

11661



UNIVERSIDAD NACIONAL **UNAM**  
AUTÓNOMA DE MÉXICO POSGRADO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO  
EN MICROBIOLOGÍA

ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO DE  
DIFERENTES ESPECIES DEL GÉNERO  
*Aspergillus* Y DE LA HUMEDAD DE  
ALMACENAMIENTO SOBRE EL VIGOR Y LA  
LONGEVIDAD DE LA SEMILLA DE MAÍZ  
(*Zea mays* L.)

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE :  
**MAESTRA EN CIENCIAS (MICROBIOLOGÍA)**

P R E S E N T A :

**GABRIELA SÁNCHEZ HERNÁNDEZ**

Director: ERNESTO MORENO MARTÍNEZ

m. 345241



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICATORIAS

Dedico este trabajo:

A **Dios** por permitirme ser.

A mis **Padres**, por enseñarme a lograr mis metas.

A mis hermanas, **Rosaura, María Teresa** y **Ana Laura**; y a mis hermanos, **Arturo, Samuel** y **Juan Pablo**, y a toda la familia, por su apoyo y entusiasmo.

A mis hijos, **Luz Gabriela** y **César Arturo**, por brindarme todo su amor, tiempo y comprensión.

A mi esposo, **César Benjamín**, por su paciencia, comprensión y apoyo.

Al Padre **Hildebrando Garza García**, O. S. B., por sus sabios y santos consejos.

A los estudiantes que se interesen en el tema desarrollado.

*"Dijo Dios: Produzca la tierra hortalizas, plantas que den semilla y árboles frutales que por toda la tierra den fruto con su semilla dentro, cada uno según su especie."*  
Génesis 1, 11.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Dr. Ernesto Moreno Martínez el haber depositado su confianza en mi persona para la realización del presente trabajo.

Al Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo y a la M. en C. Virginia Lara Sagahón por su asesoría y guía en el área de estadística.

A la M. en C. María Cristina Julia Pérez Reyes por la acertada revisión y asesoría brindada a todo lo largo de este proyecto, por la identificación de cepas, consejos prácticos, dedicación y ejemplo, y sobre todo, por su valiosa e incondicional amistad.

A la M. en C. María Magdalena Reyes Téllez, por sus valiosos comentarios y observaciones.

Al Dr. Sergio Dávila Cabello y a la Compañía Aspros, por haber proporcionado la semilla de maíz necesaria para la realización de este estudio.

A la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS) por las facilidades que me otorgó para la culminación de este trabajo; y a todo el personal de la UNIGRAS, por su invaluable apoyo, Josefina, Martha Yolanda, Sr. Gustavo Hernández, Carolina, Viridiana, Socorro, Dr. Sergio Jiménez, Juan Carlos, Laura, Carlos Alberto, Carmen y Raymundo.

## ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGINA
<b>DEDICATORIAS</b>	I
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	II
<b>RESUMEN</b>	IV
<b>ABSTRACT</b>	V
<b>ÍNDICE GENERAL</b>	VII
<b>LISTA DE CUADROS</b>	XI
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	XIV
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	2
2.1. Generalidades del maíz	2
2.2. Producción de maíz	4
2.3. Producción nacional de maíz	4
2.4. Utilización del maíz	5
2.5. Generalidades de los hongos	7
2.6. Hongos de campo, almacén y deterioro avanzado	9
2.7. El género <i>Aspergillus</i> en la semilla de maíz	11
2.7.1. Etimología del vocablo <i>Aspergillus</i>	11

2.7.2.	Clasificación del género <i>Aspergillus</i>	11
2.7.3.	Descripción de los grupos más comunes en maíz y el daño que causan	13
2.8.	Justificación	18
2.9.	Hipótesis	18
2.10.	Objetivos	18
2.10.1.	Objetivo general	18
2.10.2.	Objetivos particulares	19
<b>3.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>21</b>
3.1.	Semilla	21
3.2.	Aislamiento e identificación de especies del género <i>Aspergillus</i>	21
3.3.	Preparación del inóculo	22
3.4.	Determinación de la longevidad o germinación	22
3.5.	Determinación del vigor	23
3.5.1.	Determinación por prueba fría	23
3.5.2.	Determinación de la longitud media de plúmula	23
3.5.3.	Determinación del peso seco	24
3.6.	Determinación del contenido de humedad	25
3.7.	Determinación de la micobiota	25
3.8.	Diseño Experimental	26
3.8.1.	Experimento 1	27
3.8.2.	Experimento 2	27
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>30</b>
4.1.	Experimento 1	30
4.1.1.	Análisis de las pruebas de germinación	30

4.1.2.	Análisis de las pruebas de vigor	30
4.1.3.	Análisis de las pruebas de longitud media de plúmula	31
4.1.4.	Análisis de las pruebas de peso seco	31
4.1.5.	Análisis del contenido de humedad	31
4.1.6.	Análisis de la micobiota	31
4.2.	Experimento 2	35
4.2.1.	Humedad relativa de 85%	35
4.2.1.A.	Análisis de pruebas de germinación	35
4.2.1.B.	Análisis de las pruebas de vigor	35
4.2.1.C.	Análisis de las pruebas de longitud media de plúmula	35
4.2.1.D.	Análisis de pruebas de peso seco	36
4.2.1.E.	Análisis del contenido de humedad	36
4.2.1.F.	Análisis de la micobiota	36
4.2.2.	Humedad relativa de 80%	42
4.2.2.A.	Análisis de pruebas de germinación	42
4.2.2.B.	Análisis de las pruebas de vigor	42
4.2.2.C.	Análisis de las pruebas de longitud media de plúmula	42
4.2.2.D.	Análisis de pruebas de peso seco	42
4.2.2.E.	Análisis del contenido de humedad	42
4.2.2.F.	Análisis de la micobiota	43
4.2.3.	Humedad relativa de 75%	48
4.2.3.A.	Análisis de pruebas de germinación	48
4.2.3.B.	Análisis de las pruebas de vigor	48
4.2.3.C.	Análisis de las pruebas de longitud media de plúmula	48

4.2.3.D. Análisis de pruebas de peso seco	48
4.2.3.E. Análisis del contenido de humedad	49
4.2.3.F. Análisis de la microbiota	49
<b>5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES</b>	<b>56</b>
5.1. Discusión	56
5.2. Conclusiones	61
<b>6. ABREVIATURAS Y SIGLAS EMPLEADAS</b>	<b>63</b>
<b>7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>66</b>



## LISTA DE CUADROS

CUADRO	DESCRIPCIÓN	PÁGINA
<b>3.2.</b>	Grupos del género <i>Aspergillus</i> inoculados y las humedades relativa empleadas.	<b>29</b>
<b>4.1.</b>	Comparación de medias para las variables de germinación, peso seco de plántula, longitud media de plúmula, prueba fría y contenido de humedad en semilla de maíz (AS-910) inoculada con 9 especies del género <i>Aspergillus</i> , almacenada a 25° C, 85% de H. R. y 84 días.	<b>34</b>
<b>4.2</b>	Comparación de medias del porcentaje de presencia de hongos de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 9 especies diferentes del género <i>Aspergillus</i> , almacenadas a 25° C, 84 días y una H. R. de 85%.	<b>34</b>
<b>4.2.1.</b>	Comparación de media de germinación estándar de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 9 especies de hongos del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán y testigo sin tratamiento, y mezcla, almacenada durante 84 días a <b>85%</b> de H. R. y 25° C.	<b>38</b>
<b>4.2.2.</b>	Comparación de medias de prueba fría (% de vigor) de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 3 especies y una mezcla de 9 especies de hongos del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán y testigo sin tratamiento, almacenada durante 84 días a <b>85%</b> de H. R.	<b>38</b>
<b>4.2.3.</b>	Comparación de medias de longitud media de plúmula de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 3 especies y una mezcla de 9 especies de hongos del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán y testigo sin tratamiento, almacenada durante 84 días a <b>85%</b> de H. R.	<b>38</b>
<b>4.2.4.</b>	Comparación de medias de peso seco (mg) de plántulas de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 3 especies y una mezcla de 9 especies de hongos del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán y testigo sin tratamiento, almacenada durante 84 días a <b>85%</b> de H. R. y 25° C.	<b>39</b>
<b>4.2.5.</b>	Comparación de medias del contenido de humedad de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 3 especies y una mezcla de 9 especies de hongos del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán y testigo sin tratamiento, almacenada durante 84 días a <b>85%</b> de H. R. y 25° C.	<b>39</b>
<b>4.2.6.</b>	Concentrado de las comparaciones de medias de las pruebas de DETERMINACIÓN DE PESO SECO, PRUEBA FRÍA (VIGOR), GERMINACIÓN ESTÁNDAR, LONGITUD MEDIA DE PLUMULA y CONTENIDO DE HUMEDAD para semilla de maíz (AS-910) inoculada con 3 especies de hongos del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán, testigo sin tratamiento y una mezcla de las 9 especies de este género, almacenada durante 84 días a <b>85%</b> de H. R. y 25° C.	<b>39</b>

<b>CUADRO</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>4.2.7.</b>	Comparación de medias de la germinación estándar de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 2 especies y una mezcla de 9 especies de hongos del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán y testigo sin tratamiento, almacenada durante 84 días a <b>80%</b> de H. R. y 25° C.	<b>44</b>
<b>4.2.8.</b>	Comparación de medias de la prueba fría de plántulas de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 2 especies y una mezcla de 9 especies de hongos del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán y testigo sin tratamiento, almacenada durante 84 días a <b>80%</b> de H. R. y 25° C.	<b>44</b>
<b>4.2.9.</b>	Comparación de medias de longitud media de plúmula de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 2 especies y una mezcla de 9 especies de hongos del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán y testigo sin tratamiento, almacenada durante 84 días a <b>80%</b> de H. R. y 25° C.	<b>44</b>
<b>4.2.10.</b>	Comparación de medias de peso seco de plántulas de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 2 especies y una mezcla de 9 especies de hongos del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán y testigo sin tratamiento, almacenada durante 84 días a <b>80%</b> de H. R. y 25° C.	<b>45</b>
<b>4.2.11.</b>	Comparación de medias de la determinación del contenido de humedad de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 2 especies y una mezcla de 9 especies del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán y testigo sin tratamiento, almacenada durante 84 días, <b>80%</b> H. R. y 25° C.	<b>45</b>
<b>4.2.12.</b>	Concentrado de las comparaciones de medias de las pruebas de DETERMINACIÓN DE PESO SECO, PRUEBA FRÍA (VIGOR), GERMINACIÓN ESTÁNDAR, LONGITUD MEDIA DE PLÚMULA Y CONTENIDO DE HUMEDAD para semilla de maíz (AS-910) inoculada con 2 especies de hongos del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán, testigo sin tratamiento y una mezcla de 9 especies de este género, almacenada durante 84 días a <b>80%</b> de H. R. y 25° C.	<b>45</b>
<b>4.2.13.</b>	Comparación de medias de la germinación estándar de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 6 especies y una mezcla de 9 especies del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán y testigo sin tratamiento, almacenada durante 84 días a <b>75%</b> de H. R. y 25° C.	<b>51</b>
<b>4.2.14.</b>	Comparación de medias de prueba fría de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 6 especies y una mezcla de 9 especies del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán y testigo sin tratamiento, almacenada durante 84 días, <b>75%</b> H. R. y 25° C.	<b>51</b>
<b>4.2.15.</b>	Comparación de medias de la longitud media de plúmula de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 6 especies y una mezcla de 9 especies del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán y testigo sin tratamiento, almacenada durante 84 días a <b>75%</b> de H. R. y 25° C.	<b>52</b>

<b>CUADRO</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>4.2.16.</b>	Comparación de medias del peso seco de plántulas de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 6 especies y una mezcla de 9 especies del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán y testigo sin tratamiento, almacenada durante 84 días a <b>75%</b> de H. R. y 25° C.	<b>52</b>
<b>4.2.17.</b>	Comparación de medias de la determinación del contenido de humedad de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 6 especies y una mezcla de 9 especies del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán y testigo sin tratamiento, almacenada durante 84 días a <b>75%</b> de H. R. y 25° C.	<b>53</b>
<b>4.2.18.</b>	Concentrado de las comparaciones de medias de las pruebas: DETERMINACIÓN DE PESO SECO, PRUEBA FRÍA (VIGOR), GERMINACIÓN ESTÁNDAR, LONGITUD MEDIA DE PLUMULA Y CONTENIDO DE HUMEDAD para semilla de maíz (AS-910) inoculada con 6 especies del género <i>Aspergillus</i> , testigo tratado con Captán, testigo sin tratamiento y una mezcla de las 9 especies de este género, almacenada durante 84 días a <b>75%</b> de H. R. y 25° C.	<b>53</b>

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA	DESCRIPCIÓN	PÁGINA
<b>3.1.</b>	Diagrama de trabajo de la metodología	<b>20</b>
<b>4.2.6.1.</b>	Micobiota de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 3 especies del género <i>Aspergillus</i> , almacenada 84 días, a 25° C y 85% H. R.	<b>40</b>
<b>4.2.6.2.</b>	Presencia de <i>Fusarium spp.</i> en semilla de maíz (AS-910) inoculada con 3 especies de <i>Aspergillus</i> , almacenada 84 días, a 25° C y 85% H. R.	<b>40</b>
<b>4.2.6.3.</b>	Competencia de las especies de <i>Aspergillus</i> inoculadas en semilla de maíz (AS-910), almacenada 84 días, a 25° C y 85% de H. R.	<b>41</b>
<b>4.2.6.4.</b>	Micobiota de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 3 especies de <i>Aspergillus</i> , almacenada 84 días, a 25° C y 80% H. R.	<b>46</b>
<b>4.2.6.5.</b>	Presencia de <i>Fusarium spp.</i> en semilla de maíz (AS-910) inoculada con 2 especies de <i>Aspergillus</i> , almacenada 84 días, a 25° C y 80% H. R.	<b>46</b>
<b>4.2.6.6.</b>	Competencia de las especies de <i>Aspergillus</i> inoculadas en semilla de maíz (AS-910), almacenada 84 días, a 25° C y 80% de H. R.	<b>47</b>
<b>4.2.6.7.</b>	Micobiota de semilla de maíz (AS-910) inoculada con 6 especies de <i>Aspergillus</i> , almacenada 84 días, a 25° C y 75% H. R.	<b>54</b>
<b>4.2.6.8.</b>	Presencia de <i>Fusarium spp.</i> , en semilla de maíz (AS-910) inoculada con 6 especies de <i>Aspergillus</i> , almacenada 84 días, a 25° C y 75% H. R.	<b>54</b>
<b>4.2.6.9.</b>	Competencia de las especies de <i>Aspergillus</i> inoculadas en semilla de maíz (AS-910), almacenada 84 días, a 25° C y 75% de H. R.	<b>55</b>

A los miembros del jurado por sus valiosas observaciones:

**Presidente:** Dr. René Rosiles Martínez

**Vocal:** M. en C. María Cristina Julia Pérez Reyes

**Secretario:** Dr. Tonatiuh Alejandro Cruz Sánchez

**Primer Suplente:** Dra. Genoveva García Aguirre

**Segundo Suplente:** Dr. Ernesto Moreno Martínez.

## RESUMEN

El maíz es ampliamente usado en México, como cereal suministra nutrimentos tanto a humanos como a animales; es una materia prima básica para la industria de la transformación. Los hongos son los principales patógenos de éste, causando grandes pérdidas durante el manejo poscosecha. Algunas especies del género *Aspergillus* pueden invadir a los granos y semillas durante su formación en el campo, transporte y/o almacenamiento, requiriendo contenidos de humedad superiores al 13% para su desarrollo y temperatura de 25° C. En este estudio se trabajó con semilla procedente de la compañía Aspros, el híbrido AS-910, con alta calidad biológica. Se realizaron dos experimentos: En el primero se ajustó el contenido de humedad de la semilla a 17-18%, inoculando por separado diferentes especies del género *Aspergillus* (30,000 esporas/ml) y almacenando a 25° C, 85% de humedad relativa por 84 días; en el segundo se trabajaron tres humedades relativas 75, 80 y 85%, inoculando 30,000 esporas/ml de las especies de este género (*Aspergillus restrictus*, *Aspergillus amstelodami*, *Aspergillus chevalieri*, *Aspergillus repens*, *Aspergillus ruber*, *Aspergillus candidus* [75%], *Aspergillus ochraceus* [80%] y *Aspergillus flavus* y *Aspergillus tamarisii* [85%]), así como una mezcla de todas las especies mencionadas para cada humedad. En ambos experimentos se manejaron dos testigos: uno tratado con Captán y otro testigo sin tratamiento alguno. Las pruebas realizadas en este trabajo mostraron el efecto de los hongos sobre la longevidad y vigor de la semilla de maíz bajo condiciones adversas de almacenamiento que permiten su desarrollo; siendo la humedad de .85% y la especie *Aspergillus candidus* los más agresivos; seguidos en daño por *A. ruber* y

*A. tamarii*. Las especies más competitivas dentro de la mezcla resultaron ser *A. candidus*, *A. tamarii* y *A. amstelodami*. Para la humedad de 80% *A. candidus* mostró mayor daño, así como la mezcla de las nueve especies. La humedad de 75% mostró que *A. chevalieri* y la mezcla de las nueve especies afectaron la calidad de la semilla. Sin embargo es importante mencionar que esta humedad relativa conservó las mejores características de germinación y vigor de la semilla de maíz.

### **ABSTRACT**

Maize seed is widely used in Mexico, as cereal it supplies nutrients for human and animals. It is used as raw material for the industry. It is known that fungi are their main pathogens, causing great losses during production, storage and conservation. Some species of the genus *Aspergillus* can invade the seed during its formation in field, storage and transportation, requiring moisture contents higher than 13% and temperature above 25°C. Seed from Aspros Company was used; AS-910, with high biological quality. Two experiments were carried out: in the first one, moisture content was adjusted to 17-18%, inoculating the seed with 30,000 spores/ml of each of 9 different species of molds, incubating at 25°C, 85% of relative moisture, during 84 days. The second one used moisture chambers with 75, 80 and 85%, inoculating 30,000 spores/ml of the nine different mold strains, at 25° C, during 84 days. For both experiments were carried out seed with Captan fungicide and without treatment; and for the second one was also conducted a mixture of the nine fungi. The tests developed in the present work

demonstrated the effect of the nine different mold species in the longevity and seed vigor under storage conditions. The 85% moisture treatment together with *A. candidus* showed the worst damage, followed by *A. ruber* and *A. tamaritii*. The species most competitive were *A. candidus*, *A. tamaritii* and *A. amstelodami*, for the mixture treatment. The 80% moisture test showed that *A. candidus* and the mixture of the nine species can damage the seed quality. In the 75% relative moisture chamber *A. chevalieri* and the mixture were the treatments that showed more damage in the seed quality. However this relative moisture kept the best quality characteristics of the maize seed: germination and vigor.

Palabras clave (key words): *Aspergillus*, hongos, almacenamiento, maíz (*Zea mays* L.)



## 1. INTRODUCCIÓN

Los hongos de granos y semillas almacenados (*Aspergillus* y *Penicillium*) han sido considerados como una causa importante de la pérdida del poder germinativo de la semilla de maíz; y se sabe que pueden inducir pudriciones en mazorca. Los granos y semillas cosechados al alcanzar su madurez fisiológica, generalmente están libres de infecciones por hongos; sin embargo, las esporas de estos hongos están siempre presentes sobre los granos o semillas, o bien en el ambiente de los silos o bodegas, esperando las condiciones propicias para su desarrollo; el cual puede ser lento, activo o nulo, en función de las condiciones que prevalezcan en el almacén (Christensen, 1976; Moreno *et al.*, 1987; Watson, 1987).

Los hongos de almacén reducen la calidad de las semillas de cereales, afectando frecuentemente su viabilidad. El tratamiento químico de las semillas con fungicidas se desarrolló para proteger la germinación y el establecimiento de la simiente contra el ataque de hongos de suelo así como para controlar la transmisión de hongos en semilla, pero no para protegerla contra el ataque de hongos de almacén. Los hongos de almacén crecen en un rango de humedad relativa de 70 a 90%, en ausencia de agua libre. El control químico de estos hongos se torna problemático en ausencia de agua libre, la cual es requerida para que los fungicidas funcionen efectivamente. También se ha visto que los vapores de algunos fungicidas afectan la viabilidad de las semillas. La aplicación de fungicidas en semillas produce efectos tóxicos, los cuales se manifiestan en la muerte de la semilla o como daños morfológicos durante el establecimiento de la simiente (Moreno *et al.*, 1998).

