la pérdida de rendimiento en el año 2012. Las especies de hongos del género *Fusarium* son frecuentemente involucrados en la descomposición de semillas, raíces, pudriciones de tallos y la muerte de plántulas (damping-off); principalmente cuando la siembra se realiza en condiciones de alta humedad y bajas temperaturas (Matos *et al.*, 2013). En general, el total estimado de pérdidas económicas debidas a las enfermedades durante los cuatro años fueron de 27.4 millones de dólares (APS, 2016).

Producción Mundial

En el mundo se producen alrededor de 1, 038, 281, 035 de toneladas, en la temporada 2013-2014, superando al trigo y al arroz. Estados Unidos el principal productor de maíz en el mundo con una producción de 357, 395, 290.50 ton seguido de China Continental con 217, 067, 650 ton y en tercer lugar se encuentra Brasil con 80, 075, 4434 ton (FAOSTAT, 2014).

Producción Nacional

En México el maíz es el principal alimento para la población, contando con un área de siembra de 7, 426 ,412.19 de has y una producción de 23, 273 ,256.54 ton.

Sinaloa es el principal productor de maíz abarcando alrededor del 16.6% en la producción nacional (SIAP, 2014).

Aportación del Estado de Morelos en la Producción Nacional de Maíz

El área de siembra del estado de Morelos es de 26, 215.47 has de acuerdo al reporte de SIAP (2014), el principal productor de maíz en Morelos es el municipio de Yecapixtla aportando 7, 249 ton al año de las 84, 151.86 ton generadas en este estado, este municipio representa el 8.61 % de la producción estatal.

Definición de Calidad de la Semilla

McDonald (1975) reportó que la calidad de las semillas utilizadas para la siembra, debe reunir ciertos estándares como lo son el físico, fisiológico, sanitario y genético. La calidad física comprende el contenido de humedad (que debe ser baja para favorecer su conservación), ausencia de contaminantes físicos como presencia de semillas extrañas, un bajo contenido de materia inerte, así como la homogeneidad del lote, peso y tamaño de las semillas.

CIAT (1980) señaló que una semilla es de buena calidad cuando tiene pureza tanto varietal como física, un alto porcentaje de germinación y está libre de organismos patógenos, tanto externa como internamente. Una semilla de buena calidad permite al agricultor obtener rendimientos significativamente mayores. Es un elemento básico en el trabajo de fitomejoradores, agrónomos y empresas productoras de semillas.

Poulsen (2000) mencionó las siguientes ventajas de la semilla de buena calidad:

- Mejor condición para el almacenamiento
- Desperdicio mínimo de la semilla
- Plantas uniformes en espacios acondicionados como los viveros
- Mayor acierto en la producción de plantas

- Posibilidades de desarrollar producción avanzada de plantas
- Mejora en técnicas y métodos de plantación

Enfermedades en Maíz Transmitidas por Semilla

Las principales enfermedades que atacan al maíz en México son de origen fungoso, se encuentran diseminadas en todo el país, y su aparición están sujetas a las condiciones ambientales que favorecen la infección y multiplicación del patógeno, así como la fuente de inóculo y la susceptibilidad de los genotipos (Varón y Sarria, 2007).

Fusarium es un patógeno cosmopolita que está distribuido en América, Europa, Asia y África, McGee (1988). Es el parásito de mayor importancia en los cultivos como el arroz, caña de azúcar, sorgo y maíz en los que ocasiona ahogamiento, pudriciones y otras anormalidades Nelson (1991). En maíz produce la pudrición de tallos y mazorca, en la caña de azúcar la pudrición del tallo o pokka-boeng Romero (1993) y en arroz la enfermedad de bakanae o gigantismo provocado por la giberelina que este hongo produce en este cultivo (Rojas y Róvalo, 1984).

Las enfermedades fungosas provocan pérdidas anualmente en las zonas maiceras, se reportan aproximadamente 125 enfermedades causantes de éstas, para su reconocimiento y manejo se clasifican de acuerdo a la parte de la planta que infectan, como: follaje, espiga, tallo y mazorca (Rodríguez *et al.*, 2008).

Hongos Importantes en Granos y Semillas de Maíz

Los hongos toxicológicos más importantes (*Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium*) tienen amplia distribución geográfica y pueden desarrollarse sobre una amplia gama de granos almacenados y semillas de maíz (Richardson, 1979; Christensen y Kaufmann, 1976; Sauer, 1984).

Importancia del Género *Fusarium*

La importancia de *Fusarium* como patógeno de plantas se ha puesto de manifiesto, debido a la dificultad a la hora de controlar las enfermedades que produce. Estos patógenos vegetales se pueden dividir en tres grupos en función del tipo de enfermedad que producen. Un primer grupo, cuyo representante principal es *F. oxysporum*, y cuyos integrantes provocan marchitamiento vascular en el huésped. En segundo lugar, estarían las podredumbres de raíz causadas principalmente por *F. solani* y por último las especies que provocan enfermedades en plantas gramíneas (*F. verticillioides*, *F. graminearum*, *F. avenaceum* y *F. culmorum*) (Price, 1984).

Clasificación Taxonómica de *Fusarium verticillioides* según Groenewald (2006) y Díaz de Castro *et al.*, (2007).

Reino.... Fungi

Phyllum.... Ascomycota

Clase.... Deuteromycetes

Orden.... Hypocreales

Familia.... Hypocreaceae

Género.... *Fusarium*

Especie.... *verticillioides*

Características de *Fusarium verticillioides*

Las colonias son de crecimiento moderadamente rápido en medio de cultivo, de 8 cm a los ocho días, de color blanco a durazno. Las microconidias son abundantes, generalmente de una célula, de oval a ovoide, en largas cadenas o en falsas cabezas. Los conidióforos son largos, no ramificados y ramificados, monofialides y polifialides. Las macroconidias están presentes pero son escasas, y varían

levemente de su forma curva a casi rectas, de paredes delgadas. Las clamidosporas están ausentes (Sanabria *et al.*, 2002; Agrios, 2005).

