

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”**

**DIVISIÓN DE AGRONOMIA**



**Tratamiento Químico en la Preservación de Semilla de *Pinus cembroides* Almacenado en Tres Ambientes del Banco de Germoplasma Vegetal-Coahuila**

**Por:**

**ISIDRO LÓPEZ SÁNCHEZ**

**T E S I S**

**Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

**Buenvista, Saltillo, Coahuila, México.**

**Mayo de 2007**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”**

**DIVISIÓN DE AGRONOMIA**

**DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO**

**Tratamiento Químico en la Preservación de Semilla de *Pinus cembroides* Almacenado en Tres Ambientes del Banco de Germoplasma Vegetal-Coahuila.**

**Presentada Por:**

**ISIDRO LÓPEZ SÁNCHEZ**

**T E S I S**

**Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador  
Como requisito parcial para obtener el Título de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

**APROBADA POR:**

---

**Dr. Mario E. Vázquez Badillo  
Presidente del Jurado**

---

**M.C. Adriana Antonio Bautista  
Sinodal**

---

**Ing. Yeny Valencia Martínez  
Sinodal**

---

**M.C. David Sánchez Aspeytia  
Suplente**

---

**M.C. Arnoldo Oyervidez García  
Coordinador de la División de Agronomía**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, Mayo de 2007**

## DEDICATORIA

A mis padrinos

Bruno Rodríguez

Gloria Zavala

Quienes siempre me apoyaron en todo momento, en los momentos de felicidad, alegría y tristeza. Que Dios ilumine la vida de ellos por siempre.

A mis padres

De alguna u otra forma siempre estuvieron conmigo, por haberme inculcado el respeto, el amor y el cariño. Este triunfo es para mi y para ustedes, ya que es la mejor herencia que me han dado y juntos lo sabremos aprovechar.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales de Coahuila (SEMARNAC) que a través del Banco de Germoplasma me dio la oportunidad de realizar este trabajo y por todo el apoyo brindado.

A Dios por darme la vida y guiarme en un buen camino y por darme la oportunidad de prepararme cada día mas.

Al Dr. Mario E. Vázquez Badillo, Mis más profundos agradecimientos, por su apoyo como asesor en la revisión de este trabajo y las atenciones que me brindo, para terminar esta investigación gracias de corazón.

A la M.C. Adriana A. Bautista encargada de Banco de Germoplasma Vegetal-Coahuila por la paciencia y apoyo incondicional, en los momentos que los necesite, que a pesar de todo es una persona excelente, mis respetos para ella. Gracias mil gracias.

A la M.C. Yeny quien estuvo en todo momento en las evaluaciones de esta investigación, que gracias a ella aprendí muchas cosas.

A Juanita

Que gracias a su amistad y confianza, es una excelente persona.

A Chio G. gracias por lo momentos compartidos, y la confianza eres una persona muy valiosa.

A mis amigos que de uno y de otra forma han ayudado en la realización de este trabajo.

## INDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA .....	iii
AGRADECIMIENTO .....	iv
INDICE DE CUADROS .....	vii
INDICE DE FIGURAS .....	ix
INTRODUCCION.....	1
Objetivos.....	4
Hipótesis.....	4
REVISION DE LITERATURA.....	5
Generalidades de <i>Pinus cembroides</i> (pino piñonero).....	5
Clasificación taxonómica.....	6
Morfología de <i>Pinus cembroides</i> .....	6
Características de las semillas de <i>Pinus cembroides</i> .....	7
Distribución geográfica.....	8
Factores que afecta la calidad de la semilla .....	8
Almacenamiento.....	9
Factores que afecta la longevidad de la semilla.....	11
Tratamiento químico de la semilla.....	12
Importancia de la pruebas de sanidad de la semilla.....	14
Factores que favorecen el desarrollo de los hongos de almacén de la semilla.....	14
Descripción de los hongos.....	15
MATERIALES Y METODOS.....	17
Localización del área de investigación.....	17
Material genético.....	17
Almacenamiento.....	18
Descripción de fungicidas.....	18
Tratamientos.....	19
Variables Evaluadas.....	20

Contenido de humedad.....	20
Germinación estándar.....	20
Peso seco .....	21
Pruebas de sanidad.....	21
Análisis Estadístico.....	21
Modelo lineal.....	22
RESULTADOS Y DISCUSION.....	23
CONCLUSIONES.....	41
LITERATURA CITADA .....	42
APÉNDICE.....	47

## INDICE DE CUADROS

Cuadro No	Descripción	Pagina
3.1	Descripción de los tratamiento utilizados en las semillas de <i>Pinus cembroides</i> almacenadas a 150 días.....	19
4.1.	Cuadrados medios y significancia de las variables evaluadas en semilla de <i>Pinus cembroides</i> almacenada en tres ambientes durante 150 días. ....	25
4.2.	Comparación de medias para la variable de germinación estándar en <i>Pinus cembroides</i> almacenada durante 150 días.....	26
4.3.	Comparación de medias para germinación estándar de <i>Pinus cembroides</i> almacenadas en tres ambientes. ....	27
4.4.	Comportamiento de la germinación estándar de semilla de <i>Pinus cembroides</i> tratada con funguicidas en dos dosis de aplicación.....	27
4.5.	Comparación de medias para la germinación estándar en semilla de <i>Pinus cembroides</i> tratada con fungicida y almacenada en tres ambientes..... .....	28
4.6.	Comparación de medias para plántulas anormales en semilla de <i>Pinus cembroides</i> almacenada durante 150 días en tres ambientes.....	29
4.7.	Comparación de medias de plántulas anormales en la interacción ambiente-muestreo en semilla de <i>Pinus cembroides</i> almacenada bajo tres ambientes durante 150 días.....	30
4.8.	Comparación de medias para plántulas anormales en semillas de <i>Pinus cembroides</i> tratadas con funguicidas y almacenada durante 150 días.....	30

4.9.	Comparación de medias para semilla muerta de <i>Pinus cembroides</i> y almacenada en tres ambientes durante 150 días.....	31
4.10.	Comparación de medias para semilla muerta de <i>Pinus cembroides</i> tratadas con fungicidas y almacenadas por 150 días.....	32
4.11.	Comparación de medias para semilla muerta para la interacción muestreo-fungicida en semilla de <i>Pinus cembroides</i> almacenado bajo tres ambientes.....	33
4.12.	Comparación de medias para semilla muerta para la interacción ambiente-fungicida en semilla de <i>Pinus cembroides</i> almacenada por 150 días bajo tres ambientes.....	34
4.13.	Comparación de medias para peso seco de plántulas en semilla de <i>Pinus cembroides</i> almacenada durante 150 días.....	35
4.14.	Comparación de medias para peso seco de plántula en semilla de <i>Pinus cembroides</i> almacenada durante 150 días bajo tres ambientes.....	35
4.15.	Comparación de medias para peso seco de plántula para la interacción muestreo-ambiente en semillas de <i>Pinus cembroides</i> almacenada a 150 días y tres ambientes.....	36
4.16.	Comparación de medias para peso seco de plántulas de semilla de <i>Pinus cembroides</i> tratada con fungicidas y almacenada a 150 días.....	37

## INDICE DE FIGURAS

Figura No		Pagina
4.1.	Comparación de medias para peso seco de plántulas de semilla de <i>Pinus cembroides</i> tratada con fungicidas y almacenada a 150 días.....	40
A.1	Comparación de medias para plántulas anormales para la interacción de muestreo-ambiente-fungicida en semilla de <i>Pinus cembroides</i> almacenado bajo tres ambientes y siete tratamientos durante 150 días.....	48
A.2	Comparación de medias para plántulas anormales para la interacción de muestreo-ambiente-fungicida en semilla de <i>Pinus cembroides</i> almacenado bajo tres ambientes y siete tratamientos durante 150 días.....	49
A.3	Comparación de medias para plántulas anormales para la interacción de muestreo-ambiente-fungicida en semilla de <i>Pinus cembroides</i> almacenado bajo tres ambientes y siete tratamientos durante 150 días.....	50
A.4	Comportamiento en porcentaje de los hongos y semillas libres en <i>Pinus cembroides</i> en tres ambientes a 30 días de almacenamiento.....	51
A.5	Comportamiento de los hongos y semillas libres en la semilla de <i>Pinus cembroides</i> en tres ambientes a 60 días de almacenamiento.....	52
A.6.	Comportamiento de los hongos y semillas libres en <i>Pinus cembroides</i> en tres ambientes a 90 días de almacenamiento.....	53
A.7	Comportamiento de los hongos y semillas libres en <i>Pinus cembroides</i> en tres ambientes a 120 días de almacenamiento.....	54

A.8	Comportamiento de los hongos y semillas libres en <i>Pinus cembroides</i> en tres ambientes a 150 días de almacenamiento.....	55
-----	---	----

## INTRODUCCION

Existen diversos tipos de riqueza, entre los de mayor valor se encuentra los recursos genéticos, y que a la naturaleza le ha costado millones de años crear. México es reconocido como un centro de origen de especies vegetales. En el caso de las pináceas y particularmente del género *Pinus*, se presentan alrededor de 50 taxas en México, por lo que se puede considerar como centro de origen, o por lo menos de diversidad genética.

Las coníferas de México, especialmente las pináceas se encuentran en una gran diversidad de condiciones ambientales, se distribuyen en todo el país, encontrando especies desde el nivel del mar hasta la parte más alta de las montañas.

EL *Pinus cembroides* es el más común en la República Mexicana, su zona comprende desde los Estados Fronterizos hasta Puebla. México produce el 90 por ciento de la cosecha de piñonero, es a la vez uno de los más resistentes a la sequía y se recomienda para el establecimiento en la meseta central.

Generalmente, la base de la producción de plantas de casi todas las especies forestales, es por semilla y esta puede obtenerse de las poblaciones silvestres o bien de las plantaciones establecidas.

La producción de semilla en la especie de *Pinus cembroides* particularmente es importante para el fomento forestal del Noreste de México, ya que se distribuye a lo largo de las laderas altas de la Sierra Madre Oriental del país.

Las semillas dañadas físicas o fisiológicamente se deterioran más rápidamente que las semillas no dañadas, manifestándose en su capacidad germinativa, el hombre no puede determinar el envejecimiento y deterioro de la semilla, pero lo puede retrasar y minimizar por medio de adecuadas condiciones de almacenamiento después de ser cosechada, preservando así su germinación y alto vigor hasta el momento de la siembra.

Otra de las alternativas en la protección a la semilla es la aplicación de fungicidas a la semilla para protegerla de la presencia de hongos que ocasionan la reducción y pérdida de germinación y por ende un bajo decremento en su establecimiento en viveros para su forestación.

Actualmente en nuestro país, el tratamiento químico de semillas se realiza generalmente utilizando una mezcla de fungicida e insecticida bajo determinadas condiciones de almacenamiento, puede dar excelente protección a la semilla previniéndola del ataque de hongos que se pueden presentar durante el tiempo de almacenamiento. Consecuentemente conservarla con la mayor calidad posible, sin embargo, esto no siempre ocurre, ya que con frecuencia el producto químico y las dosis aplicadas provocan en las semillas y plántulas efectos fitotóxicos

En el caso de semillas forestales hay poca evidencia sobre los fungicidas y semilla almacenada, es por esto que es de gran importancia conocer el efecto de fungicidas y la dosis necesaria aplicada a semillas forestales y su persistencia durante determinado tiempo y su efecto en el control de hongos y el mantenimiento de la calidad fisiológica de semilla.

Bajo este contexto, la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro a través del Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas (CCTDS) en coordinación con el Banco de e Germoplasma Vegetal de la Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales de Coahuila (SEMARNAC) han encaminado este trabajo planteándose los siguientes objetivos:

## OBJETIVOS

- Evaluar el efecto de tres fungicidas y dos dosis aplicados en semilla de *Pinus cembroides* y su efecto en la calidad fisiológica y sanitaria.
- Determinar la calidad fisiológica de semilla tratada con fungicidas en tres ambientes de almacenamiento durante 150 días.

## HIPOTESIS

- Los fungicidas tendrán un efecto protector en el control de hongos en semillas de *Pinus cembroides* y mantendrá la calidad fisiológica.
- La concentración máxima de fungicidas proporciona mejor protección a la semilla contra los hongos de almacén sin afectar la capacidad fisiológica de la semilla almacenada.

## REVISION DE LITERATURA

### Generalidades del *Pinus cembroides* (Pino piñonero)

Las semillas (piñones), presentan una morfología muy variada, encontrándose desde las formas más primitivas hasta las más evolucionadas dentro del género (Shaw, 1914). Al llegar a la madurez, las semillas presentan notables diferencias de tamaño, forma, peso, textura, color y grosor de los tegumentos y del color y consistencia del gametofito femenino, así como el número y longitud de los cotiledones, entre otros (Niembro, 1986).