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1. GENERALIDADES DEL MAÍZ**

La palabra maíz es de origen caribeño, del taíno (Haití) mahís, y significa "lo que sustenta la vida". Junto con el trigo y el arroz, el maíz es uno de los cereales más importantes del mundo, pues suministra nutrimentos a los seres humanos y a los animales, y es una materia prima básica para la industria de la transformación, de la cual se generan almidón, aceite, proteínas, bebidas alcohólicas, edulcorantes alimenticios, y desde hace poco, combustible (Watson, 1987; FAO, 2005).

De acuerdo a la Corn Refiners Association, de los Estados Unidos de América (EUA), de los 10,000 productos que se encuentran en promedio en el supermercado, 2,500 tienen compuestos derivados del maíz. La industria refinadora produce principalmente las siguientes materias primas: miel de maíz, azúcar de maíz, dextrosa, almidón o fécula, aceite, color caramelo, dextrina, maltodextrina, ácido láctico, sorbitol y etanol. Así el maíz se encuentra en medicinas, hilos, adhesivos, bebidas, cosméticos, velas, fibra de vidrio, crayones, margarina, mayonesa y otros mas (Vassallo, 2004).

La planta tierna se ocupa como forraje en las industrias láctea y cárnica y, tras la recolección del grano, las hojas secas y la parte superior, incluidas las flores, aún se utilizan como forraje de calidad relativamente buena para alimentar a rumiantes de pequeños agricultores en los países en desarrollo (FAO, 2005).

Botánicamente, el maíz (*Zea mays* L.) pertenece a la familia de las gramíneas y es una planta anual alta dotada de un amplio sistema radicular fibroso. Se reproduce por polinización cruzada; la flor femenina (elote, mazorca, choclo o espiga) y la flor masculina (espiguilla) se encuentran en distintos lugares de la planta. Las panojas (a menudo una por tallo) son las estructuras en donde se desarrolla el grano, en un número variable de hileras (12 a 16), produciendo de 300 a 1,000 granos, que pesan entre 190 y 300 gramos (g) por cada 1,000 granos. La semilla o grano constituye aproximadamente el 42 % del peso seco de la planta. El maíz es a menudo de color blanco o amarillo, aunque también hay de color azul, negro y rojo (Vassallo, 2004; FAO, 2005).

Las variedades cultivadas fundamentalmente para la alimentación comprenden el maíz dulce y el reventador, aunque también se usan en buena medida el maíz dentado, el amiláceo o harinoso y el cristalino; este último también se utiliza para pienso. El maíz normal inmaduro en la panoja, o elote, es objeto de gran consumo, hervido o tostado. El maíz harinoso es un grano con endospermo blando que se emplea mucho como alimento en México, Guatemala y los países andinos. El maíz dentado tiene un endospermo calloso y vítreo a los lados y en la parte posterior del grano, en tanto que el núcleo central es blando. El maíz cristalino posee un endospermo grueso, duro y vítreo, que encierra un centro pequeño, granuloso y amiláceo (FAO, 2005).

El cultivo del maíz tuvo su origen en América Central, y especialmente en México, de donde se difundió hacia el norte hasta Canadá, y hacia el

sur hasta Argentina. La evidencia más antigua de la existencia de maíz data de unos 7,000 años de antigüedad, y fue encontrada por arqueólogos en el valle de Tehuacan, Puebla, México (FAO, 2005). El arqueólogo Richard MacNeish, según Vassallo, encontró restos de maíz con una antigüedad de 3,500 AC en Tamaulipas, México, y en Tehuacan, Puebla, México encontró maíz de 5,050 AC (Vassallo, 2004).

De las plantas cultivadas de mayor importancia económica, los cereales constituyen el 52% de la alimentación mundial; las raíces son el segundo grupo en importancia, seguido de las leguminosas, de los cultivos horto-frutícolas, de la caña de azúcar y de la remolacha azucarera (Moreno, 1994).

## **2.2. PRODUCCIÓN DE MAÍZ**

La producción mundial de maíz para 1996 ascendió a 141'005,000 hectáreas (Ha) cosechadas, que significaron 588'572,000 toneladas (T) de producto; correspondiendo a EUA, el país de mayor producción, 29'398,000 Ha, es decir 234'527,000 T. Para el año 1999, la superficie cosechada correspondió a 139'214,000 Ha, equivalentes a 600'418,000 T de producto; siendo 28'546,000 Ha de EUA, es decir, 239'719,000 T de maíz (INEGI, 2000).

## **2.3. PRODUCCIÓN NACIONAL DE MAÍZ**

En México, de acuerdo a los datos emitidos por el Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI), la producción de maíz para el año 1996 fue de 8'050,931 Ha cosechadas (18,024,000 T), equivalentes a \$25'858'775,846 y para 1999 fue de 7'150,829 Ha, equivalentes a \$26'623'664,054 Los estados de mayor producción para

1996 fueron, en orden de importancia: Estado de México, Jalisco y Sinaloa; y para el año 1999: Estado de México, Jalisco y Chiapas (INEGI, 2000). Para el 2002 la producción en miles T es de 18'508.4 (SIAP/SAGARPA, 2004), que corresponde a ocho millones de Ha (Paredes-López *et al.*, 2000).

#### **2.4. UTILIZACIÓN DEL MAÍZ**

Como ya se dijo con anterioridad, el maíz se emplea como alimento, forraje y materia prima para la industria. Como alimento, se puede utilizar todo el grano, maduro o no, o bien para elaborar, con técnicas de molienda en seco, un número relativamente amplio de productos intermediarios, por ejemplo, la sémola de partícula de diferentes tamaños, sémola en escamas, harina y harina fina, que a su vez tienen un gran número de aplicaciones en una amplia variedad de alimentos; se debe notar que el maíz cultivado en la agricultura de subsistencia continúa siendo utilizado como cultivo alimentario básico (Vassallo, 2004; FAO, 2005).

En lo que respecta a su utilización como forraje, en los países desarrollados más del 60% de la producción se emplea para elaborar piensos compuestos para aves de corral, cerdos y rumiantes; en los últimos años, aún en los países en desarrollo en los que el maíz es un alimento fundamental, se utiliza un porcentaje más elevado de la producción como ingrediente para la fabricación de piensos. Desde hace relativamente poco, el maíz de "elevada humedad" ha despertado gran interés como alimento para animales, debido a su menor costo y a su capacidad de mejorar la eficiencia de la transformación de los alimentos. Los subproductos de la molienda en seco son el germen y la cubierta

seminal, el primero se utiliza para obtener aceite comestible de elevada calidad, mientras que la cubierta seminal, o pericarpio, se emplea fundamentalmente como alimento, aunque en los últimos años ha despertado interés como fuente de fibra dietética. La molienda húmeda produce almidón de maíz y subproductos entre los que figura el gluten que se utiliza como ingrediente alimenticio, mientras que el germen de maíz elaborado para producir aceite da como subproducto harina de germen que se utiliza como pienso; ha habido algunos intentos de emplear dichos subproductos para el consumo humano en distintas mezclas y formulaciones alimenticias (FAO, 2005).

El aumento de los precios del petróleo ha impulsado la intensificación de las investigaciones sobre la fermentación del maíz para producir alcohol combustible, el cual tiene un uso muy difundido en algunas partes de EUA. Así mismo, con el maíz fermentado se elaboran algunas bebidas alcohólicas (FAO, 2005).

También tienen importancia las aplicaciones de los residuos de la planta de maíz, que se utilizan, entre otras cosas, como alimento para animales y como base para extraer diversos productos químicos de las panojas, como por ejemplo, furfural y xilosa. Estos residuos también tienen importancia como elementos para mejorar los suelos (Moreno *et al.*, 2000; FAO, 2005).

Los cultivos para su producción intensiva, requieren del uso de semillas; y éstas constantemente son invadidas durante su formación en el campo y después de la cosecha, por hongos, los que ocasionan diversos

problemas a la producción de alimentos y a la salud pública y animal (Moreno, 1994).

La determinación de la capacidad germinativa de la semilla es un atributo esencial en muchos aspectos para la producción, mercadotecnia y empleo de las cosechas. Para todo agricultor es importante que el cultivo sea un éxito, y esto es crucial para la producción de alimento. Es un hecho que las semillas que en el laboratorio muestran alta germinación, en el campo nunca mostrarán baja emergencia. Al paso del tiempo, la semilla va perdiendo este potencial alto de germinación, debido en parte a la edad fisiológica de la semilla, la cual se mide como vigor. En el caso de la semilla de maíz, este deterioro fisiológico está ligado al contenido de humedad de la simiente y de la temperatura de almacenamiento; por lo que se recomienda el bajar el contenido de humedad de la semilla de cereales (menor al 13%, es decir, menor a 70% de humedad relativa) y almacenarla a bajas temperaturas (Moreno, 1988; Arachchi *et al.*, 1999; Guy *et al.*, 2002).

## **2.5. GENERALIDADES DE LOS HONGOS**

Los hongos tienen que vivir de la materia orgánica producida por las plantas o los animales. Esta forma de vida los obliga a ser saprobios, parásitos y simbiontes. Como saprobios contribuyen en forma importante a la reincorporación de nutrimentos al suelo y por lo tanto a la degradación de materia orgánica de origen vegetal y animal, lo cual es una de las actividades benéficas de estos organismos. Sin embargo, esa misma condición de heterótrofos, los convierte en enemigos del hombre, reduciendo la producción y disponibilidad de alimentos, así como causando problemas en la salud humana y animal. Los hongos

son los principales patógenos de las plantas, causando enormes pérdidas en la producción de alimentos e igualmente en el manejo poscosecha de los productos agrícolas (Watson, 1987; Moreno, 1988; Pérez, 1997). Willcock y Magan, 2001, mencionan que durante el desarrollo en campo, senescencia, cosecha y almacenamiento de los cereales, se presenta una sucesión de hongos filamentosos, levaduras y bacterias, los cuales pueden causar enfermedades y deterioro de las semillas.

Siempre se ha considerado que las enfermedades de las plantas cultivadas constituyen una seria amenaza en la producción de alimentos, desde la siembra hasta el consumo o uso industrial de las mismas. Se señala que alrededor del 12% del potencial de la producción agrícola mundial, se pierde debido a las enfermedades de las plantas, pérdidas que significan alrededor de 500 millones de T de alimentos, desafortunadamente no existen estimaciones acerca de las pérdidas causadas solamente por los patógenos transmitidos en las semillas; sin embargo, se considera que del total de pérdidas causadas por las enfermedades, una buena parte es debida a las enfermedades transmitidas por semillas (James, 1981; Chelkowski, 1991; Sauer *et al.*, 1992; Pachón y Castaño, 1999).

Los hongos ocasionan el deterioro de las semillas y alimentos, afectando sus propiedades sensoriales debido a la producción de exoenzimas durante su crecimiento o desarrollo; tales como lipasas, proteasas y carbohidrasas, entre otras. Esta actividad enzimática continua aun si el micelio ha sido destruido o removido, lo que lleva a olores desagradables causados por la transformación del 2, 4, 6-triclorofenol



en tricloroanisol (TCA) como en *Aspergillus flavus*, *Penicillium brevicompactum* y *Penicillium crustosum*. También se sabe que algunas enzimas de los hongos provocan el cambio de color de la semilla, tornándola café debido a reacciones de Maillard. Asimismo los hongos producen micotoxinas, de las cuales se conocen alrededor de 400, y van desde poco tóxicas hasta las que producen efectos crónicos y de alta toxicidad en diferentes formas de cáncer o supresión inmunológica (Watson, 1987; Filtenborg, 1996). Se sabe que las especies de *Eurotium* producen una serie de metabolitos secundarios que causan problemas de rancidez oxidativa en grano y nueces (Abellana *et al.*, 1999). Debido a la producción de enzimas y toxinas para matar las células de sus hospederos y alimentarse del tejido muerto, algunos géneros como *Aspergillus* y *Penicillium* han sido llamados pertrótrofos, pterótrofos o necrótrofos (Ulloa y Herrera, 1994; Alexopoulos *et al.*, 1996).

## **2.6. HONGOS DE CAMPO, ALMACÉN Y DETERIORO AVANZADO**

Con relación a los hongos en los granos y semillas, en la década de 1940, un grupo de investigadores encabezado por el Dr. Clyde M. Christensen, de la Universidad de Minnesota, EUA, inició los estudios para determinar el efecto de los hongos sobre la calidad de los granos y semillas en el almacén. Este grupo clasificó a los hongos que invaden a las semillas, de una manera artificial o ecológica, en tres tipos: a) hongos de campo, b) hongos de almacén y c) hongos de deterioro avanzado. Los primeros invaden a las semillas durante su formación en el campo y requieren contenidos de humedad para su desarrollo arriba del 23%, y entre éstos se encuentran las especies de *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria* y *Helminthosporium*, entre otros, que se caracterizan por ocasionar diferentes enfermedades a las plantas y que

son transmitidos de un ciclo a otro a través de las semillas (Christensen y Sauer, 1982; Watson, 1987; Chelkowski, 1991; Willcock y Magan, 2001).

Los hongos de almacén invaden a las semillas durante su transporte y almacenamiento; entre éstos se encuentran principalmente especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, siendo las especies de *Aspergillus* las más comunes en el maíz almacenado, sin embargo, *Aspergillus* y *Penicillium* pueden inducir pudriciones en mazorca. Estas especies requieren, para su desarrollo, un contenido de humedad de las semillas de cereales superiores a 13% y mayores al 8% para las oleaginosas. Los hongos de deterioro avanzado son aquellos que invaden a los granos y semillas cuando éstos ya se encuentran en pésimas condiciones de almacenamiento, y el deterioro es causado por los otros tipos de hongos; entre estos hongos de deterioro avanzado, se pueden mencionar a *Chaetomium*, *Sordaria*, *Aspergillus clavatus*, *Rhizopus*, y *Aspergillus fumigatus* (Sauer et al., 1992; Pérez, 1997).

Los hongos de almacén no pueden crecer en granos o semillas cuyos contenidos de humedad se encuentren en equilibrio con humedades relativas menores de 65-70% (Christensen y Sauer, 1982; Watson, 1987; Chelkowski, 1991).

Se sabe que son seis las condiciones que favorecen el desarrollo de los hongos de almacén en semillas y granos, siendo éstas: a) contenido de humedad de la semillas o grano, b) temperatura, c) tiempo de almacenamiento, d) grado de invasión por hongos de campo y almacén que presente la semilla antes de su arribo a un sitio determinado, e)

condición física y biológica de la semilla, f) cantidad de material extraño presente en las semillas y g) presencia y actividad de insectos y ácaros y la atmósfera de almacenamiento (Christensen, 1976; Pérez, 1997; Borgemeister *et al.*, 1998; Marín *et al.*, 1998; Moreno *et al.*, 2000).

## **2.7. EL GÉNERO *Aspergillus* EN LA SEMILLA DE MAÍZ**

### **2.7.1. Etimología del vocablo *Aspergillus***

La palabra *Aspergillus* deriva del vocablo latino *aspergillo*, que significa áspero; y *gillo* que significa vasija o vesícula (hisopo para bendecir asperjando agua bendita), y el sufijo diminutivo *illus* refiriéndose a la vesícula de la cabezuela conidial, la cual está cubierta de fiálides y conidios en casi toda su superficie, dándole un aspecto áspero (Ulloa y Herrera, 1994).

El género *Aspergillus* es de los más ubicuos y omnívoros que hay, cosmopolita, y con gran cantidad de especies saprobias, algunas parásitas de vegetales, animales y humanos, y otras de importancia industrial. Algunas especies tienen su teleomorfo en los géneros *Eurotium* Link ex. Fr., en *Sartorya* (Vuill.) o en *Emericella* Berck., con cleistotecios. Varias especies son toxígenas, como *A. flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus fumigatus*, y *Aspergillus chevalieri* (Ulloa y Herrera, 1994), y entre otras, *Aspergillus candidus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus penicillioides* y *Eurotium* (Filténborg *et al.*, 1996).

### **2.7.2. Clasificación del género *Aspergillus***

Siguiendo el sistema de Saccardo (1886) y Ainsworth (1963) el género *Aspergillus* pertenece a la Clase Hyphomycetes, al orden de los

Moniliales, familia Moniliaceae. Los conidióforos de *Aspergillus* terminan en un hinchamiento llamado vesícula, a partir de la cual nace en su superficie una hilera de fiálides (en las especies monoseriadas) o una de métulas y sobre éstas, una hilera de fiálides (en las especies biseriadas) productoras de cadenas de conidios tipo fialosporas, es decir, conidios blásticos generados en sucesión basípeta. A la vesícula junto con las cadenas de conidios se le conoce como cabeza conidial (Herrera y Ulloa, 1990; Carlile *et al.*, 2001).

Alexopoulos *et al.*, (1996) clasifican al género *Aspergillus* en el Phylum Ascomycota, Orden Eurotiales (Plectomycetes), Familia Trichocomaceae, presentando las siguientes características: ascas con paredes delgadas, de globosas a piriformes, esparcidas a diferentes niveles dentro del ascocarpo (sin himenio), ascosporas unicelulares, cleistotecios típicos (si los presenta) y diversos tipos de formas conidiales o estados anamorfos.

El género *Aspergillus* pertenece, de acuerdo a Moore-Landecker (1996), a la clase de hongos conocidos como Hyphomycetes, de la división-forma Deuteromycota, la cual incluye los estados conidiales de los hongos, que pueden o no, tener el estado teleomorfo.

Raper y Fennell (1965) describieron cerca de 100 especies del género *Aspergillus* y lo dividieron en 18 grupos. Estos grupos han sido cambiados a subgéneros y secciones por Gams *et al.*, (1985) considerando el estado teleomorfo y otras características como el color de los conidios, tamaño y forma de las vesículas, etc. (Klich, M., 2002).

### **2.7.3. Descripción de los grupos de *Aspergillus* más comunes en maíz y el daño que causan**

*Aspergillus restrictus*. Este grupo abarca cinco especies monoseriadas: *Aspergillus caesiellus* Saito, *A. restrictus* Smith, *Aspergillus conicus* Blochwitz, *Aspergillus gracilis* Bainier y *Aspergillus penicillioides* Spegazzini; se caracteriza por colonias pequeñas, típicamente de color verde oscuro, y a menudo con cabezas columnares, que sugieren pertenecer al grupo *A. fumigatus*; aunque otras características lo relacionan más con el grupo de *Aspergillus glaucus*. Este grupo presenta una especie muy común en semilla de maíz almacenada por muchos meses, y es *A. restrictus* Smith, la cual es de las más halófitas, y para su aislamiento se requiere usar el medio de cultivo malta sal agar, con 15% de cloruro de sodio. Requiere que la semilla de cereal contenga de 14.0-15.0% de humedad, y de 6.0-7.0% en cacahuate y copra. Afecta la germinación de la semilla. Se le asocia con la presencia de *Sitophilus granarius* L. y *Sitophilus oryzae* L. en maíz. La colonia es pequeña, menor a 1.5 cm de diámetro a las 3 semanas de crecimiento en medio Czapek agar y de color verde oscuro y las cabezuelas conidiales son columnares, a simple vista se pueden confundir con *Penicillium* (Raper y Fennell, 1965; Moreno, 1988; Sauer et al., 1992).

*Aspergillus candidus*. Este grupo solo tiene una especie, y es *Aspergillus candidus* Link, la cual invade al maíz cuando el contenido de humedad es de 14.5 a 16%. La presencia de este hongo es indicativa de que el lote de semilla está sufriendo un severo deterioro; reduce el poder germinativo de la semilla y está involucrado con el calentamiento de las

semillas, alcanzando temperaturas superiores a 55° C. Las colonias son de color blanco, cuando jóvenes, y crema-amarillento cuando viejas. Típicamente globosas cuando jóvenes y agrietadas ("splitting") cuando viejas (Raper y Fennell, 1965; Moreno, 1988). Se cree que puede producir toxinas (Sauer *et al.*, 1992; Filtenborg *et al.*, 1996).

El grupo *Aspergillus glaucus* presenta, entre otras, cuatro especies que invaden la semilla de maíz, y son: *Aspergillus amstelodami* (Mangin) Thom y Church, *Aspergillus repens* De Bary, *Aspergillus chevalieri* (Mangin) Thom y Church, y *Aspergillus ruber* (Köing, Spieckermann y Bremen) Thom y Church. Requieren de una humedad relativa de 75% y crecen en cereales con contenidos de humedad bajos, entre 13.5 y 14%; pueden crecer a temperaturas de 2-5° C, lentamente y sin causar daño apreciable. Si su desarrollo es notorio, provocan calentamiento de los granos, superior a 35° C (Moreno, 1988; Sauer *et al.*, 1992).