Importancia Económica de *Fusarium verticillioides*

Este patógeno se destaca como el agente causal de las enfermedades de mayor importancia económica que producen pudrición de la mazorca y la germinación prematura del maíz; en los estados de Tlaxcala, Puebla y México provocan reducciones en la producción entre 25% y 35% (Márquez 1985, Félix y Romero 1981). También es un hongo que produce sustancias tóxicas como la zearalenona, tricotecenos, fusarina, moniliformina y fumonisinas, que al ser ingeridas por humanos y animales en alimentos contaminados, tienen efectos cancerígenos, teratógenos, mutágenos, eméticos y estrogénicos (Ayvar-Serna 1997).

Micotoxinas Producidas por *Fusarium verticillioides*

A diferencia de otros hongos que son estrictamente biótrofos, *F. verticillioides* no genera estructuras especializadas que faciliten la entrada al tejido y a las células. Sin embargo, es capaz de producir cantidades importantes de enzimas líticas y toxinas que contribuyen al proceso infeccioso (De la Torre, 2014).

Las fumonisinas son un grupo de micotoxinas caracterizado recientemente producidas por *F. verticillioides*, un moho presente en todo el mundo y que se encuentra con frecuencia en el maíz (CIIC, 1993). Se ha confirmado la presencia de fumonisina B₁ en maíz (y sus productos) en diversas regiones agroclimáticas de países como los Estados Unidos, Canadá, Uruguay, Brasil, Sudáfrica, Austria, Italia y Francia. La producción de toxinas es particularmente frecuente cuando el maíz se cultiva en condiciones calurosas y secas.

La exposición a la fumonisina B₁ (FB1) del maíz produce leucoencefalomalacia (LEM) en ganado equino y edema pulmonar en ganado porcino. Se han registrado casos de LEM en numerosos países, entre ellos los Estados Unidos, Argentina, Brasil, Egipto, Sudáfrica y China. La FB1 produce también efectos tóxicos en el

sistema nervioso central, hígado, páncreas, riñones y pulmones de varias especies de animales (FAO, 2016).

El síndrome de edema pulmonar porcino (PPE), es una enfermedad inusual en esta especie animal, se caracteriza por dificultad respiratoria, postración y eventual muerte del animal. Las necropsias de los animales afectados se caracterizan por presentar un severo edema de pulmón e hidrotórax (Harrison *et al.*, 1990; Norred y Voss, 1994).

El consumo de dietas contaminadas con *F. verticillioides* en pollos de engorda, se asocia a la producción de cambios funcionales en las aves como: necrosis hepática multifocal, hiperplasia biliar, reducción en el peso corporal, de hígado y bazo, anomalías esqueléticas (arqueo de patas), alteración en los parámetros bioquímicos y elevada mortalidad (Espada *et al.*, 1994).

La Agencia Internacional de la Investigación del Cáncer (IARC) estableció que:

- Hay evidencia insuficiente de la carcinogenicidad en humanos de las toxinas derivadas de *F. verticillioides*.
- Hay *evidencia* suficiente de la carcinogenicidad en animales de experimentación de material de cultivo de *F. verticillioides*,
- Hay evidencia limitada de la carcinogenicidad de FB1 en animales de experimentación. De acuerdo a lo mencionado anteriormente, las toxinas derivadas de *F. verticillioides* son consideradas como 2B, "posibles carcinógenos para humanos" (IARC, 1993).

Ciclo de Vida

F. verticillioides (estado perfecto: *Giberella Fujikuroi*) Se puede desarrollar una planta enferma a partir de una semilla infectada asintomática que puede causar declinamiento o muerte de la planta antes de alcanzar el estado reproductivo. Puede infectar las raíces de la planta a partir de su presencia en residuos de plantas y suelo. Puede permanecer en el suelo dentro de fragmentos de tallos enterrados a 30 cm de la superficie, con humedad de 5 a 35%, y temperatura de 5

a 10 °C durante 12 meses (Bacon y Nelson, 1994). No produce clamidosporas, pero puede producir hifas engrosadas que aparentemente prolongan su supervivencia (Kommendahl y Windels, 1981). Los peritecios se forman a principios de otoño y liberan las ascosporas en la primavera durante condiciones cálidas y húmedas y, son diseminadas por el viento hasta los tallos y mazorcas. Las ascosporas germinan y pueden penetrar directamente o a través de heridas e iniciar la infección primaria.

Las esporas se dispersan por el viento, desde donde serán lavadas hacia las vainas foliares y tallo y desde allí la infección secundaria podrá progresar hacia el tallo, hojas y la mazorca a través del canal de los estilos (Bacon y Nelson, 1994). El estado fisiológico de las vainas foliares también pueden afectar la susceptibilidad (Headrick y Pataki, 1990). El daño causado por otros hongos patógenos, insectos, aves o granizo juegan un papel importante en la infección de *F. verticillioides*. Generalmente, la infección por este hongo ocurre debido a que las esporas transmitidas por el viento y el agua llegan a los sitios dañados de las mazorcas y tallos (Davis *et al.*, 1989).

Diseminación

Kommedahl *et al.*, 1974 mencionaron que el viento y el agua son los principales vectores del hongo. El desarrollo de la enfermedad y su diseminación son favorecidos por condiciones de sequía y temperatura de 28 a 30 °C.

Foley (1962) concluyó que el hongo es sistémico y que las plantas que son contaminadas por inóculo el cual es transportado por el viento o el que se encuentra invernando en el suelo, penetra por la parte basal del tallo, hojas y mazorca. El barrenador europeo del maíz (*Ostrinia nubilalis*) como vector de conidias de *F. verticillioides*, al inocular las plantas cuando se alimenta de ellas.

Distribución Geográfica

Este hongo se encuentra ampliamente distribuido en todas las zonas donde se cultiva el maíz, es decir, en todo el mundo (Leslie y Summerell, 2006).



Figura 1. Distribución de *Fusarium verticillioides* (CAB International, 2007).

