

USO DE FUNGICIDAS PARA LA PRESERVACIÓN DE LA VIABILIDAD DE SEMILLA DE MAÍZ INVADIDA POR *ASPERGILLUS GLAUCUS*

ERNESTO MORENO-MARTÍNEZ*
JORGE RAMÍREZ-GONZÁLEZ*

RESUMEN

Semillas de maíz invadidas por *Aspergillus glaucus* y semillas libres de invasión interna por este hongo, fueron tratadas con fungicidas y almacenadas en una humedad relativa del 85% a 26°C. Las semillas se muestrearon a los 60, 120 y 180 días.

Los fungicidas benomyl, carbendazim-m y captafol protegieron parcialmente la viabilidad de las semillas almacenadas durante 60 días. La semilla tratada con benomyl tuvo una germinación de 75% a los 120 días de almacenamiento, siendo superior al resto de los tratamientos. A los 180 días ninguno de los fungicidas protegió la viabilidad de las semillas.

A excepción de captafol y thiabendazol, los otros fungicidas protegieron por 120 días la viabilidad de las semillas que inicialmente no estaban invadidas por *A. glaucus*, con germinaciones superiores al 80%. A los 180 días ningún fungicida protegió la viabilidad de las semillas.

Palabras clave: maíz, fungicidas, *Aspergillus glaucus*, viabilidad.

ABSTRACT

In order to study the protective effect of fungicides on viability of maize seed previously invaded by *Aspergillus glaucus*, as well as with seed not internally invaded by this fungus, seeds of maize were stored under 85% relative humidity and 26°C. The seed was sampled at 60, 120 and 180 days.

At 60 days the initially invaded seed was partially protected by benomyl, carbendazim-m and captafol. At 120 days seed treated with benomyl had a 75% germination; it was superior to the other treatments. At 180 days seed viability was not protected by any of the fungicides.

Seed initially free of *A. glaucus*, stored during 120 days and treated with fungicides kept a germination higher than 80%, except with captafol and thiabendazole. At 180 days the seed viability was not protected by any of the fungicides.

Key words: corn, maize, fungicides, *Aspergillus glaucus*, viability.

* Laboratorio de Granos y Semillas, Departamento de Botánica, Instituto de Biología, UNAM. Apartado Postal 70-233 Del. Coyoacán, 04510 México, D. F.

INTRODUCCIÓN

Una alternativa para evitar que los hongos de almacén (*Aspergillus* y *Penicillium*) causen la pérdida de viabilidad de la semilla de maíz durante su almacenamiento es el uso de fungicidas (Moreno y Vidal, 1981; Moreno *et al.*, 1982; Moreno *et al.*, 1985; Moreno y Ramírez, 1983, 1985). En los trabajos antes mencionados el tratamiento químico se aplicó a semilla libre de hongos de almacén, es decir a semilla que se cosechó y secó oportunamente evitando de esta manera su invasión por estos hongos; por lo tanto, la protección que dieron los fungicidas fue contra los hongos que se encontraban sobre las semillas y en el ambiente circundante a ellas, y que posteriormente se desarrollaron e invadieron las semillas, por las condiciones de humedad y temperatura bajo las cuales se almacenaron. Sin embargo, es frecuente que las semillas sean invadidas por hongos durante el tiempo que transcurre de la cosecha al secado de las semillas, no existiendo suficiente información sobre el uso de fungicidas en semilla invadida antes de ser almacenada. Moreno *et al.* (1982) investigaron el efecto de los fungicidas en semilla previamente invadida por hongos, encontrando poca diferencia entre las germinaciones de semilla invadida y no invadida por hongos, lo cual se debió a que la invasión inicial era muy baja; solamente el 2% de las semillas presentaban invasión por hongos y el periodo de almacenamiento fue de 120 días. Por lo tanto, se consideró importante obtener información de la eficacia de los fungicidas en semillas con una mayor invasión por hongos y por un mayor periodo de almacenamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Maíz. Se utilizó semilla de maíz H-412, cuya germinación al inicio del experimento fue de 99%, el contenido de humedad de la semilla fue de 9.7% y el 75% de la semilla presentaba invasión por *Fusarium moniliforme*; no se detectaron hongos de almacén.

