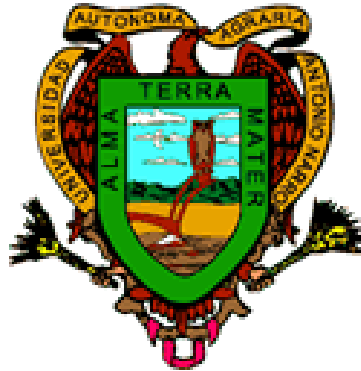


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Detección de Hongos en Semillas de Maíz de Tepalcingo, Morelos

y Saltillo, Coahuila

Por:

JUAN CARLOS GARCÍA MORALES

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Detección de Hongos en Semillas de Maíz de Tepalcingo, Morelos
y Saltillo, Coahuila

Por:

JUAN CARLOS GARCÍA MORALES

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:


INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



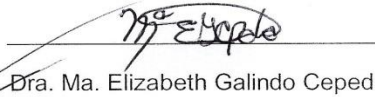
M.C. Abiel Sánchez Arizpe

Asesor Principal



Ing. José Luis Arispe Vázquez

Coasesor



Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda

Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Coordinación
División de Agronomía

Junio, 2018

AGRADECIMIENTOS

A Dios por las bendiciones a lo largo de esta vida, por siempre estar conmigo, y por su misericordia a lo largo de mi carrera. Y por ser conmigo en los momentos tristes y de Alegria

A mis Asesores:

M.C. Abiel Sánchez Arispe: Por su gran apoyo en este proyecto y por siempre darme su apoyo incondicional, esos consejos y sobre todo la confianza que siempre me otorgo. Finalizando con un gran aprecio y cariño. Dios me lo bendiga siempre.

A la Dra. Elizabeth Galindo Cepeda: Por su apoyo incondicional en todo momento, además de su tiempo empleado para la realización de este proyecto.

Ing. Jose Luis Arispe Vazquez: Por tu gran apoyo en este trabajo y por consejos, de todo corazón gracias.

Dra. Miriam Sanchez Vega: Por su apoyo en todo momento y por enseñarme muchas cosas importantes en la vida, con mucho respeto y cariño.

A Lic. Gabriela González Moreno: Su gran apoyo y consejos fueron y serán siempre para mi, por que a pesar de todo usted siempre me brindo su apoyo de todo corazón gracias nunca olvidare todo lo que hizo por mi.

A la Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro: por todo el apoyo económico y moral por haberme permitido formarme como un profesional.

A mis profesores: Gracias por todo su conocimiento y formación, me llevo por siempre su apoyo.

DEDICATORIA

A mis Padres:

Enriqueta Morales Barrera y Francisco Garcia Sanchez

Gracias por todo, por ser siempre mi apoyo, que aunque una vez cai ustedes siguieron firmes en su apoyo. Con todo mi respeto y amor este triunfo es para ustedes.

A mis Hermanos:

Armando, Yamilet, Braulio, Francisco, Octavio; Por todo su Apoyo, y por confiar en mi para poder lograr este proyecto.

A mi Esposa e Hija:

Maria Nieto Vazquez, Carla Garcia Nieto: Mi soporte para seguir en la vida, le doy gracias a dios por todo lo que nos ha dado

A mis Abuelos y Sobrinos:

Parte fundamental de mi vida gracias por sus sonrisas, mis abuelos por esos consejos que me mantuvieron firme con mucho amor para ustedes.

A mi Tia Y Suegros:

Edith Morales Barrera, Simon Andres Nieto, Rosa Juana Vazquez Bautista, su gran apoyo fue fundamental para poder culminar un proyecto en la vida de la manera mas humilde gracias y por haber creido en mi.

A mis Amigos:

Patricio, Emanuel, Ricardo; por todos los momentos buenos y malos nunca los olvidare.

INDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIA.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE CUADROS	viii
RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	1
Objetivos	2
Hipótesis	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Origen del Maíz.....	4
Descripción Taxonómica del Maíz	4
Importancia del Maíz.....	5
Importancia Económica.....	5
Composición Nutrimental	6
Estados Productores de maíz.....	7
Importancia de Hongos en Semillas de Maíz.....	8
Género <i>Fusarium</i>	8
Clasificación taxonómica del género <i>Fusarium</i>	9
Producción de micotoxinas	9
Importancia de las fumosininas en semillas de maíz.....	12
Sintomatología de <i>Fusarium sp</i> en semillas de maíz.....	12
Infección y diseminación.....	13

Importancia de <i>Fusarium verticillioides</i> en semillas de maíz	14
Clasificación taxonómica de <i>Fusarium verticillioides</i>	14
Diseminación de <i>Fusarium verticillioides</i>	15
Genero <i>Penicillium</i>	15
Diseminacion de <i>Penicillium</i>	16
MATERIALES Y MÉTODOS	17
Ubicación del Experimento	17
Material Genético.....	17
Prueba de Sanidad de la Semilla	17
Papel Filtro y Congelación	17
Elaboración de Laminillas	19
Evaluación	20
Prueba de germinación	20
Prueba de germinación de la semilla en toallas de papel enrolladas	20
Evaluacion	21
Prueba de Vigor de la Semilla.....	21
Evaluación	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
BIBLIOGRAFIA	27
APÉNDICE	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Estados productores de maíz en México.....	7
Figura 2.- Mazorca con presencia de <i>Fusarium spp.</i>	8
Figura 3.- Comparacion de planta sana y enferma.....	13
Figura 4.- Departamento de Parasitología UAAAN.....	17
Figura 5.- Semilla desinfectada.....	18
Figura 6.- Semillas de maíz en charolas húmedas y selladas.....	18
Figura 7.- Semillas en el congelador del Laboratorio de Biotecnología Molecular.....	19
Figura 8.- Preparacion de montaje de Hongos.....	19
Figura 9.- Prueba de Germinacion.....	20
Figura 10.- Plantulas anormales y Semillas de maíz germinadas.....	20
Figura 11.-Prueba de vigor de la semilla.....	22
Figura 12.-Microconidias de <i>F.verticillioides</i>	23
Figura 13.-Macroconidias de <i>F.verticillioides</i>	23
Figura 14.- <i>Penicillium</i> sp aislado en semillas de maíz	24

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.- Donde se muestra la composición química de una semilla da maíz.....	6
Cuadro 2.-Incidencia de de Hongos portados en semillas de maíz de acuerdo al color observado.....	24
Cuadro 3.- Incidencia de Hongos en semillas de maíz en base a la colonia.....	32
Cuadro 4.- Analisis de Varianza de la Germinación.....	33
Cuadro 5.- Tabla de medias.....	33
Cuadro 6.- Analisis de varianza del vigor.....	34
Cuadro7.- Comparacion de medias.....	34

RESUMEN

El rendimiento, y la calidad del maíz se ve afectados por diferentes hongos de cosecha. Cada manejo para evitar pérdidas o contaminación de la semilla es importante para evitar una incidencia alta de una infección. Lo cual evitaría pérdidas en el almacenamiento de la semilla.