Se sabe que *A. chevalieri* produce una toxina llamada xantocilina. Estos hongos imparten olores y colores desagradables a los granos y afectan la germinación de las semillas. Las colonias son de color azul-verde y presentan cleistotecios. *A. amstelodami* presenta conidios pequeños, equinulados; ascosporas sin crestas, pero con un surco profundo en forma de V, flanqueado por bordes irregulares; con colonias predominantemente formadas por cleistotecios. *A. chevalieri* presenta ascosporas con superficies convexas, bordes ecuatoriales delgados y flexuosos, como una cresta, y con apariencia de poleas. *A. repens* presenta cabezuelas grandes radiadas o columnas no compactas, que nacen de arriba de la capa de cleistotecios e hifas que los rodean. *A. ruber* presenta ascosporas con bordes ecuatoriales bajos y

redondeados, surco amplio y no profundo; colonias con una fuerte pigmentación de color rojo o anaranjado (Raper y Fennell, 1965; Moreno, 1988; Chelkowski, 1991).

*Aspergillus ochraceus* Wilhem, del grupo *Aspergillus ochraceus*. Además de invadir el maíz en humedades relativas del 80%, también se ha encontrado en casi todos los cereales almacenados, semillas oleaginosas y vegetales diversos, y su presencia en cebada española ha sido reportada en Lleida; este grupo de hongos produce ocratoxina (Chelkowski, 1991; Filtenborg *et al.*, 1996; Ramos *et al.*, 1998).

Se ha visto que no son buenos competidores contra las especies de *A. glaucus* y *A. candidus*. El color de la colonia es ocre. Existen dos especies: *A. ochraceus* Wilhem y *Aspergillus ostianus* Wehmer; se distinguen entre sí por el tamaño de sus conidios y por el color de sus esclerocios. *A. ochraceus* Wilhem presenta esclerocios de color rosa a púrpura y sus conidios globosos de 2.5 a 3 micras; *A. ostianus* presenta conidios piriformes y sus esclerocios son de color pálido (Raper y Fennell, 1965; Moreno, 1988; Christensen *et al.*, 1992).

Las especies del grupo *Aspergillus flavus* frecuentemente encontradas en maíz cuando el contenido de humedad del grano es mayor a 16.5% son: *A. flavus* Link, *A. parasiticus* Speare y *Aspergillus tamaris* Kita. Su desarrollo contribuye al calentamiento de los granos, superior a 55° C. El color de sus colonias va de verde amarillento, verde amarillento intenso, oliva café hasta café; presentan cabezas conidiales globosas, desde radiadas hasta columnares, sus conidióforos no presentan color, generalmente son rugosos, aunque pueden presentarse lisos o

ligeramente rugosos (Raper y Fennell, 1965; Moreno, 1988; Chelkowski, 1991; Sauer *et al.*, 1992).

*A. flavus* Link y *A. parasiticus* Speare son dos de los hongos más estudiados, debido al gran riesgo que representa para la salud del hombre y de los animales domésticos la presencia de las toxinas producidas en la semilla o grano por estas dos especies: las aflatoxinas. Las aflatoxinas son reconocidas como las sustancias naturales más potentes productoras de cáncer que se conocen (Moreno y Gil, 1991; Pachón y Castaño, 1999).

*A. flavus* presenta los esterigmas biseriados, a diferencia de *A. parasiticus*, que los presenta uniseriados. *A. flavus* en placas de agar Czapek a lo largo de 7 días, logra un diámetro de 6 a 7 cm, generalmente de micelio basal (Raper y Fennell, 1965; Moreno, 1988).

*A. tamarii* Kita presenta cabezas conidiales desde color verde amarillento hasta café olivo, cuando son jóvenes, y en agar Czapek, los conidios son visiblemente verrugosos, se caracteriza por la producción de ácido kójico (Raper y Fennell, 1965; Moreno, 1988).

Actualmente se sabe que para preservar el vigor y la longevidad de las semillas, primero hay que contar con semillas de excelente calidad física y biológica al momento de la cosecha; partiendo de esta premisa, la calidad de la semilla se conservará, siempre y cuando se controlen los factores bióticos (hongos e insectos) y los abióticos (humedad y temperatura) y sus interacciones, que desmeritan la calidad de las semillas durante su manejo poscosecha (Priestley, 1986). La calidad de



las semillas, entre otros aspectos, se determina por la capacidad de desarrollar una plántula normal, aún bajo condiciones ambientales no ideales de temperatura y de humedad, tal como puede ocurrir en el campo (Moreno, 1988).

Las semillas durante su formación en el campo contienen gran cantidad de agua, la cual se va reduciendo conforme alcanza la madurez; sin embargo, en el momento de la cosecha, las semillas aún presentan una humedad alta que dificulta su conservación. Por esa razón, el contenido de humedad de las semillas debe ser reducido rápidamente mediante el secado al sol o de preferencia con el secado mecánico; a 13% para cereales, 12% para oleaginosas, 10% para cebolla y 4.5% para jitomate (Moreno, 1978; Peretti, 1994).

Si se mantiene una humedad relativa constante inferior al 65%, y el contenido de humedad de la semilla de 13% o menor, es seguro que el tiempo de vida de la semilla de maíz, será mayor de seis meses, dependiendo del genotipo de la semilla de maíz; sin embargo, esto no es siempre fácil de lograr, particularmente en las áreas tropicales y subtropicales del país y por la falta de tecnologías para el manejo adecuado de las semillas bajo esas condiciones (Moreno y Christensen, 1970, 1971; Moreno *et al.*, 1978; Priestley, 1986).

Si bien existe información general del efecto nocivo de los hongos de almacén sobre la longevidad del maíz, ésta es insuficiente para conocer el efecto individual de cada especie. Esta información es interesante desde el punto de vista biológico, económico y práctico; pues se puede definir cuál es el papel de cada especie en la pérdida de la germinación,

permitiendo señalar las especies que deben combatirse; así como definir el papel de la humedad por sí sola, en la pérdida de la germinación de la semilla de maíz.

## **2.8. JUSTIFICACIÓN**

La gran relevancia de la humedad en el manejo de las semillas radica en que ésta es el factor abiótico más importante en su deterioro, favoreciendo el desarrollo de insectos y hongos, así como por su efecto sobre los procesos fisiológicos de las semillas, de los que dependen la pérdida de vigor, longevidad y viabilidad. Por lo que se consideró importante obtener información acerca de los efectos de la humedad relativa, contenido de humedad, temperatura, periodo de almacenamiento y microbiota, sobre la calidad biológica de la semilla de maíz durante su almacenamiento en condiciones de laboratorio.

## **2.9. HIPÓTESIS**

Las especies del género *Aspergillus* que afectan el vigor y la longevidad de la semilla almacenada de maíz, no tienen el mismo grado de patogenicidad y afectan al maíz de manera diferente entre ellas; y la humedad, que favorece el desarrollo de los hongos, tiene por sí sola un efecto nocivo sobre las características de calidad biológica de las semillas: la longevidad y el vigor de las semillas.

## **2.10. OBJETIVOS**

### **2.10.1. Objetivo general**

Estudiar el efecto de nueve especies diferentes del género *Aspergillus* sobre la calidad biológica de la semilla de maíz.

### **2.10.2. Objetivos particulares**

Conocer el efecto de la humedad relativa de almacén, de 85%, en semilla de maíz inoculada con 9 especies del género *Aspergillus* (*Aspergillus candidus*, *Aspergillus restrictus*, *Aspergillus amstelodami*, *Aspergillus chevalieri*, *Aspergillus ruber*, *Aspergillus repens*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus tamarisii*).

Establecer el efecto de la humedad relativa de almacén, de 80%, en semilla de maíz inoculada con 2 especies del género *Aspergillus* (*A. ochraceus* y *A. candidus*).

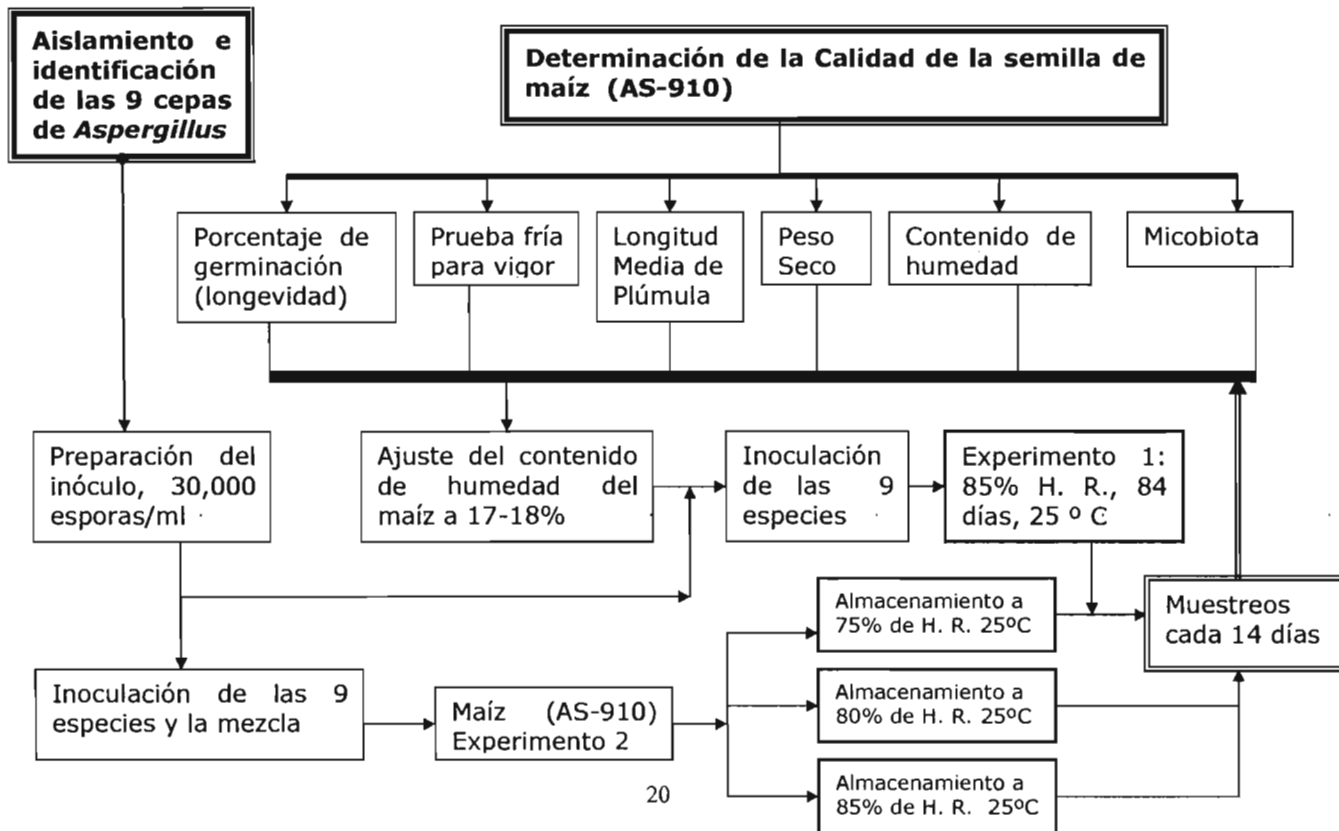
Conocer el efecto de la humedad relativa de almacén, de 75%, sobre la semilla de maíz inoculada con 6 especies del género *Aspergillus* (*Aspergillus candidus*, *Aspergillus restrictus*, *Aspergillus amstelodami*, *Aspergillus chevalieri*, *Aspergillus ruber*, *Aspergillus repens*).

Determinar si existe competencia entre las especies de hongos estudiadas, en las diferentes humedades relativas empleadas.

Conocer el deterioro de la calidad biológica (longevidad y vigor) de la semilla de maíz a lo largo de almacenamientos con diferentes humedades relativas y la presencia de diferentes especies del género *Aspergillus*.

Definir el papel de cada una de las especies empleadas en la pérdida de germinación.

**Figura 3.1. Diagrama de Trabajo del proyecto: Estudio comparativo del efecto de diferentes especies del género *Aspergillus* y de la humedad de almacenamiento sobre el vigor y la longevidad de la semilla de maíz (*Zea mays* L.)**



### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. SEMILLA

Se empleó semilla de maíz (*Zea mays* L.) proporcionada por la Compañía ASPROS: AS-910, con alta calidad biológica, con una germinación de 96%, 98% de vigor, contenido de humedad de 11.9%, invadida por el hongo de campo *Fusarium spp.* (86%); no fueron determinados hongos de almacén. Cabe mencionar que se realizó un análisis de la microbiota inicial sin desinfectar superficialmente la semilla, en donde se encontró un 97% de *Penicillium spp.*, 90% de *Fusarium spp.* y 1% de *Aspergillus ruber*. Para determinar la calidad de la semilla se siguieron las metodologías aprobadas por la International Seed Testing Association (ISTA, 1996).

#### 3.2. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DEL GÉNERO

##### *Aspergillus*

Se trabajó con nueve especies diferentes de hongos del género *Aspergillus*, siendo estos los siguientes: *A. candidus* Link, *A. restrictus* Smith, *A. amstelodami* (Mangin) Thom y Church, *A. chevalieri* (Mangin) Thom y Church, *A. repens* De Bary, *A. ruber* (Konig, Spieckermann y Bremen) Thom y Church, *A. ochraceus* Wilhem, *A. flavus* Link, *A. tamaris* Kita.

Las nueve diferentes especies del género *Aspergillus* empleadas en este estudio, fueron aisladas de semillas de maíz almacenadas bajo una humedad relativa de 85% y 25° C. Se procedió a desinfectar las semillas con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 2%, durante un minuto, agitando constantemente. Se escurrieron las semillas y se colocaron sobre toallas de papel esterilizadas para quitar el exceso de hipoclorito, y proceder a colocarlas sobre placas de malta sal agar, incubando a 27° C por espacio

de 7 días. Al término de este periodo se procedió a aislar e identificar las especies de acuerdo a las claves de Raper y Fennell (1965).

### **3.3. PREPARACIÓN DEL INÓCULO**

Se procedió a raspar de los cultivos de las especies aisladas y mezclar este raspado con un volumen conocido de agua destilada estéril. Una vez homogeneizada, la suspensión se filtró a través de una gasa estéril para eliminar el agar o restos de micelio, y se llevó a un volumen de 100 ml. Se tomó una gota de la suspensión y se cuantificó en un hemocitómetro, el número de esporas de cada suspensión. Para conocer el volumen de inóculo a emplear, se usó la siguiente fórmula (Gilchrist *et al.*, 1995):

$$V_2 = [C_1 (V_1)] / C_2$$

En donde:

$V_2$  = es el volumen final (ml)

$C_1$  = Concentración calculada (esporas)

$V_1$  = 100 ml

$C_2$  = 30,000 esporas

### **3.4. DETERMINACIÓN DE LA LONGEVIDAD O GERMINACIÓN DE LA SEMILLA DE MAÍZ**

Para la prueba de germinación se emplearon hojas de papel tipo Anchor grueso y absorbente, de 30x25 cm; siguiendo las indicaciones de la ISTA (1996). Se colocaron 50 semillas de maíz en hojas dobles, las cuales se cubrieron con otra hoja de papel; se envolvieron o formaron las "muñecas" o "tacos", se sumergieron en agua, se escurrieron y colocaron en bolsas de plástico, y se mantuvieron en una incubadora a 25° C por 7 días. Después de este periodo, se evaluaron las plúmulas,

eliminando las anormales, muertas y duras, obteniendo así el porcentaje de germinación de plántulas normales (Moreno, 1996).

### **3.5. DETERMINACIÓN DEL VIGOR DE LA SEMILLA DE MAÍZ**

Para evaluar el vigor de la semilla de maíz a través del periodo de almacenamiento, se utilizaron la prueba en frío, la prueba de longitud media de plúmula (LMP) y peso seco. Siguiendo las metodologías de la ISTA (1996) y las recomendadas por Moreno (1996).

#### **3.5.1. DETERMINACIÓN DE VIGOR POR PRUEBA FRÍA**

La prueba en frío consiste en colocar 25 semillas de maíz en una mezcla de arena/tierra (3/1), aproximadamente 3cm de altura, sobre ésta se colocaron las semillas y encima otra capa de arena/tierra; se calculó la cantidad de agua necesaria mediante la determinación del contenido de humedad del suelo y su capacidad de retención de agua (AOSA, 1996), se agregó el agua necesaria y se dejaron en incubación a 10° C, por 7 días. Posteriormente se pasaron a una temperatura de 25° C por un periodo de 4 a 5 días, después de los cuales se procedió a la evaluación de las semillas, determinando el porcentaje de las plántulas normales, anormales y muertas (ISTA, 1996; Moreno, 1996; Arachchi *et al.*, 1999).

#### **3.5.2. DETERMINACIÓN DE LONGITUD MEDIA DE PLÚMULA**

Se llevó a cabo en hojas de papel absorbente (30 x 25 cm), en la parte media de la hoja se marcó una línea, en su eje de 30 cm; igualmente se marcaron cinco líneas paralelas, hacia arriba, a 2 cm de distancia una de otra. Se colocó cinta maskintape enrollada para poder colocar la semilla con el embrión hacia arriba, a un cm de distancia una de otra. Se cubrieron con dos hojas y se enrollaron para formar los tacos; se

sumergieron en agua y se escurrieron, para después colocarlas en bolsas de plástico, sin cerrar. Se incubaron a 25° C, 7 días.

Al término de este tiempo, se contaron las plúmulas de las plántulas normales, a cada punto medio entre dos líneas paralelas se dio el valor correspondiente a la distancia de la línea central; así, el punto medio entre la línea central y la primera línea paralela es 1, el segundo 3, 5, 7, 9 y 11, sucesivamente. El número de plúmulas que quedaron entre dos paralelas fueron multiplicadas por el valor medio de dichas paralelas y los productos se sumaron.

$$L = \frac{(nx_1 + nx_3 + nx_5 + \dots + Nx_{11})}{25}$$

En donde:      **L** = longitud media de las plúmulas  
                    **n** = número de plúmulas entre cada par de paralelas  
                    **x** = la distancia media desde la línea central

La longitud total se dividió entre el número de semillas que se utilizaron para el cálculo, expresando el resultado en cm (Moreno, 1996).

### **3.5.3. DETERMINACIÓN DEL PESO SECO**

El peso seco se determinó empleando las plúmulas y raíces de las plántulas normales de la prueba de LMP. Se colocaron en un sobre de papel manila de 8 x 10 cm, se secaron en estufa a 80° C durante 24 h. Se pesaron las plántulas secas hasta obtener 3 cifras decimales, y el peso seco total de las plántulas normales se dividió entre el número de las plántulas que se secaron (Moreno, 1996).



### **3.6. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD DE SEMILLAS DE MAÍZ**

Esta determinación se efectuó por el método de secado en estufa a  $103 \pm 2^\circ \text{C}$  durante 72 h, colocando el grano entero en cajas metálicas destapadas, previamente pesadas; de acuerdo a las metodologías de la American Association of Cereal Chemists (AACC) y de la ISTA, expresándolo en porcentaje de humedad con base al peso húmedo (AACC, 1992; ISTA, 1996; Moreno, 1996), mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{C. H.} = [ \text{A/B} ] \times 100$$

en donde:

**% C. H.** = Porcentaje de contenido de humedad

**A** = Pérdida de peso en gramos

**B** = Peso original de la muestra

### **3.7. DETERMINACIÓN DE LA MICROBIOTA DE SEMILLA DE MAÍZ**

La determinación de la microbiota consiste en conocer el número y la clase de hongos que presentan las semillas, mediante el uso de medios de cultivo selectivos, tales como el malta sal agar (MSA), de acuerdo a las recomendaciones de Moreno (1988); se procedió a desinfectar superficialmente 100 semillas de maíz (de cada repetición) con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 2% durante un minuto, quitando el exceso al escurrirlas, y colocando 15 semillas en cada placa de MSA; manteniéndolas en incubación a una temperatura constante de  $25^\circ \text{C}$ , de 4 a 7 días. La microbiota se contó y se expresó en porcentaje de semillas invadidas para cada especie de hongo. Para el caso de A.

*restrictus*, en lugar de emplear MSA con 6% de sal, se empleó MSA con sal al 10%, debido a que este hongo es halófito (Zillinsky, 1984; Pérez, 1984; Moreno, 1988). Para la identificación de las diferentes especies de *Aspergillus* se emplearon las claves desarrolladas por Raper y Fennell (1965), que se basan la macromorfología y micromorfología de las colonias de los hongos y en especial en la observación de las estructuras reproductoras.

### **3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL**

La semilla de maíz se sometió a cuatro condiciones diferentes de almacenamiento, desarrolladas en dos experimentos.