Características del Género *Aspergillus*

Aspergillus es un hongo filamentoso hialino, saprófito, perteneciente al filo Ascomycota. Se encuentra formado por hifas hialinas septadas y puede tener reproducción sexual (con formación de ascosporas en el interior de ascas) y asexual (con formación de conidios). Las diferentes especies se diferencian en tamaño, tasa de crecimiento, textura (aterciopelada, granular, algodonosa) y color de la colonia: verde-amarillento (*A. flavus*), negro (*A. niger*), marrón (*A. terreus*). La coloración aparece casi siempre en todas las estructuras aéreas, tanto en el micelio como en las cabezas conidiales. *Aspergillus* es uno de los principales hongos productores de micotoxinas. Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos y secretados por el hongo durante el proceso de degradación de la materia orgánica, como mecanismo de defensa frente a otros microorganismos (INSHT, 2012).

Clasificación Taxonómica del Género *Aspergillus* según Alexopoulos y Mims, (1979)

Reino.... Fungi

División.... Amastigomycota

Clase.... Deuteromycetes

Subclase.... Hiphomycetidae

Orden.... Moniliales

Familia.... Moniliaceae

Género.... *Aspergillus*

Importancia del Género *Aspergillus*

Una característica importante de ciertos hongos del género *Aspergillus* es su capacidad de producir toxinas. Si estas se producen sobre alimentos de consumo, su presencia representa un riesgo para la salud. Las principales micotoxinas producidas por *Aspergillus* son las aflatoxinas y las ocratoxinas (Perrone *et al.*, 2007). Otras micotoxinas, como la patulina, esterigmatocistina, citrinina y el ácido penicílico, también pueden ser producidas por algunos hongos de este género.

Características del Género *Penicillium*

Es un hongo de crecimiento rápido dando colonias blancas aterciopeladas inicialmente, las cuales se cubren con las esporas y van tomando diferentes colores según la especie; al final quedan completamente cubiertas de esporas con un aspecto pulverulento. La colonia está constituida por micelio de hifas delgadas septadas. (Guzmán, 1977).

Clasificación Taxonómica del Género *Penicillium*

Durante mucho tiempo el género *Penicillium* fue clasificado dentro del filo Deuteromicota u hongos imperfectos por no conocerse su forma sexual. Actualmente, como resultado de estudios filogenéticos, la clasificación del género *Penicillium* se incluye dentro de la familia Trichocomonaceae (Berbee *et al.*, 1995; Schoch *et al.*, 2009; Bisby *et al.*, 2012).

Reino.... Fungi

Phyllum.... Ascomycota

Clase.... Eurotiomycetes

Orden.... Eurotiales

Familia.... Trichocomaceae

Género.... *Penicillium*

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Experimento

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.



Figura 2. Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016

Material Genético

Las semillas fueron proporcionadas por la empresa Agrícola el Caudillo, de Tepalcingo, Morelos. Las cuales fueron:

1. Híbrido H-515
2. Híbrido H-516
3. Zapata 2 Amarillo (Criollo mejorado)
4. Criollo de la región

Pruebas de Sanidad de la Semilla

Prueba papel secante y congelamiento

Se realizó de acuerdo a la prueba del manual de laboratorio para la semilla de maíz y trigo CIMMYT (2003), modificada, se tomaron 200 semillas de maíz con 5 repeticiones de 40 semillas. Fig. 3



Figura 3. Establecimiento del ensayo, Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016

Primeramente se desinfectaron las semillas en una solución de blanqueador comercial de hipoclorito de sodio al 10%, durante 3 minutos y posteriormente se procedió a su enjuague con agua destilada. Fig. 4



Figura 4. Desinfección de la semilla, Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016

La siembra fue realizada en charolas transparentes de plástico, sobre papel secante estéril previamente humedecido, 200 semillas fueron seleccionadas y distribuidas en cinco repeticiones de 40 semillas de cada genotipo, finalmente las charolas fueron rotuladas y selladas con cinta parafilm para su fácil identificación. Fig. 5



Figura 5. Siembra de las semillas, Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016

Las charolas se mantuvieron a temperatura ambiente de 25° C durante 2 días en la cámara bioclimática del laboratorio de Fitopatología, posteriormente se mantuvieron en ultracongelación a -20 °C durante 24 h Fig. 6, últimamente se retiraron del ultracongelador y se mantuvieron a una temperatura ambiente de 25 °C \pm 2 durante 11 días, alternando 12 h luz blanca y 12 h de oscuridad. Fig. 7



Figura 6. Charolas en el congelador, Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016



Figura 7. Charolas en la cámara bioclimática, Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016

Después de la incubación, se procedió a contar el número de las colonias de hongos por su color por repetición de cada tratamiento, para su posterior identificación, así como las semillas sanas, es decir, aquellas que no presentaron crecimiento de micelio.

Preparación de medio de cultivo

En un matraz de 1 L se agregó 19.5 gr de PDA sintético, posteriormente se añadió 500 ml de agua destilada, tapando el matraz con papel aluminio y este se agitó de manera constante para que de este modo se disolviera. A continuación se colocó en la olla de presión a 120 ° C por 15 min para su esterilización, dejándolo enfriar por 45 min, después se llevó el medio a la cámara bioclimática para vaciarlo en cajas petri, para su solidificación. Fig. 8



Figura 8. Preparación de medios, Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016

Aislamiento de los patógenos

Una vez observado el desarrollo completo de las diferentes colonias fungosas en las charolas se procedió a aislar los patógenos, tomando una muestra de micelio con una aguja de las diferentes repeticiones y éste colocándolo en cajas petri con PDA para su desarrollo, incubándose a una temperatura de 28 °C. Fig. 9

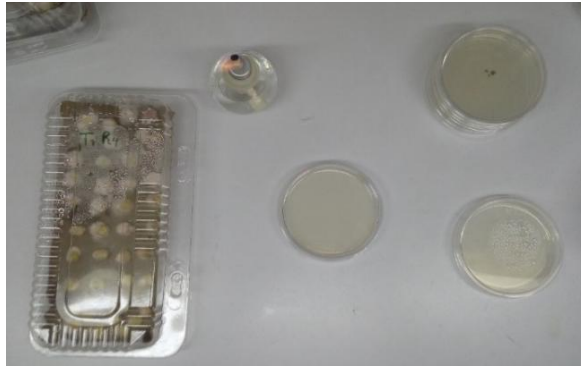


Figura 9. Aislamiento de los patógenos, Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016

Preparación de laminillas

Con una aguja de disección se tomó una pequeña muestra del hongo y se colocó en un portaobjetos con una gota de agua destilada extendiendo el micelio y se agregó una gota de azul de algodón, colocando por último el cubreobjetos y se observó al microscopio. Fig. 10



Figura 10. Identificación de hongos fitopatógenos, Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016

Evaluación final

La incidencia se reportó como porcentaje de semilla colonizada por los patógenos.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de incidencia de los hongos presentes en la semilla de maíz, fueron sometidos al análisis de varianza y prueba de separación de medias, usando la prueba de rangos múltiples de Tukey al 0.05 de significancia, para detectar diferencia entre tratamientos, en el programa estadístico de Nuevo León.