El motivo de la presente investigación fue identificar los hongos en semilla de maíz criollo pozolero y de algunos híbridos otorgados por el INIFAP. Utilizando una metodología de siembra en cajas con un papel filtro en su interior con 50 semillas cada una y 4 repeticiones por cada genotipo, llevando las cajas a un congelador tipo paletero a una temperatura de -18 ± 2 °C por un tiempo de 24 horas, para el caso de la prueba de germinación y vigor se utilizó la prueba de la semilla en toallas de papel enrolladas, es decir, en forma de taco con 50 semillas cada uno fueron llevados a una temperatura ambiente (25 °C).

Los resultados se analizaron mediante el programa estadístico de la Universidad Autónoma de Nuevo León versión 2.5.

Los géneros identificados fueron *Fusarium sp* y *Penicillium sp*, siendo *Fusarium verticillioides* fue el que mostró mayor incidencia.

Palabras Claves: Semilla, Hongos, Pudrición, Prueba, Vigor.

INTRODUCCIÓN

El maíz al igual que el frijol se ha cultivado en México, desde siglos antes de la conquista española. Ambos cultivos, son considerados como alimentos básicos en la dieta alimenticia, no sólo del pueblo mexicano, sino de América Latina (Rivera, 1976).

El 75 % de la superficie es sembrada con semilla criollo la cual lleva un proceso de selección que permite que éstas se adapten a las condiciones climáticas y tecnológicas de los productores, así como poseer características que agraden o satisfagan al consumidor pero lo más importante es mejorar y evitar la alteración genética del maíz. Por otro lado, el rendimiento no depende sólo de la capacidad de crecimiento del cultivo, sino también de factores controlables de la producción (fertilización y densidad de población), utilizando tanto a variedades criollas como a algunas híbridas recomendadas para la región (Mendoza *et al.*, 2002).

México es el centro de origen y diversidad del maíz. su proceso de domesticación se inició hace 9,000 años, en la zona del valle del Balsas, en el estado de Guerrero. Actualmente, este cultivo se distribuye a lo largo y ancho del territorio mexicano, en casi todos los climas y altitudes; su amplia diversidad genética sólo fue posible por el uso y conservación que de este cereal, hicieron los pueblos originarios. Lamentablemente, los estudios de incidencia de este hongo son escasos. Algunos expertos señalan que en la mecate central de México se siembra, aproximadamente, 3.5 millones de hectáreas de maíz, las cuales presentan pérdidas superiores a 30%, causadas por *Fusarium* (CIMMYT, 2003).

Entre las enfermedades de importancia económica se destaca la pudrición de mazorca causada por *Fusarium spp.*, ya que causa pérdidas de rendimiento de 23 a 30% (González *et al.*, 2007).

En Sinaloa, México la pudrición de la mazorca del maíz es una enfermedad que causa pérdidas mayores al 30%. Recientemente se ha asociado el ataque de

insectos plaga como gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith,) con la posterior invasión de hongos que en su conjunto causan la enfermedad.

Fusarium infecta la planta a partir de la raíz, para alcanzar los entrenudos del tallo, con lo cual logra colonizar el sistema vascular y viaja por el xilema, infectando la parte aérea de la planta; los conidios de los hongos pueden ser transportados por el aire, la lluvia y los insectos, hasta lograr ser depositados sobre la planta; una vez ahí, si logran llegar a los pelos de la mazorca (estigmas), estarán en capacidad de alcanzar el grano de maíz (CIMMYT, 2003).

Cuando las condiciones ambientales no le son propicias, el hongo permanece latente en la planta o la semilla, causando en ella manifestaciones leves que pueden pasar desapercibidas. Si las semillas de las plantas que no mostraron síntoma alguno de infección, habiendo sido parasitadas, son sembradas, las plantas presentarán infección desde las primeras fases del desarrollo y una alta posibilidad de infección sistémica es decir, en toda la planta. Quintero y Apodaca (2008), señalaron que en la región Norte de Sinaloa la pudrición de la mazorca del maíz no rebasa el 10% de incidencia y que los daños al cultivo están asociados al ataque de insectos, con la posterior invasión de *Fusarium* y levaduras.

La aplicación de azufre en silos de almacen de maíz ha disminuido la incidencia de hongos que disminuyen la calidad de semilla.

Objetivos

- Identificar los hongos portados en semillas de maíz, de Tepalcingo, Mor. y Saltillo, Coah.
- Cuantificar la Incidencia de hongos de semillas en estudio.
- Determinar vigor y germinación de semillas en estudio.

Hipótesis

Se espera encontrar al menos el 60 % de incidencia de hongos en la semilla y una relación directa entre la incidencia de hongos presentes con vigor y germinación.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen del Maíz

Aunque se ha dicho y escrito mucho acerca del origen del maíz, todavía hay discrepancias respecto a los detalles de su origen. Generalmente se considera que el maíz fue una de las primeras plantas cultivadas por los agricultores hace entre 7 000 y 10 000 años. La evidencia mas antigua del maíz como alimento humano proviene de algunos lugares arqueológicos en México donde algunas pequeñas mazorcas de maíz estimadas en mas de 5 000 años de antigüedad fueron encontradas en cuevas de los habitantes primitivos (Wilkes, 1985)

Muchos investigadores creen que el maíz se habría originado en México donde el maíz y el teosinte han coexistido desde la antigüedad y donde ambas especies presentan una diversidad muy amplia (Galinat, 1988; Wilkes, 1989).

La mayoría de historiadores creen que la domesticación del maíz se llevó a cabo en los valles de Tehuacán (Puebla) y Oaxaca, en el denominado Eje Neovolcánico. El antropólogo norteamericano Richard Stockton MacNeish encontró restos arqueológicos de plantas de maíz en el Municipio de Coxcatlán en el valle de Tehuacán, Puebla (FAO, 2014).

Descripción Taxonómica del Maíz de Acuerdo a EPPO (2004)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: *Zea*

Especie: *mays*

EPPO (2004)

Importancia del Maíz

La hoja seca del maíz (llamada totomoxtle) sirve como fibra para tejidos, de los cuales se producen canastas, sombreros, bolsas y tapetes. También los artesanos producen flores artificiales, coronas, muñecos con la hoja de maíz pintada a mano. La misma hoja seca se puede incluir en la materia seca del compost, o bien como papel para fumar. Los olotes, o mazorcas desgranadas de maíz, se usan con fines decorativos y para realizar artesanías.

La hoja del maíz también se usa como envoltorio para preparar humitas y tamales. Las hojas se usan frescas o secas, dependiendo del tipo humita (dulce o salada) y tamal (Serratos, 2000).

Si bien el maíz es un alimento muy rico en nutrientes, al punto que era considerado el alimento vegetal principal entre los quechuas y tiene señalada participación en la mitología mesoamericana —c.fr.: el Popol Vuh—, la composición química del grano de maíz se ve afectada por el genotipo, medioambiente y condiciones de siembra. En promedio, el contenido de proteína es del 10% y más del 60% son prolaminas (FAO, 2014).