El diseño experimental para ambos experimentos fue completamente aleatorio, cuya fórmula lineal fue:

$$\gamma_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta\beta_{ij} + \varepsilon\varepsilon_{ij}$$

Donde:

$\gamma_{ij}$  = Valor observado del I-esimo tiempo en la j-esima tratamiento

$\mu$  = Efecto de la media general

$\alpha_i$  = Efecto del I-esimo tiempo

$\beta_j$  = Efecto del j-esimo tratamiento (hongos)

$\delta\beta_{ij}$  = Efecto de la interacción del tiempo\*tratamiento

$\varepsilon\varepsilon_{ij}$  = Efecto del error experimental

$i = 1, 2, 3, \dots$  tiempo

$j = 1, 2, 3, \dots$  tratamiento (hongos)

La comparación de medias se realizó con la prueba de rango múltiple de Tukey, al nivel 0.05 de probabilidad para aquellas variables que presentaron diferencias estadísticas.

Los datos se analizaron bajo un diseño experimental factorial completamente al azar; bi-factorial: siendo los factores el tiempo y las nueve diferentes especies de hongo. El programa estadístico empleado fue SAS versión 6.12 (1989).

### **3.8.1. EXPERIMENTO 1**

El contenido de humedad de la semilla de maíz se ajustó a 17.5-18.0%, mediante adición de agua (Pixton, 1982); y se inoculó con cada una de las nueve especies de hongos (30,000 esporas/ml). Posteriormente se procedió a colocar las semillas en canastillas de plástico etiquetadas e identificadas, una vez establecido este paso, se colocaron las canastillas sobre una base de plástico en la cámara de humedad relativa de 85% en las que fueron almacenadas. Se realizaron muestreos cada catorce días, determinando el contenido de humedad, germinación, vigor: prueba fría, longitud media de plúmula, peso seco; y micobiota, a lo largo de 84 días (Moreno *et al.*, 1978).

### **3.8.2. EXPERIMENTO 2**

En este experimento la semilla de maíz se conservó en las humedades relativas mínimas en las cuales las diferentes especies de hongo iniciaran su desarrollo. Para mantener las humedades relativas en las

cámaras de almacenamiento, se emplearon soluciones sobresaturadas de las sales de: cloruro de sodio (NaCl) para la humedad relativa de 75%; sulfato de amonio [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] para 80%, y cloruro de potasio (KCl) para 85%. Como cámaras de almacenamiento se emplearon cajas de plástico con tapas herméticas, opacas, rectangulares, con dimensiones de 40 cm de largo por 30 cm de ancho y 25 cm de alto. Estas cámaras se colocaron en incubadoras a temperatura constante de almacenamiento de 25° C (Pixton, 1982; Moreno *et al.*, 1987).

Cada contenido de humedad tuvo un testigo tratado con fungicida Captán (testigo Captán) para impedir el desarrollo de hongos y así observar solamente el efecto de la humedad sobre la calidad biológica de la semilla; así como un testigo sin tratamiento y sin inóculo (testigo libre), para poder evaluar posibles hongos presentes de manera natural en la semilla. Así como una mezcla de las nueve especies para cada una de las humedades relativas empleadas, para poder conocer si existe competencia entre las diferentes cepas, durante la colonización de la semilla de maíz.

Cada especie de hongo fue inoculada (30,000 esporas/ml) por separado sobre la semilla de maíz, al momento de ajustar el contenido de humedad de la semilla de 11.9%, teniendo nueve especies de *Aspergillus* distribuidas en estas tres humedades relativas, como se muestra en el cuadro 3.1.

Los muestreos se realizaron cada catorce días para cada humedad relativa, por un periodo de tiempo de 84 días. Se realizaron tres repeticiones por tratamiento en cada muestreo.

CUADRO 3.1. GRUPOS DEL GÉNERO *Aspergillus* INOCULADOS Y LAS HUMEDADES RELATIVAS EMPLEADAS.

% HUMEDAD RELATIVA	ESPECIES DEL GÉNERO <i>Aspergillus</i>
75	<i>Aspergillus amstelodami</i>
75	<i>Aspergillus chevalieri</i>
75	<i>Aspergillus repens</i>
75	<i>Aspergillus ruber</i>
75	<i>Aspergillus restrictus</i>
75	<i>Aspergillus candidus</i>
80	<i>Aspergillus candidus</i>
85	<i>Aspergillus ochraceus</i>
85	<i>Aspergillus candidus</i>
85	<i>Aspergillus flavus</i>
85	<i>Aspergillus tamaraii</i>

## 4. RESULTADOS

De acuerdo con los resultados obtenidos, se realizaron ANOVAS de los experimentos cuando las F presentaron diferencias significativas. A continuación se muestran los datos concentrados de las pruebas realizadas en cada uno de los experimentos que se llevaron a cabo en el presente trabajo.

### 4.1. RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 1

En el almacenamiento de semilla de maíz en una humedad relativa del 85%, 25° C e inoculada con nueve especies del género *Aspergillus*, la comparación de medias para las pruebas desarrolladas (germinación, peso seco, longitud media de plúmula, prueba fría y contenido de humedad) se demostró que existen diferencias significativas en las pruebas de germinación estándar, peso seco y prueba fría (Cuadro 4.1.).

#### 4.1.1. Análisis de la prueba de germinación estándar

Para la germinación estándar el testigo tratado con Captán mostró el más alto porcentaje de germinación de la semilla; mientras que el testigo sin tratamiento, y los tratamientos con *A. ochraceus* y *A. flavus* no presentaron diferencias significativas entre ellos. Las semillas inoculadas con *A. amstelodami*, *A. candidus*, *A. chevalieri*, *A. repens*, *A. ruber* y *A. restrictus* estadísticamente, no presentaron diferencias entre sí.

#### 4.1.2. Análisis de la prueba de vigor

En la prueba fría la semilla de maíz tratada con Captán logró conservar el más alto vigor; la inoculación con *A. flavus* no fue diferente, estadísticamente, de ninguno de los tratamientos, los tratamientos de *A. candidus*, *A. ruber* y *A. restrictus* fueron estadísticamente iguales entre

sí. Así mismo, en las semillas tratadas con *A. amstelodami*, *A. chevalieri*, *A. ochraceus*, *A. repens* y *A. tamarii*, no se observaron diferencias significativas entre ellas, siendo la semilla inoculada con *A. candidus* la que presenta menor porcentaje de vigor (68%).

#### **4.1.3. Análisis de la prueba de longitud media de plúmula**

En el Cuadro 4.1. se puede observar que a lo largo del experimento, y en los diferentes tratamientos, la longitud media de plúmula (LMP) no presentó diferencias significativas.

#### **4.1.4. Análisis de la prueba de peso seco**

En la prueba de peso seco la semilla sin tratamiento no mostró diferencias significativas entre éstas y las semillas inoculadas con las diferentes especies del género *Aspergillus*, sin embargo en el testigo Captán sí se encontraron diferencias estadísticas con los demás tratamientos.

#### **4.1.5. Análisis de la determinación del contenido de humedad**

Para la determinación del contenido de humedad de las semillas tratadas, no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, ni a lo largo del experimento, como se observa en el Cuadro 4.1.

#### **4.1.6. Análisis de la micobiota**

En el Cuadro 4.2. se muestra la comparación de medias de la micobiota. Se puede observar que el hongo de campo, *Fusarium spp.*, que la semilla de maíz traía como micobiota inicial de manera natural, se presentó en todos los tratamientos. Para *Penicillium spp.*, hongo de almacén, también presente inicialmente en la semilla, el tratamiento con *A. restrictus* fue estadísticamente diferente de los demás tratamientos.

En las semillas inoculadas con *A. amstelodami*, *A. repens*, *A. ochraceus*, *A. ruber* y testigo Captán, no se presentaron diferencias significativas entre ellas, en presencia de este hongo.

En este estudio se encontró que el establecimiento de las diferentes especies de *Aspergillus* (*A. candidus*, *A. chevalieri*, *A. repens*, *A. ruber*, *A. tamaritii* y *A. ochraceus*) a lo largo del almacenamiento fueron iguales estadísticamente, pero diferentes a los testigos sin tratamiento y el tratado con Captán.

Las semillas inoculadas con *A. amstelodami* y *A. flavus* no presentaron diferencias entre sí, estadísticamente, pero fueron diferentes de los testigos libre y Captán; *A. restrictus* no fue diferente de éstos ni de los testigos, pero sí de *A. candidus*, *A. chevalieri*, *A. repens*, *A. ruber*, *A. tamaritii* y *A. ochraceus*.

El testigo sin tratamiento y la semilla inoculada con *A. restrictus* fueron estadísticamente iguales; ésto posiblemente se debió a una alta presencia de *A. glaucus* a lo largo del almacenamiento, y fueron diferentes de los demás tratamientos.

Las semillas inoculadas con *A. ochraceus* y *A. tamaritii* fueron iguales entre sí, pero diferentes de los demás; mientras que las semillas inoculadas con *A. amstelodami*, *A. candidus*, *A. chevalieri*, *A. flavus*, *A. repens*, *A. ruber* y testigo Captán fueron iguales entre sí, pues la presencia de *A. glaucus* resultó baja o nula.

La presencia de *A. tamaritii* en los tratamientos no fue diferente, estadísticamente, entre la semilla inoculada con *A. amstelodami*, *A. flavus* y *A. restrictus*. *A. flavus* fue diferente de *A. candidus*, *A.*



*chevalieri*, *A. ochraceus*, *A. repens*, *A. ruber*, *A. tamaritii*, testigo Captán y testigo libre. No existen diferencias en todos los tratamientos que presentaron *A. ochraceus* en la determinación de micobiota. Para *A. candidus*, *A. ochraceus* difiere de todos los tratamientos, los cuales no fueron diferentes entre ellos.

CUADRO 4.1. COMPARACIÓN DE MEDIAS PARA LAS VARIABLES DE GERMINACIÓN, PESO SECO DE PLÁNTULA, LONGITUD MEDIA DE PLÚMULA, PRUEBA FRÍA Y CONTENIDO DE HUMEDAD EN SEMILLA DE MAÍZ INOCULADA CON 9 ESPECIES DEL GÉNERO *Aspergillus*, ALMACENADA A 25° C, 85% DE H. R. Y POR UN PERIODO DE 84 DÍAS.

HONGO	Germinación estándar (%)**	Peso seco de plántula (mg/100)**	LMP (cm) NS	Prueba fría (%)**	Contenido de humedad (%)NS
<i>A. amstelodami</i>	79 <sup>B</sup>	81.63 <sup>A</sup>	12.20 <sup>A</sup>	75 <sup>BC</sup>	17.5 <sup>A</sup>
<i>A. candidus</i>	72 <sup>B</sup>	82.66 <sup>A</sup>	12.09 <sup>A</sup>	68 <sup>C</sup>	17.4 <sup>A</sup>
<i>A. chevallieri</i>	73 <sup>B</sup>	84.76 <sup>A</sup>	12.66 <sup>A</sup>	75 <sup>BC</sup>	17.4 <sup>A</sup>
<i>A. flavus</i>	82 <sup>AB</sup>	79.94 <sup>A</sup>	12.23 <sup>A</sup>	81 <sup>ABC</sup>	17.6 <sup>A</sup>
<i>A. ochraceus</i>	82 <sup>AB</sup>	80.32 <sup>A</sup>	12.53 <sup>A</sup>	72 <sup>BC</sup>	17.5 <sup>A</sup>
<i>A. repens</i>	79 <sup>B</sup>	80.93 <sup>A</sup>	11.96 <sup>A</sup>	79 <sup>BC</sup>	17.4 <sup>A</sup>
<i>A. restrictus</i>	79 <sup>B</sup>	81.77 <sup>A</sup>	12.65 <sup>A</sup>	70 <sup>C</sup>	17.3 <sup>A</sup>
<i>A. ruber</i>	76 <sup>B</sup>	82.78 <sup>A</sup>	12.83 <sup>A</sup>	69 <sup>C</sup>	17.4 <sup>A</sup>
<i>A. tamaritii</i>	75 <sup>B</sup>	84.00 <sup>A</sup>	12.61 <sup>A</sup>	75 <sup>BC</sup>	17.3 <sup>A</sup>
Testigo Captán	90 <sup>A</sup>	72.40 <sup>B</sup>	11.66 <sup>A</sup>	93 <sup>A</sup>	17.5 <sup>A</sup>
Testigo libre	81 <sup>AB</sup>	78.01 <sup>AB</sup>	11.73 <sup>A</sup>	84 <sup>AB</sup>	17.3 <sup>A</sup>

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

\*\* diferencias significativas entre los tratamientos

NS sin diferencias significativas

Cuadro 4.2. COMPARACIÓN DE MEDIAS DEL PORCENTAJE DE PRESENCIA DE HONGOS DE SEMILLA DE MAÍZ INOCULADA CON 9 ESPECIES DIFERENTES DEL GÉNERO *Aspergillus*, ALMACENADAS A 25° C, 84 DÍAS Y UNA H. R. DE 85%.

HONGO	Semilla inoculada (%)	<i>Fusarium</i> spp. (%)	<i>Penicillium</i> spp. (%)	<i>A. glaucus</i> (%)	<i>A. tamaritii</i> (%)	<i>A. candidus</i> (%)	<i>A. ochraceus</i> (%)
<i>A. amstelodami</i>	47 <sup>AB</sup>	48 <sup>A</sup>	1 <sup>AB</sup>	0.4 <sup>C</sup>	0.3 <sup>AB</sup>	0.1 <sup>B</sup>	0.0 <sup>A</sup>
<i>A. candidus</i>	59 <sup>A</sup>	50 <sup>A</sup>	0.1 <sup>B</sup>	0.1 <sup>C</sup>	0.0 <sup>B</sup>	0.0 <sup>B</sup>	0.0 <sup>A</sup>
<i>A. chevallieri</i>	53 <sup>A</sup>	45 <sup>A</sup>	0.2 <sup>B</sup>	0.4 <sup>C</sup>	0.2 <sup>B</sup>	0.1 <sup>B</sup>	0.0 <sup>A</sup>
<i>A. flavus</i>	45 <sup>AB</sup>	49 <sup>A</sup>	0.1 <sup>B</sup>	0.2 <sup>C</sup>	0.8 <sup>A</sup>	0.03 <sup>B</sup>	0.35 <sup>A</sup>
<i>A. ochraceus</i>	55 <sup>A</sup>	39 <sup>A</sup>	1 <sup>AB</sup>	5 <sup>B</sup>	0.0 <sup>B</sup>	0.5 <sup>A</sup>	0.1 <sup>A</sup>
<i>A. repens</i>	62 <sup>A</sup>	39 <sup>A</sup>	0.5 <sup>AB</sup>	0.0 <sup>C</sup>	0.1 <sup>B</sup>	0.0 <sup>B</sup>	0.0 <sup>A</sup>
<i>A. restrictus</i>	16 <sup>BC</sup>	32 <sup>A</sup>	5 <sup>A</sup>	38 <sup>A</sup>	0.4 <sup>AB</sup>	0.0 <sup>B</sup>	0.0 <sup>A</sup>
<i>A. ruber</i>	62 <sup>A</sup>	40 <sup>A</sup>	0.8 <sup>AB</sup>	0.7 <sup>C</sup>	0.0 <sup>B</sup>	0.1 <sup>B</sup>	0.37 <sup>A</sup>
<i>A. tamaritii</i>	69 <sup>A</sup>	30 <sup>A</sup>	0.0 <sup>B</sup>	5.0 <sup>B</sup>	0.0 <sup>B</sup>	0.0 <sup>B</sup>	0.3 <sup>A</sup>
Testigo Captán	0.0 <sup>C</sup>	39 <sup>A</sup>	0.0 <sup>B</sup>	0.0 <sup>C</sup>	0.0 <sup>B</sup>	0.0 <sup>B</sup>	0.0 <sup>A</sup>
Testigo libre	0.0 <sup>C</sup>	38 <sup>A</sup>	0.8 <sup>AB</sup>	53 <sup>A</sup>	0.1 <sup>B</sup>	0.0 <sup>B</sup>	0.1 <sup>A</sup>

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

## **4.2. RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 2**

Para el experimento 2 se ocuparon 3 diferentes humedades relativas. Los datos se muestran en los Cuadros consecutivos del 4.2.1. al 4.2.6. para la H. R. de 85%; del 4.2.7. al 4.2.12. para la de 80% y del 4.2.13. al 4.2.18. para la humedad de 75%.

### **4.2.1. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DEL EXPERIMENTO 2, CON UNA HUMEDAD RELATIVA DE 85%**

#### **4.2.1.A. Análisis de la prueba de germinación estándar**

El Cuadro 4.2.1. muestra la comparación de medias de la germinación estándar, la cual se ve afectada al paso del tiempo de almacenamiento, encontrando que el testigo tratado con Captán conservó la germinación más alta (92%), siendo la semilla inoculada con *A. candidus* la que más la bajó (55%).

#### **4.2.1.B. Análisis de la prueba de vigor**

El Cuadro 4.2.2. muestra la comparación de medias para la prueba fría, la cual presentó diferencias entre los tratamientos y el tiempo de almacenamiento, siendo los tratamientos de mezcla y *A. candidus* los que bajaron más el vigor de la semilla, y el testigo tratado con Captán fue el que presentó mayor vigor (81%). Se observó un claro descenso del vigor a lo largo del almacenamiento para todos los tratamientos probados en este trabajo.

#### **4.2.1.C. Análisis de la prueba de longitud media de plúmula**

El Cuadro 4.2.3 muestra la comparación de medias de la LMP, en donde se observó que estadísticamente, los tratamientos de testigo libre y *A. tamaritii* resultaron iguales, y la semilla inoculada con *A. candidus* fue la que mostró una longitud más baja (10.03 cm).

#### **4.2.1.D. Análisis de la prueba de peso seco**

En el Cuadro 4.2.4. se muestra la comparación de medias para la prueba de peso seco de las semillas tratadas con *A. candidus*, *A. flavus*, *A. tamarii*, testigo Captán , testigo libre y mezcla de las 9 especies usadas en el proyecto, en donde se observó que existen diferencias a lo largo del tiempo, así como las hay entre los tratamientos.

La semilla tratada con *A. candidus* se mantuvo vigorosa; testigo sin tratamiento y la mezcla fueron estadísticamente iguales, seguida, de manera descendente, de *A. tamarii*, *A. flavus* y por último testigo Captán.

#### **4.2.1.E. Análisis de la determinación del contenido de humedad**

El Cuadro 4.2.5. muestra la determinación del contenido de humedad, en donde se encontró que existen diferencias entre los muestreos y tratamientos, siendo el primer muestreo el de menor contenido de humedad, y los tratamientos de mezcla y *A. candidus* iguales entre sí, estadísticamente, y diferentes de los demás.

El Cuadro 4.2.6. muestra las medias de todas las pruebas, en donde se observa que el testigo Captán presentó una germinación alta, pero la semilla no fue vigorosa, y la LMP fue moderada. El tratamiento que más afectó la calidad biológica de la semilla de maíz es *A. candidus*.

#### **4.2.1.F. Análisis de la micobiota**

Para la determinación de la micobiota se presenta la Figura 4.2.6.1., en donde se observó claramente el crecimiento de *A. candidus* y *A. tamarii*.

Para *Fusarium spp.* se encontró que este hongo de campo, que se manifestó en la semilla de manera inicial, fue bajando su presencia a lo largo del experimento, lo cual puede observarse en la Figura 4.2.6.2. En cuanto a la competencia, en la mezcla se observó que *A. candidus* logró desarrollarse mejor que las otras especies, seguido de *A. ruber* y *A. tamarii*, lo cual puede observarse en la Figura 4.2.6.3.

CUADRO 4.2.1. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE GERMINACIÓN ESTÁNDAR DE SEMILLA DE MAÍZ INOCULADA CON 3 ESPECIES Y UNA MEZCLA DE 9 ESPECIES DE HONGOS DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN Y TESTIGO SIN TRATAMIENTO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 85% DE H. R. Y 25° C.

Tratamiento	GERMINACIÓN ESTÁNDAR (%)						MEDIA
	Tiempo de almacenamiento (días)						
	14	28	42	56	70	84	
<i>A. candidus</i>	75	73	61	75	26	19	55 <sup>F</sup>
<i>A. flavus</i>	82	86	71	82	53	55	72 <sup>B</sup>
<i>A. tamaritii</i>	93	85	72	49	50	45	66 <sup>D</sup>
Testigo	91	92	96	94	95	84	92 <sup>A</sup>
Captán							
Testigo libre	84	86	67	59	54	52	67 <sup>C</sup>
Mezcla	81	82	74	60	51	41	65 <sup>E</sup>
<b>MEDIA</b>	84 <sup>A</sup>	84 <sup>A</sup>	74 <sup>B</sup>	70 <sup>C</sup>	55 <sup>D</sup>	50 <sup>E</sup>	

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

CUADRO 4.2.2. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE PRUEBA FRÍA (%) DE PLÁNTULAS DE SEMILLA DE MAÍZ INOCULADA CON 3 ESPECIES Y UNA MEZCLA DE 9 ESPECIES DE HONGOS DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN Y TESTIGO SIN TRATAMIENTO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 85% DE H. R. Y 25° C.