Prueba de Germinación

Pasteurización del suelo

Se usaron bolsas de 3 kg de capacidad con suelo cribado, las cuales se metieron de 4 en 4 a la autoclave, en la cual estuvieron a 75° C por media hora, este procedimiento se repitió 3 veces, y en cada repetición las bolsas se dejaban enfriar. Fig. 11



Figura 11. Pasteurización de suelo, Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016

Germinación

La prueba de germinación se realizó en charolas de plástico transparente de acuerdo al Manual de Laboratorio Ensayos para la semilla de maíz y trigo CIMMYT (2003).

Se tomaron 400 semillas de maíz de cada distinto material, primeramente se agregaron 4 cm de suelo en cada charola, colocándose en cada una 100 semillas distribuidas uniformemente Fig. 12, se cubrieron con otros 4 cm de suelo, se humedecieron e incubaron a 25 °C durante 7 días, alternando 12 h luz blanca y 12 h de oscuridad.



Figura 12. Prueba de germinación de la semilla, Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016

Evaluación

Los criterios de evaluación fueron: Plántulas normales las cuales tenían que tener más de 2.5 cm de crecimiento de la plúmula y de crecimiento radical con 2 o 3 raíces, plántulas anormales aquellas que no cumplieron con las características de plántulas normales y por último semillas no germinadas (Godínez, 2002). Fig. 13

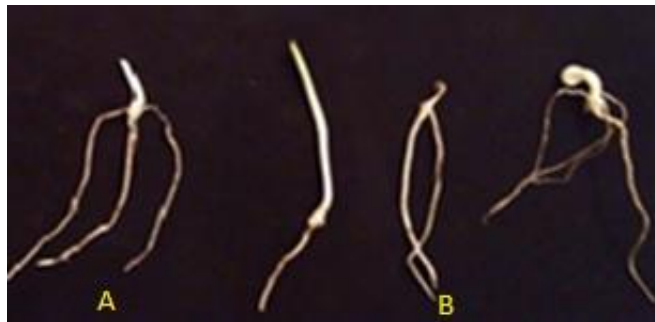


Figura 13. A) Plántula normal, B) Plántulas Anormales, Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016

Análisis estadístico

Los resultados de la germinación de la semilla se examinaron en el análisis de varianza y prueba de separación de medias, utilizando la prueba de rangos múltiples de Tukey al 0.05, empleando el programa estadístico de Nuevo León.

Prueba de Vigor

Prueba de vigor con estrés complejo

Esta prueba se llevó a cabo en el laboratorio de semillas del departamento de Fitomejoramiento, lo primero que se hizo fue humedecer el papel en agua destilada, posteriormente se colocaron las semillas en las mitades superiores del papel en línea recta con el embrión apuntando hacia abajo, a razón de 25 semillas por repetición, rociándoles Tiabendazol para evitar el crecimiento de hongos, siendo un total de 16 repeticiones por los 4 tratamientos. Fig. 14

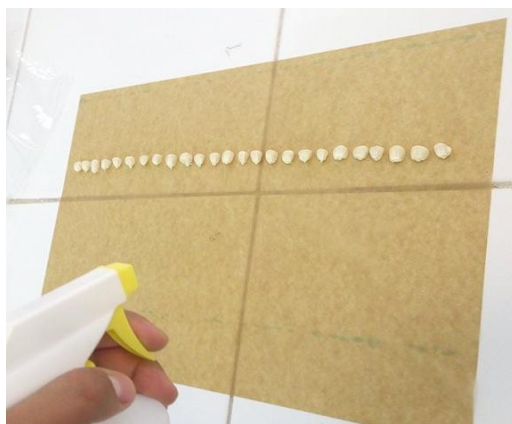


Figura 14. Aplicación de Tiabendazol, Tecnología de semillas, UAAAN, 2016

Posteriormente se humedeció otro papel, y éste se colocó sobre las semillas y se dobló en forma de taco de una esquina a otra, colocando nuestros datos para su identificación en cada repetición, metiéndolas en bolsas de acuerdo al tratamiento realizado. Fig. 15



Figura 15. Tratamientos en forma de tacos, Tecnología de semillas, UAAAN, 2016

Al final los tratamientos se llevaron a una cámara de germinación a 25° C, durante 8 días. Fig. 16



Figura 16. Tratamientos en la cámara de germinación, Tecnología de semillas, UAAAN, 2016

Evaluación

Se utilizó la evaluación según el manual de laboratorio para la semilla de maíz y trigo CIMMYT (2003), modificada, en este caso en cada repetición se midieron las 5 plántulas más largas y se calculó la longitud media.

La puntuación del vigor fue representada por un valor del 1 al 10, según la cantidad de semillas con una longitud superior a 2/3 de la longitud media de las 5 plántulas más largas.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de la prueba de vigor, se evaluaron en el análisis de varianza y prueba de separación de medias, usando la prueba de rangos múltiples de Tukey al 0.05 de significancia, manejando el programa estadístico de Nuevo León.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación

La identificación de los hongos fitopatógenos se realizó de acuerdo a lo señalado en el Manual de Laboratorio Ensayos para la semilla de maíz y trigo CIMMYT (2003). Se detectaron 3 colonias de diferentes colores, identificándose los siguientes hongos.