Presentan muy bajo contenido de aminoácidos esenciales, como lisina, triptófano e isoleucina, lo que provoca que el valor biológico de la proteína sea bajo y de pobre calidad nutricional. Esto motivó a los fitomejoradores a obtener nuevos materiales con mejor mensaje nutricional. Debido a la gran escala de producción de maíz esto permite su comercialización mundialmente, debido a que forma parte de la canasta básica y por su precio las familias de bajos recursos pueden contribuir en su compra (FAO, 2014).

Importancia Económica

Tiene usos como biocombustible, ya que a partir los restos de alcohol anhidro que, mezclado con gasolina, se emplea como carburante. Por otra parte, el maíz contiene un biocarburente derivado del bioetanol es el ETBE (etil-ter-butil-éter),

caracterizado por mezclarse fácilmente con la gasolina, se le añade a ésta para aumentar el índice de octano, evitando así la adición de sales orgánicas de plomo (Soler, 2005).

Cuando la zeína o proteína del maíz se combina con algún plastificante y esta se encuentra en las condiciones adecuadas, puede formar polímeros como películas comestibles, películas fotográficas, microesferas y gomas de mascar. En EE.UU. alrededor del 85% de la cosecha de maíz se utiliza para grano y ensilaje (la planta entera) destinado al ganado (FAO, 1993).

Composición Nutricional

Se desprende que el contenido de hidratos de carbono y proteínas de los granos de maíz depende en medida considerable del endospermo; el de grasas crudas y, en menor medida, proteínas y minerales, del germen. La fibra cruda del grano se encuentra fundamentalmente en la cubierta seminal. La distribución ponderal de las partes del grano, su composición química concreta y su valor nutritivo tienen gran importancia cuando se procesa el maíz para consumo; a este respecto, hay dos cuestiones de importancia desde la perspectiva nutricional: el contenido de ácidos grasos y el de proteínas (Watson, 1998).

Cuadro 1.- Donde muestra la composición química de una semilla de maíz

Composición química proximal de las principales partes del grano de maíz (%)

Componente químico	pericarpio	endospermo	germen
Proteínas	3,7	8	18,4
Grasa	1,0	0,8	33,2
Fibra cruda	86,7	2,7	8,8
Cenizas	0,8	0,3	10,5
Almidón	7,3	87,6	8,3
azúcar	0,34	0,62	10,8

Fuente: Watson, (1998)

Estados Productores de Maíz

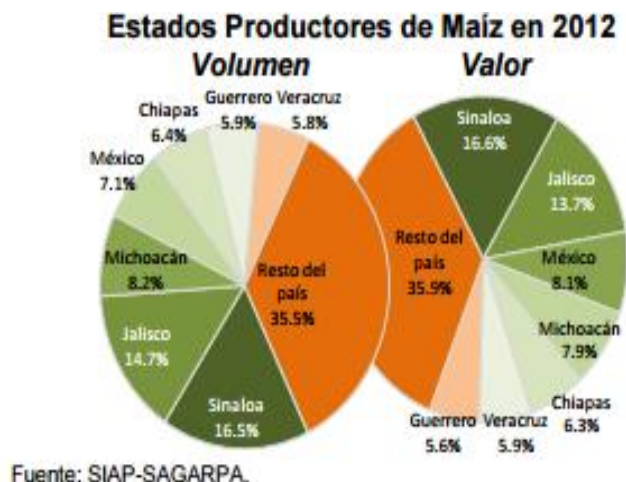


Figura 1.- Estados productores de maíz en México.

El rendimiento nacional alcanza en promedio las 3.2 ton/ha, siendo el rendimiento de temporal de 2.2 ton/ha y el de riego de 7.5 ton/ha.

El 8% de la producción nacional corresponde a maíz amarillo, del cual México es deficitario e importa entre 7 y 10 millones de toneladas. Nuestro país ocupa el 2° lugar con el mayor volumen de importaciones del grano internacionalmente, lo cual lo vuelve vulnerable ante cualquier alteración de la oferta mundial (SIAP-SAGARPA, 2013).

En México se sembraron 7,598,086 hectareas con un rendimiento de 28,340,782 toneladas (SIAP, 2016).

La importación de maíz en México para el 2017 es de 15.33 millones de toneladas con un costo de 2,815 millones de USD (SIAVI, 2018).

Importancia de Hongos en Semillas de Maíz

De lo anterior se infiere que en México, los cereales están sujetos a un control parcial en cuanto al límite en el contenido de micotoxinas, y se desconoce el grado de exposición de los consumidores de maíz a las aflatoxinas (García, 2003).

En el caso del maíz destacan los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, mismos que ocasionan efectos nocivos en el cultivo y en los consumidores del grano (Rodríguez *et al.*, 1995; Rodríguez, 1996).

Género *Fusarium*

En *Fusarium* son importantes las fumonisinas, zearalenona y los tricotecenos, entre otras. De lo anterior se infiere que en México, los cereales están sujetos a un control parcial en cuanto al límite en el contenido de micotoxinas, y se desconoce el grado de exposición de los consumidores de maíz a las aflatoxinas (Martínez *et al.*, 2003)



Figura 2.- Mazorca con presencia de *Fusarium* sp

Clasificación taxonómica del género *Fusarium* de acuerdo Alexopoulos y Mims (1985)

Reino: Mycetozoa

Division: Mastigomycota

Clase: Deuteromycetes

Orden: Moniliales

Familia: Tuberculariaceae

Genero: *Fusarium*

Especie: *verticillioides* Alexopoulos y Mims (1985)

Producción de micotoxinas

Los mohos del género *Fusarium*, y en particular *Fusarium spp* (teleomorfo *Giberella zeae*), muy comunes en el suelo, producen dos tipos de toxinas, las estrogénicas, como la zearalenona y el zearalenol, y las no estrogénicas, los tricotecenos, de las que la más importante es el deoxinivalenol. En este segundo grupo se encuentran también el nivalenol, la toxina T-2 y el diacetoxiscirpenol. Aunque se conocen casos de intoxicaciones en humanos. Los factores que limitan la calidad de los productos del sistema y que facilitan la producción de mohos y micotoxinas pueden evaluarse mediante la ejecución de estudios de vigilancia proyectados cuidadosamente, métodos de seguimiento biológico desarrollados recientemente para medir la exposición de las personas a las mico toxinas, y estudios socioeconómicos que abordan diversas cuestiones sociales, comerciales y financieras (Coker, 1997).

La presencia de mohos y micotoxinas puede reducirse mediante la aplicación de diversas medidas preventivas, tanto antes como después de la cosecha, como por ejemplo, medidas adecuadas de lucha contra plagas y enfermedades y buenas prácticas de cosecha, secado y almacenamiento. Una vez que se ha producido la contaminación con mico toxinas, ésta puede reducirse mediante diversas medidas, aplicadas principalmente después de la cosecha, que incluyen la elaboración, destoxificación y separación (Coker, 1997).