Germinación. El porcentaje de germinación fue determinado colocando 100 semillas de cada repetición en toallas de papel húmedo, las que se enrollaron e incubaron a 26°C. Los conteos de germinación se llevaron a cabo el primero a los cuatro días y el segundo a los siete días. El porcentaje de germinación del lote inicial original se determinó con 400 semillas de acuerdo con las reglas de la International Seed Testing Association, United States Department of Agriculture, (1976).

Contenido de humedad. El contenido de humedad de la semilla fue determinado utilizando el método de secado en estufa. Se utilizaron dos muestras de 5 a 10 gramos de semilla de cada repetición, las que se colocaron en una estufa de circulación forzada a 103°C por 72 horas; el contenido de humedad se obtuvo por diferencia de peso y se expresó en porcentaje con base en el peso húmedo (USDA, 1976).

Ajuste del contenido de humedad. El contenido de humedad de las semillas fue ajustado mediante la adición de agua de acuerdo con Pixton (1982).

Micoflora. Se utilizaron 25 semillas de cada repetición en cada muestreo, las que se desinfectaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 2% durante dos minutos y sembradas en MSA (2% malta, 6% sal y 2% de agar), e incubadas a 26°C, hasta que las colonias pudieron ser contadas e identificadas. la micoflora del lote original se determinó con cien semillas que fueron sembradas bajo las condiciones ya señaladas.

Fungicidas. Se utilizaron seis fungicidas: benomyl, captan, clorotalonil, carbendazim-m, captafol y tiabendazol. Estos fungicidas se aplicaron en una dosis de 750 ppm a la semilla, la aplicación se hizo en "slurry" con 7 ml de agua y 0.8 ml de adherente "Spreader Sticker" (DUPONT), por kilo de maíz.

Almacenamiento de la semilla. El lote inicial de maíz utilizado en este experimento fue de 18 kg, el cual se dividió en dos lotes iguales. Un lote (lote 1) fue ajustado a un contenido de humedad de 16.5% e inoculado con *Aspergillus glaucus*; ese lote se almacenó durante diez días a una temperatura de 26°C, para favorecer la invasión de la semilla por estos hongos; el otro lote (lote 2) se ajustó a la misma humedad y se inoculó también con los mismos hongos de almacén que el lote 1, pero se secó enseguida, lo que no permitió la invasión de las semillas, pero el inóculo quedó sobre ellas. La inoculación de los lotes se hizo al momento de ajustar el contenido de humedad; el agua que se agrega para aumentar el contenido de humedad sirve como vehículo para las esporas de *A. glaucus*. Los dos lotes de semilla se secaron simultáneamente al sol hasta que la humedad de la semilla estuvo alrededor de 10.5%.

Los datos de germinación, micoflora y contenido de humedad de los lotes de semilla, invadida y no invadida por hongos, antes de la aplicación de los fungicidas, se muestran en la tabla 1.

La aplicación de los fungicidas se hizo en forma aleatoria e independientemente para cada una de las cuatro repeticiones de cada tratamiento. Cada repetición fue de 300 g que se almacenaron en cestas de plástico perforadas, las que a su vez se colocaron en cámaras conteniendo una solución saturada de cloruro de potasio para mantener una humedad relativa de 85% (Winston y Bates, 1960).

El experimento se realizó bajo un diseño de parcelas divididas con cuatro repeticiones. Las 56 unidades experimentales se distribuyeron completamente al azar dentro de las cámaras de humedad relativa de 85%, éstas se mantuvieron en un cuarto incubadora con temperatura controlada a 26°C; el periodo de almacenamiento fue de 180 días, llevándose a cabo muestreos a los 60, 120 y 180 días. En cada muestreo se determinaron porcentajes de germinación, contenido de humedad y micoflora de las semillas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de humedad. El contenido de humedad de las semillas durante los 180 días de almacenamiento estuvo entre 15.0 y 16.6%.