El *Pinus cembroides* se da en toda clase de rocas; son estas calcarias y con alto contenido de yeso e ígneas; en suelos muy delgados o profundos con valores de pH entre cuatro y ocho, además de tener gran potencial adaptativo y de resistencia en condiciones climáticas difíciles (gran amplitud térmica, heladas, precipitación anual muy variable), lo que hace una especie con aptitud amplia para su uso en el sector forestal en las zonas áridas y semiáridas de México (Robert, 1977).

### **Clasificación taxonómica (Perry, 1991)**

Reino..... Plantae  
División.....Spermatophyta  
Subdivisión .....Gymnospermae  
Orden .....Coniferales  
Familia .....Pinaceae  
Genero..... Pinus  
Especie..... *Cembroides* Zucc.

### **Morfología de *Pinus cembroides***

Martínez (1948), reporta que el *Pinus cembroides* es un árbol de 5 a 15 m de altura, copa redondeada y piramidal. El tronco suele ser corto y el ramaje ralo, sobre todo en terrenos muy secos. Los conillos poseen pedúnculos cortos, subterminales, como en grupos de dos a cinco, escamas turgentes, con quilla transversal armada con una espinita dorsal (Shaw, 1909).

Las hojas están en grupos de tres, pero varios fascículos tienen dos hasta cinco. Miden de 2.5 a 7.0 centímetros, su color es verde oscuro, algo azulado pálido y a veces amarillento. Tienen un haz vascular y los conductos resiníferos son externos y en número de dos. Las vainas son de color café claro y caen pronto dejando en la base del fascículo una diminuta roseta. Las yemas son cilíndricas, largas y amarillentas. Los conillos son globulosos de color moreno rojizo, con gruesas escamas (Martínez, 1948).

## **Características de las semillas de *Pinus cembroides***

Las especies de *Pinus cembroides*, *P. ayacahuite* y *P. maximartinezii* por ejemplo, están provistas de tegumentos gruesos y leñosos. En la gran mayoría de las especies, la testa como también se le llama a los tegumentos es bastante resistente a la acción mecánica y su grosor normalmente varía entre 0.3 y 0.8 milímetro de ancho (Mirov, 1967).

Según Martínez (1948), las semillas del Pino piñonero es como una especie de nuez, color morena o negruzca, ovalada vagamente triangular, sin ala, comúnmente se encuentra dos semilla en cada escama, pero en ocasiones, cuando se trata de semillas grandes una de estas se atrofia. Su tamaño alcanza hasta 15 mm., la cubierta es gruesa, revestida hacia el interior por una capa membranosa y translúcida llamada tegmen, cuya función es proteger directamente a la almendra, la que está constituida por un albumen grasoso, de color rosado o blanco y comestible.

En *Pinus* el embrión presenta una forma lineal o ligeramente curva, cilíndrico, de color crema y colocado longitudinalmente en el centro de la semilla (Niembro, 1981).

Las semillas de *Pinus cembroides* son ortodoxas, pueden almacenarse con contenidos de humedad entre 6 y 7% y temperatura de  $\leq 0^{\circ}$  C; tales condiciones permiten mantener su viabilidad por varios años (Arriaga *et al.*, 1994).

## **Distribución geográfica**

Se distribuye en la Sierra Madre Occidental de Estados Unidos (Arizona y Nuevo México) hacia el sur de los estados de Chihuahua, Durango, Zacatecas, Aguascalientes y Jalisco, hacia el este en Guanajuato, SLP, Querétaro e Hidalgo; en la Sierra Madre Oriental esta distribuido desde Texas hacia el sur en Nuevo León, Coahuila y Tamaulipas. La humedad y la altitud son factores ecológicos importantes para su distribución, los rangos altitudinales son de 1500 a 2800 msnm, crece en asociaciones con *Pinus nelsonii* a elevaciones de casi 3000 msnm con una precipitación media de 400 a 4500 mm en los meses de estación seca, con un rango de temperatura de 0° a 22° C, siendo los meses fríos Diciembre y Enero, los meses cálidos son Mayo, Junio y Julio (Perry, 1991).

Los bosques de *Pinus cembroides* son uno de los de mayor distribución en México, formando masas puras dominantes, especialmente en la Sierra Madre Oriental, o bien mezcladas con otras especies del mismo genero (Eguiluz, 1978).

## **Factores que afecta la calidad de la semilla**

La calidad en la semilla esta en función de algunas de sus características físicas; pureza, peso, contenido de humedad, sanidad, así como también de los aspectos fisiológicos como viabilidad, germinación y vigor (ISTA, 1985).

Patiño (1983) menciona que los factores que afectan la calidad de la semilla son la madurez, la viabilidad inicial, la naturaleza de la testa y el método de procesamiento y almacenamiento de semillas.

Un aumento de la humedad en las semillas puede provocar bastantes problemas en su almacenamiento. Con un 12 al 14% de humedad se inicia la actividad de los hongos, sobre un 20% se producen calentamientos, y sobre el 40 al 60 % las semillas germinan (Hartmann y Kester, 1988).

En el intervalo de 4 a 14% de humedad, Harrington (1970, 1973) sugirió una norma práctica que se puede aplicar a muchas especies agrícolas: la vida de la semilla se duplica por cada uno por ciento que se reduzca su humedad. El efecto de la humedad en las semillas ortodoxas es probablemente el más importante de los factores que determinan la longevidad de la semilla (Holmes y Buszewicz, 1958). Reduciendo la humedad se reduce la respiración, y con ello se desacelera el envejecimiento de la semilla y se prolonga su viabilidad. Harrington (1959) relacionó la humedad con varios procesos enzimáticos que tienen lugar dentro de la semilla y en torno a ella:

Al igual que el contenido de humedad, la temperatura presenta una correlación negativa con la longevidad de la semilla; cuanto más baja es la temperatura menor es la tasa de respiración, y por ello más se prolonga la vida de la semilla almacenada. Harrington (1970, 1973) sugirió otra norma práctica para las semillas agrícolas: entre 50° y 0° C, y por cada 5° C de descenso de la temperatura de almacenamiento se duplica la vida de la semilla.

### **Almacenamiento**

Una vez que la semilla es almacenada, los principales factores que afectan la duración del periodo de almacenamiento durante la cual la semilla puede retener mas capacidad germinativa, es la humedad relativa, a través de su influencia en el contenido de humedad de semilla, y la temperatura ambiental (Harrington, 1959).

Delouche (1978) y Peske y Aguirre (1987), mencionan algunos preceptos que deben ser tomados en cuenta para realizar el almacenamiento y conservación de semillas.

1. El almacenamiento no mejora la calidad de la semilla.
2. El contenido de humedad y la temperatura de la semilla son los dos factores mas importantes que influyen en el almacenamiento.
3. La humedad de la semilla esta en función de la humedad relativa y con menor escala de la temperatura.
4. Las condiciones frías y secas son los mejores para la mayoría de las especies.
5. El potencial de almacenamiento esta en función de la especie.

Ching (1959), Duffus y Slaughter (1980) nos dice que mientras mas bajo sea el valor de la temperatura, el contenido de humedad de la semilla y la disponibilidad del oxigeno, permanecen viables por mas tiempo.

Harrington (1973), menciona que la baja calidad de las semillas no se mejora en el almacén, sino que solo se mantiene durante cierto periodo de tiempo en el almacenamiento.

Cualquiera que sea la semilla y cualquiera que sea las condiciones de almacenamiento, se observa comúnmente que la viabilidad de semilla (medida como el porcentaje de germinación bajo condiciones normales) permanece razonablemente estática por un tiempo y después comienza a declinar hasta que ninguna de las semillas germine (Duffus y Slaughter, 1980).

Al realizar un adecuado almacenamiento de semillas se necesita minimizar principalmente la perdida de viabilidad, ya que es un ser vivo que

tiende a deteriorarse y un buen almacenamiento solo hará este proceso mas lento, pero en ningún momento se tiende por ser inexorable e irreversible (Boyd y Orellana, 1978).

Además, la semilla es higroscópica varia considerablemente en su contenido de humedad atmosférica, la longevidad de las semillas depende predominantemente de su propia humedad y la humedad relativa en el almacén (Mackay y Flood, 1986).

La temperatura alta ejerce solo un efecto mínimo deteriorativo en semillas con baja humedad, esto ha demostrado que semillas con baja humedad están bien almacenadas a temperaturas de 25° C o menos, pero en semillas con alta humedad para ser almacenadas, solo es posible si la temperatura es reducida a 10° C o menos (Harrington, 1972).

### **Factores que afectan la longevidad de la semilla**

La longevidad de la semilla es una característica intrínseca de las especies (Harrington, 1972). Duffus y Slaughter (1985), Ellis y Roberts (1980), Roberts (1981) y (Bass (1980), consideran que de acuerdo con muchos experimentos sobre la longevidad de la semilla almacenada, se ha encontrado una gran variación en los resultados de estos experimentos, pero hay el acuerdo general de que los factores mas críticos en el almacenamiento de la semilla son: temperatura, contenido de humedad de la semilla y disponibilidad del oxígeno.

Gran cantidad de estudios han demostrado la importancia del contenido de humedad de la semilla y de la temperatura del almacenamiento para mantener la viabilidad de las semillas (Bass, 1980); si se mantiene un contenido de humedad cercano a 8% y bajas temperaturas, las semillas de

diferentes especies se pueden mantener viables por 100 años o mas (Roos, 1986).

Moreno (1987) reporta que en periodos largos de almacenamiento, el contenido de humedad de las semillas y las temperaturas del almacén deberán ser bajos que en periodos cortos.

La longevidad de la semilla es una característica de cada especie; algunos son de vida larga y otras son de corta vida. Las semillas ortodoxas del *Pinus cembroides* tienen una vida larga, reducir la temperatura y el contenido de humedad nos permite almacenarla por mas tiempo.

Según Harrington (1959), el contenido de humedad de la semilla influye mas que la temperatura en la velocidad del deterioro de la semilla, respecto a la importancia de la temperatura y la humedad relativa regula el contenido de humedad de la semilla (Delouche, 1980).

### **Tratamiento químico de la semilla**

Se ha detectado que el comportamiento fisiológico de la semilla tratada químicamente varia de acuerdo a la dosis aplicada, al tipo y característica del producto químico, al manejo del producto sobre la semilla, a las condiciones ambientales bajo las cuales se almacena y se conserva, y al movimiento que sigue el producto en las estructuras morfológicas de la misma.

El objetivo de adherir fungicidas e insecticidas a la semilla, es la de proteger de hongos e insectos que ocasionan la reducción y perdida de germinación hasta decrementos en rendimientos (Sinclair, 1981), así como de los que atacan a la semilla durante su almacenamiento (Ramírez, 1966).

La condición física y fisiológica de la semilla determinan su periodo de vida (Copeland y McDonald, 1985) y su respuesta durante el almacenamiento (Roos, 1986), así las semillas dañadas físicas o fisiológicamente se deterioran mas rápidamente que semillas no dañadas, manifestándose en su capacidad germinativa (Copeland y McDonald, 1985).

Por su parte Moreno y Heredia (1983), al utilizar diferentes dosis de tiabendazole aplicadas en seco a semilla de sorgo y posteriormente almacenada por 120 días a 75 % de humedad relativa y 27° C no encontraron diferencias entre las dosis aplicadas pero si en el periodo de almacenamiento; sin embargo a 85 % de humedad relativa si hubo diferencias significativas entre los tratamientos químicos.

Otro estudio desarrollado por Moreno y Vidal (1981), donde trataron semillas de maíz H-412 con 9.8 % de contenido de humedad y en la que aplicaron 750 ppm. de captafol A, captafol B, captan, benomil, diclofluanid, clorotalonil, carbendazim-M y tiabendazole no encontraron perdidas significativas en la calidad fisiológica de la semilla cuando esta fue almacenada por 150 días bajo condiciones adversas de 85 % de humedad relativa y 26° C, puesto que todos los fungicidas probados mantuvieron una germinación elevada. No obstante cuando el contenido de humedad fue del 16 % solo carbendazim-M, captan y diclofluanid presentaron porcentajes de germinación altos a los 102 días de almacenamiento adverso correspondiendo los porcentajes de germinación más bajos a benomil y tiabendazole.

### **Importancia de las Pruebas de Sanidad de la semilla**

El análisis de semilla permite conocer con bastante aproximación su comportamiento para fines de propagación, lo cual es de utilidad en la realización de trabajos, tales como producción de plántulas en vivero para fines de forestación. Las pruebas de la sanidad de las semillas son necesarias para bacterias patógenas por que las semillas son el inóculo mayor para enfermedades bacterianas y fungosas; las semillas infectadas introducen enfermedades en áreas libres o introducen razas virulentas; la inspección visual de los campos no representa ni da una adecuada sanidad de un lote de semillas (Neergard, 1979).