La toxinas que más se han estudiado han sido las aflatoxinas; sin embargo, no podemos olvidar otras toxinas como la ocratoxina, ochraceus o la citreoviridina *Penicillium spp* que pueden producir efectos nefro o neurotóxicos. Las aflatoxinas son toxinas naturales producidos por mohos y consideradas como parte de sus productos metabólicos.

El estudio documentado de las aflatoxinas y la enfermedad causada por estas comienza en los sesenta cuando se reportó de una epidemia (llamada "X") de pavos y otros animales de corral, matando más de 100.000 animales 4,5. La causa de la muerte fue la presencia de maní brasileño altamente contaminado con aflatoxinas (Montesano, 1997).

La llamada "toxina T-2", producida por *Fusarium*, podría ser la responsable de la "aleukia tóxica alimentaria", enfermedad aparecida ocasionalmente en algunas zonas de Rusia, especialmente en las décadas de 1930 y 1940. La temperatura óptima para la producción de esta micotoxina es notablemente más baja que la de las otras micotoxinas, lo que explicaría su presencia en alimentos producidos en zonas frías (William, 2001).

La fumonisina B1, micotoxina producida por el hongo *Fusarium verticillioides* (conocido anteriormente por *Fusarium moniliforme*) y también por *Fusarium proliferatum* se descubrió en 1988. Este tipo de hongos son contaminantes frecuentes del maíz.

Las micotoxinas son estructuralmente un grupo diverso de compuestos con bajo peso molecular (generalmente 300 a 400 D) que se producen principalmente por

el metabolismo secundario de cepas de hongos de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Alternaria* (Steyn, 1999).

Los hongos que comúnmente atacan al maíz tanto en campo como en almacén pertenecen a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*; estos organismos son productores potenciales de micotoxinas (Hernández *et al.*, 2007; Montes *et al.*, 2009).

Las fumonisinas son un grupo de micotoxinas caracterizado recientemente producidas por *F. moniliforme*, un moho presente en todo el mundo y que se encuentra con frecuencia en el maíz (IARC, 1993). Se ha comunicado 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 presencia de fumonisinas en maíz se ha relacionado con casos de cáncer de esófago en habitantes de la zona de Transkei, África austral y China. Se ha estudiado la relación entre la exposición a *F. moniliforme*, en maíz de producción doméstica, y la incidencia de cáncer de esófago en la zona de Transkei durante el decenio 1976-86 (Rheeder *et al.*, 1992).

El porcentaje de granos infectados por *F. moniliforme* fue significativamente mayor en la zona de alto riesgo de cáncer durante todo el período, y las concentraciones de FB1 y FB2 fueron significativamente mayores en maíz mohoso obtenido de zonas de alto riesgo en 1986 (FAO,2014).

Importancia de las fumosininas en semillas de maíz

Las Fumosininas 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 (Rheeder *et al.*, 1992).

Nayaka *et al.* (2010) demostraron que las semillas de maíz tratadas con una suspensión de *Trichoderma harzianum* y con una aplicación posterior de un tratamiento de aspersion de una suspensión pura de *T. harzianum* reduce el contenido de fumonisinas en todos los cultivares de maíz de un 56,4% al 85,8%.

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 (IARC,1993).

Sintomatología de *Fusarium sp* en semillas de maíz

Es probablemente el hongo mas común de espiga (CIMMYT, 2003).

Este hongo, en maíz puede causar daño en todas las etapas del cultivo, en semilla, el micelio puede invadir y ocasionar manchas en las cubiertas externas, causando además disminución de la germinación por la muerte del embrión (Cisneros, 2004; Morales *et al.*, 2007; González *et al.*, 2007).

Algunas especies de *Fusarium* presentes en las semillas de causan podredumbre de semillas, de plántulas en pre o posemergencia y de raíces, reduciendo la germinación, el vigor y de las plantas logradas. También pueden afectar la elongación del hipocótilo, originando plántulas defectuosas en el período de germinación – emergencia, que difícilmente prosperen en el campo. Además bajo

determinadas condiciones ambientales producen micotoxinas peligrosas para la salud humana y animal (Ploper, 2001).

El micelio característico es algodonoso y según la especie involucrada, presenta coloración blanca, naranja pálido o tonalidades desde el rosado claro hasta el púrpura (Ploper, 2001).

En plántula y planta adulta, debilita y pudre la raíz, ocasionando acame, en el maíz, la pudrición de tallo y mazorca está asociado con *F. verticillioides* (González *et al.*, 2007).

Moreno *et al.* (1987) mencionó que de acuerdo al contenido de humedad y temperatura de almacenamiento se presentan unos géneros de hongos u otros, ya que cada uno necesita una humedad y temperatura distinta para su desarrollo.



Figura 3.- Comparación de planta sana y enferma.

Infección y diseminación

Fusarium infecta la planta a partir de la raíz, para alcanzar los entrenudos del tallo, con lo cual logra colonizar el sistema vascular y viaja por el xilema, infectando la parte aérea de la planta; los conidios de los hongos pueden ser transportados por

el aire, la lluvia y los insectos, hasta lograr ser depositados sobre la planta, una vez ahí, si logran llegar a los pelos de la mazorca (estigmas), estarán en capacidad de alcanzar el grano de maíz (CIMMYT, 2003).

La colonización del sistema vascular por *Fusarium*, particularmente, en los tallos o raíces ocasiona un secuestro de agua y nutrientes que la planta necesita para su crecimiento y desarrollo, de tal manera que aquellas parasitadas crecerán desnutridas y con tallas bajas, lo cual, obviamente, impactará su rendimiento en las mazorcas (CIMMYT, 2003)

Importancia de *Fusarium verticillioides* en semillas de maíz

Es un hongo el cual se presenta como saprofito en el suelo o bien como patógeno especializado según la planta u hospedantes relacionados que este afecte (Garces, 2001).

Clasificación taxonómica de *Fusarium verticillioides* de acuerdo a Alexopoulos y Mims (1985)

Reino: Fungi

Division: Mastigomycota

Clase: Deuteromycetes

Orden: Hipocreales

Familia: Hypocreaceae

Genero: *Fusarium*

Especie: *verticillioides*

Las microconidias son en forma de cadena larga y son ovaladas con la base aplanada, y las macroconidias son alargadas con 5 o 6 septos, dependiendo la especie (CIMMYT, 2003).

Diseminación de *Fusarium verticillioides*

Infección del tallo y la mazorca por daño mecánico. Al alimentarse, varios insectos plagas del maíz horadan las mazorcas y los tallos de la planta. Este daño mecánico funciona como ruta de entrada para las conidias de *F. verticillioides*.