Germinación. Los porcentajes de germinación de la semilla invadida y no inva-

dida, tratada con los diferentes fungicidas, se muestran en las tablas 2 y 3.

El análisis estadístico de los datos de germinación mostró diferencias altamente significativas (0.01) en la interacción de los tres factores (invasión/tratamientos/tiempo), por lo que se decidió fijar el factor invasión y llevar a cabo un análisis de varianza en cada uno de los lotes (invadido y no invadido).

Lote inicialmente invadido por hongos. El análisis de varianza de los datos de germinación en el lote 1 (inicialmente invadido), mostró diferencias altamente significativas (0.01) en la interacción tiempo/tratamientos, por lo que se decidió fijar el tiempo y realizar un análisis de varianza en cada uno de los tiempos de muestreo que fueron a los 60, 120 y 180 días.

El análisis de varianza de los datos de germinación a los 60 días de almacenamiento mostró diferencias altamente significativas (0.01) entre tratamientos, por lo que se realizó una prueba de contraste de medias por el método de Duncan (Little y Hills, 1978) para diferenciar los tratamientos. Esta prueba mostró que los tratamientos con fungicidas fueron superiores al tratamiento testigo y que el tratamiento benomyl fue significativamente diferente y superior a todos los tratamientos, presentando la germinación más alta 87%. Carbendazim-m, captafol y captan fueron estadísticamente iguales entre sí y este último no fue diferente de clorotalonil, que a su vez fue semejante a tiabendazol que tuvo la germinación más baja, 55%. El porcentaje de invasión por hongos de almacén en las semillas tratadas con fungicidas fue muy bajo (1-3%), no así en las semillas testigo que mostraron un 74% de invasión por *A. glaucus* (tabla 2). Aun cuando inicialmente había un 20% de invasión por *A. glaucus*, en tres tratamientos, no se aisló este hongo (tabla 2); lo anterior se debe a que los residuos de fungicida que quedan sobre la semilla se difunden en el agar e impiden el desarrollo de los hongos, ya que el alto contenido de humedad del medio de cultivo favorece la actividad de los ingredientes activos de estos fungicidas en contra de los hongos.

El análisis de varianza de los datos de germinación a los 120 días de almacenamiento mostró diferencias altamente significativas (0.01) entre tratamientos, por lo que se realizó una prueba de contraste de medias por el método de Duncan. Esta prueba mostró que el tratamiento benomyl con 75% de germinación fue estadísticamente diferente y superior a todos los tratamientos; el tratamiento carbendazim-m fue estadísticamente diferente y superior a los tratamientos tiabendazol, captafol y captan, que no se diferenciaron entre sí; el tratamiento captan fue similar a clorotalonil y este último al testigo (tabla 2).

El tratamiento testigo presentó un 100% de invasión por *A. glaucus*, y los tratamientos clorotalonil y captafol presentaron muy bajos porcentajes de semillas invadidas.

El análisis de varianza de los datos de germinación a los 180 días de almacenamiento no mostró diferencias significativas (0.05) entre tratamientos, por lo que se concluyó que todos fueron iguales entre sí, incluyendo al testigo.

Con excepción de las semillas tratadas con captafol, captan y clorotalonil, que presentaron invasión de hongos, el resto de las semillas tratadas con diferentes fungicidas no mostraron desarrollo de hongos; sin embargo sus germinaciones fueron muy bajas (tabla 2).

Lote inicialmente no invadido por hongos. El análisis de varianza en el lote 2 (no invadido) mostró diferencias altamente significativas (0.01) en la interacción

(tiempo/tratamientos) por lo que se decidió fijar el tiempo y realizar un análisis de varianza a los 60, 120 y 180 días.