Los patógenos en las semillas afectan directa o indirectamente la calidad de la semilla, originando con ello pérdida en su rendimiento; pueden sufrir en el campo una reducción en su población debido a que los patógenos atacan y matan las plántulas (Anderson y Leach, 1984).

Los hongos de almacén inician su invasión en las últimas etapas de formación de las semillas, su actividad comienza con el almacenamiento del mismo y se incrementa paulatinamente entre 65 a 90 %, crece en contenidos bajos de humedad en la semilla y con una humedad relativa alta, los géneros involucrados son *Aspergillus sp.* y *Penicillium* (Moreno, 1986).

### **Factores que favorecen el desarrollo de los Hongos en la semilla**

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

- a) La humedad, es el factor mas importante en la preservación de los granos, tanto la humedad relativa como el agua contenida en los granos, ya que la disponibilidad es determinante en el desarrollo de los insectos y de los hongos de almacén, en cambio los hongos requieren de humedades muy altas para su desarrollo. Los hongos de almacén que mas daño causan a los granos y semillas requieren de humedades relativas superiores al 75%.
  
- b) La temperatura, es el segundo factor en importancia para el crecimiento de estos hongos, lo que puede crecer desde temperaturas que llevan el calentamiento de los granos en ocasiones hasta su combustión.

### **Descripción de los hongos**

Las especies de *Penicillium* que se consideran de almacén, requieren que los productos que invaden tengan contenidos de humedad en equilibrio con humedades relativas de 85 a 90%. Estos hongos pueden crecer a temperaturas muy bajas, inclusive bajo cero, Ciertas especies se les considera hongos toxígenos, capaces de producir diversas micotoxinas. Las especies de este genero reducen el poder germinativo de las semillas almacenadas. Las colonias son de color verde o azul (Moreno, 1988).

*Aspergillus*, se les considera como hongos comunes del almacén, además es un microorganismo que coloniza productos que se encuentran en avanzado estado de deterioro. Requiere que los productos tengan contenidos de humedad en equilibrio con humedades relativas menores del 90 por ciento (Moreno, 1988).

*Alternaria* es un hongo de campo muy común en trigo y otros cereales, no se le considera toxígeno, aun cuando en algunos laboratorios lo han

hecho producir toxinas, entre ella el ácido tenuazonico, las cuales no han sido detectadas en el campo. Este hongo presenta conidioforos oscuros, ligeramente produciendo cadenas de conidios, no nacen en cadenas, sino individualmente y con apéndice terminal simple o bifurcado. Las Colonias del hongo son de color negro (Moreno, 1988).

## **MATERIALES Y METODOS**

### **Localización del área de investigación**

El presente trabajo se realizó en el Banco de Germoplasma Vegetal “Coahuila”, el cual pertenece a la Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales de Coahuila de la SEMARNAC, ubicado en el Km. 2.5 de la carretera Saltillo – Zacatecas y en las coordenadas 25° 22.5' latitud norte y 101° 00.70' longitud oeste, a una altitud de 1766 msnm. Con una temperatura media de 19.81° C y una precipitación de 298.5 mm anuales, las pruebas de sanidad se realizaron en el laboratorio del Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Granos y Semillas de la UAAAN.

### **Material Genético**

El material utilizado se tomó de la localidad Santa Victoria del cañón la Playa que se encuentra a una altura de 2360 msnm del municipio de Saltillo, la colecta se realizó el 2 de Octubre del 2005.

## **Almacenamiento**

Las características de los ambientes en donde se realizó la investigación fueron; a) Cuarto frío A, manteniendo una temperatura controlada de 4° C y humedad relativa de 44-60%, b) Cuarto frío B. A una temperatura de 4° C y 75-100% de humedad relativa y c) Ambiente no controlado, se llevo a la intemperie de las instalaciones del Banco de Germoplasma Vegetal. El periodo de almacenamiento fue de 150 días con un total de seis muestreos, cada muestreo fue a 30 días, donde las semillas fueron colocadas en cada uno de los ambientes de forma aleatoria (al azar).

## **Descripción de fungicidas**

Ph Thiram (disulfuro de tetrametiltiuram)

Este producto químico se encuentra en el grupo de los ditiocarbamatos, el cual es el primer grupo de los fungicidas orgánicos, se usa principalmente como protector de semilla, es muy estable y baja toxicidad (González y Gomez, 1985).

Captan

N-(Triclorometiltio)-4-cicloexeno-1,-ditiocarboximida, es un excelente fungicida de bajo y de amplio espectro usado como protectante, erradicante de hongos en 82 cultivos, entre los que podemos mencionar maíz, sorgo y trigo. Es relativamente no toxico para las plantas, de baja toxicidad para los mamíferos, compatible con la mayoría de los fungicidas y no esta sujeto a la resistencia por los patógenos.

Captan es aplicado en formulaciones en un 20 a 75 por ciento como polvo, 30 a 75 por ciento mezclado con agua (W.P), 30 a 75 por ciento como

concentraciones fluctuables y de 30 a 80 por ciento como concentraciones emulsificables. Suministra gran protección tanto en las plantas como en tratamiento a las semillas. Su nombre comercial son: Captan, Intercaptan, Biocaptan, Fluctan, Funcaptan, etc.(Jeffs, 1986).

### Tratamientos

Se utilizaron tres fungicidas, siendo estos captan, thiram y carbendazim, en dos dosis además de un testigo (sin fungicida) que fueron aplicados a la semilla. En el Cuadro 3.1. se presentan los fungicidas y dosis aplicados a la semilla de *Pinus cembroides*. Para su mezcla se utilizó un frasco de vidrio con la finalidad de mezclar el producto químico y tener una mejor adherencia a la semilla.

Cuadro 3.1. Descripción de los tratamientos utilizados en las semillas de *Pinus cembroides* almacenadas a 150 días.

<b>Fungicidas</b>	<b>Dosis (gr. l. A. /ton)</b>	<b>Tratamiento</b>
Captan	1000	1
	750	2
Thiram	600	3
	400	4
Carbendazim	800	5
	600	6
Testigo	SIN TRATAMIENTO	7

### Variables evaluadas

### **Contenido de humedad de la semilla**

Se realizó por el método de estufa a 130° C por 16 ±1hr. y se calculó mediante la siguiente formula:

$$CH = \frac{P2 - P3}{P2 - P1} * 100$$

Donde:

P1 = peso de la caja y su tapa.

P2 = peso de la caja, la tapa y la semilla.

P3 = peso de la caja, la tapa y la semilla después del periodo del secado.

### **Germinación estándar**

Este parámetro se realizó de acuerdo a las reglas de la International Seed Testing Association (ISTA, 2004), el método que se utilizó fue el de entre papel, lo cual consistió en poner el papel secante en una charola con agua a saturación, después fueron colocadas las 25 semillas entre dos hojas de papel, orientando el micrópilo hacia la parte inferior de la hoja; una vez puesta las semillas se procedió a enrollar formando un taco, se identificó el material de las cuatro repeticiones, luego se colocaron en bolsas de plástico: finalmente se colocaron en la cámara de germinación a una temperatura de 20 a 25° C.

La evaluación se llevo a cabo a los 28 días, se determino plántulas normales, anormales, semillas muertas; los datos se presentaron en porcentaje.

### **Peso seco**

Para obtener el peso seco de plántula, se tomaron las plántulas normales de la prueba de germinación de cada repetición, los cuales se colocaron en bolsas de papel perforadas previamente identificadas, posterior a ello fue sometido a la estufa de secado a una temperatura de 65° C durante 24 horas. Una vez concluido el tiempo de secado en la estufa se colocaron en un desecador para su enfriamiento por 15 minutos.

El peso seco se determinó restando el peso de la bolsa dividido por el número de plántulas normales y multiplicado por 1000. El valor se presenta en miligramos por plántula (mg/plántula).

### **Pruebas de sanidad**

Esta prueba se realizó mediante el uso del medio de cultivo Malta Sal Agar (MSA) en una proporción de 60 % de NaCl, malta 20% y agar 20%, medio que es utilizado para hongos de almacén; se realizaron dos repeticiones de 10 semillas con sus respectivos testigos, desinfectando las semillas con hipoclorito de sodio al 2% durante un minuto, posteriormente se sembró en el medio y fue incubado a 27° C por siete días. Después del tiempo de incubación se evaluó las semillas sanas o libres de patógenos y posteriormente se realizó la identificación de hongos presentes basado en el manual para identificación de hongos en granos y sus derivados (Moreno, 1988) y CIMMYT (s/año).

### **Análisis estadístico**

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 3 factores, donde el factor A fue el Muestreo, B el Ambiente y el factor C los Fungicidas. El software que se utilizó fue el MSTATC, programa estadístico de la Universidad de Michigan, Para realizar la prueba de comparación de

medias para aquellas fuentes de variación que resultaron significativas al 0.01 y 0.05 de probabilidad se realizó la prueba de Tukey al 0.05%.

**Modelo lineal (Rodríguez 1991)**

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \lambda_k + \alpha\lambda_{ik} + \beta\lambda_{jk} + \alpha\beta\lambda_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

$\mu$  = Efecto de la media general.

$\alpha_i$ = Efecto del Muestreo.

$\beta_j$ = Efecto del Ambiente.

$\alpha\beta_{ij}$ = Efecto de la interacción Muestreo-Ambiente.

$\lambda_k$ = Efecto del Fungicida.

$\alpha\lambda_{ik}$ = Efecto de la Interacción Muestreo-Fungicida.

$\beta\lambda_{jk}$ = Efecto del Ambiente-Fungicida.

$\alpha\beta\lambda_{ijk}$ = Efecto de la triple interacción Muestreo-Ambiente-Fungicida..

$\varepsilon_{ijk}$ = Efecto del error experimental.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro 4.1 se observa que en la fuente de variación fungicida, todas las variables evaluadas resultaron ser altamente significativas ( $p \leq 0.01$ ), al igual que el muestreo para las plántulas anormales (PA) y peso seco (PS), mientras que en germinación estándar (GS) fue significativo ( $p \leq 0.05$ ), no así para semilla muerta (SM), quien fue no significativo; para la fuente de variación ambiente, la variable de semilla muerta y germinación estándar resultaron altamente significativos y solo para peso seco resultado significativo, mientras que en la variable de plántula anormal resultado no significativo.

Para la interacción muestreo-ambiente, las variables de plántulas anormales y peso seco resultaron altamente significativas, no así para germinación estándar y semilla muerta que fueron no significativos. Para la interacción muestreo-fungicida solo la semilla muerta resultado significativo, mientras que germinación estándar, plántulas anormales y peso seco no presentaron significancia.

Para la interacción ambiente-fungicida, las variables de germinación estándar y semilla muerta resultaron significativas y para germinación estándar y peso seco no fueron significativos, y para la triple interacción muestreo-ambiente-fungicida la variable de plántulas anormales fue significativo, no así para germinación estándar, semillas muertas y peso seco, quienes no presentaron significancia. Los coeficientes de variación en germinación estándar, semilla muerta y peso seco oscilaron entre 9.17 y 14.27, mientras que en plántulas anormales fue de 34.40 considerándose alto; esta variación es debida a las características propias de la variable.

Cuadro 4.1. Cuadrados medios y significancia de las variables evaluadas en semilla de *Pinus cembroides* almacenada en tres ambientes durante 150 días.

<b>F.V.</b>	<b>G. L.</b>	<b>G. S.</b>	<b>P. A.</b>	<b>S. M.</b>	<b>P. S.</b>
Muestreo	5	218.489 *	4.195 **	0.960 NS	375.275 **
Ambiente	2	639.294 **	0.683 NS	8.379 **	200.976 *
Fungicida	6	7047.082 **	1.978 **	75.428 **	818.259 **
Muestreo * Ambiente	10	45.398 NS	0.848 **	0.886 NS	160.172 **
Muestreo * Fungicida	30	85.152 NS	0.461 NS	1.010 *	44.041 NS
Ambiente * Fungicida	12	165.423 *	0.575 NS	1.264 *	110.111 NS
Muestreo * Ambiente * Fungicida	60	60.164 NS	0.512 *	0.585 NS	49.753 NS
Error	378	74.799	0.338	0.578	64.353
C.V. %		12.57	34.40	14.27	9.17

\*\* = Nivel de Significancia (0.01)

\* = Nivel de Significancia (0.05)

NS=No Significativo.

Donde:

G.S.= Germinación Estándar.

P.A.= Plántula Anormal.

S.M.= Semilla Muerta.

P.S.= Peso Seco.

En el Cuadro 4.2 observamos que la semilla almacenada de *Pinus cembroides* se encontró que a medida que el tiempo pasa la calidad de la semilla tiende a disminuir, sin embargo se observó que al final del muestreo, la germinación baja en un porcentaje no muy considerable, también se observó que existen algunos altibajos en la germinación durante los muestreos, esto puede ser debido a que durante los muestreos hubo incidencia de hongos durante la germinación de las plántulas de las cuales al ser infectadas fueron consideradas como semillas muertas, sin embargo, estas deficiencias fueron no significativas.