Genero *Penicillium*

Penicillium destacan la síntesis de la patulina, la citrina y la ocratoxina A, los efectos en el corto y largo plazo después del consumo de micotoxinas se traducen en desórdenes fisiológicos, citotóxicos e inmunosupresivos; así como por sus efectos teratogénicos, mutágenos y cancerígenos (Albright, 2001; Fandohan *et al.*, 2003; Munkvold, 2003)

Penicillium sp se considera de almacen ,requiere que el producto que invade tenga una humedad relativa de 85-90%, en cereales de 18-2.0%, este hongo puede crecer a temperaturas muy bajas,inclusive bajo cero (-2 °C). Las especies de este gernerio reducen el poder germinativo de las semillas almacenadas (Moreno,1996).

Una cosecha inoportuna y el uso de cosechadoras mal calibradas que generan daño mecánico al grano, así como una deficiente desecación del mismo antes del almacenamiento, promueven el incremento de *Aspergillus* y *Penicillium* en el grano de maíz (Munkvold, 2003).

Algunas especies de hongos, especialmente *Penicillium oxalicum*, *Aspergillus flavus* y *A. niger* que causan la pudrición de los granos en el campo son también parásitos de los granos almacenados y pueden dañar el grano de maíz en el período de almacenamiento. Estos hongos, en el campo, atacan y dañan el grano cuando su humedad es alta, por lo general por encima de 18%. Durante el almacenamiento los hongos atacan y dañan el grano cuando la humedad está entre 14 y 18% (Smith y White, 1988).

Diseminación de *Penicillium*

Por conidias transportadas por el viento y por el almacenaje del maíz por largo tiempo con variaciones en la humedad y temperatura.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Experimento

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.



Figura 4.- Departamento de Parasitología-UAAAN

Material Genético

Se utilizaron semillas de maíces híbridos y un criollo, los cuales fueron proporcionados por el INIFAP Saltillo, Coahuila, y otros de Tepalcingo, Morelos.

- 1.- Elotero 7573
- 2.-Criollo Pozolero
- 3.- Pionner 4082
- 4.- Jaguan

Prueba de Sanidad de la Semilla

Papel Filtro y Congelación

La metodología que se utilizó fue la del papel secante y congelación, en base al Manual de Laboratorio ensayos para semillas de Maíz y Trigo (CIMMYT, 2003).

Se tomaron 200 semillas de cada material y 4 repeticiones con 50 semillas en cada caja, primordialmente, se desinfectaron las semillas en una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 3 minutos, (dos veces) y finalmente un enjuague con agua destilada por un tiempo de 1 min cada una (tres veces).



Figura 5.- Semilla desinfectada

Las semillas se colocaron de manera uniforme en las cajas de plástico las cuales contenían dos capas de papel el cual estaba humedecido, utilizando 50 por cada caja, por ultimo se sellaron las cajas con kleen pack, y se rotularon para su posterior identificación.



Figura 6.- Siembra de semillas de Maiz en charolas húmedas y selladas.

Las cajas se colocaron en la cámara bioclimática a una temperatura ambiente de 25 grados por 48 horas, posteriormente se trasladaron a un congelador de tipo palettero del laboratorio de Parasitología Molecular a una temperatura de -18 ± 2 °C por un tiempo de 24 horas. Ver figura 7



Figura 7.- Semillas en el congelador del laboratorio de Biotecnología molecular.

Cuando paso el tiempo se sacaron las cajas del congelador y se volvieron a llevar a la cámara bioclimática a una temperatura de 25 °C por 15 días, alternando 12 h con luz blanca y 12 h de oscuridad cada día.

Elaboración de Laminillas

Una vez desarrollado el micelio bajo el estereoscopio y con ayuda de una aguja de disección se tomó una pequeña cantidad de micelio aéreo el cuál fue colocado en el portaobjetos con una gota de lactofenol y se fijó con el cubreobjetos para su posterior observación e identificación bajo el microscopio compuesto.



Figura 8.- Preparación de Montaje de hongos.

Evaluación

La incidencia se maneja en términos de porcentaje, el cual se evalúa con la prueba de Tukey al 0.05 de significancia mediante el . Los datos obtenidos se analizaron mediante el programa estadístico de la Universidad Autónoma de Nuevo León, mediante comparación de medias y prueba de rangos múltiples de Tukey al 0.05 de significancia.

Prueba de Germinación

Prueba de germinación de la semilla en toallas de papel enrolladas

La metodología se realizó según el Manual de Laboratorio de ensayos para semillas de Maíz y Trigo (CIMMYT, 2003) pero en este caso modificada, ya que solo se tomaron 200 semillas de cada material de maíz, realizándose 4 repeticiones cada una con 50 semillas distribuidas uniformemente en dos hileras sobre un papel previamente humedecido, a continuación se colocó un papel húmedo encima de las semillas, posteriormente se doblaron en forma de taco y se le anotaron los datos correspondientes, por último se colocaron dentro de una bolsa de plástico este individualmente, abiertas de la parte superior, dejándolos en la cámara bioclimática a temperatura ambiente 25 °C durante 7 días.

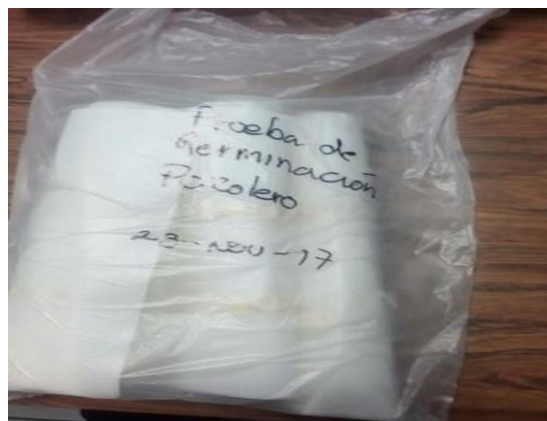


Figura 9.- Prueba de germinación.

Evaluacion

Se utilizo la evaluación según el manual de laboratorio para semillas de Maiz y Trigo CIMMYT (2003). Se realizó el conteo de plantas normales, anormales y plantas normales. Los resultados obtenidos se analizaron con el programa estadístico de la Universidad Autónoma de Nuevo León, mediante la comparación de medias y prueba de rangos multiples de Tukey al 0.05 de significancia.

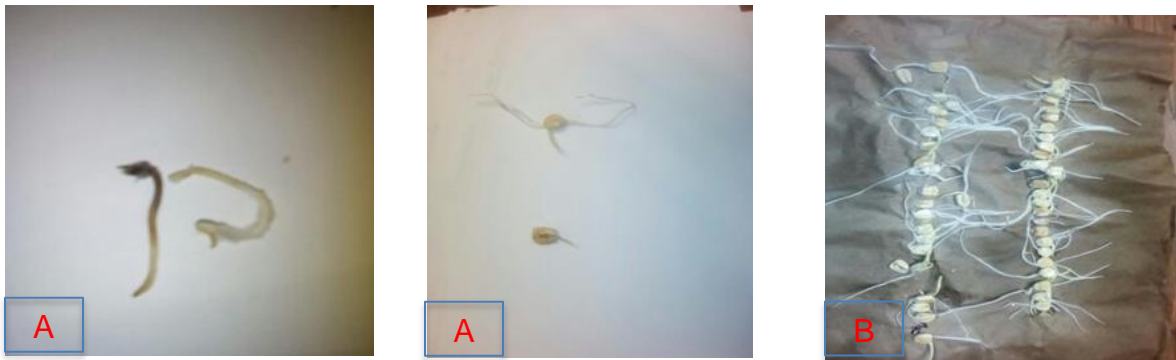


Figura 10.-- A) Plantulas anormales y semillas sin germinar, B) semillas de maíz germinadas.