Tratamiento	PRUEBA FRÍA (%)						MEDIA
	Tiempo de almacenamiento (días)						
	14	28	42	56	70	84	
<i>A. candidus</i>	75	76	58	46	32	12	50 <sup>E</sup>
<i>A. flavus</i>	87	97	67	59	54	37	67 <sup>B</sup>
<i>A. tamaritii</i>	79	90	64	67	32	51	64 <sup>C</sup>
Testigo Captán	91	99	90	97	67	40	81 <sup>A</sup>
Testigo libre	85	60	72	53	35	47	59 <sup>D</sup>
Mezcla	81	35	57	51	44	33	50 <sup>E</sup>
<b>MEDIA</b>	83 <sup>A</sup>	73 <sup>B</sup>	68 <sup>C</sup>	62 <sup>D</sup>	44 <sup>E</sup>	37 <sup>F</sup>	

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

CUADRO 4.2.3. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LONGITUD MEDIA DE PLÚMULA DE PLÁNTULAS DE SEMILLA DE MAÍZ INOCULADA CON 3 ESPECIES Y UNA MEZCLA DE 9 ESPECIES DE HONGOS DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN Y TESTIGO SIN TRATAMIENTO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 85% DE H. R.

Tratamiento	LONGITUD MEDIA DE PLÚMULA (cm)						MEDIA
	Tiempo de almacenamiento (días)						
	14	28	42	56	70	84	
<i>A. candidus</i>	6.32	8.69	12.18	6.14	13.46	13.41	10.03 <sup>D</sup>
<i>A. flavus</i>	8.72	9.77	13.93	8.55	14.16	13.95	11.51 <sup>B</sup>
<i>A. tamaritii</i>	8.97	9.64	13.83	13.3	13.73	12.58	12.01 <sup>A</sup>
Testigo	8.13	8.41	13.88	7.96	14.16	13.23	10.96 <sup>C</sup>
Captán							
Testigo libre	7.14	10.49	13.71	14.11	13.41	13.53	12.07 <sup>A</sup>
Mezcla	6.26	8.36	14.38	13.41	14.23	13.60	11.70 <sup>B</sup>
<b>MEDIA</b>	7.59 <sup>E</sup>	9.23 <sup>D</sup>	13.65 <sup>AB</sup>	10.58 <sup>C</sup>	13.86 <sup>A</sup>	13.38 <sup>B</sup>	

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

CUADRO 4.2.4. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE PESO SECO (mg) DE PLÁNTULAS DE SEMILLA DE MAÍZ INOCULADA CON 3 ESPECIES Y UNA MEZCLA DE 9 ESPECIES DE HONGOS DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN Y TESTIGO SIN TRATAMIENTO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 85% DE H. R. Y 25° C.

Tratamiento	PESO SECO (mg)						MEDIA
	Tiempo de almacenamiento (días)						
	14	28	42	56	70	84	
<i>A. candidus</i>	4.27	3.45	7.21	11.66	31.53	61.58	19.95 <sup>A</sup>
<i>A. flavus</i>	3.26	2.93	3.85	4.46	6.24	5.78	4.42 <sup>D</sup>
<i>A. tamaritii</i>	2.24	2.75	3.23	8.66	8.34	9.86	5.85 <sup>C</sup>
Testigo Captán	3.14	3.12	2.75	2.66	2.83	3.24	2.96 <sup>E</sup>
Testigo libre	4.73	4.76	7.45	6.34	7.14	7.55	6.31 <sup>B</sup>
Mezcla	3.65	3.55	4.34	6.06	7.75	12.54	6.32 <sup>B</sup>
MEDIA	3.55 <sup>E</sup>	3.41 <sup>F</sup>	4.80 <sup>D</sup>	6.64 <sup>C</sup>	10.64 <sup>B</sup>	16.76 <sup>A</sup>	

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

CUADRO 4.2.5. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD DE SEMILLA DE MAÍZ INOCULADA CON 3 ESPECIES Y UNA MEZCLA DE 9 ESPECIES DE HONGOS DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN Y TESTIGO SIN TRATAMIENTO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 85% DE H. R. Y 25° C.

Tratamiento	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)						MEDIA
	Tiempo de almacenamiento (días)						
	14	28	42	56	70	84	
<i>A. candidus</i>	13.2	15.5	17.3	17.1	17.3	17.4	16.3 <sup>A</sup>
<i>A. flavus</i>	12.8	15.4	16.7	16.6	16.8	16.3	15.8 <sup>B</sup>
<i>A. tamaritii</i>	12.9	14.6	16.8	16.4	17.3	16.9	15.8 <sup>B</sup>
Testigo Captán	12.3	14.4	16.9	16.5	17.2	16.9	15.7 <sup>B</sup>
Testigo libre	13.0	14.4	16.9	17.2	16.6	16.9	15.8 <sup>B</sup>
Mezcla	12.7	16.2	16.7	17.0	16.9	17.3	16.1 <sup>A</sup>
MEDIA	12.8 <sup>D</sup>	15.1 <sup>C</sup>	16.9 <sup>AB</sup>	16.8 <sup>B</sup>	17.0 <sup>A</sup>	16.9 <sup>AB</sup>	

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

CUADRO 4.2.6. CONCENTRADO DE LAS COMPARACIONES DE MEDIAS DE LAS PRUEBAS DE DETERMINACIÓN DE PESO SECO, PRUEBA FRÍA (VIGOR), GERMINACIÓN ESTÁNDAR, LONGITUD MEDIA DE PLÚMULA Y CONTENIDO DE HUMEDAD PARA SEMILLA DE MAÍZ INOCULADA CON 3 ESPECIES DE HONGOS DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN, TESTIGO SIN TRATAMIENTO Y MEZCLA DE LAS 9 ESPECIES DE ESTE GÉNERO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 85% DE H. R. Y 25° C.

TRATAMIENTO	PESO SECO [(mg)*100]	PRUEBA FRÍA (%)	PRUEBA REALIZADA		C. H. (%)
			GERMINACIÓN ESTÁNDAR (%)	LMP (cm)	
<i>A. candidus</i>	19.95 <sup>A</sup>	50 <sup>E</sup>	55 <sup>F</sup>	10.03 <sup>D</sup>	16.3 <sup>A</sup>
<i>A. flavus</i>	4.42 <sup>D</sup>	67 <sup>B</sup>	72 <sup>B</sup>	11.51 <sup>B</sup>	15.8 <sup>B</sup>
<i>A. tamaritii</i>	5.85 <sup>C</sup>	64 <sup>C</sup>	66 <sup>D</sup>	12.01 <sup>A</sup>	15.8 <sup>B</sup>
Testigo Captán	2.96 <sup>E</sup>	81 <sup>A</sup>	92 <sup>A</sup>	10.96 <sup>C</sup>	15.7 <sup>B</sup>
Testigo libre	6.31 <sup>B</sup>	59 <sup>D</sup>	67 <sup>C</sup>	12.07 <sup>A</sup>	15.8 <sup>B</sup>
Mezcla	6.32 <sup>B</sup>	50 <sup>E</sup>	65 <sup>E</sup>	11.70 <sup>B</sup>	16.1 <sup>A</sup>

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

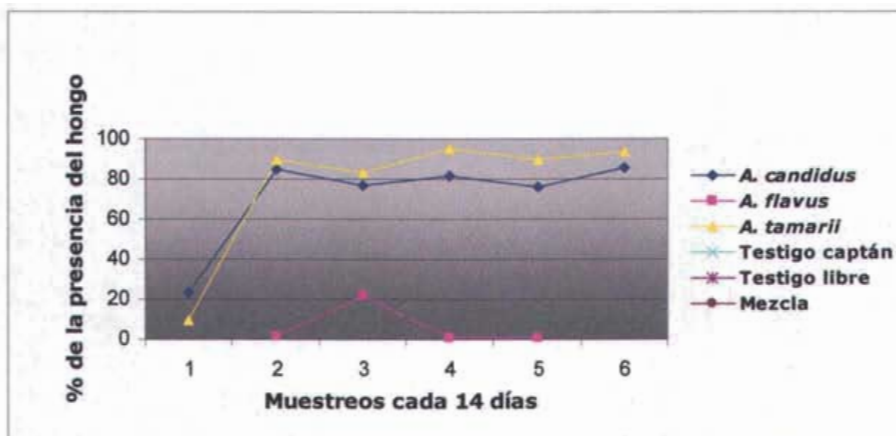


FIGURA 4.2.6.1. MICROBIOTA DE SEMILLA DE MAÍZ (AS-910) INOCULADA CON 3 ESPECIES DE *Aspergillus*, ALMACENADA 84 DÍAS, A 25° C Y 85% H. R.

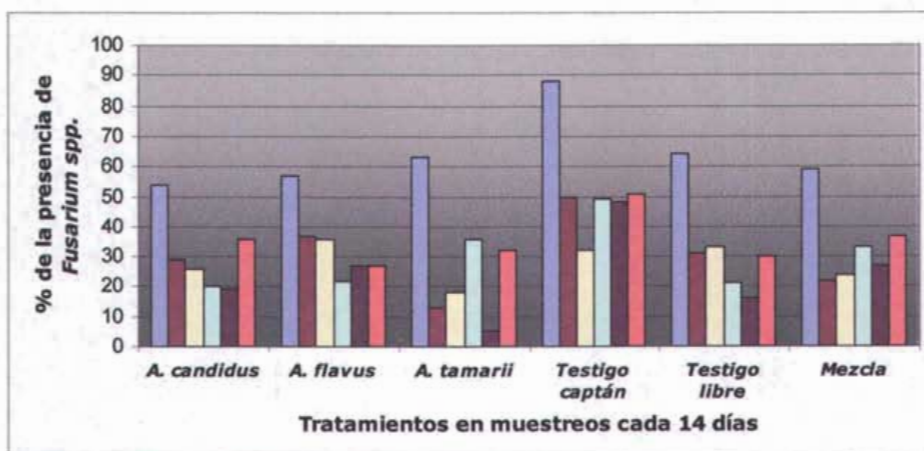


FIGURA 4.2.6.2. PRESENCIA DE *Fusarium spp.* EN SEMILLA DE MAÍZ (AS-910) INOCULADA CON 3 ESPECIES DE *Aspergillus*, ALMACENADA 84 DÍAS, A 25° C Y 85% H. R.



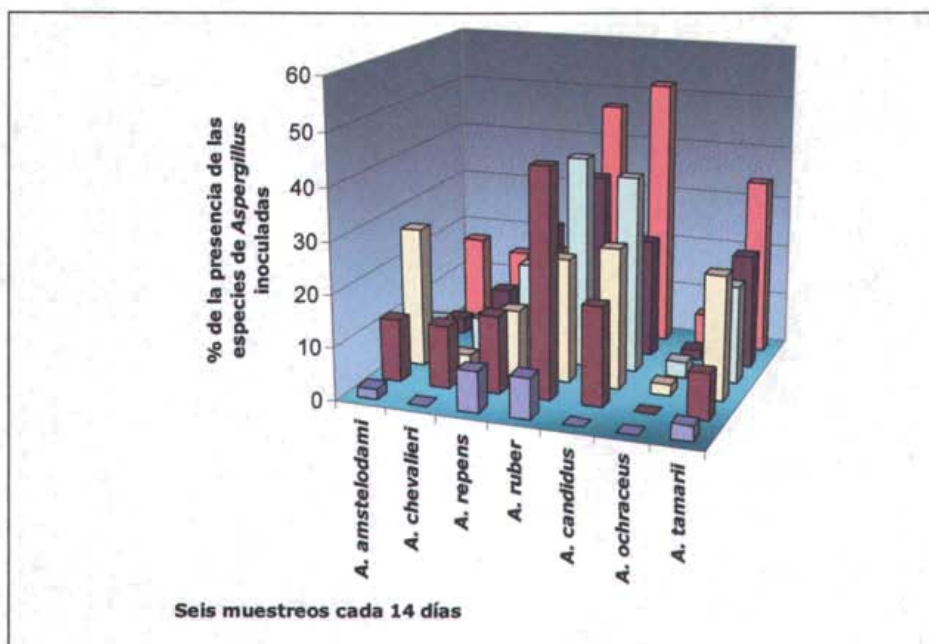


FIGURA 4.2.6.3. COMPETENCIA DE LAS ESPECIES DE *Aspergillus* INOCULADAS EN SEMILLA DE MAÍZ (AS-910) ALMACENADA 84 DÍAS, A 25° C Y 85% H. R.

## **4.2.2. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DEL EXPERIMENTO 2, CON UNA HUMEDAD RELATIVA DE 80%**

### **4.2.2.A. Análisis de la prueba de germinación estándar**

El Cuadro 4.2.7. presenta la comparación de medias de la germinación estándar, en la cual se observó una disminución al paso del tiempo de almacenamiento, siendo el testigo Captán el que conservó una germinación alta (90%), y *A. candidus* el que más daño causó (58%).

### **4.2.2.B. Análisis de la prueba de vigor**

El Cuadro 4.2.8. muestra la comparación de medias de la prueba fría para vigor, observándose una caída a lo largo del tiempo de almacenamiento, siendo el testigo Captán el que manifestó un porcentaje mayor (80%), y los tratamientos con *A. candidus* (45%) y mezcla (45%) los más afectados.

### **4.2.2.C. Análisis de la prueba de longitud media de plúmula**

La comparación de medias de la longitud media de plúmula se muestra en el Cuadro 4.2.9., en donde se ve que el testigo sin tratamiento mostró una longitud baja (9.64 cm), mientras que la mezcla es la más alta (11.93 cm).

### **4.2.2.D. Análisis de la prueba de peso seco**

El Cuadro 4.2.10. muestra la comparación de medias del peso seco, y se observa que el testigo Captán al término del tiempo de almacenamiento fue alto, aunque la media global fue la más baja; siendo el tratamiento con *A. candidus* el más alto.

### **4.2.2.E. Análisis de la determinación del contenido de humedad**

El contenido de humedad de las semillas tratadas se fue incrementando al paso del tiempo de almacenamiento, lo cual se puede advertir en el

Cuadro 4.2.11.; siendo *A. ochraceus* y testigo Captán los tratamientos sin diferencias significativas entre ellos.

El concentrado de las medias del tratamiento de semillas en cámaras de humedad de 80% se expresa en el Cuadro 4.2.12., en donde se observa que el testigo Captán mantuvo buena germinación, vigor moderado; LMP media; y los tratamientos inoculados con *A. candidus* y mezcla los más afectados.

#### **4.2.2.F. Análisis de la micobiota**

En la Figura 4.2.6.4. se observa como *A. candidus* se estableció bien, no así *A. ochraceus*.

La presencia de *Fusarium spp.* va decreciendo a lo largo del almacenamiento, sobre todo en los testigos. Se puede observar en la Figura 4.2.6.5.

*A. tamaritii* logró un 22% de presencia en la mezcla; *A. chevalieri*, *A. repens* y *A. amstelodami* se mantuvieron presentes; y demostraron ser buenos competidores; siendo *A. candidus* el mejor.

*A. candidus* se estableció bien a lo largo del experimento (59%), y en la mezcla logró una presencia de 32%; esto se observa en la Figura 4.2.6.6.

Para el caso de *A. ruber* se observó que en la mezcla logró un 48% de presencia, y mostró ser muy buen competidor. Puede verse en la Figura 4.2.6.6.

CUADRO 4.2.7. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE GERMINACIÓN ESTÁNDAR DE SEMILLA DE MAÍZ INOCULADA CON 2 ESPECIES Y UNA MEZCLA DE 9 ESPECIES DE HONGOS DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN Y TESTIGO SIN TRATAMIENTO ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 80% DE H. R. Y 25° C.

Tratamiento	GERMINACIÓN ESTANDAR (%)						MEDIA
	Tiempo de almacenamiento (días)						
	14	28	42	56	70	84	
<i>A. candidus</i>	68 <sup>L</sup>	87 <sup>F</sup>	80 <sup>J</sup>	66 <sup>M</sup>	64 <sup>O</sup>	56 <sup>P</sup>	58 <sup>E</sup>
<i>A. ochraceus</i>	84 <sup>H</sup>	92 <sup>C</sup>	96 <sup>A</sup>	94 <sup>B</sup>	89 <sup>D</sup>	85 <sup>G</sup>	78 <sup>B</sup>
Testigo Captán	64 <sup>O</sup>	81 <sup>I</sup>	70 <sup>K</sup>	53 <sup>Q</sup>	46 <sup>S</sup>	33 <sup>U</sup>	90 <sup>A</sup>
Testigo libre	85 <sup>G</sup>	88 <sup>E</sup>	81 <sup>I</sup>	85 <sup>G</sup>	70 <sup>K</sup>	56 <sup>P</sup>	70 <sup>C</sup>
Mezcla	81 <sup>I</sup>	80 <sup>J</sup>	81 <sup>I</sup>	65 <sup>N</sup>	50 <sup>R</sup>	44 <sup>T</sup>	67 <sup>D</sup>
MEDIA	76 <sup>C</sup>	86 <sup>A</sup>	82 <sup>B</sup>	73 <sup>D</sup>	64 <sup>E</sup>	55 <sup>F</sup>	

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

CUADRO 4.2.8. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE PRUEBA FRÍA DE PLÁNTULAS DE SEMILLA DE MAÍZ INOCULADA CON 2 ESPECIES Y UNA MEZCLA DE 9 ESPECIES DE HONGOS DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN Y TESTIGO SIN TRATAMIENTO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 80% DE H. R. Y 25° C.

Tratamiento	PRUEBA FRÍA (%)						MEDIA
	Tiempo de almacenamiento (días)						
	14	28	42	56	70	84	
<i>A. candidus</i>	78 <sup>E</sup>	31 <sup>Y</sup>	77 <sup>F</sup>	67 <sup>H</sup>	54 <sup>O</sup>	47 <sup>S</sup>	45 <sup>D</sup>
<i>A. ochraceus</i>	90 <sup>D</sup>	97 <sup>A</sup>	62 <sup>K</sup>	96 <sup>B</sup>	45 <sup>T</sup>	92 <sup>C</sup>	54 <sup>C</sup>
Testigo Captán	55 <sup>N</sup>	49 <sup>R</sup>	63 <sup>J</sup>	43 <sup>U</sup>	34 <sup>W</sup>	23 <sup>I</sup>	80 <sup>A</sup>
Testigo libre	53 <sup>P</sup>	35 <sup>V</sup>	58 <sup>M</sup>	61 <sup>L</sup>	55 <sup>N</sup>	62 <sup>K</sup>	59 <sup>B</sup>
Mezcla	74 <sup>G</sup>	27 <sup>Z</sup>	64 <sup>I</sup>	51 <sup>Q</sup>	33 <sup>X</sup>	20 <sup>V</sup>	45 <sup>D</sup>
MEDIA	70 <sup>A</sup>	48 <sup>E</sup>	65 <sup>B</sup>	64 <sup>C</sup>	44 <sup>F</sup>	49 <sup>D</sup>	

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

CUADRO 4.2.9. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LONGITUD MEDIA DE PLÚMULA DE PLÁNTULAS DE SEMILLA DE MAÍZ INOCULADA CON 2 ESPECIES Y UNA MEZCLA DE 9 ESPECIES DE HONGOS DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN Y TESTIGO SIN TRATAMIENTO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 80% DE H. R. Y 25° C.