Esto coincide con Moreno *et. al* 1994, quien al realizar un trabajo de investigación con siete líneas de maíz tratadas con fungicida y almacenada durante 70, 140 y 210 días, encontró que conforme mayor es el tiempo de almacenamiento hay una disminución en la germinación

Cuadro 4.2. Comparación de medias para la variable de germinación estándar en *Pinus cembroides* almacenada durante 150 días.

<b>Muestreo</b>	<b>Germinación Estándar</b>
0 días	70.0 a
30 días	70.4 a
60 días	69.0 a b
90 días	68.1 a b
120 días	65.9 b
150 días	69.2 a b

Para la germinación estándar se observó que para los ambientes controlados de almacenamiento en los cuartos fríos A y B se comportaron estadísticamente iguales, mas numéricamente hubo una pequeña diferencia, sin embargo el ambiente no controlado fue mejor al tener un mayor porcentaje de germinación (Cuadro 4.3), al tener 70.8% de germinación.

Cuadro 4.3 Comparación de medias para germinación estándar de *Pinus cembroides* almacenadas en tres ambientes.

<b>Ambiente</b>	<b>Germinación Estándar</b>
Cuarto frío A	68.512 b
Cuarto frío B	67.012 b
Condiciones no controladas	70.881 a

Los resultados obtenidos en semilla tratada con los diferentes fungicidas en la germinación estándar se aprecia en el Cuadro 4.4 que el captan a dosis de 1000 gr.i.a./ton fue quien tuvo un porcentaje mayor de germinación, seguido del captan a dosis 750 gr.i.a./ton con una diferencia mínima, sin embargo el carbendazim a 600 gr.i.a./ton presento el menor numero de germinación aun por debajo del testigo, quien registro 67.1 %.

Cuadro 4.4. Comportamiento de la germinación estándar de semilla de *Pinus cembroides* tratada con fungicidas en dos dosis de aplicación.

<b>Fungicida / dosis (gr. l. A./ton)</b>	<b>Germinación Estándar</b>
Captan 1000	86.2 a
Captan 750	79.0 b
Thiram 600	62.5 d
Thiram 400	64.2 c d
Carbendazim 800	62.0 d
Carbendazim 600	60.4 d
Sin tratamiento	67.1 c

En las diferentes condiciones de humedad relativa a que fueron almacenada las semillas de *Pinus cembroides*, en el Cuadro 4.5 se pudo observar que el ambiente de almacenamiento bajo condiciones no controladas (CNC) fue mejor en cuatro de los siete tratamientos, sin embargo en carbendazim en sus dos dosis y thiram a 600 gr.i.a./ton fue menor al testigo del cuarto frío A, pero no rebasaron al de mejor comportamiento que fue el cuarto frío A con el tratamiento captan a 1000 gr.i.a./ton, quien tuvo el mayor efecto en los tres ambientes, seguido de

captan a 750 gr.i.a./ton. Para el ambiente tres el mejor resultado fue obtenido en captan a 750 gr.i.a./ton, este resultado fue similar al del cuarto frío B con captan a 1000 gr.i.a./ton; el testigo estuvo por encima del thiram y carbendazim con sus dos dosis.

Novo y Meneses (1985) aplicaron captan, thiram y benomil en la semilla de sorgo y obtuvieron una mínima colonización de hongos y una máxima germinación comparados con el testigo.

Cuadro 4.5. Comparación medias para germinación estándar en semilla de *Pinus cembroides* tratada con fungicida y almacenada en tres ambientes.

Fungicida / dosis (gr. l. A./ton)	Ambientes		
	Cuarto Frío A.	Cuarto Frío B.	*A.C.
Captan 1000	88.417 a	82.583 abc	87.667 ab
Captan 750	78.500 bc	75.667 cd	82.917 abc
Thiram 600	63.333 efg	60.167 efg	64.000 efg
Thiram 400	65.000 efg	63.500 efg	64.250 efg
Carbendazim 800	59.250 fg	59.500 fg	67.250 def
Carbendazim 600	55.917 g	62.000 efg	63.417 efg
Testigo	69.167 de	65.667 ef	66.667 def

AC: Ambiente no controlado

En la comparación de medias para plántulas anormales (Cuadro 4.6), se observó que existen diferencias estadísticas en los seis muestreos, donde se aprecia que a 120 días presentó mayor por ciento de plántulas anormales con 2.02 %, sin embargo entre cero a 150 días solo hubo diferencias entre el menor y mayor por ciento de anormalidad de 0.58 %, lo que significa que es indistinto la producción de plántulas anormales de *Pinus cembroides* tratada en los distintos fungicidas y sus dosis respectivos.

Cuadro 4.6. Comparación de medias para plántulas anormales en semilla de *Pinus cembroides* almacenada durante 150 días en tres ambientes.

Muestreo	Plántulas Anormales %
0 días	1.4 c d
30 días	1.7 b c
60 días	1.6 b c d
90 días	1.8 a b
120 días	2.0 a
150 días	1.4 d

En el Cuadro 4.7. Se observó que en el cuarto frío B presento menor numero de plántulas anormales, con un promedio fue de 1.62%, seguido del cuarto frío A (1.68) y del almacenamiento bajo condiciones no controladas, quien resultó con una mayor incidencia de plántulas anormales (1.75%), lo cual nos indica que el almacenar bajo condiciones controlados al menos para esta especie reduce la presencia de anomalidad en las plantas, sin embargo no esta marcado, ya que es una diferencia no significativa un promedio de 0.076%.

Yadav y Pant (1979). Obtuvieron resultados similares al almacenar semillas de maíz a 90% de humedad relativa y 35° C, se deterioro rápidamente a los dos meses. Mientras a los 70% de Hr. fue mas lento.

Cuadro 4.7.Comparación de medias de plántulas anormales en la interacción ambiente - muestreo en semilla de *Pinus cembroides* almacenada bajo tres ambientes durante 150 días.

Muestreo (días)	Ambiente		
	Cuarto Frío A	Cuarto Frío B	AC*
0	1.33 c	1.38 c	1.66 abc
30	1.68 abc	1.75 abc	1.67 abc
60	1.77 abc	1.43 c	1.76 abc
90	1.89 abc	2.01 ab	1.61 ab
120	2.05 ab	1.80 abc	2.22 a
150	1.35 c	1.39 c	1.58 bc

\*Ambiente no controlado

En la interpretación de la comparación de medias para plántulas anormales, se observa que la semilla sin tratamiento presentó mayor

porcentaje (2.05%), sin embargo entre 0 y 150 días solo hubo diferencia entre el menor y mayor porcentaje de germinación de 0.49%, lo que significa que es indistinto la presencia de plántulas anormales de *P. cembroides* tratada en los distintos fungicidas en sus dosis respectivos (Cuadro 4.8).

Cuadro 4.8. Comparación de medias para plántulas anormales en semillas de *Pinus cembroides* tratadas con fungicidas y almacenada durante 150 días.

<b>Fungicida / dosis (gr. l. A./ton)</b>	<b>Plántulas anormales (%)</b>
Captan 1000	1.672 b
Captan 750	1.553 b
Thiram 600	1.643 b
Thiram 400	1.613 b
Carbendazim 800	1.608 b
Carbendazim 600	1.685 b
Sin tratamiento	2.052 a

En la Interpretación de la triple interacción de plántulas anormales se puede presenciar en las Figuras A1, A2 y A3 la variable de plántulas anormales, donde la semilla tratada con captan a 750 gr.l.A/ton fue el mejor en los tres ambientes utilizados al presentar plántulas anormales mas bajas, mientras que en los demás tratamientos no fueron significativos a excepción del testigo, ya que el numero de plántulas anormales fue el mas alto.

En el cuarto frío B que presento al menos en tres ambientes de los tratamientos utilizados presentaron plántulas anormales bajos (60, 90 y 120 días). Mientras que en el cuarto frío A se presentaron a 0 y 150 días y bajo condiciones no controladas solamente a los 30 días de almacenamiento. Sin embargo en el cuarto frío A del muestreo cinco tuvo el mayor número de plántulas anormales en los tres ambientes.

Como se puede apreciar en el Cuadro 4.9, el comportamiento de las semillas muertas en los tres ambientes estuvo entre 0.44%, se observo que el ambiente no controlado hubo menor porcentaje de semilla muerta (5.1%),

sin embargo, en el cuarto frío B presento mayor porcentaje de semilla al ser almacenado a una humedad relativa oscilando entre 90 y 100%; al bajar la humedad relativa (cuarto frío A) disminuyo el porcentaje de semilla muerta.

Cuadro 4.9. Comparación de medias para semilla muerta de *Pinus cembroides* y almacenada en tres ambientes durante 150 días.

<b>Ambiente</b>	<b>Semilla muerta</b>
Cuarto frío A	5.2 b
Cuarto frío B	5.5 a
Ambiente no Controlado	5.1 c

En los resultados de la comparación de medias para la semilla muerta (Cuadro 4.10), el mas efectivo fue el captan a 1000 gr.i.a./ton, seguido de la dosis de 750 gr.i.a./ton, no así para thiram a 600 gr.i.a./ton y carbendazim en sus dos dosis, ya que estadísticamente fueron iguales, pero numéricamente el tratamiento con menor eficiencia fue el carbendazim a 600 gr.i.a./ton quien presento un alto porcentaje en semilla muerta, estando por encima del testigo en un porcentaje de 0.104 %.

Cuadro 4.10. Comparación de medias para semilla muerta de *Pinus cembroides* tratada con fungicidas y almacenadas por 150 días.

<b>Fungicida / dosis (gr. l. A./ton)</b>	<b>Semilla muerta (%)</b>
Captan 1000	3.417 d
Captan 750	4.421 c
Thiram 600	6.003 a
Thiram 400	5.842 a b
Carbendazim 800	6.011 a
Carbendazim 600	6.104 a
Sin tratamiento	5.479 b

En el Cuadro 4.11 se observó durante todo el periodo de almacenamiento (150 días), que el captan a 1000 gr.i.a./ton fue el mejor al tener el por ciento de semilla muerta mas bajo, seguido del captan a 750 gr.i.a./ton n, no así para carbendazim con la dosis a 800 gr.i.a./ton n y 600

gr.i.a./ton, quienes obtuvieron los valores mas elevados, considerando que para este producto no es recomendable la aplicación a la semilla al presentar un numero mayor de semillas muertas, según se demostró en este trabajo.

Cuadro 4.11. Comparación de medias para semilla muerta para la interacción de muestreo fungicida en semilla de *Pinus cembroides* almacenado bajo tres ambientes.

Fungicida /dosis (gr.l.A/ton)	Tiempo de almacenamiento (días)					
	0	30	60	90	120	150
Captan 1000	2.868 l	3.367 hi	3.733 ghi	3.044 hi	3.883 ghi	3.608 ghi
Captan 750	4.823 bcdef	4.252 efgh	3.857 ghi	4.765 cdefg	4.103 fghi	4.723 defg
Thiram 600	5.893 abcd	5.828 abcd	6.220 a	5.822 abcd	6.301 a	5.955 abcd
Thiram 400	5.647 abcd	5.493 abcde	6.276 a	5.844 abcd	5.987 abcd	5.803 abcd
Carbendazim 800	5.688 abcd	6.057 ab	5.684 abcd	6.291 a	6.254 a	6.092 ab
Carbendazim 600	6.392 a	6.047 abc	6.053 ab	5.962 abcd	6.036 abc	6.134 a
Testigo	5.201 abcdef	5.357 abcdef	5.363 abcdef	5.702 abcd	5.793 abcd	5.460 abcde

Como se puede presenciar en el Cuadro 4.12, el comportamiento de los tres ambientes almacenada de la semilla de *Pinus cembroides*, el ambiente no controlado presento menor por ciento de semilla muerta, ya que se presento en cinco tratamientos en tener la menor cantidad de semillas muertas, el fungicida captan a 1000 gr.i.a./ton fue el mas efectivo al presentarse una mínima cantidad de semillas muertas en los tres ambientes.

Cuadro 4.12. Comparación de medias para semilla muerta para la interacción ambiente - fungicida en semilla de *Pinus cembroides* almacenada por 150 días bajo tres ambientes.

Fungicida / dosis (gr. l. A./ton)	Ambiente		
	Cuarto Frío A.	Cuarto Frío B	*AC
Captan 1000	3.125 h	3.926 fgh	3.201 gh
Captan 750	4.432 ef	4.829 de	4.001 fg
Thiram 600	5.965 abc	6.150 ab	5.895 abc
Thiram 400	5.825 abc	5.982 abc	5.719 abc
Carbendazim 800	6.207 ab	6.252 ab	5.575 bcd
Carbendazim 600	6.434 a	6.052 abc	5.826 abc

\*Ambiente no Controlado

En el Cuadro 4.13. se puede observar que a 60 días de almacenamiento se obtuvo un alto porcentaje de peso seco, seguido del primer muestreo con una diferencia numérica de 0.449 mg/plántula, no así para el muestreo a 30 días, ya que se comporto con el más bajo en peso. Sin embargo, se aprecia una diferencia entre los muestreos y no llevan una secuencia, ya que esto estuvo muy ligado al tamaño de las plantas tomadas para esta prueba.