En el microscopio compuesto se observó que la colonia de color blanco presentó características de *Fusarium verticillioides* (ver figura 17 y 18), con abundantes microconidias hialinas de forma oval o de garrote y están ligeramente aplanados en cada extremo. Los macroconidias, de curvas a casi rectas; tienen 3-7 septas, la célula basal tiene forma de pie Fig. 17. No hay clamidosporas y se forman abundantes microconidias uniformes en cadenas largas. Vázquez (2008), en la detección de hongos en semillas de maíz en las variedades VAN-443, ME, AN-447, proveniente del estado de Veracruz reportó alta incidencia de *Fusarium verticillioides* de 83.75%, 65.62% mientras que la semilla de Guanajuato reportó un 13.75% de incidencia del hongo.

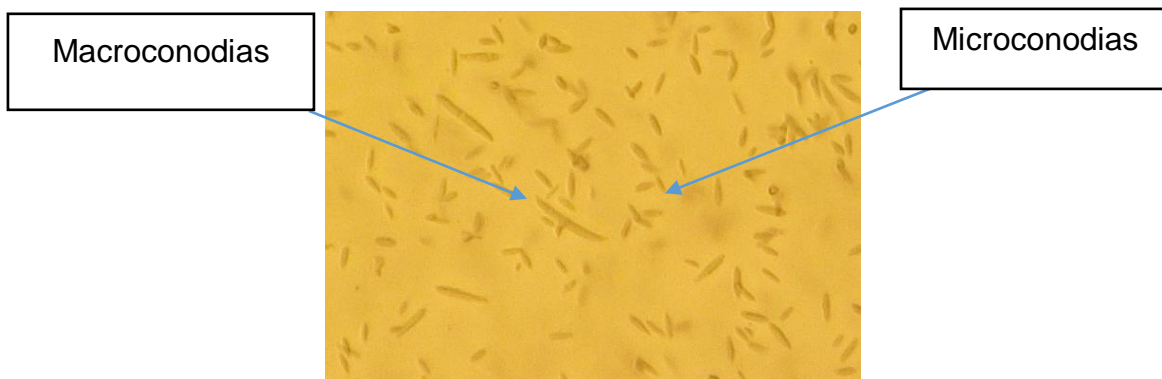


Figura 17. Macro y microconidias de *Fusarium verticillioides* aislado de maíz
Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016

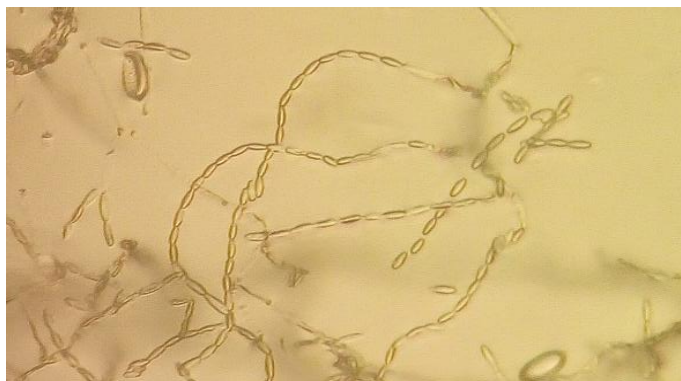


Figura 18. Microconidias en cadena de *Fusarium verticillioides* aislado de maíz, Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016

En la colonia de color verde se observaron características distintivas del género *Penicillium* (ver figura 19) que presenta; conidióforos hialinos, lisos, septados, con una serie de ramificaciones que le dan la estructura característica de un cepillo, con típicas fiáldas hialinas en forma de frasco que producen largas cadenas secas de conidias CIMMYT (2003). En una investigación con semillas de maíz provenientes de almacén agrícola reportaron que el género *Penicillium* fue el hongo más frecuente con una incidencia del 71% (Pachón y Castañeda, 1991).



Figura 19. Conidióforo del hongo *Penicillium* en semilla de maíz, Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016

En la colonia de color negro se observaron características del género *Alternaria* (Figura 20), con conidios de color café claro y con pico, con septas transversales y longitudinales, del mismo modo Ordoñez (2015), reportó al género *Alternaria* en su investigación en el grano de maíz de diferentes almacenes del Estado de México, con una incidencia no significativa menor al 10%.



Figura 20. Conidios de *Alternaria* sp, Departamento de Parasitología, UAAAN, 2016

Incidencia de los patógenos sobre la semilla

Cuadro 1. Incidencia de los hongos sobre la semilla por tratamiento de acuerdo al color de la colonia

Tratamiento	<i>F. verticillioides</i>	<i>Alternaria</i> sp	<i>Penicillium</i> sp	Sano
1 (H-515)	97.5 %	1.0 %	0.5 %	1.0 %
2 (H-516)	79.5 %	11.5 %	0 %	9 %
3 (ZAPATA 2 AMARILLO)	98.0 %	1.5 %	0.5 %	0 %
4 (Criollo de la región)	83.5 %	11.5 %	4.0 %	1.0 %

Se observa que el tratamiento tres (Zapata 2 Amarillo), manifestó la mayor incidencia del 100 % , por *Fusarium verticillioides* y *Alternaria* sp, los cuales están dentro de los llamados hongos de campo y *Penicillium* sp que corresponde a la

categoría hongos de almacén más común junto con *Aspergillus*, pero en este caso en ninguno de los tratamientos se presentó, podría ser, porque las semillas no estuvieron mucho tiempo resguardadas o por las condiciones ambientales no adecuadas para la expresión de este patógeno, por ejemplo: una combinación de altas temperaturas y gran contenido de humedad en los granos y en menor grado de incidencia el tratamiento dos (H-516) con 87 %, estando presente solo *F. verticillioides* y *Alternaria* sp, por lo consecuente fue el que sobresalió con el mayor número de semillas sanas, en cambio en el tratamiento cuatro (Criollo regional) se presentaron con mayor incidencia los tres géneros de hongos, no encontrándose diferencia estadística en los tratamientos.