Tratamiento	LONGITUD MEDIA DE PLÚMULA (cm)						MEDIA
	Tiempo de almacenamiento (días)						
	14	28	42	56	70	84	
<i>A. candidus</i>	5.10 <sup>P</sup>	7.31 <sup>M</sup>	13.55 <sup>BC</sup>	5.10 <sup>P</sup>	13.47 <sup>D-F</sup>	13.30 <sup>D-G</sup>	11.68 <sup>B</sup>
<i>A. ochraceus</i>	6.32 <sup>N</sup>	8.30 <sup>N</sup>	14.20 <sup>AB</sup>	12.87 <sup>H</sup>	13.50 <sup>D-F</sup>	13.42 <sup>D-G</sup>	10.38 <sup>D</sup>
Testigo Captán	6.27 <sup>N</sup>	9.16 <sup>K</sup>	13.10 <sup>GH</sup>	14.35 <sup>A</sup>	13.57 <sup>BC</sup>	13.65 <sup>CD</sup>	11.43 <sup>C</sup>
Testigo libre	6.51 <sup>N</sup>	9.73 <sup>J</sup>	14.10 <sup>AB</sup>	5.51 <sup>O</sup>	13.18 <sup>F-H</sup>	13.27 <sup>E-G</sup>	9.64 <sup>E</sup>
Mezcla	6.59 <sup>N</sup>	10.18 <sup>I</sup>	13.97 <sup>BC</sup>	14.03 <sup>AB</sup>	13.65 <sup>CD</sup>	13.17 <sup>F-H</sup>	11.93 <sup>A</sup>
MEDIA	6.16 <sup>E</sup>	8.94 <sup>D</sup>	13.78 <sup>A</sup>	10.37 <sup>C</sup>	13.47 <sup>AB</sup>	13.36 <sup>B</sup>	

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

CUADRO 4.2.10. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE PESO SECO DE PLÁNTULAS DE SEMILLA DE MAÍZ INOCULADA CON 2 ESPECIES Y UNA MEZCLA DE 9 ESPECIES DE HONGOS DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN Y TESTIGO SIN TRATAMIENTO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 80% DE H. R. Y 25° C.

Tratamiento	PESO SECO (mg)						MEDIA
	Tiempo de almacenamiento (días)						
	14	28	42	56	70	84	
<i>A. candidus</i>	5.63 <sup>H</sup>	3.44 <sup>U</sup>	3.95 <sup>N</sup>	5.16 <sup>K</sup>	5.35 <sup>I</sup>	6.78 <sup>F</sup>	8.94 <sup>A</sup>
<i>A. ochraceus</i>	3.05 <sup>X</sup>	3.07 <sup>X</sup>	2.74 <sup>Z</sup>	2.74 <sup>Z</sup>	2.95 <sup>Y</sup>	2.96 <sup>Y</sup>	4.06 <sup>D</sup>
Testigo Captán	3.26 <sup>V</sup>	3.76 <sup>Q</sup>	4.75 <sup>L</sup>	8.08 <sup>D</sup>	11.25 <sup>B</sup>	22.55 <sup>A</sup>	2.92 <sup>E</sup>
Testigo libre	3.05 <sup>X</sup>	3.15 <sup>W</sup>	3.56 <sup>T</sup>	3.86 <sup>O</sup>	4.36 <sup>M</sup>	6.37 <sup>G</sup>	5.05 <sup>C</sup>
Mezcla	3.84 <sup>P</sup>	3.74 <sup>R</sup>	3.6 <sup>S</sup>	5.23 <sup>J</sup>	7.85 <sup>E</sup>	10.43 <sup>C</sup>	5.78 <sup>B</sup>
MEDIA	3.77 <sup>D</sup>	3.43 <sup>F</sup>	3.72 <sup>E</sup>	5.01 <sup>C</sup>	6.35 <sup>B</sup>	9.82 <sup>A</sup>	

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

CUADRO 4.2.11. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD DE SEMILLA DE MAÍZ INOCULADA CON 2 ESPECIES Y UNA MEZCLA DE 9 ESPECIES DE HONGOS DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN Y TESTIGO SIN TRATAMIENTO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 80% DE H. R. Y 25° C.

Tratamiento	CONTENIDO DE HUMEDAD (%) {80%}						MEDIA
	Tiempo de almacenamiento (días)						
	14	28	42	56	70	84	
<i>A. candidus</i>	13.0 <sup>M</sup>	14.4 <sup>J</sup>	16.0 <sup>GH</sup>	16.2 <sup>FG</sup>	16.1 <sup>E-G</sup>	15.9 <sup>H</sup>	15.7 <sup>A</sup>
<i>A. ochraceus</i>	12.3 <sup>O</sup>	13.7 <sup>K</sup>	16.4 <sup>C-D</sup>	16.4 <sup>CD</sup>	16.5 <sup>AB</sup>	16.2 <sup>E-G</sup>	15.2 <sup>D</sup>
Testigo Captán	13.2 <sup>L</sup>	14.8 <sup>I</sup>	16.5 <sup>BC</sup>	16.3 <sup>C-E</sup>	16.6 <sup>A</sup>	16.7 <sup>A</sup>	15.2 <sup>D</sup>
Testigo libre	12.6 <sup>N</sup>	14.4 <sup>J</sup>	16.1 <sup>GH</sup>	16.2 <sup>F-H</sup>	16.1 <sup>GH</sup>	16.0 <sup>H</sup>	15.3 <sup>C</sup>
Mezcla	12.7 <sup>N</sup>	16.1 <sup>GH</sup>	16.2 <sup>FG</sup>	16.2 <sup>F-H</sup>	16.3 <sup>C-E</sup>	16.3 <sup>D-F</sup>	15.6 <sup>B</sup>
MEDIA	12.8 <sup>C</sup>	14.7 <sup>B</sup>	16.2 <sup>A</sup>	16.3 <sup>A</sup>	16.3 <sup>A</sup>	16.2 <sup>A</sup>	

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

CUADRO 4.2.12. CONCENTRADO DE LAS COMPARACIONES DE MEDIAS DE LAS PRUEBAS DE DETERMINACIÓN DE PESO SECO, PRUEBA FRÍA (VIGOR), GERMINACIÓN ESTÁNDAR, LONGITUD MEDIA DE PLÚMULA Y CONTENIDO DE HUMEDAD PARA SEMILLA DE MAÍZ INOCULADA CON 2 ESPECIES DE HONGOS DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN, TESTIGO SIN TRATAMIENTO Y MEZCLA DE LAS 9 ESPECIES DE ESTE GÉNERO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 80% DE H. R. Y 25° C.

TRATAMIENTO	PRUEBA REALIZADA				C. H. (%)
	PESO SECO (mg)	PRUEBA FRÍA (%)	GERMINACIÓN ESTÁNDAR (%)	LMP (cm)	
<i>A. candidus</i>	8.94 <sup>A</sup>	45 <sup>E</sup>	58 <sup>E</sup>	11.68 <sup>B</sup>	15.7 <sup>A</sup>
<i>A. ochraceus</i>	4.06 <sup>D</sup>	54 <sup>C</sup>	78 <sup>B</sup>	10.38 <sup>D</sup>	15.2 <sup>D</sup>
Testigo Captán	2.92 <sup>E</sup>	80 <sup>A</sup>	90 <sup>A</sup>	11.43 <sup>C</sup>	15.2 <sup>D</sup>
Testigo libre	5.05 <sup>C</sup>	59 <sup>B</sup>	70 <sup>C</sup>	9.64 <sup>E</sup>	15.3 <sup>C</sup>
Mezcla	5.78 <sup>B</sup>	45 <sup>D</sup>	67 <sup>D</sup>	11.93 <sup>A</sup>	15.6 <sup>B</sup>

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

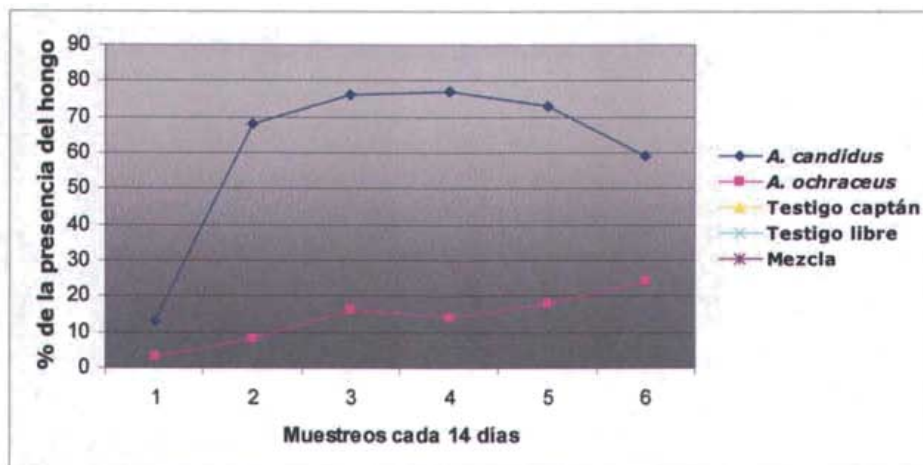


FIGURA 4.2.6.4. MICOBIOTA DE SEMILLA DE MAÍZ (AS-910) INOCULADA CON 2 ESPECIES DE *Aspergillus*, ALMACENADA 84 DÍAS, A 25° C Y 80% H. R.

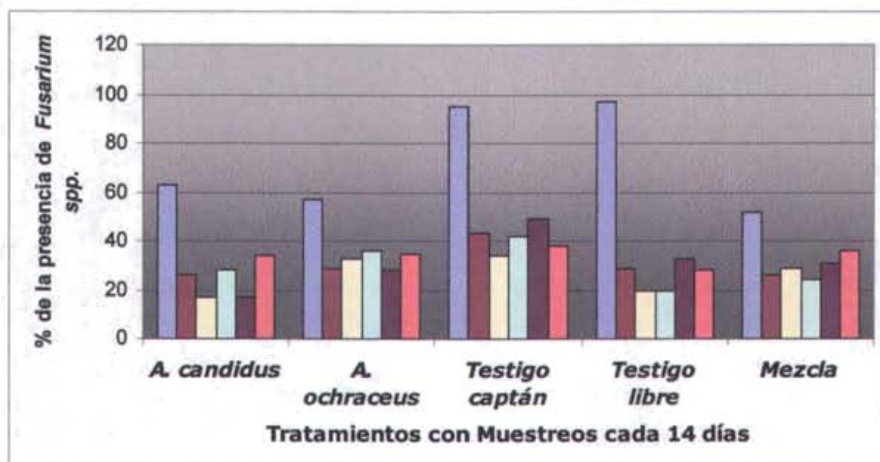


FIGURA 4.2.6.5. PRESENCIA DE *Fusarium* spp. EN SEMILLA DE MAÍZ (AS-910) INOCULADA CON 2 ESPECIES DE *Aspergillus*, ALMACENADA 84 DÍAS, A 25° C Y 80% H. R.

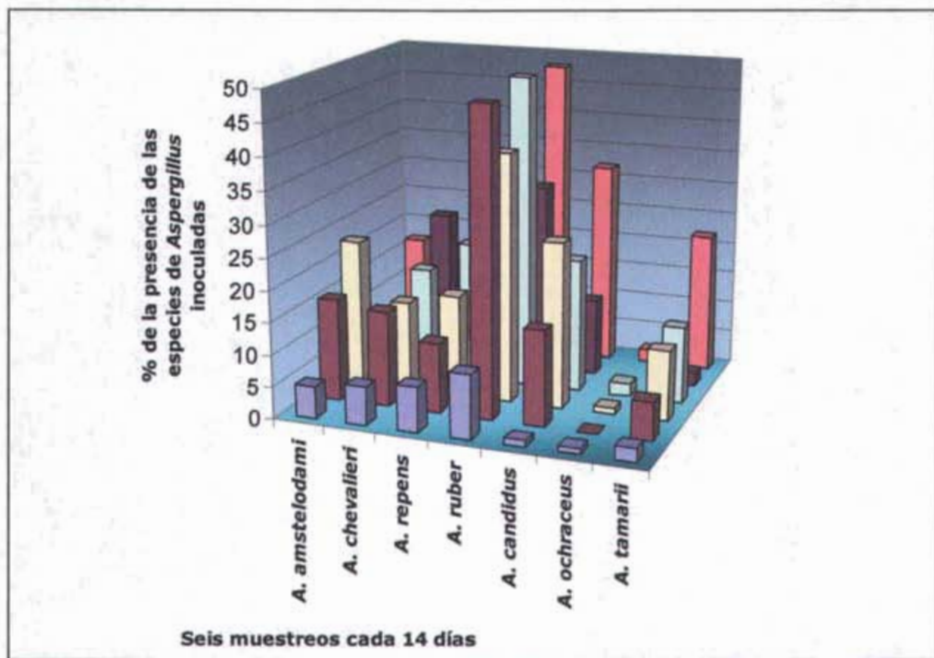


FIGURA 4.2.6.6. COMPETENCIA DE LAS ESPECIES DE *Aspergillus*, INOCULADAS EN SEMILLA DE MAÍZ (AS-910) ALMACENADA 84 DÍAS, A 25° C Y 80% H. R. |

### **4.2.3. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DEL EXPERIMENTO 2, CON UNA HUMEDAD RELATIVA DE 75%**

#### **4.2.3.A. Análisis de la prueba de germinación estándar**

La comparación de medias de la germinación estándar se presenta en el Cuadro 4.2.14., en donde se manifestó que el testigo Captán y testigo libre son estadísticamente iguales, con una buena germinación, no así el tratamiento con *A. chevalieri*, el cual mostró una germinación por debajo de norma.

#### **4.2.3.B. Análisis de la prueba de vigor**

La comparación de medias de la prueba fría se muestra en el Cuadro 4.2.15., el cual señala que el mayor vigor al paso del tiempo lo mantuvo el testigo Captán, y el más bajo el tratamiento con la mezcla de las nueve especies de hongos.

#### **4.2.3.C. Análisis de la prueba de longitud media de plúmula**

La comparación de medias para la longitud media de plúmula se ostenta en el Cuadro 4.2.16., en donde se observó que los tratamientos con *A. amstelodami* (11.56 cm) y testigo Captán (11.59 cm) fueron estadísticamente iguales, y diferentes de los demás; siendo el tratamiento con *A. chevalieri* el que presentó el valor más bajo (9.79 cm).

#### **4.2.3.D. Análisis de la prueba de peso seco**

El Cuadro 4.2.17. expresa la comparación de medias de la prueba de peso seco, en donde se observó un descenso a lo largo del tiempo de almacenamiento, siendo el tratamiento de la mezcla de hongos el de mayor peso (3.72 mg), e igual estadísticamente que los tratamientos



con *A. candidus* (3.62 mg) y *A. chevalieri* (3.64 mg), y diferente de los demás; el testigo libre fue el que logró menor peso (2.97 mg).

#### **4.2.3.E. Análisis de la determinación del contenido de humedad**

La determinación del contenido de humedad se muestra en el Cuadro 4.2.18, en donde se logró ver que la humedad fue en aumento al paso del tiempo de almacenamiento estableciéndose a partir del tercer muestreo (42 días) en un intervalo de 13.5 a 14%.

El concentrado de las comparaciones de medias de las semillas tratadas en cámaras de humedad de 75% se muestra en el cuadro 4.2.19.; y se observó que la mezcla bajó notoriamente el vigor de la semilla; mientras que el testigo Captán mantuvo buena germinación y buen vigor a lo largo del experimento.

#### **4.2.3.F. Análisis de la micobiota**

Los resultados de la determinación de micobiota se presentan en las Figuras 4.2.6.7 a la 4.2.6.9.

Se observó que cada una de las especies inoculadas van estableciéndose al paso del tiempo de almacenamiento, siendo el tratamiento con *A. ruber*, el mejor; no así los tratamientos con *A. restrictus* y *A. candidus*.

En la Figura 4.2.6.8. se observó como va decreciendo la presencia de *Fusarium spp.* a lo largo del almacenamiento.

Para el tratamiento con *A. ruber* tenemos que en la mezcla alcanza un 40% de presencia; lo cual se observa en la Figura 4.2.6.9. La presencia de *A. candidus* fue baja, y logró un 7%. *A. repens* logró 13% de presencia en el tratamiento mezcla.

El tratamiento con *A. chevalieri* y *A. amstelodami*, mostraron una presencia alta en su establecimiento (83 y 53%, respectivamente), pero no así en la mezcla (10 y 8%, respectivamente).

La competencia entre las especies trabajadas mostró que *A. ruber* fue el mejor, siendo las especies de *A. flavus*, *A. restrictus* y *A. ochraceus* muy malos competidores en la humedad relativa de 75%.

CUADRO 4.2.13. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LA GERMINACIÓN ESTÁNDAR DE SEMILLA INOCULADA CON 6 ESPECIES Y UNA MEZCLA DE 9 ESPECIES DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN Y TESTIGO SIN TRATAMIENTO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 75% DE H. R. Y 25° C.

Tratamiento	GERMINACIÓN ESTÁNDAR (%) {75%}						MEDIA
	Tiempo de almacenamiento (días)						
	14	28	42	56	70	84	
<i>A. amstelodami</i>	83 <sup>M</sup>	91 <sup>G</sup>	94 <sup>D</sup>	94 <sup>D</sup>	95 <sup>CD</sup>	91 <sup>FG</sup>	88 <sup>BC</sup>
<i>A. candidus</i>	81 <sup>N</sup>	85 <sup>K</sup>	96 <sup>B</sup>	92 <sup>F</sup>	97 <sup>A</sup>	85 <sup>J</sup>	88 <sup>C</sup>
<i>A. chevalieri</i>	61 <sup>S</sup>	94 <sup>D</sup>	97 <sup>A</sup>	92 <sup>F</sup>	93 <sup>E</sup>	92 <sup>F</sup>	77 <sup>F</sup>
<i>A. repens</i>	61 <sup>S</sup>	89 <sup>H</sup>	96 <sup>B</sup>	93 <sup>E</sup>	94 <sup>D</sup>	93 <sup>E</sup>	89 <sup>B</sup>
<i>A. restrictus</i>	60 <sup>T</sup>	63 <sup>R</sup>	96 <sup>B</sup>	60 <sup>T</sup>	92 <sup>F</sup>	91 <sup>G</sup>	87 <sup>D</sup>
<i>A. ruber</i>	79 <sup>O</sup>	93 <sup>E</sup>	96 <sup>B</sup>	79 <sup>O</sup>	93 <sup>E</sup>	92 <sup>F</sup>	86 <sup>E</sup>
Testigo	75 <sup>P</sup>	92 <sup>F</sup>	95 <sup>C</sup>	75 <sup>P</sup>	92 <sup>F</sup>	93 <sup>E</sup>	91 <sup>A</sup>
Captán							
Testigo libre	83 <sup>M</sup>	91 <sup>G</sup>	92 <sup>F</sup>	84 <sup>L</sup>	86 <sup>J</sup>	81 <sup>N</sup>	91 <sup>A</sup>
Mezcla	65 <sup>Q</sup>	92 <sup>F</sup>	94 <sup>D</sup>	94 <sup>D</sup>	92 <sup>F</sup>	82 <sup>M</sup>	89 <sup>B</sup>
MEDIA	72 <sup>F</sup>	88 <sup>D</sup>	95 <sup>A</sup>	85 <sup>E</sup>	93 <sup>B</sup>	91 <sup>C</sup>	

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

CUADRO 4.2.14. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE PRUEBA FRÍA DE SEMILLA DE MAÍZ (AS-910) INOCULADA CON 6 ESPECIES Y UNA MEZCLA DE 9 ESPECIES DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN Y TESTIGO SIN TRATAMIENTO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS, 75% DE H. R. Y 25° C.

Tratamiento	PRUEBA FRÍA (%) {75%}						MEDIA
	Tiempo de almacenamiento (días)						
	14	28	42	56	70	84	
<i>A. amstelodami</i>	95 <sup>D</sup>	33 <sup>X</sup>	87 <sup>I</sup>	84 <sup>KL</sup>	56 <sup>D</sup>	91 <sup>FG</sup>	79 <sup>E</sup>
<i>A. candidus</i>	81 <sup>NO</sup>	95 <sup>D</sup>	93 <sup>E</sup>	95 <sup>D</sup>	97 <sup>BC</sup>	85 <sup>J</sup>	89 <sup>B</sup>
<i>A. chevalieri</i>	91 <sup>G</sup>	99 <sup>A</sup>	35 <sup>W</sup>	79 <sup>P</sup>	76 <sup>Q</sup>	92 <sup>E</sup>	86 <sup>C</sup>
<i>A. repens</i>	96 <sup>CD</sup>	92 <sup>CD</sup>	82 <sup>MN</sup>	83 <sup>LM</sup>	89 <sup>H</sup>	92 <sup>EF</sup>	86 <sup>C</sup>
<i>A. restrictus</i>	95 <sup>D</sup>	89 <sup>H</sup>	95 <sup>D</sup>	93 <sup>E</sup>	71 <sup>R</sup>	72 <sup>R</sup>	74 <sup>F</sup>
<i>A. ruber</i>	81 <sup>O</sup>	98 <sup>AB</sup>	86 <sup>IJ</sup>	89 <sup>H</sup>	79 <sup>P</sup>	82 <sup>MN</sup>	82 <sup>D</sup>
Testigo	92 <sup>EF</sup>	91 <sup>FG</sup>	37 <sup>V</sup>	89 <sup>H</sup>	59 <sup>S</sup>	77 <sup>Q</sup>	91 <sup>A</sup>
Captán							
Testigo libre	89 <sup>H</sup>	93 <sup>E</sup>	83 <sup>LM</sup>	79 <sup>P</sup>	72 <sup>R</sup>	77 <sup>Q</sup>	74 <sup>F</sup>
Mezcla	86 <sup>IJ</sup>	10 <sup>Y</sup>	43 <sup>U</sup>	85 <sup>JK</sup>	83 <sup>LM</sup>	83 <sup>M</sup>	65 <sup>G</sup>
MEDIA	89 <sup>A</sup>	78 <sup>D</sup>	71 <sup>F</sup>	86 <sup>B</sup>	76 <sup>E</sup>	83 <sup>C</sup>	

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

CUADRO 4.1.2.15. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LA LONGITUD MEDIA DE PLÚMULA DE SEMILLA DE MAÍZ (AS-910), INOCULADA CON 6 ESPECIES Y UNA MEZCLA DE 9 ESPECIES DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN Y TESTIGO SIN TRATAMIENTO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 75% DE H. R. Y 25° C.