Cuadro 4.13. Comparación de medias para peso seco de plántulas en semilla de *Pinus cembroides* almacenada durante 150 días.

Muestreo	Peso seco (%)
0 días	89.693 a b

30 días	84.545 c
60 días	90.142 a
90 días	86.614 a b c
120 días	86.484 b c
150 días	87.469 a b c

Para el peso seco total, las medias (Cuadro 4.14) estadísticamente no hubo diferencia significativas entre los tres ambientes, pero numéricamente el cuarto frío A presento mayor cantidad de peso que estuvo almacenado a una humedad relativa controlada que de la misma manera en el cuarto frío B con diferencias mínimas de peso y para el ambiente no controlado presento menor peso de los tres ambientes.

En los resultados obtenidos por Arulnandhy y Herach 1990 fue similar al almacenar 85 genotipo de soya durante nueve meses semillas de arroz en condiciones con controladas con 14 y 16 % de humedad se deterioro mas rápido que al estar almacenado a 10% de humedad.

Cuadro 4.14. Comparación de medias para peso seco de plántula en semilla de *Pinus cembroides* almacenada durante 150 días bajo tres ambientes.

<b>Ambiente</b>	<b>Peso seco</b>
Cuarto frío A	88.324 a
Cuarto frío B	87.897 a
AC	86.252 a

\* Ambiente no Controlado

En el Cuadro 4.15, se muestra la interacción muestreo-ambiente para peso de plántula, donde los mejores resultados se obtuvieron para el cuarto frío A, ya que en tres de los seis muestreos presentaron valores altos comparados con los otros ambientes, sin embargo a 60 días de almacenamiento bajo condiciones no controladas registro el mayor porcentaje de peso seco con 91.86% mg/plántulas.

Cuadro 4.15. Comparación de medias para peso seco de plántula para la interacción muestreo-ambiente en semillas de *Pinus cembroides* almacenada a 150 días y tres ambientes.

Muestreo	Ambiente		
	Cuarto Frío A.	Cuarto Frío B.	Ambiente no Controlado
0 días	89.121 abc	91.221 ab	88.737 abcd
30 días	86.909 abcd	85.382 abcd	81.344 d
60 días	90.861 abc	87.700 abcd	91.864 a
90 días	88.919 abcd	87.655 abcd	83.267 cd
120 días	83.941 bcd	88.002 abcd	87.509 abcd
150 días	90.193 abc	87.422 abcd	84.792 abcd

El Cuadro 4.16 se observa que en peso seco de plántula, se registro un mayor peso en el captan a 1000 gr.i.a./ton, seguido de captan a 750 gr.i.a./ton, mientras que para el thiram a 400 gr.i.a./ton y carbendazim en sus dos dosis presentaron valores bajos, inclusive por debajo del testigo,

Kishnasamy y Sheshu 1987 citan en su estudio que al tratar la semilla de arroz con producto químico no presento efectos adversos sobre la germinación.

Cuadro 4.16. Comparación de medias para peso seco de plántulas a semilla de *Pinus cembroides* tratada con fungicidas y almacenada a 150 días.

Fungicida / dosis (gr. l. A./ton)	Peso seco (mg/plantula)
Captan 1000	93.289 a
Captan 750	89.877 a b
Thiram 600	87.416 b c
Thiram 400	82.831 d
Carbendazim 800	85.641 c d
Carbendazim 600	85.584 c d
Sin tratamiento	87.801 b c

## Sanidad de semilla

En el muestreo a los 30 días para los tres ambientes, el mayor porcentaje de semilla libre se tuvo en la semilla tratada con captan a 1000 gr.i.a./ton y 750 gr.i.a./ton, porcentaje que oscilo entre 70 y 100 %; sin embargo el que tuvo un porcentaje entre 55 y 80 por ciento de semilla libre fue el tratamiento a base de carbendazim a 800 gr.i.a./ton, comparado con el testigo, quienes tuvieron porcentajes altos de *Penicillium* (Figura A.4).

La incidencia de *Penicillium* se observo fuertemente en la semilla tratada con thiram en sus dos dosis, carbendazim a 600 gr.i.a./ton y el testigo para el ambiente del cuarto frío A, cuarto frío B y CNC. También se observo poca incidencia de *Alteraria* y *Aspergillus niger* pero estos no fueron significativos.

En la Figura A.5 se presento el comportamiento de los hongos a 60 días, donde se presento mayor porcentaje de semilla libre de la semilla tratada con captan en sus dos dosis, porcentaje que oscilo entre 85 y 100 % de semillas libre de hongos, sin embargo para carbendazim a 600 gr.i.a./ton, tuvo un porcentaje entre 60 y 85 % comparado con el testigo, también se observo que para el carbendazim a 800 gr.i.a./ton en los ambientes del cuarto frío B y Condiciones no controladas empezó a tener efecto al incrementar el numero de semillas libre de hongos.

El hongo de *Penicillium* se observó fuertemente con la semilla tratada con thiram a 400 gr.i.a./ton n y 600 gr.i.a./ton para los tres ambientes, El ambiente en condiciones no controladas tuvo incidencia que oscila entre

57.5 y 80 % de infestación comparado con los ambientes del cuarto frío A y B. Sin embargo la presencia de *Aspergillus niger* en el ambiente bajo condiciones no controladas fue nula, mientras que los ambientes del cuarto frío A y B osciló entre 5 y 15 % de presencia de *Alternaria* en los tres ambientes osciló entre 5 y 40 %.

Halder y Gupta (1982) que sometieron semilla de girasol a desecación y preimbibición con y sin tratamiento de captan a 95 por ciento de humedad relativa, almacenadas a 28° C, destacan que en semillas preimbibidas, la germinación se perdió después de 40 días y a los 50 días tuvo presencia de hongos.

En la Figura A.6 se observó que a 90 días de almacenamiento, el mayor porcentaje de semilla libre se presentó en la semilla tratada con captan a 1000 y 750 gr.i.a./ton, presentando un promedio de 95 y 100 %, sin embargo para el carbendazim a 800 gr.i.a./ton osciló entre 75 y 90 % de semilla libre, también se puede apreciar que para la semilla tratada con carbendazim a 600 gr.i.a./ton tuvo valores altos en los ambientes del cuarto frío A y B, no así para el ambiente bajo condiciones no controladas, comparados estos resultados con el testigo estuvieron por encima del testigo.

La incidencia de *Penicillium* se presentó fuertemente en la semilla tratada con thiram a 400 y 600 gr.i.a./ton y el testigo en los tres ambientes. La incidencia de *Alternaria* en los tres ambientes estuvo presente en las semillas tratadas con carbendazim a 600 y 800 gr.i.a./ton y el testigo, mismos que oscilaron entre 10 y 60 % de infestación, la presencia de *Aspergillus niger* fue mínima, excepto thiram a 600 gr.i.a./ton en el ambiente bajo condiciones no controladas.

En la Figura A.7 se observó que para los tres ambientes a 120 días de almacenamiento, el mayor porcentaje de semilla libre se presentó con el captan a 750 gr.i.a./ton en los tres ambientes, no así para el captan a 1000 gr.i.a./ton que solamente fue bueno en dos ambientes, también se observó que para los tres ambientes se presentó *Penicillium* en las semillas tratadas con thiram en sus dos dosis y el testigo, a la vez que también se presentó muy poca incidencia de *A. níger* y *Alternaria*.

En la Figura A. 8 se observó que para los tres ambientes tuvo mayor número de semillas libres de patógenos, los tratamientos captan a 1000 y 750 gr.i.a./ton, con una respuesta entre 50 y 80% de semilla libre, el tratamiento carbendazim a 600 y 800 gr.i.a./ton el thiram estuvo muy similar en sus resultados con el testigo, la incidencia de *Penicillium* se vio fuertemente en la semilla tratada con thiram en sus dos dosis y el testigo en los tres ambientes, *Alternaria* tuvo una mayor incidencia en el cuarto frío B y la incidencia de *A. níger* fue muy baja.

Rivera (1991) encontró que el tratamiento químico no mejoró la calidad sanitaria de la semilla, sin embargo los hongos presentes en las semillas de maíz en ambiente natural no ejercieron actividad deteriorativa en las semillas.

Como se presenta en la Figura 4.1 el comportamiento de la humedad de la semilla se mantuvo estable en el cuarto frío B, sin embargo bajo condiciones no controladas descendió ligeramente a los 120 días. En el cuarto frío A tuvo una tendencia a incrementarse hasta el quinto muestreo oscilando entre 8.45 y 13.98 % de contenido de humedad, ya que después tendió a descender a los 150 días a 12.93 %.

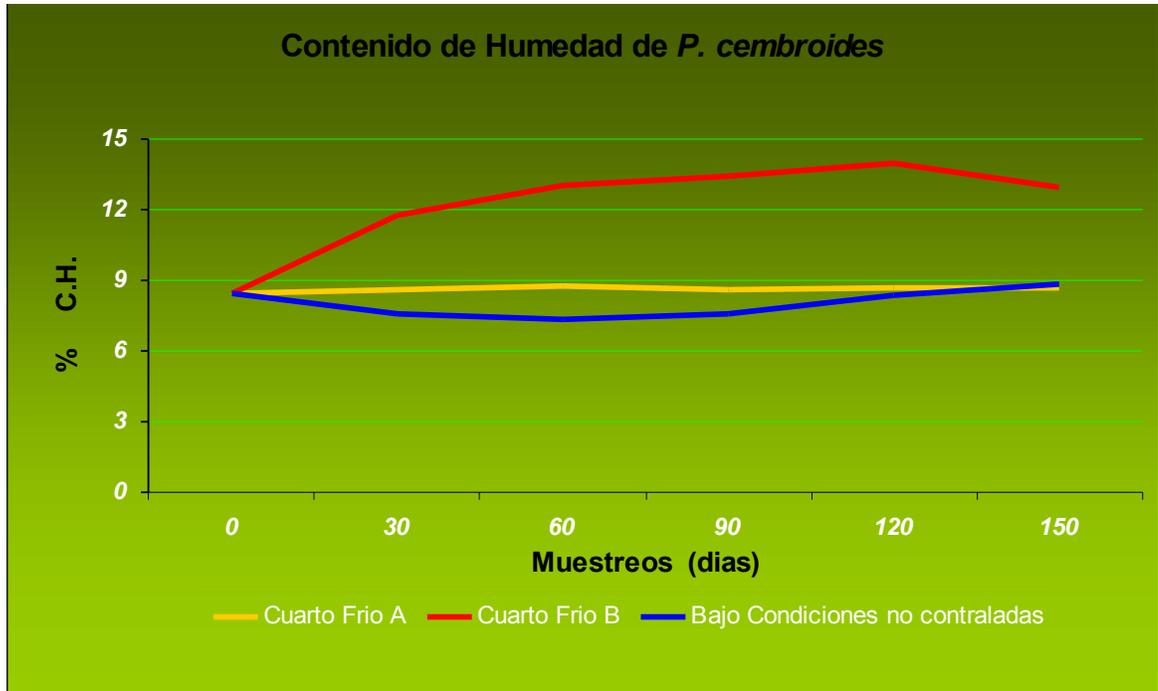


Figura 4.1. Comportamiento de la humedad de la semilla de *Pinus cembroides* almacenado durante 150 días.