Prueba de germinación

El tratamiento uno (H-515) fue el superior, de acuerdo al mayor número de semillas germinadas normalmente, 96.75 % y en este caso el tratamiento cuatro (Criollo de la región) con el mayor número de semillas germinadas anormalmente y semillas sin germinar, 79.0 %.

Rebuffel (2010), mencionó que las principales pérdidas causadas por hongos que se desarrollan en granos almacenados son: reducción del poder germinativo, ennegrecimiento total o parcial de los granos y semillas, calentamiento, olores desagradables y alteraciones de las características nutritivas. Sin embargo estos patógenos no afectaron de manera significativa el proceso de germinación de las semillas híbridas, ya que son menos propensas a plagas y enfermedades por la modificación genética y en la semilla criolla, en este caso podría ser debido a la heterogeneidad genética debido a la intervención del ser humano a lo largo del tiempo, Sánchez (2008) mencionó que los indígenas mexicanos fueron quienes hicieron evolucionar al maíz, cultivando las variedades derivadas, es decir, las variedades nativas que a través del tiempo permitieron la evolución y cruzamientos que originaron las “variedades criollas”. También Reyes (2005) aludió que las variedades criollas son resultado de la manipulación tradicional de los

campesinos, al sembrar en un mismo campo diversos tipos de grano para obtener nuevas características, eliminando a otras con el propósito de mejorarlas, de esta forma es como los maíces criollos han ido evolucionando gracias a la intervención del ser humano.

En cambio Cardoso (2016) reportó 0% de germinación en semillas de maíz HS-5G, debido a la alta incidencia del hongo *Fusarium oxysporum* presente en las semillas, por lo consiguiente 0 % en vigor, siendo un patógeno de amplia gama de huéspedes incluyendo muchos cultivos de importancia económica como el tomate, banano, algodón, canola y melón, pero *F. verticillioides* es la causa más importante y frecuente de las pudriciones en mazorca, encontrándose diferencia estadística hasta este momento en los tratamientos.

Prueba de vigor

Las plántulas con menor grado de vigor se obtuvieron en el genotipo (Zapata 2 Amarillo), mientras que el genotipo (H-515) expresó mejores cualidades de acuerdo al índice de germinación encontrado, debido a que los hongos presentes en la semilla no afectaron significativamente la germinación de la misma, al igual Marasas *et al.*, (1988) encontraron evidencia de infección en plántulas durante la germinación viéndose afectado el vigor de las mismas.

CONCLUSIÓN

Se encontraron diferentes hongos de importancia en la calidad de la semilla en los materiales de maíz los cuales fueron: *Fusarium verticillioides*, *Alternaria* sp, *Penicillium* sp, y la incidencia que va desde el 2.5 al 100%, afectando pero no de manera significativa la calidad fisiológica de la semilla en estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios G.N., 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Ed. Elsevier Academic Press. San Diego, California. U.S.A. p 992
- Alexopoulos, CJ and Mims, C. W., 1979. Introductory Mycology. 3ed ed. Wiley, New York. p 1-613
- APS, 2016. American Phytopathological Society, Corn Yield Loss Estimates Due to Diseases in the United States and Ontario, Canada from 2012 to 2015, p. 2-7. Disponible en: <http://www.plantmanagementnetwork.org/php/>
- Ayvar, S. S. 1997. Aislamiento e identificación de las micotoxinas producidas por el hongo *Fusarium verticillioides* Sheld., en maíz y su relación con las enfermedades denominadas pudrición de la mazorca y germinación prematura. Tesis de Doctorado. México, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Bacon, C. W. and Nelson, P. E. (1994). Fumonisin production in corn by toxigenic strains of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum*. J Food Prot. 57: 514-521.
- Bellon M.R. and Brush S.B. 1994. Keepers of maize in Chiapas, México. Economic Botany 48:196-209.
- Bentazos. Mendoza, E., Ramírez-Fonseca A. L., Coutiño-Estrada B., Espinoza-Paz N., Sierra-Macías M., Zambada-Martínez A., and Grajales-Solís M. 2009. Híbridos de maíz resistentes a la pudrición de mazorca en Chiapas y Veracruz. Agricultura Técnica en México 4 (35): 391–400.
- Berbee M, Yoshimura A, Sugiyama J, Taylor J (1995). Is *Penicillium monophyetic* an evaluation of phylogeny in the family Trichocomaceae from 18S, 5.8S and ITS ribosomal DNA sequence data. Mycologia 87:210–222.
- Bernal, M. R., J. Rodríguez, V. y J. Estrada, G. 2000. Micoflora asociada a la semilla de amaranto (*Amarantus hypochondriacus* L.). Rev. Fitotec. Mex.

- Bisby F, Roskov Y, Orrell T, Nicolson D, Paglinawan L, Bailly N, Kirk, P, Bourgoin T, Baillargeon G, Ouvrard D (2012). Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 30th May 2012.
- CAB International, 2007. Crop Protection Compendium, 2007 Edition. Wallingf UK: CAB International.
- Cardoso M. Y, 2016. Detección de hongos en semillas de maíz. Tesis Lic. UAAAN. 2016 p. 35
- Christensen, C. y Kaufmann, H. 1976. Contaminación por hongos en granos almacenados. México. p. 199
- CIAT. 1980. Semilla de frijol de buena calidad. Segunda edición. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. p. 37.
- CIIC, 1993. Centro Internacional de Investigaciones Sobre el Cáncer. Las toxinas derivadas de *Fusarium moniliforme*. Las fumonisinas B₁ y B₂ y C Fusarium, pags. 445-466. En *CIIC Monografías sobre la evaluación de los riesgos carcinogénicos para los humanos*, Volumen 56. IARC, Lyon, Francia
- CIMMYT, 2003. Centro Internacional de mejoramiento de maíz y trigo. Manual ensayos para las semillas maíz y trigo, Clave para la identificación de los organismos, Lisboa 27, Apdo. Postal 6-641, 06600 México, D.F. México, p. 23 - 175
- Claveland D.A. and Murray S.C. 1997. CIMMYT. 2003 Ensayos para la semilla de maíz y de trigo The world's crop genetic resources and the rights of indigenous farmers. *Current Anthropology* p. 477-492.
- Davis, R. M., Kegel, F. R. Sills, W. M., Farra, J. J. (1989). *Fusarium* ear rot of corn. *Calif. Agric.* p. 43:4-5.
- De la Torre-Hernández Ma. Eugenia, Sánchez Rangel Diana, Galeana Sánchez Eduardo y Plasencia de la Parra Javier (20014), Fumonisinas –Síntesis y función en la interacción *Fusarium verticillioides*-maíz, Departamento de

Bioquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria, México, D.F., p 80-82

Díaz de Castro, F.J.; Restrepo, M.A.; Rojas, W. 2007. Microbiología de las infecciones humanas. Primera Edición. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín. Colombia.

