

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



**Caracterización Morfológica de Plántulas Poliembriónicas de Maíz en
Respuesta a Sequía y Toxina de *Fusarium moniliforme* (Sheld)**

Por:

JOSÉ MANUEL ALCALÁ RODRÍGUEZ

T E S I S

Presentada como requisito parcial para

Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Buenvista Saltillo, Coahuila, México.
Noviembre, 2006

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**

**Caracterización Morfológica de Plántulas Poliembriónicas de Maíz en
Respuesta a Sequía y Toxina de *Fusarium moniliforme* (Sheld)**

POR:

JOSÉ MANUEL ALCALÁ RODRÍGUEZ

TESIS

Que se somete a decisión del H. Jurado Examinador como requisito parcial

Para obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Aprobada por:

Presidente del Jurado

Dr. José Espinoza Velázquez

Sinodal

Sinodal

Q.F.B. Ma. Elena González Guajardo

Dr. Marco Antonio Bustamante García

Sinodal

MC. Luis Rodríguez Gutiérrez

MC. Arnoldo Oyervides García

División de Agronomía

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Noviembre, 2006

DEDICATORIAS

A DIOS, por permitirme vivir e iluminar mi camino; por permitir cumplir mi sueño de terminar la carrera, llegar a ser profesionista y darle ésta satisfacción a mis padres; también por darme la fortaleza y la salud; así como también ayudarme en la búsqueda de respuestas a mis problemas.

A MIS PADRES

Sra. Elvira Rodríguez Villa.

Sr. Juan Manuel Alcalá Vázquez.

Por darme su confianza cuando decidí alejarme de ustedes, por su comprensión, consejos y la oportunidad de superarme y sobre todo su cariño, el cuál con nada se los puedo pagar. Por ser la motivación y la fortaleza para superar los obstáculos de la vida; gracias también por que se quitaron el pan de la boca para dárnoslo a nosotros sus hijos.

A ti Papá, por ser un ejemplo de esfuerzo a seguir, demostrándonos que todo es posible si así lo queremos. Por creer en mi y por preocuparte siempre por nosotros.

Gracias Papá.

A ti Mamá, Por ser el pilar que sostiene mi vida, por tu sacrificio y sufrimiento me diste la vida, por tu cariño, por tus desvelos y cuidados, porque siempre estarás conmigo apoyándome pase lo que pase, te agradezco también por tus bendiciones que siempre llegaron a mi y por todo el amor que nos has brindado. **Gracias Mamá.**

Dios los bendiga siempre y los conserve a mi lado por mucho tiempo.

A mis hermanas: Erika y Miriam

Por los momentos felices y tristes que pasamos juntos, muchas gracias.

A todos mis tíos por tener su apoyo en buenos y malos momentos. En especial a el **Ing. Manuel Rodríguez Villa**, por todo su apoyo brindado a lo largo de mi carrera.

A mis sobrinas **Yahaira y Valeria**, por darle alegría a mi vida y a toda mi familia.

A mis Abuelos:

Soledad Villa Rosales.

Jesús Rodríguez Ramírez.

María Vázquez

Por su infinito cariño demostrado y le doy gracias a Dios por que aun les da vida y la oportunidad de ver mi superación, también por sus consejos y cuidados que pusieron en mi.

AGRADECIMIENTOS

A mi “ALMA MATER”

Por permitirme ser uno más de sus hijos desde el primer día que ingrese a ella y hasta el final de mi carrera, por su ayuda en el crecimiento personal y académico que me servirá por el resto de mi vida.

Mi gran sincero agradecimiento al **Dr. José Espinoza Velásquez**, por haberme aceptado como su tesista y darme más crédito del que yo me podía imaginar, así como su apoyo, motivación, tiempo y dedicación que fueron muy importantes. Gracias también por su paciencia y en general por todo el apoyo que me brindó para realizar exitosamente éste trabajo. Muchas Gracias

Agradezco a la **Q. F. B. María Elena González**, por haber confiado en mí y por su apoyo incondicional, por sus sugerencias y tiempo, los cuales fueron muy oportunos para realizar éste trabajo. Muchas Gracias

Agradezco al **Dr. Marco Antonio Bustamante García**, por el apoyo brindado en la realización de éste trabajo, también por haberme transmitido sus conocimientos en clase que fueron muy productivos en mi superación. Muchas Gracias

Agradezco al **M.C. Luis Rodríguez Gutiérrez**, por su apoyo en la parte estadística, por su tiempo empleado en la revisión e interpretación de los resultados. Muchas Gracias.