## CONCLUSIONES

Con la especie de *Pinus cembroides* almacenado bajo diferentes condiciones, y en relación a los objetivos planeados en el presente estudio, se obtuvieron las siguientes conclusiones:

1. Las condiciones apropiadas para el almacenamiento de semillas, se presento en el ambiente bajo condiciones no controladas puesto que la germinación fue mas alta.
2. El fungicida captan a 1000 gr.i.a./ton fue el mas sobresaliente en los siete tratamientos al tener mayor porcentaje de germinación.
3. El captan a 1000 y 750 gr.i.a./ton obtuvieron un mejor efecto protector en la semilla en los tres ambientes
4. El fungicida capta a 1000 gr.i.a./ton a 150 días de almacenamiento mantuvo una mínima presencia de hongos
5. El fungicida captan a 750 gr.i.a./ton presento un efecto protector a la semilla al presentar poca diferencia con captan 1000 gr.i.a./ton.
6. El fungicida carbendazim a 600 gr.i.a./ton resulto ser el menos efectivo para esta investigación, al no presentar efecto protector a la semilla

## LITERATURA CITADA

- Anderson, A.M. y M.C. Leach. 1982. Analisis de la semilla para descubrir los organismos que son llevados en ellas. Anuario del Departamento de Agricultura de E.U. Ed. CECOSA. 804-811. p.
- Arulnandhy, V. and H.M.E. Herat 1990. cultivar variation in storability of soybean seed under a lowland humid environment in Sri Lanka. Seed abstracts 13(13):786 U.K.
- Arriaga, V., V. Cervantes y A. Vargas, 1994. Manual de reforestación con especies nativas: colecta y preservación de semillas, propagación y manejo de plantas. SEDESOL / INE Facultad de Ciencias UNAM, Mexico. D. F.
- Bass, L.N. 1980. Controlled atmosphere and seed storage. Seed Sci. and Technol. 1: 403-492, The Netherlands.
- Boyd, H.A. y J. Orellana. 1978. Características de las instalaciones para almacenamiento de semillas En: Boyd H.A. y R. Echando (comp). Seminario Internacional sobre Tecnología de Semillas para Centroamérica, Panamá y el Caribe, Univ. Edo. Miss. San José, Costa Rica, p. 256-272.
- Ching, T. M. 1959. Biochemical aspects of seed vigor. Seed sci. and Technol. 1:73-88. The Netherlands.
- CIMMYT. Ensayo para la germinación de maíz y de trigo. Manual de Laboratorio. 84. pp. sin año.
- Copeland, L. O. and M.B. McDonald. 1985 Principles of seed Sci. and Technology 2da. ed, McMillan Publishing Company. U.S.A. 321 p.
- Delouche, J. C. 1978. Seed. Preceptos para el almacenamiento de la semilla. En: Boyd, A. H y R. Echad; (Comp.) Seminario internacional sobre tecnología de semillas para Centroamérica, Panamá y el caribe. Univ. Edo. Miss. San José Costa Rica. 218 - 255.
- \_\_\_\_\_ 1980. Some thoughts on seed storage. Proc. Short course for seedsmen. Seed. Tech. Lab. Miss. state. Univ. Misissippi, Miss. 22:91-103.

- Duffus, C. y C. Slaughter. 1980. Las semillas y sus usos. A.G.T. Editor, S.A. México. 188.
- \_\_\_\_\_ 1985. Las semillas y sus usos. Editorial A. G. T. México. P.50, 84-89.
- Eguiluz. P., T. 1978. Ensayo de la integración de los conocimientos sobre el genero Pinus en México. 93-98 pp.
- Ellis, R. H. and E. H.Roberts. 1980. The influence of temperature and moisture on seed viability period in barley (*Hordeum distichum* L.) Ann. Bot.. 45:31-37.
- González D. J.R. y Gomez M. S. 1985. Persistencia bajo temporal de varias gramineas, Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" Campo Experimental de Zonas Áridas de Coahuila. (Memoria)
- Halder S. y K. Gupta. 1982. Effect of storage of sunflove. 321 pp. The Netherlads.
- Harrington J.,F. 1959, Dry ing storage and packaging seed to maintain germination and vigor. Proc. Miss short. Course for seedmen p. 89-107 USA.
- \_\_\_\_\_ 1970. Seed and Pollen storage for conservation of plant gene Resources in plants-their exploration and conservation, Handbook N 11. International Biological Programne. Londres.
- \_\_\_\_\_ 1972. Seed storage and longevity In: T.T. Kozlowsky (De) Seed biology. Academy Press. N.Y. USA. 194 -195. pp.
- \_\_\_\_\_ 1973. Practical instructions and advice on seed storage. Proc. Int. Seed Test. Assoc. 28:989-994.
- Hartmann, J. F. y D. E. Kester 1988 Propagación de Plantas: Principios practicas 3era Impresión. Editorial CECSA, México. 145 p.
- Holmesm G. D. y G. Buszewics,1958. The storage of seed of temperature forest tree species. For abst. 19:313-322, 455-478.
- International Seed Testing Association (ISTA, 1985). Internacional rules. For seed testing,. Seed sci. Techn.,. Surich. Zwitterald pp. 299-335.
- Internacional Seed Testing Association (ISTA,2004).. Internacional Rules for Seed Testing. Annexe to chapter 7 see hearth.

- Jeffs, K.A. 1986. A Brief History seed treatment. In: Jeffs, K.A. (Ed). Seed treatment 2 ed. Rothamsted Experimental station Great Britain. p.1-5
- Krishnasamy, V. and D.V. Seshu. 1987. Seed Treatment in Rice. J. Seed Tech. II (1):69-78. Manila Philipines.
- Martínez, M. 1948 Los Pinos Mexicanos. Segunda Edición Bota. México 361 pp.
- Mackay, D.B. and R. Flood 1986. Investigation in crop seed longevity II. The viability of cereal stored in permeable and impermeable containers. J. of The National Ints. of Agr. Bot. 11:378-402. United King dom.
- Mirov, N. T. 1967 The genus Pinus. The Ronald Press Co., N. Y.
- Moreno M., E. y G. Heredia A. 1983. Efecto del Fungicida Tiabendazole sobre la preservación de la semilla de sorgo en el almacén. And. Inst. Biol Uni. Nac. Autónoma de Mexico. 54:189-194. pp. Inst. Biol. UNAM, Mexico.
- Moreno, M. E., Vazquez Badillo M. E., Navarrete R. and Ramirez, G.J. 1994. Seed Sci. and Tech., 22:541-549. Effect of fungi and chemical treatment on viability of maize and barley seeds with different storage characteristics.
- Moreno., M., E. y Vidal G. 1981. Preserving the viability of stored Maize Seed with fungicides. Plant Dis. 65:260-261 pp Inst. Biol UNAM, Mexico.
- Moreno, M. E. 1987. Efecto de fechas y métodos de cosecha y ambientes de almacenamiento sobre la calidad de la semilla de soya. (*Glycine max* L. Tesis de maestría. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. 160 p.
- \_\_\_\_\_ 1988. Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados. Universidad Nacional Autónoma de México. 109 pp.
- \_\_\_\_\_ 1995. Los hongos de almacén y las micotoxinas. I curso-Taller internacional sobre métodos para la detección de patógenos en semillas. Memorias. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- \_\_\_\_\_ 1996. Análisis Físico y Biológico de semillas Agrícolas 3era edición. Instituto de Biología UNAM, Mexico, D. F. 393 P.
- Neergard, P. 1979. Seed Pathology. Vol. I. McMillan Press L. T. D. Great Britain. 839. p.

- Niembro, A. 1981. Caracterización anatómica y morfológica de semillas forestales. SFF\SARH.
- \_\_\_\_\_ 1986. Mecanismo de reproducción sexual en pinos. Limusa México 130. p.
- Novo, R. J. and Meneces, 1985. Effectiveness of fungicides in seed treatment of grain *Sorghum*, *Sorghum bicolor*. Seed abstracts. 8(7): Abstrac 2121. Great Britain.
- Patiño, V. F. 1983. Flowering , fruiting, cone collection and some asecs from seed. On the mexican ines. Internacional Symposium on seed rocessing. Vol II, A. No 22, Bergen, Norway.
- Perry. J., J., P. 1991. The pines of Mexico and a America Central. Timber press. Inc. Pórtland, Oregon, USA, 563 pp.
- Peske. S. T. y Aguirre. 1987. Manual para operaciones de unidades de beneficio de semillas. U. B. S. Unidad de semillas CIAT. Cali Colombia. 17-81 pp.
- Ramirez, G.,M, 1966. Almacenamiento y Conservación de granos y semilla CECSA, México 300 p.
- Rivera A. 1991. Estudio sobre la fototoxicidad y combate de los hongos de almacén con fungicidas en semilla de trigo almacenada bajo condiciones de alta y baja humedad. Tesis de profesional. Centro Básico. Departamento de Biología. Universidad Autónoma de Aguascalientes. México p. 87.
- Robert. M., F. 1977. Nota sobre el estudio ecológico y fitogeografico de los bosques de *Pinus cembroides* Zucc. en México Ciencia Forestal 2, 45-58 pp.
- Roberts, E. H. 1981. Dormance in rice seed III. The influence of temperature, moisture, and gaseus enviroment. Exp. Bot 25: 381-390.
- Rodriguez S. M. 1991. Experimentos Factoriales con un Tratamiento extra. Métodos de Investigaciónn Pecuaria. Editorial Trillas Mexico, p. 20-133.
- Roos, E.E. 1986. Physiology of seed deterioration. Ed. by M. B McMacdonald, Jr and C. J. Nelson. Crop sci. Society of America. Inc. Madison Wisconsin, USA. 16-17 Capitulo 1.

- Slinclair., J. B. 1981. Fungicida sprays of the control seed borne pathogens of rice. Soy beans and wheat. Seed Sci. and Tech. The Netherlands. Tesis Rivera Palacios Felipe UAAAN.
- Shaw. R., G. 1909. Los pinos de Mexico. Serie técnica reforestación N. 15 Comisión Forestal, Michoacán, México 79 pp.
- Shaw, R. G. 1914. The genus Pinus. Publ. Arnold Arbor. 5,96 p. Cambridge Mass.
- Yadav, T.D. and N.C. Pant 1979 . Moisture content-relative humidity relation ships of legumes seed. Ress. 7(1):11-17. USA.

# **A P E N D I C E**

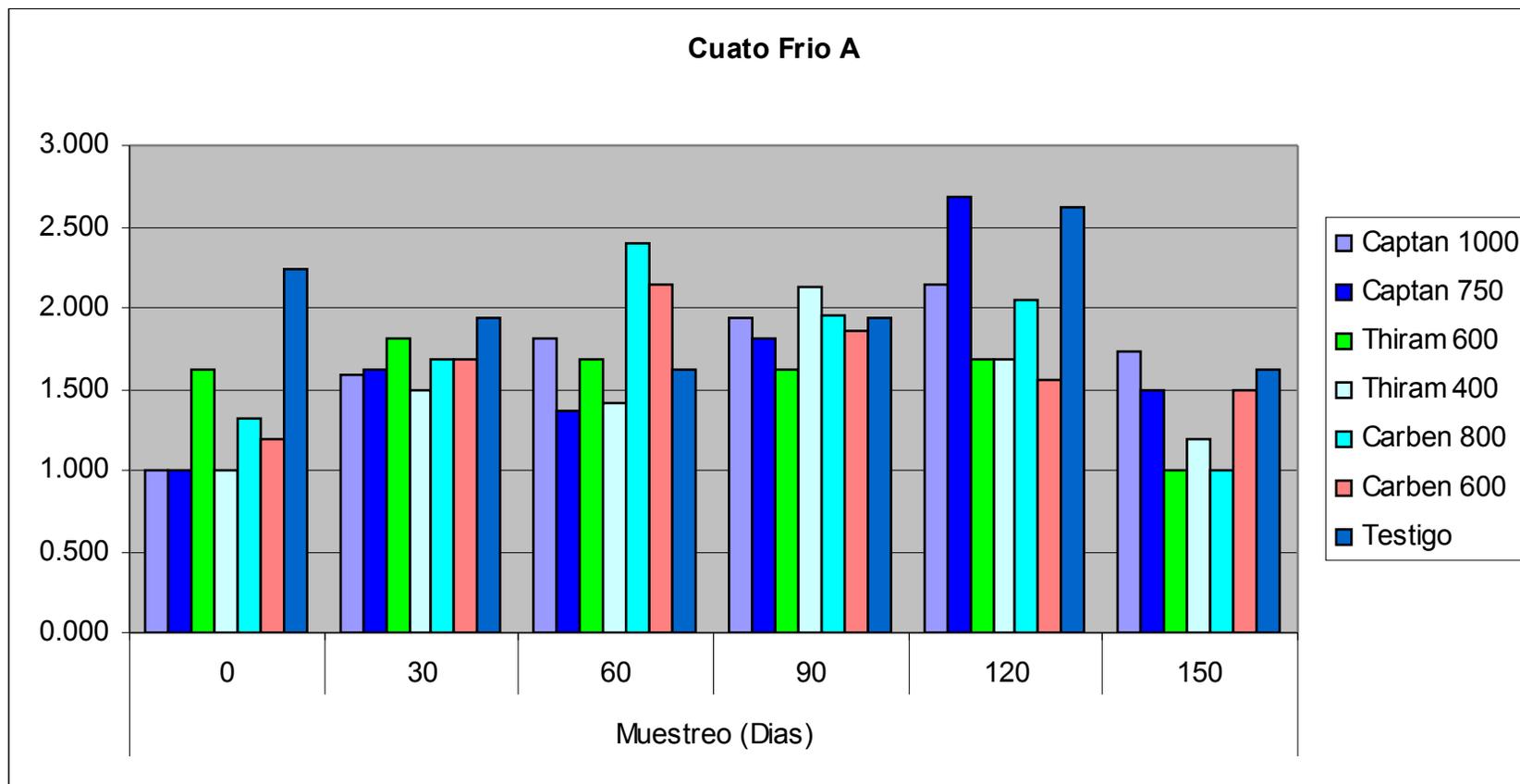


Figura A.1 Comparación de medias para plántulas anormales para la interacción de muestreo-ambiente-fungicida en semilla de *Pinus cembroides* almacenado bajo tres ambientes, durante 150 días