El análisis de varianza de los datos de germinación a los 60 días de almacenamiento mostró diferencias altamente significativas (0.01) entre tratamientos, por lo que se llevó a cabo una prueba de contraste por el método de Duncan, encontrándose que el tratamiento con germinación más baja, tiabendazol, resultó ser superior al testigo e inferior al resto de tratamientos, los que fueron iguales entre sí (tabla 3). Las semillas tratadas con fungicidas no mostraron desarrollo de hongos, con excepción de la tratada con captafol que mostró un 8% de semillas invadidas; en cambio, el testigo fue severamente invadido, presentando 70% de semillas invadidas por *Aspergillus glaucus*.

El análisis de varianza de los datos de germinación a los 120 días de almacenamiento mostró diferencias altamente significativas (0.01) entre tratamientos, por lo que se efectuó la prueba de contraste de medias de Duncan para diferenciar entre tratamientos. Esta prueba mostró que los tratamientos benomyl, captan, clorotalonil y carbendazim-m fueron estadísticamente iguales entre sí y diferentes a los tratamientos captafol, tiabendazol y testigo. Captafol tuvo un efecto protector menor que los tratamientos antes señalados pero fue significativamente superior al tiabendazol y al testigo, existiendo diferencias significativas entre estos dos últimos (tabla 3).

El testigo se vio fuertemente invadido por *A. glaucus*, lo cual se reflejó en la pérdida de viabilidad de las semillas, mientras que, en los tratamientos con fungicidas, la invasión por hongos fue del 0 al 20%.

El análisis de varianza de los datos de germinación a los 180 días de almacenamiento mostró diferencias altamente significativas (0.01) entre tratamientos, por lo que se llevó a cabo una prueba por el método de Duncan, la cual mostró que los tratamientos benomyl, captan, clorotalonil, carbendazim-m y captafol fueron iguales entre sí, siendo el tratamiento benomyl estadísticamente diferente al tiabendazol y al testigo, pero estos dos últimos fueron similares al resto de los tratamientos (tabla 3).

Los resultados obtenidos en estas pruebas de almacenamiento señalan que los fungicidas protegen la viabilidad de las semillas libres de hongos, hasta por 120 días, con excepción de los fungicidas captafol y tiabendazol, que únicamente las protegieron por 60 días. En cambio, las semillas inicialmente invadidas por hongos, y después tratadas con fungicidas se vieron severamente afectadas, por lo que los fungicidas no las protegieron de los hongos que internamente ya se desarrollaban, con excepción de las semillas tratadas con benomyl que germinaron en un 87%. A los 180 días en ninguno de los dos lotes, los fungicidas protegieron la viabilidad de la semilla de maíz, no observándose diferencias con respecto al grado de invasión inicial por hongos de almacén.

La pérdida de la germinación de la semilla testigo sin lugar a dudas se debe a la acción de los hongos y al deterioro fisiológico normal de las semillas almacenadas con alto contenido de humedad. Por otra parte la pérdida de viabilidad de las semillas tratadas con fungicidas puede deberse a varias causas, entre ellas a la acción de los hongos que no pueden ser observados en el medio de cultivo, porque los residuos de los fungicidas les impiden crecer; por otra parte, también influye el deterioro fisiológico de las semillas y además es posible que exista algún efecto de fitotoxicidad.

Moreno *et al.* 1982 mencionan que a los 120 días de almacenamiento no hubo diferencias tan grandes en la germinación de semilla libre e invadida por hongos de almacén, como las encontradas en este trabajo, lo cual se debe indudablemente a los niveles de invasión inicial por hongos en las semillas, que en su caso fue de 2% y en este trabajo fue de 20%.