Agradezco a la **T. L. Q. Graciela Vázquez Rosales**, por su amistad y apoyo brindado en el laboratorio con la toma de lecturas y preparación de material para las prácticas, así como la confianza que me otorgó. Muchas Gracias

Agradezco a la **T. L. Q. Martha Jaramillo Sánchez**, por su amistad y apoyo brindado en el laboratorio con la toma de lecturas y preparación de material para las prácticas, así como la confianza que me otorgó. Muchas Gracias

Al **Departamento Horticultura** y a sus maestros por sus enseñanzas y consejos que me llevaron a terminar mi carrera.

Al **Instituto Mexicano del Maíz “Dr. Mario Castro Gil”**, por contribuir con sus instalaciones para realizar ésta investigación.

Agradezco también a uno de mis mejores amigos M.C. Gerardo Sánchez Martínez, el cual hemos tenido una amistad siempre sincera, por permitirme compartir mis tristezas y alegrías; así como también por alentarme siempre a seguir adelante.

Agradezco a mi mejor amigo, Isaías Delgado Aguirre, por ser como un hermano para mí, porque siempre tuvimos tiempo para escucharnos y darnos un consejo, gracias también por haberme tendido la mano y levantarme de mis más fuertes caídas.

Agradezco a mis Amigos y compañeros de grandes batallas de la Generación 100 de Horticultura: Karo, Rene Rocha, Juan Carlos, Víctor Manuel, Edgar, Raúl, Juan José, José Solís, José Cruz, Enrique Baxcay, Erubiel, Ossiel, Omán, Dezib Chi, Magda, Alma Delia, Cecilia, Yaris Aharumi, Silvia, Dolores y Rosa, por todos los momentos tan agradables que pasamos juntos.

ÍNDICE

Dedicatorias	I
Agradecimientos	III
Índice de cuadros	VII
Índice de figuras	VIII
I. INTRODUCCIÓN	1
Justificación.....	4
Antecedentes	6
Problema.....	6
Objetivos	7
Hipótesis	7
II. REVISION DE LITERATURA	8
Como se desarrolla una planta de maíz.....	8
Arquitectura de la raíz y productividad de la planta	12
La Poliembrionía en Maíz	14
Tolerancia ó resistencia a sequía en el cultivo de maíz	16
El agua en la planta	17
Efecto de la sequía sobre las plantas	22
La resistencia a la sequía.....	25
Tolerancia a <i>Fusarium moniliforme</i> (Sheld).....	28

Taxonomía y Descripción del patógeno <i>Fusarium moniliforme</i>	28
Distribución e importancia de la pudrición de tallo y mazorca de maíz	32
Toxinas.....	33
Fenología del maíz y etapas más susceptibles a <i>Fusarium</i>	35
Mecanismos de resistencia del maíz y combate de las enfermedades.....	35
III. MATERIALES Y MÉTODOS	38
Ensayo 1. Utilizando manitol como secuestrante de humedad.....	38
Ensayo 2. Utilizando inoculación artificial de <i>Fusarium moniliforme</i>	42
Varietades e híbrido de maíz utilizados en los ensayos.....	48
Procedimiento experimental.....	49
Variables bajo estudio	49
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
Ensayos manitol y <i>Fusarium</i>	51
Variables compuestas	61
Variables asociadas	63
V. CONCLUSIONES	66
VI. RESUMEN	67
VII. LITERATURA CITADA	72

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1. Variedades e híbrido de maíz utilizado en los ensayos manitol y filtrado tóxico de <i>Fusarium moniliforme</i> (Sheld)	48
2. Cuadrados medios y significancia de variables relevantes en los ensayos manitol y toxina de <i>Fusarium</i>	52
3. Medias generales y desviación estándar de cada una de las variables sometidas a estrés hídrico con manitol y <i>Fusarium</i>	53
4. Concentración de medias para la variable número de raíces laterales (NRL) y número de raíces nodulares (NRN) bajo filtrado tóxico de <i>Fusarium</i>	58
5. Concentración de medias para la variable peso fresco completo bajo estrés hídrico con manitol y <i>Fusarium</i> ,	60
6. Concentración de medias para la variable PST / PFT, bajo estrés hídrico con manitol a -5 bar	62
7. Concentración de medias para la variable compuesta PSR/PST bajo estrés hídrico con manitol y <i>Fusarium</i>	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Longitud de radícula en genotipos de maíz sometidos filtrado tóxico de <i>Fusarium moniliforme</i> (Sheld).	57
2. Variable longitud de tallo en genotipos de maíz sometidos a solución osmótica a base de manitol a una concentración de -5 bar.	59
3. Grado de asociación entre poliembrionía de los genotipos de maíz denominados NAP y BAP y la variable PSR/PST, para la prueba de manitol.	64
4. Grado de asociación entre poliembrionía de los genotipos de maíz denominados NAP y BAP y la variable PSR/PST, para la prueba del filtrado tóxico.	64