Tratamiento	LONGITUD MEDIA DE PLÚMULA (cm) {75%}						MEDIA
	Tiempo de almacenamiento (días)						
	14	28	42	56	70	84	
<i>A. amstelodami</i>	6.12 <sup>W</sup>	7.42 <sup>U</sup>	14 <sup>A-E</sup>	13.33 <sup>HI</sup>	13.53 <sup>GH</sup>	11.45 <sup>N</sup>	11.56 <sup>A</sup>
<i>A. candidus</i>	8.19 <sup>R</sup>	7.84 <sup>ST</sup>	13.95 <sup>B-F</sup>	13.78 <sup>C-G</sup>	13.23 <sup>HI</sup>	12.52 <sup>L</sup>	10.64 <sup>D</sup>
<i>A. chevalieri</i>	6.02 <sup>W</sup>	9.57 <sup>P</sup>	13.7 <sup>E-G</sup>	13.71 <sup>E-G</sup>	13.58 <sup>F-H</sup>	12.77 <sup>J-L</sup>	9.79 <sup>F</sup>
<i>A. repens</i>	5.0 <sup>X</sup>	7.9 <sup>RS</sup>	12.17 <sup>M</sup>	12.1 <sup>M</sup>	13.72 <sup>E-G</sup>	12.97 <sup>I-K</sup>	10.79 <sup>CD</sup>
<i>A. restrictus</i>	4.41 <sup>Y</sup>	7.83 <sup>ST</sup>	14.15 <sup>A-C</sup>	5.81 <sup>W</sup>	13.33 <sup>HI</sup>	13.23 <sup>HI</sup>	10.22 <sup>E</sup>
<i>A. ruber</i>	6.84 <sup>V</sup>	9.54 <sup>P</sup>	14.37 <sup>A</sup>	6.66 <sup>V</sup>	14.25 <sup>AB</sup>	13.1 <sup>IJ</sup>	11.04 <sup>BC</sup>
Testigo Captán	5.81 <sup>W</sup>	8.87 <sup>Q</sup>	13.73 <sup>D-G</sup>	6.09 <sup>W</sup>	14.1 <sup>A-D</sup>	12.72 <sup>KL</sup>	11.59 <sup>A</sup>
Testigo libre	7.53 <sup>TU</sup>	7.35 <sup>U</sup>	13.85 <sup>C-G</sup>	10.43 <sup>O</sup>	14.05 <sup>A-E</sup>	13.05 <sup>I-K</sup>	10.98 <sup>BCD</sup>
Mezcla	4.77 <sup>X</sup>	7.64 <sup>S-U</sup>	14.23 <sup>AB</sup>	14.02 <sup>A-E</sup>	13.58 <sup>F-H</sup>	13.02 <sup>I-K</sup>	11.21 <sup>B</sup>
MEDIA	6.07 <sup>E</sup>	8.22 <sup>D</sup>	13.79 <sup>A</sup>	10.66 <sup>C</sup>	13.71 <sup>A</sup>	12.76 <sup>B</sup>	

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

CUADRO 4.2.16. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE PESO SECO DE PLÁNTULAS DE SEMILLA DE MAÍZ (AS-910), INOCULADA CON 6 ESPECIES Y UNA MEZCLA DE 9 ESPECIES DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN Y TESTIGO SIN TRATAMIENTO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 75% DE H. R. Y 25° C.

Tratamiento	PESO SECO (mg) {75%}						MEDIA
	Tiempo de almacenamiento (días)						
	14	28	42	56	70	84	
<i>A. amstelodami</i>	3.46 <sup>H</sup>	3.26 <sup>J</sup>	2.86 <sup>O-Q</sup>	2.81 <sup>O-R</sup>	2.66 <sup>U-X</sup>	2.76 <sup>Q-T</sup>	3.62 <sup>B</sup>
<i>A. candidus</i>	4.57 <sup>E</sup>	3.67 <sup>G</sup>	2.71 <sup>S-V</sup>	2.77 <sup>P-T</sup>	2.57 <sup>X</sup>	2.77 <sup>Q-T</sup>	3.64 <sup>AB</sup>
<i>A. chevalieri</i>	8.30 <sup>AB</sup>	2.74 <sup>R-V</sup>	2.58 <sup>X</sup>	2.57 <sup>X</sup>	2.78 <sup>P-T</sup>	2.73 <sup>R-V</sup>	3.7 <sup>AB</sup>
<i>A. repens</i>	7.67 <sup>C</sup>	3.28 <sup>IJ</sup>	2.60 <sup>WX</sup>	2.78 <sup>P-T</sup>	2.77 <sup>Q-T</sup>	2.74 <sup>R-V</sup>	3.12 <sup>D</sup>
<i>A. restrictus</i>	8.25 <sup>B</sup>	2.81 <sup>P-S</sup>	2.91 <sup>NO</sup>	2.76 <sup>R-T</sup>	2.75 <sup>R-V</sup>	2.74 <sup>R-V</sup>	3.12 <sup>D</sup>
<i>A. ruber</i>	4.76 <sup>D</sup>	2.75 <sup>R-V</sup>	2.75 <sup>Q-U</sup>	2.69 <sup>T-W</sup>	2.96 <sup>MN</sup>	2.84 <sup>O-R</sup>	3.29 <sup>C</sup>
Testigo Captán	4.69 <sup>D</sup>	2.97 <sup>MN</sup>	2.75 <sup>R-V</sup>	3.03 <sup>LM</sup>	2.64 <sup>V-X</sup>	2.65 <sup>U-X</sup>	3.18 <sup>D</sup>
Testigo libre	3.95 <sup>F</sup>	3.07 <sup>L</sup>	2.95 <sup>MN</sup>	3.36 <sup>I</sup>	3.16 <sup>K</sup>	3.26 <sup>J</sup>	2.97 <sup>E</sup>
Mezcla	8.33 <sup>A</sup>	2.97 <sup>MN</sup>	2.75 <sup>Q-U</sup>	2.75 <sup>Q-U</sup>	2.86 <sup>OP</sup>	2.66 <sup>U-X</sup>	3.72 <sup>A</sup>
MEDIA	5.99 <sup>A</sup>	3.06 <sup>B</sup>	2.76 <sup>C</sup>	2.84 <sup>C</sup>	2.8 <sup>C</sup>	2.79 <sup>C</sup>	

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

CUADRO 4.2.17. COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD DE SEMILLA DE MAÍZ (AS-910), INOCULADA CON 6 ESPECIES Y UNA MEZCLA DE 9 ESPECIES DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN Y TESTIGO SIN TRATAMIENTO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 75% DE H. R. Y 25° C.

Tratamiento	CONTENIDO DE HUMEDAD (%) {75%}						MEDIA
	Tiempo de almacenamiento (días)						
	14	28	42	56	70	84	
<i>A. amstelodami</i>	13.0 <sup>PQ</sup>	12.7 <sup>S</sup>	14.6 <sup>AB</sup>	14.6 <sup>AB</sup>	14.3 <sup>DE</sup>	14.2 <sup>E-K</sup>	13.9 <sup>AB</sup>
<i>A. candidus</i>	12.3 <sup>U</sup>	12.8 <sup>S</sup>	14.2 <sup>G-L</sup>	14.3 <sup>E-H</sup>	14.2 <sup>E-L</sup>	14.1 <sup>J-L</sup>	13.8 <sup>ABC</sup>
<i>A. chevalieri</i>	12.9 <sup>QR</sup>	13.3 <sup>M</sup>	14.5 <sup>BC</sup>	14.2 <sup>E-L</sup>	14.2 <sup>E-K</sup>	14.2 <sup>E-J</sup>	13.7 <sup>CDE</sup>
<i>A. repens</i>	13.2 <sup>MN</sup>	13.1 <sup>N-P</sup>	14.1 <sup>H-L</sup>	14.1 <sup>H-L</sup>	14.2 <sup>E-I</sup>	14.2 <sup>E-K</sup>	13.8 <sup>BCD</sup>
<i>A. restrictus</i>	12.6 <sup>T</sup>	13.2 <sup>MN</sup>	14.1 <sup>H-L</sup>	14.2 <sup>F-L</sup>	14.3 <sup>E-I</sup>	14.1 <sup>J-L</sup>	13.7 <sup>DE</sup>
<i>A. ruber</i>	12.7 <sup>S</sup>	13.1 <sup>NO</sup>	14.1 <sup>H-L</sup>	14.3 <sup>D-F</sup>	14.2 <sup>E-L</sup>	14.2 <sup>E-L</sup>	13.9 <sup>A</sup>
Testigo Captán	12.7 <sup>S</sup>	13.0 <sup>O-Q</sup>	14.1 <sup>H-L</sup>	14.0 <sup>L</sup>	14.1 <sup>J-L</sup>	14.2 <sup>F-L</sup>	13.6 <sup>E</sup>
Testigo libre	12.8 <sup>RS</sup>	13.3 <sup>M</sup>	14.6 <sup>A</sup>	14.4 <sup>CD</sup>	14.3 <sup>D-G</sup>	14.2 <sup>F-L</sup>	13.9 <sup>A</sup>
Mezcla	12.7 <sup>S</sup>	13.1 <sup>N-P</sup>	14.1 <sup>H-L</sup>	14.2 <sup>E-K</sup>	14.1 <sup>H-L</sup>	14.3 <sup>E-H</sup>	13.7 <sup>CDE</sup>
MEDIA	12.8 <sup>C</sup>	13.1 <sup>B</sup>	14.3 <sup>A</sup>	14.3 <sup>A</sup>	14.2 <sup>A</sup>	14.2 <sup>A</sup>	

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

CUADRO 4.2.18. CONCENTRADO DE LAS COMPARACIONES DE MEDIAS DE LAS PRUEBAS DE DETERMINACIÓN DE PESO SECO, PRUEBA FRÍA (VIGOR), GERMINACIÓN ESTÁNDAR, LONGITUD MEDIA DE PLÚMULA Y CONTENIDO DE HUMEDAD PARA SEMILLA DE MAÍZ (AS-910), INOCULADA CON 6 ESPECIES DEL GÉNERO *Aspergillus*, TESTIGO TRATADO CON CAPTÁN, TESTIGO SIN TRATAMIENTO Y MEZCLA DE 9 ESPECIES DE ESTE GÉNERO, ALMACENADA DURANTE 84 DÍAS A 75% DE H. R. Y 25° C.

### PRUEBA REALIZADA

TRATAMIENTO	PESO SECO (mg)	PRUEBA FRÍA (%)	GERMINACIÓN ESTÁNDAR (%)	LMP (cm)	C. H. (%)
<i>A. amstelodami</i>	3.62 <sup>B</sup>	79 <sup>E</sup>	88 <sup>BC</sup>	11.56 <sup>A</sup>	13.9 <sup>AB</sup>
<i>A. candidus</i>	3.64 <sup>AB</sup>	89 <sup>B</sup>	88 <sup>C</sup>	10.64 <sup>D</sup>	13.8 <sup>ABC</sup>
<i>A. chevalieri</i>	3.7 <sup>AB</sup>	86 <sup>C</sup>	77 <sup>F</sup>	9.79 <sup>F</sup>	13.7 <sup>CDE</sup>
<i>A. repens</i>	3.12 <sup>D</sup>	86 <sup>C</sup>	89 <sup>B</sup>	10.79 <sup>CD</sup>	13.8 <sup>BCD</sup>
<i>A. restrictus</i>	3.12 <sup>D</sup>	74 <sup>F</sup>	87 <sup>D</sup>	10.22 <sup>E</sup>	13.7 <sup>DE</sup>
<i>A. ruber</i>	3.29 <sup>C</sup>	82 <sup>D</sup>	86 <sup>E</sup>	11.04 <sup>BC</sup>	13.9 <sup>A</sup>
Testigo Captán	3.18 <sup>D</sup>	91 <sup>A</sup>	91 <sup>A</sup>	11.59 <sup>A</sup>	13.6 <sup>E</sup>
Testigo libre	2.97 <sup>E</sup>	74 <sup>F</sup>	91 <sup>A</sup>	10.98 <sup>BCD</sup>	13.9 <sup>A</sup>
Mezcla	3.72 <sup>A</sup>	65 <sup>G</sup>	89 <sup>B</sup>	11.21 <sup>B</sup>	13.7 <sup>CDE</sup>

Medias con letras iguales no difieren entre sí (Tukey, 0.05%)

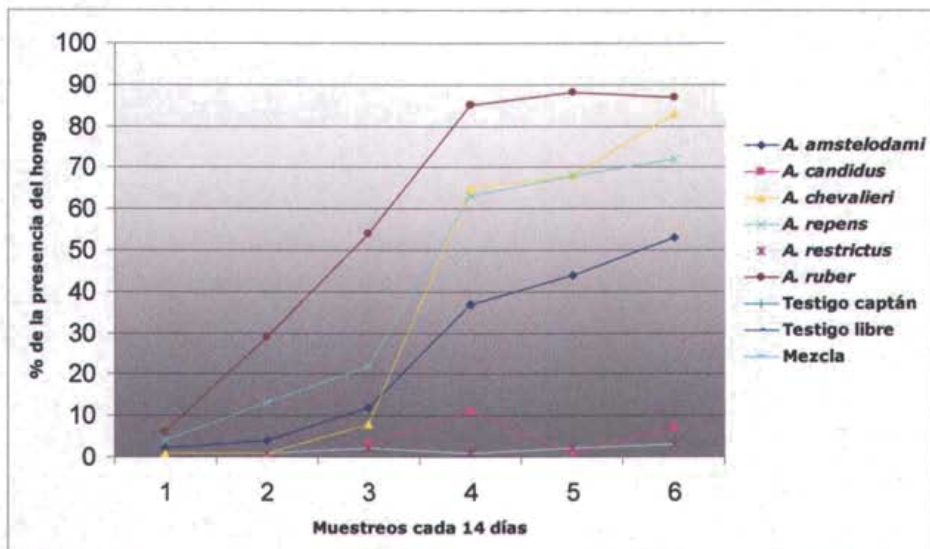


FIGURA 4.2.6.7. MICOBIOTA DE SEMILLA DE MAÍZ (AS-910) INOCULADA CON 6 ESPECIES DE *Aspergillus*, ALMACENADA 84 DÍAS, A 25° C Y 75% H. R.

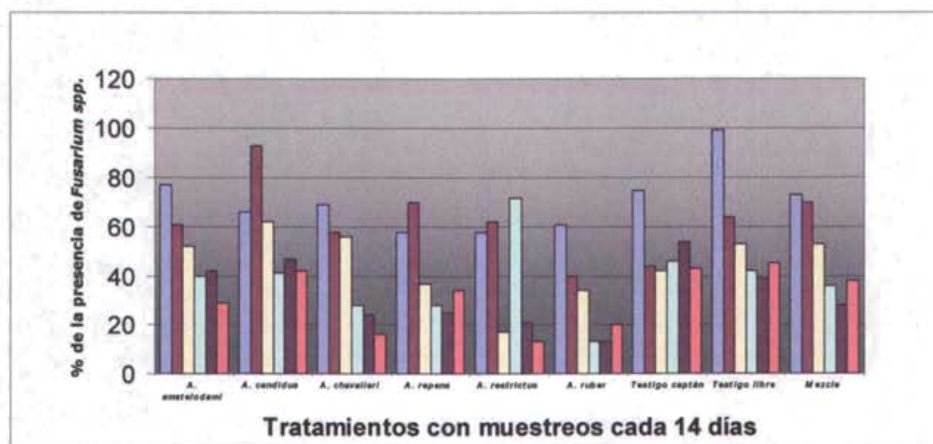


FIGURA 4.2.6.8. PRESENCIA DE *Fusarium* spp., EN SEMILLA DE MAÍZ (AS-910) INOCULADA CON 6 ESPECIES DE *Aspergillus*, ALMACENADA 84 DÍAS, A 25° C Y 75% H. R.

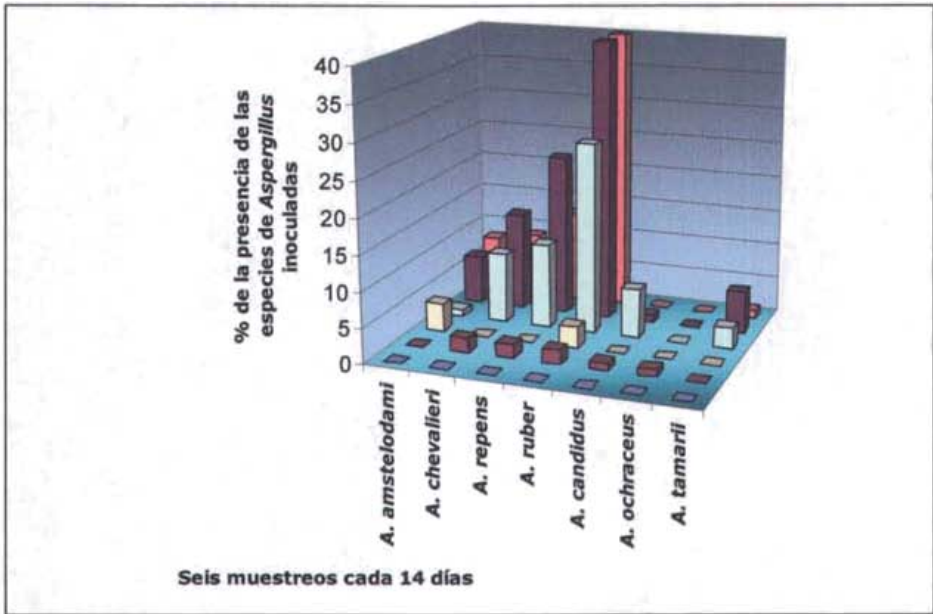


FIGURA 4.2.6.9. COMPETENCIA DE LAS ESPECIES INOCULADAS EN SEMILLA DE MAÍZ (AS-910), EN CÁMARAS DE HUMEDAD RELATIVA DE 75%, 84 DÍAS A 25° C.

## 5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

### 5.1. DISCUSIÓN

En el experimento 1, se observó que el contenido de humedad se mantuvo estadísticamente igual a lo largo de este estudio, éste es de 17.3 a 17.6, contenido de humedad que se manifiesta en humedades relativas del 85%; y que puede lograrse debido al ajuste de humedad al inicio del mismo (Pixton, 1982; Watson, 1987).

En este trabajo se demostró en las pruebas de germinación estándar y la prueba fría de vigor que las semillas de maíz tratadas con Captán mantuvieron un porcentaje de germinación alto, en comparación con las semillas de maíz inoculadas con las diferentes especies de *Aspergillus*; ya que considerando que el porcentaje de germinación inicial fue de 96% y el vigor de 98%, y los porcentajes obtenidos al final del almacenamiento fueron de 90 y 94%, respectivamente; se puede decir que el daño en ese periodo de almacenamiento para el maíz tratado con Captán, bajo una humedad relativa de 85% y 25° C no reduce la calidad de la semilla de maíz, manteniendo apta para su comercio (Reyes, 2000).

En la prueba de longitud media de plúmula no se observaron diferencias significativas entre las semillas de maíz inoculadas con hongos y los testigos, encontrándose que la velocidad de desarrollo de las plántulas fue igual para todos los tratamientos, sin embargo en la prueba fría de vigor sí se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, demostrándose con esto que la prueba fría de vigor resultó ser el mejor método para evaluar el comportamiento de la semilla de maíz bajo condiciones adversas de almacenamiento: alta humedad relativa, alta temperatura y presencia de hongos de almacén.