LITERATURA CITADA

- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. 1976. International Rules for Seed Testing, Rules 1976. *Seed Sci. & Technol.*, 14 (1) 1-177.
- LITTLE, M.T. y F.J. HILLS. 1978. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Ed. Trillas. 270 pp. México.
- MORENO M., E. y G. VIOAL. 1981. Preserving the viability of stored maize seed with fungicides. *Plant Di-*
- MORENO M., E., J. RAMÍREZ G., M. MENDOZA y G. VALENCIA. 1982. Efecto de fungicidas sobre la conservación de semilla previamente invadida por hongos de bodegaje. *Turrialba* 32 (2): 97-101.
- MORENO M., E y J. RAMÍREZ G. 1983. Mezclas de fungicidas para la preservación en semillas de maíz almacenadas en una humedad relativa de 85%. *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México*. 54, Ser. Bot. 195-198.
- MORENO M., E y J. RAMÍREZ G. 1985. Protective effect of fungicides on corn seed with low and high moisture contents. *Seed Sci. & Technol.*, 13: 141-145.
- MORENO M., E., L. MANDUJANO W., M. MENDOZA y G. VALENCIA. 1985. Use of fungicides for corn seed viability preservation. *Seed Sci. & Technol.*, 13: 235-241.
- PIXTON, S. W. 1982. The importance of moisture and equilibrium relative humidity in stored products. *Tropical Stored Products Information*. 43: 16-29.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. 1976. Grain Equipment Manual GR 916-6. Federal Grain Inspection Service, Standardization Division. Ricardo Geabayar A. F. B., Kansas City, Mo.
- WINSTON P. W. y V. H. BATES. 1960. Saturated solutions for the control of humidity in biological research. *Ecology* 41: 232-237.

Tabla 1. Germinación, humedad y micoflora de los lotes de semilla no invadida e invadida por hongos antes de la aplicación de fungicidas

Lote de semilla	Contenido de humedad % ^a	Germinación % ^b	Semillas Invadidas por <i>A. glaucus</i> %
1 Invadida por hongos	10.7	90	20
2 No invadida por hongos	10.4	98	0

^a Contenido de humedad, promedio de siete repeticiones.

^b Promedio de cuatro repeticiones de 100 semillas cada una.

Tabla 2. Germinación y micoflora de semilla de maíz μ -412, inicialmente invadida por hongos de almacén, tratada con fungicidas y almacenada 180 días en una humedad relativa de 85% y a 26°C.

Tratamiento (750 ppm)	60 DIAS		120 DIAS		180 DIAS	
	Germinación %	Semillas invadidas <i>A. glaucus</i> %	Germinación %	Semillas invadidas <i>A. glaucus</i> %	Germinación %	Semillas invadidas <i>A. glaucus</i> %
Benomyl	87a*	0	75a	0	12	0
Captan	68bc	3	32cd	0	6	15
Clorotalonil	60cd	3	29de	4	7	3
Carbendazim	72b	0	58b	0	8	0
Captafol	75b	1	41c	12	8	16
Tiabendazol	55b	0	43c	0	6	0
Testigo	36e	74	20e	100	8	100

* Números con letras diferentes son significativamente diferentes (Duncan, 0.05).

Los contenidos de humedad de las semillas a los 60 días fueron de 15.0 a 15.4%, a los 120 días de 15.7 a 16.3% y a los 180 días de 15.7 a 16.6%.

Tabla 3. Germinación y microflora de semilla de maíz H-412, inicialmente no invadida por hongos de almacén, tratada con fungicidas y almacenada 180 días en una humedad relativa de 85% y a 26°C.

Tratamiento (750 ppm)	60 DIAS		120 DIAS		180 DIAS	
	Germinación %	Semillas invadidas <i>A. glaucus</i> %	Germinación %	Semillas invadidas <i>A. glaucus</i> %	Germinación %	Semillas invadidas <i>A. glaucus</i> %
Benomyl	94a*	0	81a	0	25a*	0
Captan	92a	0	82a	12	14ab	9
Clorotalonil	94a	0	83a	0	20ab	0
Carbendazim	95a	0	81a	0	14ab	0
Captafol	91a	8	65b	20	16ab	29
Tiabendazol	84b	0	40c	0	6b	0
Testigo	38c	70	24d	100	9b	100

* Números con letras diferentes son significativamente diferentes (Duncan, 0.05).

Los contenidos de humedad de las semillas fueron a los 60 días de 15.3 a 15.7%, a los 120 días de 15.5 a 15.9% y a los 180 días de 15.7 a 16.0%.