I. INTRODUCCIÓN

Para la sociedad mexicana, el maíz es parte importante en su alimentación y la empresa agrícola, además de tener un significado cultural ampliamente arraigado en la conciencia colectiva. Este cereal es imprescindible en la dieta nacional ya que representa la mitad del volumen total de alimentos que se consumen anualmente en México. Sin embargo, en los últimos años la producción no ha tenido incrementos significativos, ya que algunos indicadores señalan que a partir de 1998, la superficie sembrada no rebasa los 8 millones de hectáreas (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2002)

La producción de maíz se realiza en casi la totalidad del país, siendo los estados más productivos: Sinaloa, Jalisco, Edo. México, Guanajuato, Chiapas y Michoacán. Aún con todo ello y a pesar de cultivarse el grano en la mayoría de los estados no es posible cubrir todas las necesidades de este grano, principalmente del volumen que se refiere a procesos industriales en la zona pecuaria.

Corroborando lo anterior se establece que partir de 1994, la demanda ha sido superior a las 23 millones de toneladas (Cámara Nacional de Maíz Industrializado, 2006) y la producción no rebasa los 22 millones de toneladas (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2002); cabe resaltar que desde la década de los años ochenta, ha sido imposible lograr el equilibrio entre estas dos variables.

Por otra parte, el déficit en la producción de maíz llevó al gobierno a recurrir a las importaciones de manera frecuente, éstas se habían mantenido en un promedio de 6.7 millones de toneladas por año (Cámara Nacional de Maíz Industrializado, 2006).

Es de suma importancia destacar que el maíz de importación es de origen norteamericano, del tipo amarillo, su composición nutricional es favorable para la alimentación animal y la industria; pero ello no justifica que una parte se desvíe a la producción de tortillas para consumo humano.

En el país hay una gran variedad de tipos de maíz y su producción se destina para la industria, el comercio y el autoconsumo; aunque no existen investigaciones que confirmen plenamente su destino. (Servicio de información y estadística agropecuaria y pesquera; Claridades agropecuarias. SAGARPA, ASERCA. Agosto 2002).

Son pocas las regiones maiceras donde se produce con alta tecnología, ya que del total de tierras cultivables únicamente se destina el 28% para este tipo de agricultura; en otras zonas, el cultivo se realiza con técnicas tradicionales en tierras de temporal donde el margen de tierras destinadas para este tipo de agricultura es del 71.3% (Sexto informe de gobierno Zedillo, 2000).

La producción en tierras de temporal es mayoritariamente de semillas criollas, las cuales se adaptan a diferentes ambientes y altitudes. Quienes producen bajo estas condiciones son campesinos de escasos recursos con mínimos apoyos gubernamentales e insuficiente asesoría técnica, que repercute en bajos

rendimientos por hectárea; ya que según estadísticas a nivel nacional no se llega a las dos toneladas y media de producción por hectárea. (SAGARPA 2002).

La situación económica y social del campo en México, ofrece un panorama desolador, frente al inicio del siglo, el crecimiento poblacional, la dependencia alimenticia con los Estados Unidos de América, las necesidades globales de alimento, el cambio climático debido al deterioro ambiental y sus efectos en la incidencia de sequías e inundaciones, crea un panorama de incertidumbre. Regiones donde las necesidades de agua impedirán la autosuficiencia alimenticia, la pérdida de tierras cultivables por la erosión, el incremento del área urbana, la recreación e industria, además de la falta de conciencia del gobierno federal, al disminuir en los últimos 30 años el apoyo a la investigación agrícola y la mayor presión en la competitividad internacional, causada por la globalización. Se hace una breve semblanza acerca de los aspectos del maíz, en los que el investigador ha enfocado sus estudios de manera que puedan entenderse las causas de sus éxitos y fracasos, se comparan con la manera en que un país autosuficiente, hace del maíz un negocio económicamente redituable, así como las expectativas que se tienen. El uso de mejores tecnologías de producción, producto de la manipulación genética y la biotecnología al parecer no son la panacea que resolverán todos los problemas y éstas, deberán usarse con responsabilidad y respeto a la humanidad, hoy en día, la tecnología tiene que justificarse social, ecológica y económicamente. La comunidad científica mexicana dedicada al mejoramiento genético de las plantas debe cuestionarse sobre su actuación y las necesidades de alimento para el siglo XXI; la autosuficiencia es posible. Se llega a la conclusión, de que existe una influencia

humana responsable sobre la actual situación del maíz, al parecer todavía no existe claridad sobre la función de técnicos e investigadores, a estos efectos se suman los derivados de políticas de gobierno y medidas que reestablecieron, o en su caso, los resultados que se produjeron por no actuar bien y a tiempo.