Prueba de Vigor de la Semilla

Se sembraron 50 semillas en papel filtro blanco húmedos dando un total de 4 repeticiones, las semillas se colocaron de tal forma que la radícula esté apuntando hacia la parte inferior del Papel y el lado del embrión hacia arriba, finalmente se doblaron los papeles por la mitad con la finalidad de cubrir por completo las semillas.

Las bolsas de plástico se colocaron en forma vertical en una tina orientados hacia arriba, en un cuarto a temperatura ambiente por 7 días. Después de los 7 días, se tomó el registro de plántulas normales, anormales y sin germinar.

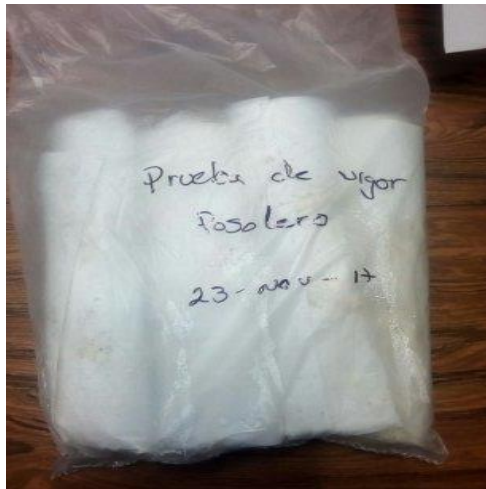


Figura 11.- Prueba de Vigor de la semilla.

Evaluación

Se realizó la evaluación de acuerdo al CIMMYT pero en este caso modificada, se obtuvo la media de las 5 plantas con mayor crecimiento y se tomó la siguiente categoría una longitud superior a $\frac{2}{3}$ de la longitud media de las 5 plantulas más largas. Los datos obtenidos se analizaron mediante el programa estadístico de la Universidad Autónoma de Nuevo León, mediante comparación de medias y prueba de rangos múltiples de Tukey al 0.05 de significancia.

La evaluación de los hongos encontrados se utilizó el libro de Barnett y Hunter y con apoyo de el personal de el laboratorio de Fitopatología.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de hongos

En esta prueba se obtuvo incidencia de 2 colonias de hongos, de diferente coloración, por lo tanto no se encontró una diferencia entre cada material genético por que ambos hongos estaban presentes.

La identificación de hongos fitopatógenos se realizó de acuerdo al Manual de Ensayos de Laboratorio para semillas de Trigo y Maíz CIMMYT (2003), se utilizaron las claves de Barnett y Hunter (1985) y con apoyo de personal del laboratorio de Fitopatología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Al realizar la observación de las colonias bajo el microscopio compuesto con el objetivo 40x, se obtuvo que la colonia color blanco presentó características de *Fusarium spp.* Las macroconidias hialinas, con paredes delgadas, y de forma oval o de garrote y están ligeramente aplanados en cada extremo y los microconidios producidos en conidióforos cortos y en cadena son las características más distintivas de *Fusarium verticillioides* (CIMMYT, 2003).

En la detección de hongos en semillas de maíz de los 4 materiales tuvieron una incidencia alta de *Fusarium*.



Figura 12.- Microconidias de *Fusarium verticillioides*.



Figura 13.- Macroconidias de *Fusarium verticillioides*

En la colonia color verde, se observaron características distintivas del género *Penicillium*, que presentó conidióforos hialinos, lisos, septados, con una serie de ramificaciones que le dan la estructura característica de de un cepillo, con típicos

fialidas hialinas en forma de frasco, que producen largas cadenas, secas de conidios CIMMYT (2003).

Este género en semillas de maíz mostro una incidencia mas baja que la de *Fusarium spp.*

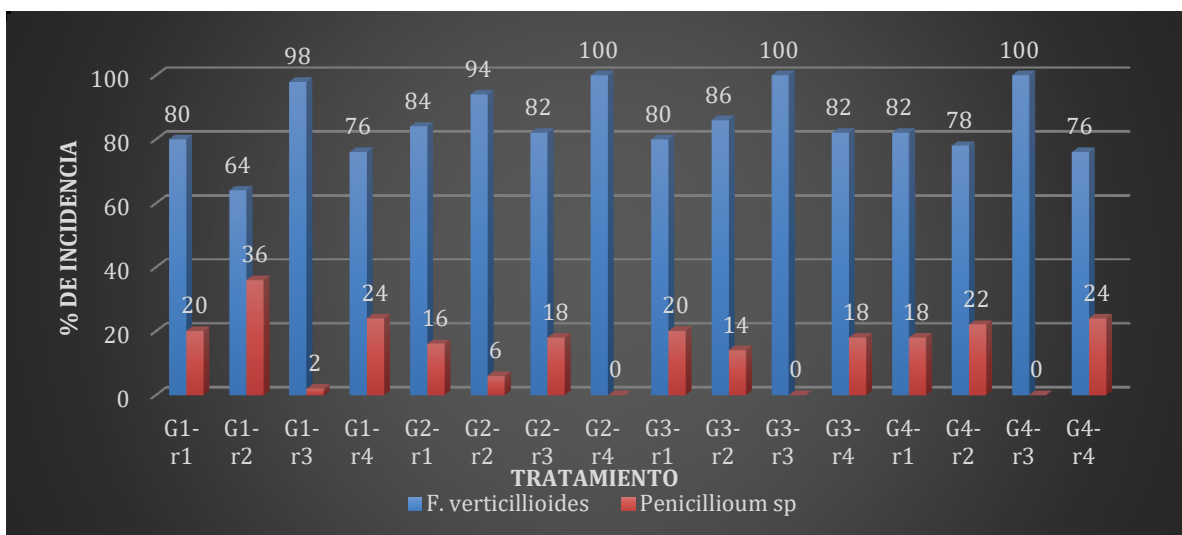


Figura 14.- *Penicillium sp* aislado de semilla de maíz.

El género *Aspergillus* ocurre con mayor frecuencia en maíz almacenado para consumo, mientras que en campo la mayor incidencia la presenta *Fusarium* y *Penicillium* (Hernández et al., 2007).

Incidencia de hongos

Cuadro 2.- Incidencia de hongos portados en los genotipos



En el cuadro anterior se muestra claramente que *F.verticillioides* fue el que tuvo mayor incidencia en los genotipos abarcando desde el 64 al 100% y *Penicillium* sp que va desde el 0 al 36%, lo que se observa que en los cuatro genotipos se obtuvo una incidencia del 100%, al igual que Vazquez (2008), reportó una alta incidencia de *Fusarium verticillioides* del 65.62% al 83.75% para el estado de Veracruz, mientras que la semilla de Guanajuato presentó un 13.75% de incidencia del hongo *F. verticillioides*.