Espada, Y., Ruiz de Gopegui, R., Cuadras, C. Cabañes F. J. (1994). Fumonisin mycotoxicosis in broilers: weights and serum chemistry modification. *Avian Dis.* 38:454- 460.

FAO, 2016. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/005/y1390s/y1390s04.htm>

FAOSTAT 2014. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Producción mundial del maíz. Disponible en: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S>

Félix G., R. y S. Romero, C. 1981. Etiología de la germinación prematura del maíz en Huamantla, Tlaxcala. *Agrociencia* 43:81-87.

Foley, C.D. 1962 Systemic infection of corn by *Fusarium moniliforme* *Phytopathology*, vol. 52:8 USA.

Godínez, R. Ma. G., 2002. Micoflora Presente en semillas de cebada (*Hordeum vulgare L.*) De Navidad, Nuevo León. Tesis, UAAAN, Saltillo, Coahuila, México p. 36

Groenewald , S. 2006. Biology, pathogenicity and diversity of *Fusarium oxysporum* f.sp.cubense. Trabajo de grado de Maestría. Universidad of Pretoria. Pretoria. Sudáfrica.

Guzmán, M. 1977. Micología médica. Instituto Nacional de Salud. Bogotá, Colombia. p 386.

- Harrison, L. R., Colvin, B. M., Greence, J. T., Newman, L. E., Cole, J. R. (1990). Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of *Fusarium verticillioides*. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2:217-221.
- Headrick, J. M., Pataky, J. K. (1990). Relationships among carbohydrate content of kernels, condition of silks after pollination, and response of sweet corn inbred lines to infection of kernels by *Fusarium verticillioides*. *Phytopathology* 80:487-494.
- Herrera, Cabrera B.E., Castillo-González F., Sánchez-González J.J., Hernández-Casillas J.M., Ortega-Paczka R.A. y Major-Goodman M. 2004. Diversidad del maíz Chalqueño. *Agrociencia.* 38: 191-206.
- IARC, International Agency for Research on Cancer (1993). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. IARC Lyon, France. 56:445-466.
- INSHT, 2012. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, Fichas de agentes biológicos, *Aspergillus*, p. 1
- Kato Yamakake, T.A., C. Mapes, L.M. Mera Ovando, J.A. Serratos Hernández, R. Bye Boettler. 2009. Origen y diversificación del maíz: Una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México (Edición digital: CONABIO 2009).
- Kommedahl, T.C.E., Windels and H.G. Jonson. 1974. Cornstalk rot survey methods and results in Minnesota in 1973. *Plant diseases.Repor.* 58:363-366
- Kommedahl, T., Windels, C. (1981). Root-, stalk-, and ear-infecting *Fusarium* species on corn in the USA. En: *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*. Edited by: Nelson, E., Tousson, T. A., Cook, R. J. Pennsylvania State University, University Park. pp 94-103.
- Leslie, F. J. and Summerell, A. B. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*.

- Louette, D., A. Charrier, J. Berthaud. 1997. *In situ* conservation of maize in México: genetic diversity and maize seed management in a traditional community economic botany 51 (1): 20-38.
- Marasas, W. F. O., T. S. Kellerman, W. C. A. Gelderblom, J. A. W. Coetzer, P. G. Thiel, and J. J. Van der Lugt. 1988. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1, isolated from *Fusarium moniliforme*. Onderstepoort J. Vet. Res. 55:197-203.
- Márquez O., J. 1985. Germinación prematura del maíz (*Zea mays* L.) en la zona centro de Puebla. Tesis de Licenciatura. Depto de Parasitología Agrícola. Univ. Autónoma Chapingo. Chapingo, México. p. 61.
- Matos, C. S. M., Barrocas E. N., Machado J. C., and Cardoso-Alves F. 2013. Health and physiological quality of corn seeds treated with fungicides and assessed during storage. Journal of Seed Science 35 (1): 10–16.
- McDonald, M. B. Jr. 1975. A review and evaluation of seed vigor tests. Proceedings of the Association of Official Seed Analysts. 65: 109- 139.
- McGee, D.C 1988. Maize diseases: A reference source for seed technologists. APS press, USA.
- Moreno, M. E., 1993. Tratamiento químico de las semillas para el combate de los hongos. U.NAM. México. p. 13 – 25.
- Munkvold, G. P., McGee, D. C., Carlton. W. M. (1997b). Importance of different pathways for maize kernel infection by *Fusarium verticillioides*. Phytopathology 97:209- 217
- Neergaard, P., 1977. Seed Pathology. Vol. I and II. Ed. The MACMILLAN PRESSLTD.
- Nelson, P.E. 1991. History of *Fusarium* sistematics. In Recent Advances in *Fusarium* sistematics. Phytopathology vol.81, No 9 1045-1048, U.S.A.