Justificación

En México las zonas semiáridas cubren una superficie aproximada de 3.3 millones de hectáreas y tienen una precipitación de 200 a 400 mm anuales (Pech Us, 2006). Por otra parte, es de todos conocido, que el maíz que se produce en México, en su mayoría (78 a 82%) se realiza bajo condiciones de temporal. Debido a las dificultades de control de estas condiciones es útil ó relevante la selección genética de materiales que produzcan bajo condiciones de baja humedad (González, y De León, 2003).

En general el umbral de humedad para la producir maíz de temporal es de 500 mm anuales. La sequía es uno de los factores ambientales que mayormente limita la producción de cultivos en áreas de temporal, y la cuál es ocasionada por la falta de precipitación total ó parcial, así como también su distribución en el ciclo de producción del cultivo.

Para las condiciones agrícolas de temporal escaso, las únicas soluciones posibles son la aplicación de prácticas de cultivo, las cuales tienden a aumenten la disponibilidad de agua en el suelo, así como la generación ó selección de nuevas variedades ó híbridos que puedan tolerar en forma más eficiente la escasez de agua.

Una forma en la que se puede determinar la viabilidad y la selección de genotipos tolerantes a sequía es mediante experimentos en laboratorio con el uso de compuestos de alto peso molecular que actúan secuestrando el agua y simulan condiciones de estrés hídrico.

La germinación de semillas bajo condiciones simuladas de sequía, ofrece posibilidades para revelar el comportamiento de las mismas y predecir diferencias entre lotes de semilla durante la germinación en campo.

Otra de las causas de la baja productividad de los cultivos es, la proliferación de enfermedades, sobre todo las de tipo fungoso. Entre las enfermedades de mayor importancia en maíz se encuentran algunas que causan grandes daños como lo son, la pudrición de tallos y mazorcas provocado por el hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld), la cual constituye el principal problema fitopatológico de este cultivo a nivel nacional. El ataque de *Fusarium* puede ocasionar desde pérdidas parciales hasta pérdidas muy severas, mermando ó perdiendo así la producción del cultivo (Pech Us, 2006)

Antecedentes

Al paso de los años, se han llevado a cabo investigaciones del efecto ó resistencia en variedades e híbridos de maíz en tallo y raíz, bajo condiciones estresantes a base de manitol y toxinas naturales de *F. moniliforme*, las cuales, pueden respaldar y apoyar este trabajo de tesis.

En cuanto a condiciones de estrés hídrico se refiere, Méndez *et. al.*, (2003) desarrollaron plántulas de tres híbridos de maíz, sometidos a cinco potenciales osmóticos con manitol: 0, -3, -6, -9 y -12 bares y encontraron que en un déficit hídrico severo reduce el peso del vástago y radícula completamente (100%), así como la longitud del tallo en 98% a potenciales de -9 y -12 bares.

Por otra parte y en función del ensayo toxina, Maldonado (1996) menciona que la germinación disminuye por efecto de la concentración de la toxina hasta en 58%, esto dependiendo del material genético; Warren (1978) menciona que en altas concentraciones de lisina en el grano de maíz, incrementa la pudrición de mazorca por *Fusarium moniliforme*; Sinha (1992) menciona que en maíz la longitud de la radícula y tallo se ve afectada de 9 a 76% y 16 a 61% respectivamente, en un rango de 100 a 2000 mgL⁻¹ de toxina producida por *F. moniliforme*.

Problema

La sequía y las enfermedades fungosas limitan la productividad y rentabilidad del cultivo del maíz.

Objetivos

- Aprovechar la potencialidad que el desarrollo de plántulas de maíz bajo condiciones controladas de laboratorio ofrece para calificar a genotipos superiores en cuanto a la resistencia a sequía y a *Fusarium moniliforme* (Sheld).
- Caracterizar dos poblaciones de maíz de alta frecuencia poliembriónica en su arquitectura y dimensiones de raíz o raíces, y tallo, comparándolas con dos poblaciones no – Poliembriónicas.
- Determinar si existen materiales poliembriónicos que presenten tolerancia tanto a sequía como a *Fusarium moniliforme*.

Hipótesis.