Prueba de Germinación

El genotipo tres (Pionner 4082), fué superior, de acuerdo con el mayor número de semillas germinadas normalmente (92.50%), y los genotipos restante presentaron un porcentaje de germinación de 89.50% (Elotero 7573, Jaguan, Pozolero criollo).

Los granos de maíz deben almacenarse de tal forma que no se deteriore su calidad. Lo anterior puede lograrse si se controla la humedad del grano, la humedad relativa y la temperatura ambiente, ya que son determinantes para su conservación (Rosas *et al.*, 2007), En cambio Martinez (2016) reportó 0% de germinación, por lo consiguiente 0 % en vigor en semillas de maíz HS5G, debido a la alta incidencia del hongo *Fusarium oxysporum*, esto debido a la patogenicidad y virulencia de cada cepa de *Fusarium*.

Prueba de vigor en semilla de maíz

Las plántulas con menor grado de vigor fueron el material Elotero 7573, Pionner 4082 y los genotipos con mayor vigor fueron Pozolero criollo y en segundo el Jaguan, donde se pudo observar que los hongos si afectaron en el vigor de la semillas en estudio.

CONCLUSIÓN

Se encontraron hongos de importancia en la calidad de la semilla de los cuales fueron *Fusarium verticillioides* y *Penicillium sp* y una incidencia variable, afectando de manera significativa el vigor y la germinación de los genotipos.

El porcentaje de incidencia de *Fusarium verticillioides* fue superior al 80%, mientras que *Penicillium sp* se obtuvo un resultado no mayor al 30%, los resultados de germinación demostraron que el material genético Pioneer 4082 fue el más alto porcentaje con un valor de 92.5%, a diferencia de las otras variedades (Elotero 7573, Pozolero criollo, Jaguan) con una similitud del 89.5%.

Se puede concluir que el material Pioneer 4082 fue el mejor en el porcentaje de germinación, pero el resultado de la prueba de vigor se encontró un mejor porcentaje de el material genético Pozolero criollo (9.100%), con mencionados valores podemos observar que los hongos encontrados en las semillas de maíz afectan de forma significativa en la germinación y el vigor.

BIBLIOGRAFIA

- Alexopoulos, C.J., y Mims, W.C. 1985. Introducción a la Micología. Omega. Barcelona España. 240 p.
- Albright, D.M. 2001. Human health effects of airborne mycotoxin exposure in fungi-contaminated indoor environments. *Professional Safety* 46:26-28.
- Barnett, H.L., y Hunter, B.B. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. The American Psychopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 218 p.
- Coker, R.D. (1997). Mycotoxins and their control: constraints and opportunities. NRI Bulletin 73. Chatham, Reino Unido: Natural Resources Institute.
- IARC, International Agency for Research on Cancer (1993). Monographs on the evaluation of carcinogenic risk humans. IARC Lyon, France 445:466.
- CIMMYT, 2003. Manual de laboratorio ``ensayos para la semilla de maíz y trigo. Disponible en:
https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=Dc33MXPDP08C&oi=fnd&pg=PP1&dq=pruebas+de+sanidad++de+las+semillas+&ots=UX6logRPFb&sig=rf_8RtOtwySucFCXfqeIIMCcl4#v=onepage&q=pruebas%20de%20sanidad%20%20de%20las%20semillas&f=false
- De León, C. 2004. Enfermedades del maíz; guía para su identificación en el campo. Programa de Maíz del CIMMYT. Cuarta edición. México, D.F.
- De la Campa, R. et al. 2005. Modeling effects of environment, insect damage, and Bt genotypes on fumonisin accumulation in maize in Argentina and Philippines. *Mycopathologia*, v. 159, n. 4.
- Dalie, D. et al., 2012. Impact of *Pediococcus pentosaceus* strain L006 and its metabolites on fumonisin biosynthesis by *Fusarium verticillioides*. *Food Control*, v. 23, n. 2.

- EPPO. 2004 <https://gd.eppo.int/taxon/ZEAMX>
- FAO.1993. El maíz en la nutrición humana. Colección FAO: Alimentación y Nutrición 25.
- FAO.Food and Agriculture Organization.2014.FAOSTAT.<http://faostat.fao.org>
- González, H.A., Vázquez, G.L.M., Sahagún, C.J., Rodríguez, P.J.E., y Pérez, L.D.J. 2007. Rendimiento del maíz de temporal y su relación con la pudrición de mazorca. *Agricultura Técnica en México* 33: 33–42.
- Guzmán-De Peña D. 2007. La exposición a la aflatoxina B1 en animales de laboratorio y su significado en la salud pública. *Salud Pública de México* 49:227-235. Regeneración por acidificación de la masa. *Salud Pública de México* 47:369-375. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092013000200005&script=sci_arttext
- García J, Tornero OB, Gimeno SC.2003. Mico toxinas y cáncer pediátrico. *Rev. Esp. Pediatr*; 57: 279-280.
- Hernández DS, Reyes LA, Reyes MCA, García OJG y Mayek PN. 2007. Incidencia de hongos potencialmente toxígenos en maíz (*Zea mays* L.) almacenado y cultivado en el norte de Tamaulipas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25:127-133
- Hernández X., E. 1985. *Biología agrícola: los conocimientos biológicos y su aplicación a la agricultura*. México: Consejo Nacional para la Enseñanza de la Biología, CECSA.
- Moreno, M.E. 1996. *Análisis físico y biológico de semillas agrícolas*. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México. 383 p. ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/cccf/cccf7/cf07_17s.pdf

Mendoza, E. M., Andrino, E.E., López, B.A., Rodríguez, G.R., Latournerie, M.L., Rodríguez, H.S.A. 2006. Tasa de infección de la pudrición del tallo en maíz causada por *Fusarium moniliforme*. *Agronomía Mesoamericana* 17: 19–24.

Munkvold.(1996). <https://www.plantpath.iastate.edu/people/gary-munkvold>

Montesano R. 1997.Hepatocellular carcinoma: from gene to public health. *J Natl Cancer Inst*; 89:1844- 52

Morales-Rodríguez, I., M.J. Yáñez-Morales, H.V. Silva Rojas, G. García-de-los-Santos, y D.A. Guzmán-de-Peña. 2007. Biodiversity of *Fusarium* species in Mexico with ear rot in maize, and their identification using a phylogenetic approach. *Mycopathologia* 163:31-39.