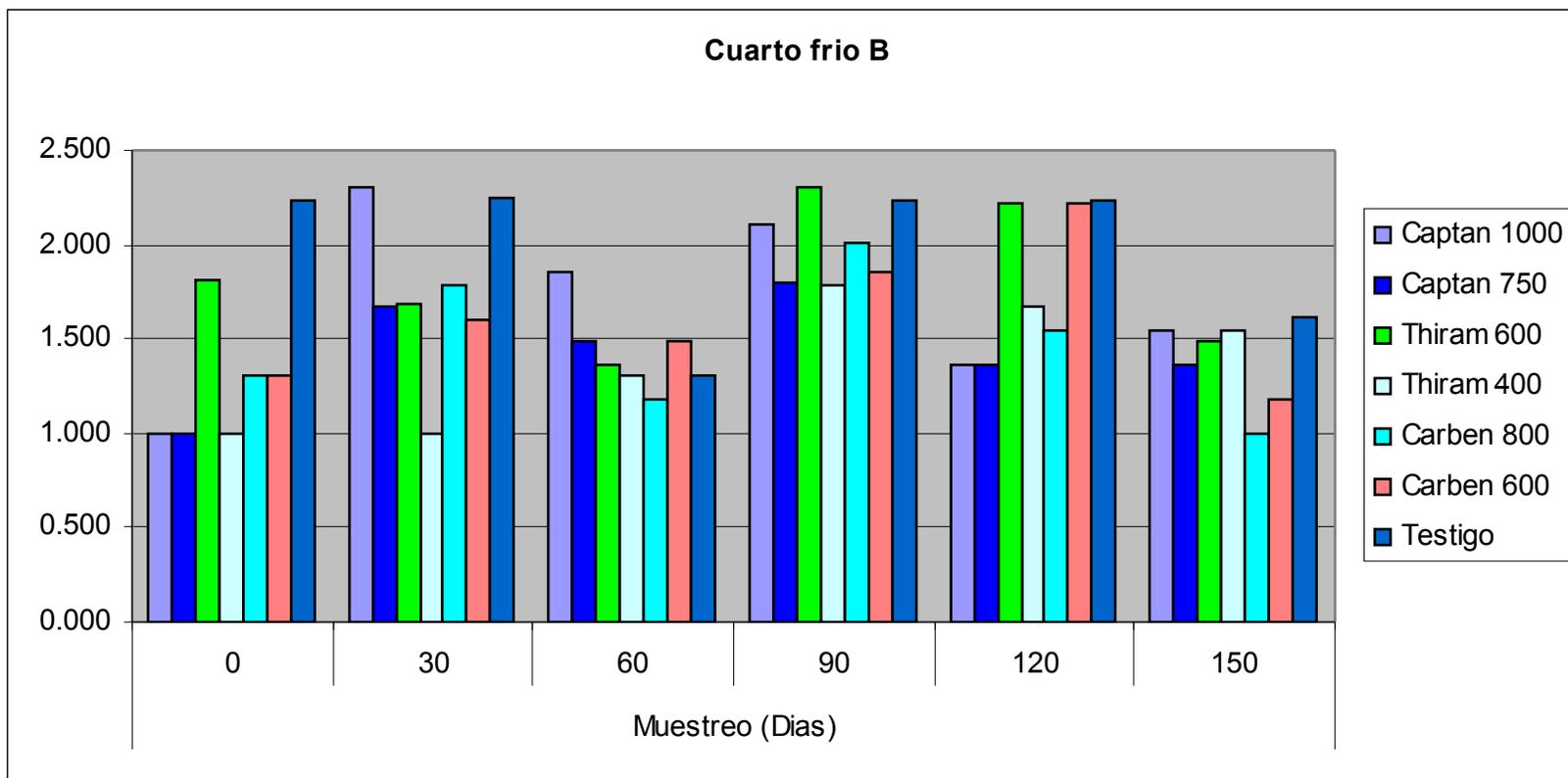


Figura A.2 Comparación de medias para plántulas anormales para la interacción de muestreo-ambiente-fungicida en semilla de *Pinus cembroides* almacenado bajo tres ambientes, durante 150 días

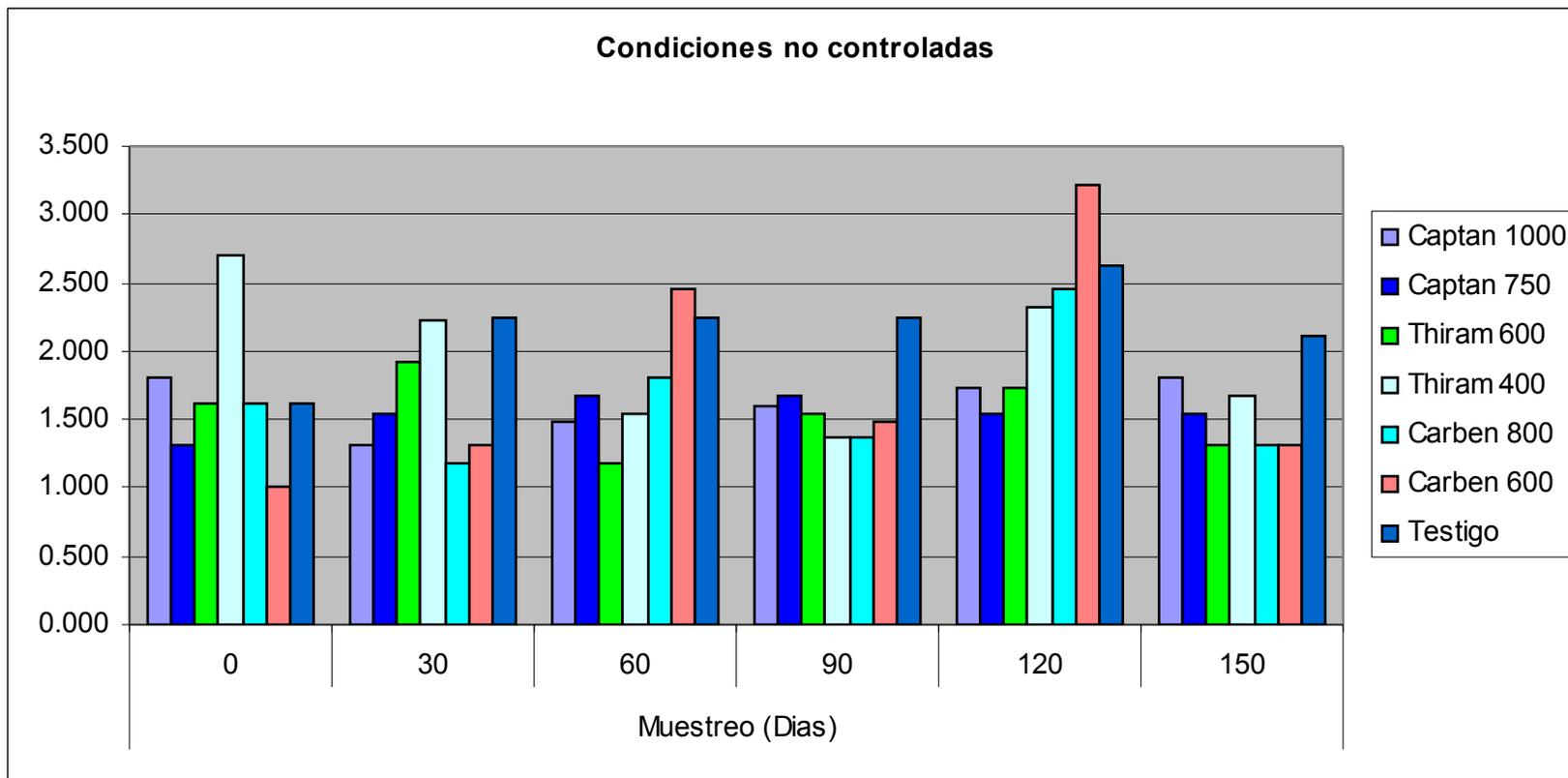


Figura A.3 Comparación de medias para plántulas anormales para la interacción de muestreo-ambiente-fungicida en semilla de *Pinus cembroides* almacenado bajo tres ambientes, durante 150 días

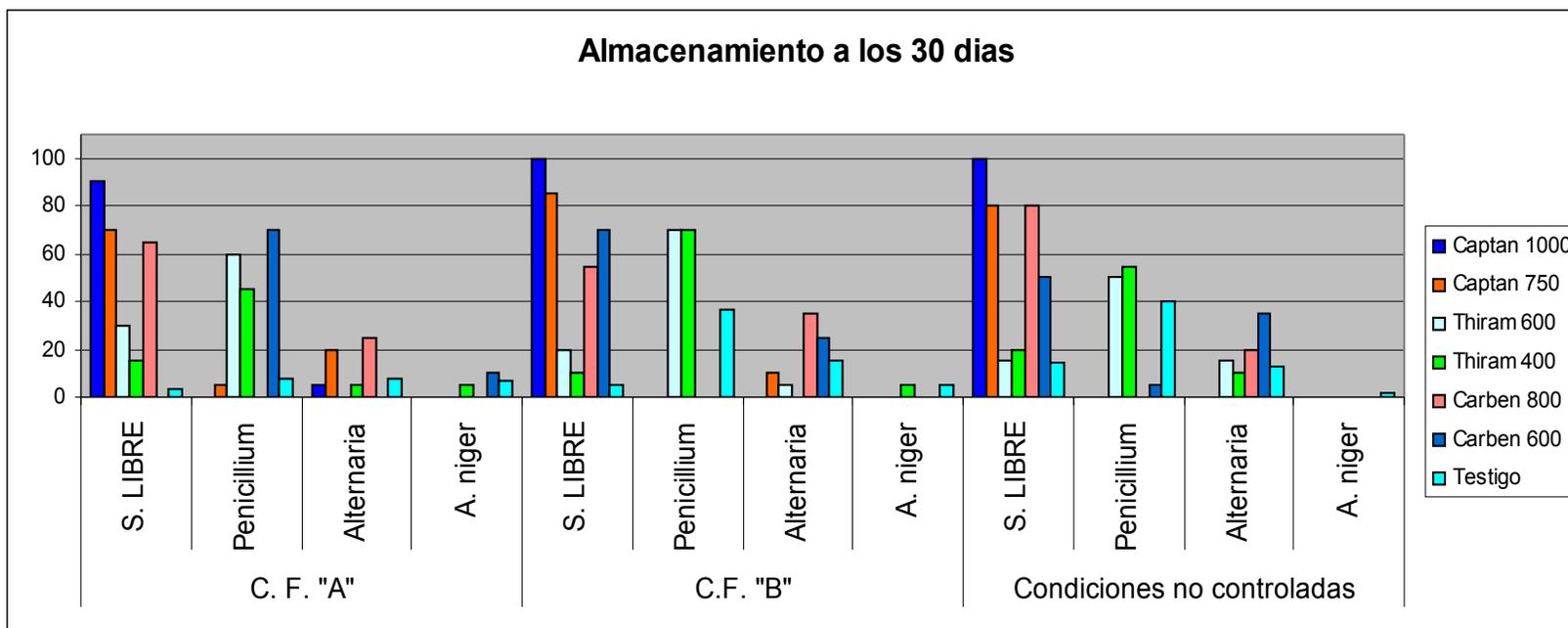


Figura A.4 Comportamiento en porcentaje de los hongos y semillas libres en *Pinus cembroides* en tres ambientes a 30 días de almacenamiento.