- Norred, W. P. and, Voss, K. A. (1994). Toxicity and role of in animal diseases and human esophageal cancer. *J. Food Prot.* 57:52-57.
- Ordoñez K. 2015, Potencial micotoxigenico de grano de maíz en estado de postcosecha, Tesis, UAAAN, Saltillo, Coahuila, México, p. 84
- Pachón C. y Castaño J. (1991). Identificación de hongos en semillas almacenadas de maíz y frijol, Enero, 1999 - Universidad de Caldas - A.A. 275 Manizales. Colombia
- Paliwal, R. L. (2001). El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación – FAO–. p. 376.
- Perrone, G., Susca, A., Cozzi, G., Ehrlich, K., Varga, J., Frisvad, J.C., Meijer, M., Noonim, P., Mahakaranchanakul, W. y Samson, R.A. (2007). Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. *Studies in Micology*, 59: 53- 66.
- Poulsen, M. K. 2000. Técnicas para la germinación de semillas forestales. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Proyecto de Semillas Forestales. Turrialba, Costa Rica. p. 54.
- Price, D. (1984). *Fusarium* and plant pathology: the reservoir of infection. En the applied mycology of *Fusarium*, p. 71-93. Edited by Moss, M. O. and Smith, J. E.: Press Syndicate of the University of Cambridge.
- Reyes, G. G. (2005). Comercialización del maíz criollo en Puebla, Tlaxcala e Hidalgo. Universidad Iberoamericana, Lupus inquisitur. (1ra edición), Puebla, México. 238 p.
- Richaroson, M. 1979. An annotated list of seed-borne diseases. England p. 98 105; 254 265.
- Rodríguez, Montesoro, R. y De León C. 2008. El cultivo del maíz: temas selectos. México, D.F. COLPOS: Mundi-Prensa México. p. 127

- Rojas G.M. y Rovalo, M. 1984. Fisiología Vegetal Aplicada. Tercera edición. De MacGraw Hill México, D.F
- Romero, C. S. 1993. Hongos Fitopatógenos. Primera Edición. Universidad Autónoma Chapingo. México. p. 347.
- Sanabria, N.; Guadarrama, A.; Romero, H. 2002. Caracterización de especies de *Fusarium* mediante patrones electroforéticos de proteínas. Revista de la Facultad de Agronomía de La Universidad del Zulia. 28:161- 173.
- Sánchez, M. F. (2008). De las Variedades Criollas de Maíz a los Híbridos Transgénicos. 1: Recolección de Germoplasma y Variedades Mejoradas. Universidad Autónoma Chapingo. Guadalajara. Agricultura, Sociedad y Desarrollo Vol. 5. Núm. 2. 151-166
- Sauer, O. 1984a. Identification of fungi in grains and feeds. U.S.A : Department of Agriculture ; Manhattan. p. 5
- Schoch, C., Sung, G.-H., López-Giráldez, F., *et al.*, 2009. The Ascomycota tree of life: a phylum-wide phylogeny clarifies the origin and evolution of fundamental reproductive and ecological traits. Syst. Biol. 58, 224–239.
- SIAP 2014. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera Producción Nacional y Estatal Disponible en:
http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap/icultivo/index.jsp
- Varón de Agudelo, F y Sarria-Villa C. A. 2007. Enfermedades del maíz y su manejo: compendio ilustrado. Palmira, Colombia. p. 55.
- Vázquez, Ruiz, R 2008. Detección de *Fusarium verticillioides* en tres materiales de maíz del estado de Veracruz y Guanajuato. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, p 25.

APÉNDICE

Cuadro 2. Incidencia de los hongos sobre la semilla de acuerdo al color de la colonia

Tratamiento	Repetición	No. de semillas infectadas	% de incidencia	Hongo
1 (H-515)	1	38	95	<i>Fusarium</i>
		1	2.5	<i>Penicillium</i>
	2	40	100	<i>Fusarium</i>
	3	40	100	<i>Fusarium</i>
	4	40	100	<i>Fusarium</i>
	5	37	92.5	<i>Fusarium</i>
		2	5	<i>Alternaria</i>
2 (H-516)	1	15	37.5	<i>Fusarium</i>
		7	17.5	<i>Alternaria</i>
	2	29	72.5	<i>Fusarium</i>
		10	25	<i>Alternaria</i>
	3	29	72.5	<i>Fusarium</i>
		5	12.5	<i>Alternaria</i>
	4	39	97.5	<i>Fusarium</i>
		1	2.5	<i>Alternaria</i>
	5	39	97.5	<i>Fusarium</i>
3 (ZAPATA 2 AMARILLO)	1	40	100	<i>Fusarium</i>
	2	39	97.5	<i>Fusarium</i>
		1	2.5	<i>Penicillium</i>
	3	40	100	<i>Fusarium</i>
	4	40	100	<i>Fusarium</i>
	5	37	92.5	<i>Fusarium</i>
		3	7.5	<i>Alternaria</i>
4 (Criollo regional)	1	1	2.5	<i>Penicillium</i>
		7	17.5	<i>Alternaria</i>
		31	77.5	<i>Fusarium</i>
	2	5	12.5	<i>Penicillium</i>
		3	7.5	<i>Alternaria</i>
		32	80	<i>Fusarium</i>
	3	4	10	<i>Alternaria</i>
		36	90	<i>Fusarium</i>
	4	2	5	<i>Penicillium</i>
		9	22.5	<i>Alternaria</i>
		29	72.5	<i>Fusarium</i>
	5	39	97.5	<i>Fusarium</i>

Cuadro 3. Análisis de varianza de la incidencia de hongos en las semillas

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamiento	3	573.750000	191.250000	2.1361	0.135
Error	16	1432.500000	89.531250		
Total	19	2006.250000			

C.V. = 9.83 %

Cuadro 4. Comparación de medias

Tratamiento	Media	Agrupación
1	99.000000	A
2	87.000000	A
3	100.000000	A
4	99.000000	A

Letras iguales no son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad

Cuadro 5. Análisis de varianza de la germinación

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamiento	3	774.687500	258.229156	5.2366	0.015
Error	12	591.750000	49.312500		
Total	15	1366.437500			

C.V. = 25.79%

Cuadro 6. Comparación de medias

Tratamiento	Media	Agrupación
1	96.7500	A
2	92.0000	AB
3	83.5000	BC
4	79.0000	C

Cuadro 7. Análisis de Varianza del vigor

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamiento	3	10.640259	3.546753	13.6419	0.001
Error	12	3.119873	0.259989		
Total	15	13.760132			

C.V = 6.07 %

Cuadro 8. Comparación de medias

Tratamiento	Media	Agrupación
1	9.300001	A
2	9.100000	A
3	7.400000	B
4	7.800000	B