En las semillas inoculadas con las diferentes especies de *Aspergillus* se encontró que las especies de *A. flavus* y *A. ochraceus* mantuvieron una germinación alta de 82%, cercana a las normas establecidas por el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas [SNICS] (85%), en comparación con las demás especies inoculadas en donde se observó una disminución en la capacidad germinativa no buena para su comercio. Sin embargo *A. flavus* y *A. ochraceus* potencialmente representan un riesgo fitosanitario por ser productoras de micotoxinas.

Es importante señalar que de las especies inoculadas en este estudio *A. candidus* y la mezcla, estadísticamente fueron las que más afectaron la germinación y el vigor de la semilla de maíz.

Durante el análisis de la micobiota, se observó que el tratamiento de la semilla de maíz con *A. restrictus*, mostró un porcentaje alto de *A. glaucus* (38% de *A. ruber*) durante su almacenamiento, lo cual se pudo deber a la presencia natural de este hongo en la superficie de la semilla; aunado al crecimiento lento de *A. restrictus*; así mismo también se determinó en el tratamiento del testigo libre (53% de *A. ruber*) la presencia de esta especie, estos resultados demuestran lo encontrado por Raper y Fennell, 1965 y Moreno, en 1996.

El establecimiento de los hongos a lo largo del experimento se manifestó con diferentes porcentajes en las especies empleadas, así tenemos que, aunque son iguales estadísticamente, *A. tamarii* logró un 69%, seguido de *A. ruber* y *A. repens* con 62%, cada uno, *A. candidus* con 59%, *A. ochraceus* con 55% y con 53% para *A. chevalieri*. El segundo grupo con similitudes estadísticas, es el formado por *A. amstelodami* con 47% y *A. flavus* con 45%; después con un 16% *A. restrictus*, y por último el tratamiento con Captán en donde no se establecieron hongos.

El testigo libre (sin tratamiento) presentó un 38% de *Fusarium spp.*, hongo de campo que de forma natural traía la semilla a su arribo a la UNIGRAS, 1% de *Penicillium spp.*, hongo de almacén que superficialmente tenía la semilla de maíz, y 53% de *A. glaucus*, específicamente *A. ruber*, que también venía de manera natural en la semilla, y que manifestaron un establecimiento a lo largo del almacenamiento debido a las condiciones que propiciaron su desarrollo; mostrando que *A. ruber* logró un establecimiento mayor (Christensen, 1976).

Para el experimento 2 se observó que en el tratamiento de testigo Captán, en el primer muestreo se presentó un descenso en el porcentaje de germinación; ésto pudo deberse al hecho de que los fungicidas pueden afectar esta característica (Moreno *et al.*, 1987). Este hecho solo se observó en las humedades relativas de 80 y 75%.

Se observó un descenso en la prueba de longitud media de plúmula en todas las humedades relativas empleadas. Esto pudo deberse al ajuste que la semilla sufrió al cambiar las condiciones de almacén, pues pasó de una humedad relativa menor a una mayor; así como a la presencia de las especies del género *Aspergillus* (Moreno, 1996).

Se ha visto que *A. ochraceus* puede inhibir el desarrollo de *Fusarium verticilloides* al estar creciendo y compitiendo por el mismo espacio en granos de maíz. Probablemente en la humedad relativa de 80% se manifestó este hecho, pues el porcentaje de presencia de *Fusarium spp.* fue en notorio descenso a lo largo del tiempo de almacenamiento (Torres *et al.*, 2003). Aunque también se sabe que *Fusarium spp.* requiere humedades relativas superiores al 90% para su desarrollo, a lo

largo del experimento, este género se manifestó en claro descenso (Christensen, 1976).

La especie *A. ruber* mostró un establecimiento muy alto, seguramente por el hecho de haberse manifestado como inóculo inicial superficial y natural en la semilla empleada (AS-910); lo cual representó una ventaja sobre las otras especies trabajadas. Esto podría tomarse en cuenta en un trabajo posterior, irradiando o desinfectando la semilla antes de inocularla con las especies a emplear.

Se pudo observar un claro aumento en el contenido de humedad determinado a las semillas a lo largo de los experimentos realizados en las tres humedades relativas empleadas; este aumento es paulatino, y éste se debe a que la semilla va aumentando su contenido de humedad hasta estabilizarse con el del ambiente; el no haber ajustado la humedad de la semilla al contenido equivalente, nos permitió observar este hecho en la semilla (Christensen, 1976; Moreno, 1996).

El conocer el daño que una especie provoca a la semilla de maíz en una determinada humedad relativa, nos ayuda a establecer la humedad mínima de crecimiento del hongo, bajo la cual se afecta la calidad biológica de la semilla. Esa humedad es la que representa las condiciones más severas bajo las cuales puede causar daño (Abellana et al., 1999).

Se sabe que el vigor de la semilla del maíz baja por las condiciones de almacén que prevalezcan; así podemos ver que, en la humedad relativa del 85%, el testigo Captán perdió su vigor de 91 a 40%, el tratamiento con *A. candidus* hasta 12%, el testigo libre de 47% y la mezcla de 33%. Para la H. R. del 80% hay un daño notorio en el vigor para estos

mismos tratamientos, pues baja hasta 23% en testigo Captán, 47% para *A. candidus*, 62% para testigo libre y para mezcla 20%. El daño es menor en la H. R. del 75%, pues el testigo Captán baja 77%; *A. candidus* 91%, 77% para el testigo libre y 83% para la mezcla. Es claro entonces que la H. R. alta es la más dañina, en presencia de los hongos, pues baja el vigor drásticamente (Christensen, 1976; Arachchi *et al.*, 1999). Cabe hacer notar que el poder germinativo de la semilla no bajó tan drásticamente como el vigor, lo cual confirma lo expuesto por Moreno y Christensen en 1970, en donde afirman que contenidos de humedad relativamente altos (17.1%) en ausencia de los hongos, no son factor determinante en la pérdida de germinación de la semilla de maíz.

A lo largo de sendos experimentos, se observó como se estableció la sucesión de hongos, esto es, como van los hongos manifestándose en función de la humedad relativa en la cual pueden crecer; así los primeros en presentarse fueron las especies *A. restrictus*, *A. chevalieri*, *A. amstelodami*, *A. repens*, *A. ruber*; seguidas con una mayor humedad relativa por *A. ochraceus*, y *A. candidus*; y en la humedad más alta empleada en el presente trabajo estuvieron las especies de *A. flavus*, *A. tamarii* y *A. candidus*. Debe hacerse notar que *A. candidus* logró una presencia alta en 80% de H. R., pero baja en la mezcla; en 85% muy alta y en la mezcla superior al 20%; estos resultados confirman lo encontrado por Raper y Fennell en 1965; y por Christensen, en 1976, en semilla de maíz.

En cuanto a la competencia entre las diferentes especies empleadas, podemos ver que en las humedades relativas del 85 y 80%, el comportamiento es muy similar, siendo *A. ruber*, *A. candidus* y *A. tamarii* los que invaden más rápido a las semilla de maíz, de las nueve

especies estudiadas. Las especies *A. flavus* L., *A. restrictus* Smith y *A. ochraceus* Wilhem son malos competidores, pues no lograron establecerse a lo largo del tratamiento mezcla en ninguna de las humedades relativas empleadas (Christensen, 1976; Moreno, 1988; Torres *et al.*, 2003).

## **5.2. CONCLUSIONES**

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo, se puede afirmar que los hongos de almacén tienen un papel muy importante en la pérdida de la calidad biológica de la semilla de maíz, cuando éstas se almacenan bajo condiciones que permiten el desarrollo de estas especies.

El efecto de la humedad relativa sobre la calidad biológica de la semilla de maíz se presentó, pues en la humedad relativa de 85% el vigor y la germinación de la semilla de maíz (AS-910) se ven afectadas a lo largo de 84 días y a 25° C; también así para la humedad relativa de 80% en donde se vio una clara baja en estas características de calidad; no así para la humedad de 75%.

Es indudable que el efecto de la humedad de almacenamiento y la presencia y desarrollo de las especies del género *Aspergillus* empleadas, deterioraron enormemente la calidad biológica de la semilla de maíz; pues bajaron el vigor y la germinación de ésta, siendo las humedades relativas del 85 y 80% las más agresivas; la humedad relativa de 75% bajó la calidad de la semilla, ya que ésta no alcanza el mínimo establecido para su comercio (85%), después de 84 días de almacén.

La especie que mostró mayor grado de competencia en el tratamiento de la mezcla de las nueve especies es *A. ruber*, aunque puede deberse a

la presencia de esta especie como micobiota inicial superficial de la semilla empleada (AS-910); seguido de *A. candidus*. La especie *A. tamarii* es buen competidor, seguido de *A. amstelodami*. Se puede decir que *A. chevalieri* y *A. repens* fueron medianamente competidoras. *A. ochraceus* es un mal competidor, y las especies de *A. flavus* Link y *A. restrictus* son muy malas competidoras, pues no se manifestaron a lo largo de los experimentos de la mezcla, en ninguna de las humedades relativas estudiadas.

Es pues, muy claro el deterioro de la calidad biológica de la semilla de maíz bajo humedades relativas de 85% y 80%, y la presencia de *A. candidus*, *A. ruber* y *A. tamarii*. Se debe tener muy en cuenta que las especies conocidas como productoras de micotoxinas, representan un alto riesgo potencial, por lo que es necesario evitar su presencia en la semilla.

Es necesario conocer las especies que dañan a la semilla, para así lograr establecer un programa de prevención, no solo en la semilla como simiente, sino como alimento (grano), tanto para consumo humano como para animal.

## 6. ABREVIATURAS Y SIGLAS EMPLEADAS

Abreviatura o sigla	Significado
A.	<i>Aspergillus</i>
AACC	American Association for Cereal Chemists
AC	Antes de Cristo
AOSA	Association of Official Seed Analysts
° C	Grados Centígrados o Celsius
CH	Contenido de Humedad
cm	Centímetro
Dr.	Doctor(a)
EUA	Estados Unidos de América
FAO	Food and Agriculture Organization
H	Hora(s)
Ha	Hectárea(s)
INEGI	Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática
ISTA	International Seed Testing Association

KCl	Cloruro de Potasio
LMP	Longitud Media de Plúmula
mg	Miligramo(s)
ml	Mililitro(s)
MSA	Malta Sal Agar
NaCl	Cloruro de Sodio
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de Amonio
NaOCl	Hipoclorito de sodio
<i>P.</i>	<i>Penicillium</i>
Pp.	Páginas
PRONASE	Productora Nacional de Semillas, SAGARPA
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
SIAP/SAGARPA	Sistema de Información Estadística Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA
SNICS	Servicio Nacional de Inspección y Certificación De Semillas
<i>spp.</i>	Especies



T	Tonelada(s)
TCA	Tricloroanisol
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
UNIGRAS	Unidad de Investigación en Granos y Semillas
%	Porcentaje

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abellana, M.; Magrí, X.; Sanchis, V.; Ramos, A. J. 1999. Water activity and temperature effects on growth of *Eurotium amstelodami*, *E. chevalieri* and *E. herbariorum* on a sponge cake analogue. *International Journal of Food Microbiology* 52: 97-103.
2. Alexopoulos, C. J.; Mims, C. W.; Blackwell, M. 1996. *Introductory Mycology*. 4<sup>th</sup> Edition. John Wiley & Sons. USA.
3. American Association of Cereal Chemists. 1992. *AACC Approved Methods*. St. Paul, Minnesota, USA.
4. Association of Official Seed Analysts. 1996. *Rules for Testing Seeds*. USA. <http://www.aosaseed.com/>
5. Arachchi, D.H.M., Taylor, R.E.L., Bingham, I.J. 1999. A thermal time analysis of ageing of maize (*Zea mays* L.) seed can account for reduced germination in hot moist soil. *Field Crops Research* 63: 159-167.
6. Borgemeister, C., Adda, C., Sétamou, M., Hell, K., Djomamou, B., Markham, R.H., Cardwell, K.F. 1998. Timing in harvest in maize: effects on post harvest losses due to insects and fungi in central Benin, with particular reference to *Prostephanus truncatus* (Horn) (*Coleoptera: Bostrichidae*). *Agriculture, Ecosystems and Environment* 69: 233-242.
7. Carlile, M. J.; Watkinson, S. C.; Gooday, G. W. 2001. *The Fungi*. 2<sup>nd</sup> Edition. Academic Press. Great Britain.

8. Chelkowski, J. 1991. Cereal Grain: Mycotoxins, Fungi and Quality in Drying and Storage. Elsevier. Holanda.
9. Christensen, C. M. 1976. Contaminación por Hongos en Granos Almacenados. Editorial Pax-México.
10. Christensen, C.M. y D.B. Sauer. 1982. Microflora. En: Storage of Cereal Grains and their Products, C.M. Christensen. Editorial American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA.
11. Christensen, C. M., Meronuck, R. A. y Sauer, D. B. 1992. Microflora. En: Storage of Cereal Grains and their Products, D. B. Sauer. Editorial American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA.
12. Food and Agriculture Organization (FAO). 2005. <http://www.fao.org./docrep/TO395S/TO395S05.htm>
13. Filtenborg, O., Frisvad, J.C., Thrane, U. 1996. Moulds in food spoilage. International Journal of Food Microbiology 33: 85-102.
14. Gams, W., Christensen, M., Onions, A. H. S., J. I., Pitt, J. I., Samson, R. A. 1985. Infrageneric taxa of *Aspergillus*. En: Samson, R. A. y J. I. Pitt (Eds.). Advances in *Penicillium* and *Aspergillus* systematics. New York. Plenum Press.

15. Gilchrist-Saavedra, L., Fuentes-Dávila, G. y Martínez-Cano, C. 1995. Guía Práctica para la Identificación de algunas enfermedades de Trigo y Cebada. México, D. F. CIMMYT.
16. Guy, P.A., Sidaner, J.-P., Shroeder, S., Edney, M., MacGregor, A.W., Hill, R.D. 2002. Embryo Phytoglobin Gene Expression as a Measure of Germination in Cereals. *Journal of Cereal Science* 36: 147-156.
17. Herrera, T. y Ulloa, M. 1990. El Reino de los Hongos. Micología básica y aplicada. Fondo de Cultura Económica y Universidad Nacional Autónoma de México.
18. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2000. EL Sector Alimentario en México. México.
19. International Seed Testing Association (ISTA), 1996. International rules for seed testing. *Seed Science and Technology*. 24:1-335 (supplement).
20. James, C.W. 1981. The cost of disease to world agriculture. *Seed Science and Technology* 9: 679-683.
21. Klich, Maren A. 2002. Identification of Common *Aspergillus* Species. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.
22. Marín, S., Sanchis, V., Arnau, F., Ramos, A. J., Magan, N. 1998. Colonization and competitiveness of *Aspergillus* and *Penicillium* species in maize grain in the presence of *Fusarium*

- moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. International Journal of Food Microbiology 45: 107-117.
23. Moore-Landecker, E. 1996. Fundamentals of Fungi. Prentice Hall, Inc. New York.
  24. Moreno, M. E. y Christensen, C. M. 1970. Efecto de la humedad y hongos sobre la viabilidad de maíz almacenado. Revista Latino Americana de Microbiología. 12: 115-121.
  25. Moreno, M. E. y Christensen, C.M. 1971. Differences among lines and varieties of Maize in susceptibility to damage from invasion by storage fungi. Phytopathology 61: 1498-1500.
  26. Moreno, M. E., Morrones, R. R., Gutiérrez, L. R. 1978. Diferencias entre líneas, cruza simples y dobles de maíz en su susceptibilidad al daño por condiciones adversas de almacenamiento. Turrialba 28:3: 233-237.
  27. Moreno, M. E. 1978. Guía para evitar problemas causados por hongos en semillas y granos almacenados. Merck Sharp and Dohme. México.
  28. Moreno, M. E., Méndez, A., Ramírez, G. J. 1987. Comportamiento de la semilla de maíz, (*Zea mays* L.) bajo diferentes sistemas de almacenamiento. Turrialba 37:267-274.

29. Moreno, M. E. 1988. Manual para la Identificación de Hongos de Granos y sus Derivados. Programa Universitario de Alimentos. UNAM.
30. Moreno, M. E. y Gil G. M. 1991. La Biología de *Aspergillus flavus* y la Producción de Aflatoxinas. Programa Universitario de Alimentos UNAM.
31. Moreno, M. E. 1994. Perspectivas de la Investigación en Fitopatología. Bol. Soc. Bot. México 55:105-113.
32. Moreno, M. E. 1996. Análisis Físico y Biológico de las Semillas Agrícolas. UNAM.
33. Moreno-Martínez, E., Rivera, A. and Vázquez Badillo, M. 1998. Effect of Fungi and Fungicides on the Preservation of Wheat Seed Stored with High and Low Moisture Content. Journal of Stored Products Research. 34: No. 4: 231-236.
34. Moreno, M. E., Jiménez, A. S. y Vázquez, M. E. 2000. Effect of *Sitophilus zeamays* and *Aspergillus chevalieri* on the oxygen level in maize stored hermetically. Journal of Stored Products Research 36: 25-36.
35. Pachón, R. C. E. y Castaño, Z. J. 1999. Identificación de Hongos en Semillas Almacenadas de Maíz y Frijol. Fitopatología Colombia.
36. Pardo, E.; Marín, S.; Solsona, A.; Sanchis, V.; Ramos, A. J. 2003. Modeling of germination and growth of ochratoxigenic

- isolates of *Aspergillus ochraceus* as affected by water activity and temperature on a barley-based medium. *International Journal of Food Microbiology*. 21: 267-274.
37. Paredes-López, O., Serna-Saldívar, O. y Guzmán-Maldonado, S. H. 2000. Los alimentos mágicos de las culturas indígenas de México – El caso de la tortilla. Colegio de Sinaloa, CINVESTAV-IPN, INIFAP E ITESM. México.
  38. Peretti, Anna. 1994. Manual para el análisis de semillas. Editorial Hemisferio Sur, Argentina.
  39. Pérez, R. M. C. J. 1984. Factores que influyen en la germinación de semilla de cebolla (*Allium cepa* L.) y tomate (*Physalis pubescens* L.) durante su almacenamiento. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias, UNAM.
  40. Pérez, R. M. C. J. 1997. Micobiota en granos de sorgo: Incidencia natural de alternarios. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM.
  41. Priestley, D. A. 1986. Seed ageing. Implications for seed storage and persistence in the soil. Cornell University Press.
  42. Pixton, S.W. 1982. The importance of moisture and equilibrium relative humidity in stored products. *Tropical Stored Products Information*. 43: 16-29.
  43. Ramos, A. J., Labernia, N., Marín, S., Sanchis, V., Magan, N. 1998. Effect of water activity and temperature on growth and

ochratoxin production by three strains of *Aspergillus ochraceus* on barley extract medium and on barley grains. International Journal of Food Microbiology 44: 133-140.

44. Raper, K. B. y Fennel, D. I. 1965. The Genus *Aspergillus*. Williams and Wilkins. Baltimore, USA.
45. Reyes Téllez, María Magdalena. 2000. Comunicación personal. Productora Nacional de Semillas. México.
46. Sauer, D. B., Meronuck, R. A. and Christensen, C. M. 1992. Micoflora. In Storage of cereal grains and their products. Edited by D. B. Sauer. American Association of Cereal Chemists, Inc. Saint Paul, Minnesota, USA.
47. SIAP/SAGARPA. 2004 Sistema de Información Estadística Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA <http://www.sagarpa>
48. SNICS/SAGARPA. 2005. [www.sagarpa.gob.mx/snics/](http://www.sagarpa.gob.mx/snics/)
49. Torres, M. R., Ramos, A. J.; Soler, J.; Sanchis, V.; Marín, S. 2003. SEM study of water activity and temperature effects on the initial growth of *Aspergillus ochraceus*, *Alternaria alternata* and *Fusarium verticilloides* on maize grain. International Journal of Food Microbiology 81: 185-193.
50. Ulloa, M. y Herrera, S. T. 1994. Etimología e Iconografía de Géneros de Hongos. Cuadernos 21. Instituto de Biología. UNAM. Pp. 300.



51. Vassallo, Miguel. 2004. Gente de maíz, maíz de la gente. México desconocido. Año XXVIII. 329:28-38.
52. Watson, Stanley A. 1987. Measurement and maintenance of quality, en Corn: Chemistry and Technology. Ed. Stanley A. Watson y Paul E. Ramstad. American Association of Cereal Chemists, Inc. USA.
53. Willcock, J. and Magan, N. 2001. Impact of environmental factors on fungal respiration and dry matter losses in wheat straw. Journal of Stored Product Research 37: 35-45.
54. Zillinsky, F. J. 1984. Enfermedades comunes de los cereales de grano pequeño: una guía para su identificación. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), México.