Moreno, M.E. 1987. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México. 383 p. <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185->

. Nayaka SC, Naranjada S.R., Uday Shankara A.C., S. Niranjan Raja SN, Reddyb M.S., Prakasha H.S. and Mortensenc C.N.2010. Seed biopriming with novel strain of *Trichoderma harzianum* for the control of toxigenic *Fusarium verticillioides* and fumonisins in maize. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*,264-282

Serratos Hernández, José Antonio 2000 El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. [Greenpeace33092010000200005&script=sci_arttext](https://www.greenpeace.org/33092010000200005&script=sci_arttext)

SIAP.(2016).Sistema de informacion agroalimentaria y pesquera. [tps://www.google.com/search?ei=9hMBW_msIMLIsQWAoomgBQ&q=SI+AVI+2018+EN+MAIZ&oq=SI+AVI+2018+EN+MAIZ&gs](https://www.google.com/search?ei=9hMBW_msIMLIsQWAoomgBQ&q=SI+AVI+2018+EN+MAIZ&oq=SI+AVI+2018+EN+MAIZ&gs)

SIAVI.(2018). Sistema de informacion commercial via internet.
https://www.google.com/search?ei=bBIBW6znOs-wtgWUjrb4Dg&q=SIAP+2016&oq=SIAP+2016&gs_l=psy-ab.3..0j0i22i30k117j0i22i10i30k1j0i22i30k1.702.3921.0.4594.6.5.0.1.1.0.346.962.0j3j1j1.5.0....0...1c.1.64.psy-ab..0.4.678....0.f-rvTXYNXcM

Rodríguez-Del Bosque, L.A. 1996. Impact of agronomic factors on aflatoxin contamination in preharvest field corn in northeastern Mexico. *Plant Disease* 80:988-993.

Rodríguez-Del Bosque, L.A., Reyes-Méndez, C.A., Acosta-Núñez, S., Girón-Calderón, J.R., Garza-Cano, I. y Villanueva-García, R. 1995. Control de aflatoxinas en maíz en Tamaulipas. Folleto Técnico 17. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. Río Bravo, Tamaulipas, México. 20 p.

Rheeder, J. P., W. F. O. Marasas, P. S. Van Wyk, and D. J. Van Schalkwyk. 1990. Reaction of South African maize cultivars to ear inoculation with *Fusarium moniliforme*, *F. graminearum* and *Diplodia maydis*. *Phytophylactica* 22:213-218.

Rheeder, J.P., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Sydenham, E.W., Shephard, G.S. y van Schalkwyk, D.J. (1992). *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. *Phytopathology*, 82, 353-357.

Smith, D.R. & White, D.G. 1988. Diseases of corn. In G.F. Sprague & J.W. Dudley, eds. *Corn and corn improvement*, 3rd ed., p. 687-766. Madison, WI, USA, American Society of Agronomy.

Steyn. PS, Stander Ma.1999. Mycotoxins as causal factors of disease in humans. *J. Toxicol Toxin Review*.18: 229-243.

file:///C:/Users/particular/Downloads/FT_Fusarium%20moniliforme_2011%20(3).pd

- Payne, G.A. 1987. *Aspergillus flavus* infection of maize: silos and kernels. pp. 119-129. In: M.S. Zuber, E.B. Lillehoj, and B.L. Renfro (eds.). *Aflatoxin in Maize: A Proceeding of the workshop*. CIMMYT. El Batan, Texcoco, Edo. de Mexico. 381 p
- Ortega Paczka, R. 2003. La diversidad del maíz en México. In Esteva, G., y C. Marielle (Coordinadores). *Sin Maíz no hay País*. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, Dirección General de Culturas Populares e Indígenas, México, D. F. pp. 123-154.
- Paliwal, R. L. 2001. Origen, evolución y difusión del maíz. En: Paliwal, R. L.; Granados, G.; Lafitte, H. R.; Violic, A. D. y Marathée, J. P. (Eds.). *El maíz en los trópicos. Mejoramiento y producción*. Colección FAO: Producción y Protección Vegetal 28. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. Pp.5-9.
- Poehlman, J.M. 1987. *Breeding field crops*, 3rd ed. Westport, CT, USA, AVI Publishing. <http://www.fao.org/docrep/003/x7650s/x7650s10.htm>
- Pérez-Calvo Soler, Jorge (2005). *Nutrición energética y salud*. Debolsillo. ISBN 8497933982.
- <http://www.fao.org/docrep/005/y1390s/y1390s06.htm#TopOfPage>
- Wilkes, H.G. 1979. Mexico and Central America as a centre for the origin of agriculture and the evolution of maize. *Crop Improv.*, 6(1): 1-18.

APÉNDICE

Cuadro 3.- Incidencia de hongos en semillas de maíz de acuerdo al color de la colonia.

Genotipo	Repetición	Numero de semillas Infectadas	Incidencia	Fitopatógeno	
1.- Elotero 7573	1	40	80	<i>F. verticillioides</i>	
		10	20	<i>Penicillium sp</i>	
	2	32	64	<i>F. verticillioides</i>	
		13	26	<i>Penicillium sp</i>	
	3	49	99	<i>F. verticillioides</i>	
			1	2	<i>Penicillium sp</i>
	4	38	76	<i>F. verticillioides</i>	
			12	24	<i>Penicillium sp</i>
2.- Pozolero Criollo	1	42	84	<i>F. verticillioides</i>	
		8	16	<i>Penicillium sp</i>	
	2	47	94	<i>F. verticillioides</i>	
		3	6	<i>Penicillium sp</i>	
	3	41	82	<i>F. verticillioides</i>	
		9	18	<i>Penicillium sp</i>	
	4	50	100	<i>F. verticillioides</i>	
	3.- Pionner 4082	1	40	80	<i>F. verticillioides</i>
		10	20	<i>Penicillium sp</i>	
2		43	86	<i>F. verticillioides</i>	
		7	14	<i>Penicillium sp</i>	
3		50	100	<i>F. verticillioides</i>	
4		41	82	<i>F. verticillioides</i>	
		9	18	<i>Penicillium sp</i>	
4.- Jaguan		1	41	82	<i>F. verticillioides</i>
		9	18	<i>Penicillium sp</i>	
	2	39	78	<i>F. verticillioides</i>	
		11	22	<i>Penicillium sp</i>	
	3	50	100	<i>F. verticillioides</i>	
	4	38	76	<i>F. verticillioides</i>	
		12	24	<i>Penicillium sp</i>	

Cuadro 4.- Analisis de Varianza de la Germinacion

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	27.000000		9.000000	0.4909 0.698
ERROR	12	220.000000	18.333334		
TOTAL	15	247.000000			

C.V. = 4.74 %

Cuadr 5.- Tabla de Medias

TRATA.	REP.	MEDIA	AGRUPACION
1	4	89.500000	A
2	4	89.500000	A
3	4	92.500000	A
4	4	89.500000	A

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

Cuadro 6.- Analisis de Varianza del Vigor

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	24.473816		8.157939	30.4377 0.000
ERROR	12	3.216248	0.268021		
TOTAL	15	27.690063			

C.V. = 6.62 %

Cuadro 7.- Comparacion de Medias

TRATA.	MEDIA	AGRUPACION
2	9.1000	A
4	8.9750	A
1	6.8500	B
3	6.3350	B

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