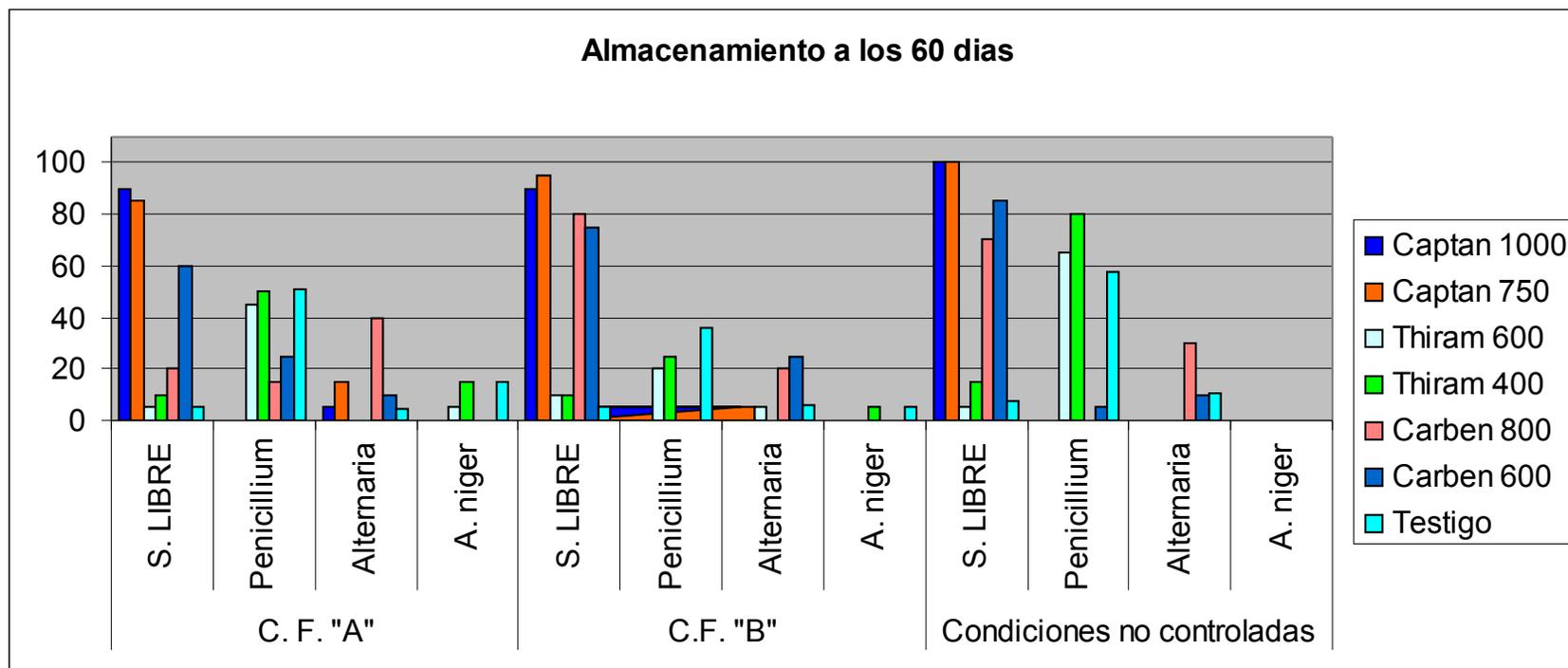


Figura A.5 Comportamiento en porcentaje de los hongos y semillas libres en *Pinus cembroides* en tres ambientes a 60 días de almacenamiento.

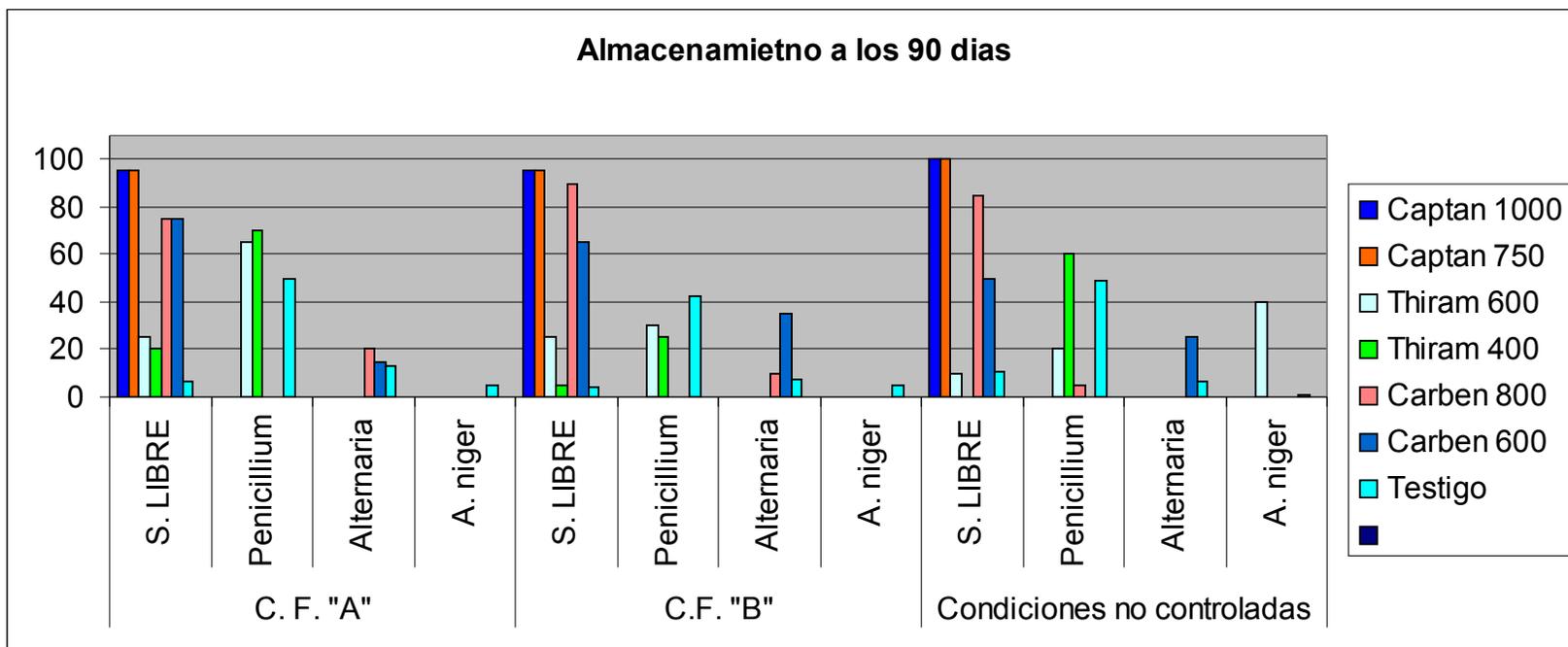


Figura A.6 Comportamiento en porcentaje de los hongos y semillas libres en *Pinus cembroides* en tres ambientes a 90 días de almacenamiento

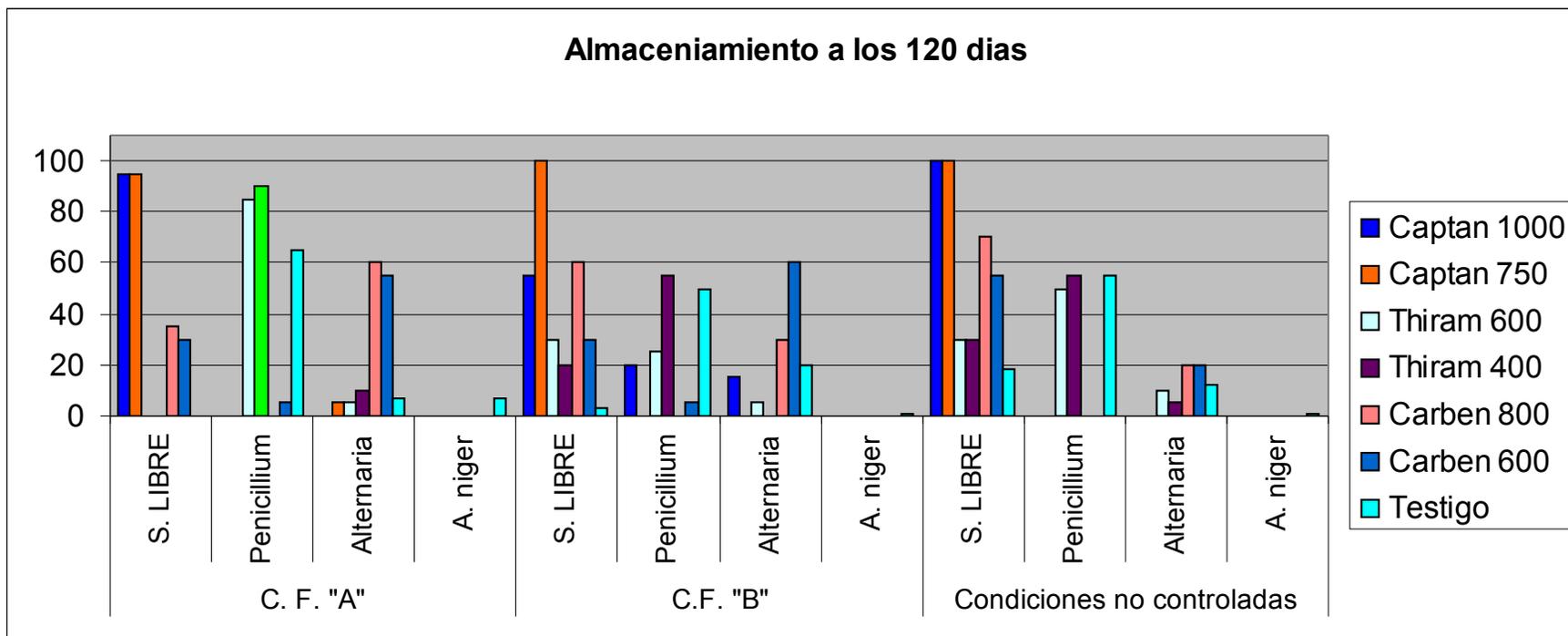


Figura A.7 Comportamiento en porcentaje de los hongos y semillas libres en *Pinus cembroides* en tres ambientes a 120 días de almacenamiento.

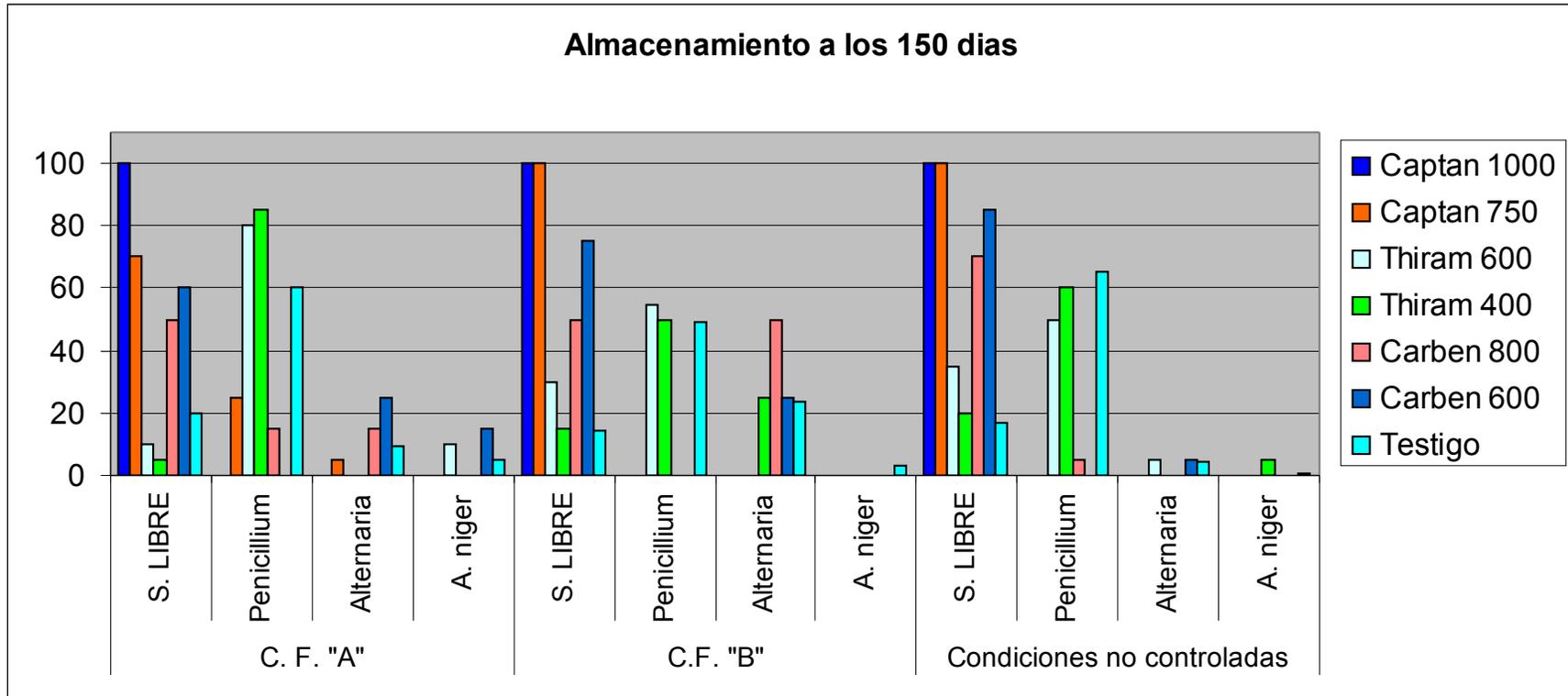


Figura A.8 Comportamiento en porcentaje de los hongos y semillas libres en *Pinus cembroides* en tres ambientes a 150 días de almacenamiento

soy loco de remTE