- Dentro la línea de investigación con respecto a la Poliembriónía en maíz desarrollada en el IMM “Dr. Mario Castro Gil” existen materiales resistentes a sequía y al ataque por *Fusarium moniliforme* (Sheld).
- Existe variabilidad de respuesta en los materiales evaluados tanto para tolerancia a sequía, como para tolerancia a *Fusarium moniliforme* (Sheld).
- El sistema radicular de las plántulas puede servir como indicador tanto de la tolerancia a sequía, como tolerancia a *Fusarium moniliforme* (Sheld).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

En esta sección se abordarán temas que podrán facilitar la comprensión de los fenómenos ocurridos en este trabajo de tesis; tales como, el crecimiento y desarrollo del maíz, su arquitectura radicular, poliembrionía (PE), así como los métodos de estudio para tolerancia a sequía y *F. moniliforme*, y sus efectos morfológicos y fisiológicos ocasionados en las plantas de maíz.

El maíz es una especie monocotiledónea anual, perteneciente a la familia de las poáceas (gramíneas). A diferencia de los demás cereales es una especie monoica, lo que significa que sus inflorescencias masculina y femenina se ubican separadas dentro de la misma planta; esto determina además que su polinización es fundamentalmente cruzada.

Como se Desarrolla una Planta de Maíz

Bajo condiciones adecuadas de campo, la semilla absorbe el agua y comienza su crecimiento. La radícula es la primera parte anatómica en iniciar su alargamiento desde el núcleo hinchado de la semilla, seguido por el coleoptilo incluida la plúmula y de tres a cuatro raíces seminales ó laterales. La emergencia señalada por Ritchie *et al.*, (1992) como VE, finalmente se logra por el alargamiento rápido del mesocotilo que empuja al coleoptilo hacia la superficie del suelo.

Bajo buenas condiciones de temperatura y humedad la emergencia de la planta ocurrirá en un plazo de 4 a 5 días después de la siembra, pero bajo condiciones frías ó secas puede alargarse hasta dos semanas.

Sobre la emergencia y la exposición del coleoptilo a los rayos del sol, el coleoptilo y mesocotilo detienen su crecimiento. En este momento el punto de crecimiento (ápice del vástago) de la planta es de 2.5 a 3.8 cm (1.1 pulgadas) bajo la superficie del suelo y esta localizado apenas sobre el mesocotilo.

La radícula y las raíces seminales (llamadas sistema seminal) comienzan su crecimiento directamente de la semilla al ocurrir la germinación. El crecimiento de estas raíces sin embargo, se detiene pronto después de la aparición de la tercera hoja (etapa vegetativa a la tercera hoja V3). Aunque el sistema seminal de la raíz continua funcionando a través de la mayoría de la vida del maíz. Su contribución más importante es el anclaje de la plántula y absorbe cantidades vitales de agua y de alimentos para las primeras dos semanas. Las raíces seminales cesan el crecimiento poco después que el coleoptilo emerge a la superficie del suelo y antes de que las raíces nodulares o principales lleguen a ser establecidas (Nielsen, 2001).

Una planta joven de maíz depende sobre todo de las reservas de energía de la semilla, hasta que las raíces nodulares o de corona, que son las permanentes, se establezcan. Dentro de algunos días después de la emergencia del coleoptilo al primer nivel del suelo, estas raíces, comienzan a desarrollarse a partir de la región nodular e internodular de la corona ó cuello de la futura planta.

Si un daño ocurre en las raíces seminales o en el mesocotilo antes de establecerse las raíces nodulares, la planta se atrofia o muere. Ejemplo de tal daño: lesión de sal por índices excesivos de fertilización inicial, lesión de herbicida y daño de alimentación por insecto, etc. (Nielsen, 2001).

El sistema nodular de la raíz inicia poco después de VE; el primer sistema de raíces nodales comienza su crecimiento de la corona o punto de crecimiento del coleoptilo durante V1 (primera hoja); y de acuerdo a la profundidad de la siembra, este punto puede encontrarse a una distancia de 1.0 a 2.5 cm por debajo del nivel del suelo. Por la etapa V6 (aparición de la sexta hoja) del crecimiento, las raíces nodales han llegado a su establecimiento pleno y han asumido el control total en la sustención de la planta (Ritchie *et. al.*, 1992).

Cuatro nudos del tallo abarcan generalmente el triángulo en el fondo de un tallo de maíz. El entrenudo sobre el cuarto nudo se alarga cerca de $\frac{1}{2}$ pulgada, sobre la cual se encuentra el quinto nudo (aún debajo o apenas en la superficie del suelo). Por lo tanto, cinco sistemas de raíces nodales serán generalmente subterráneos, un sistema para cada nudo. El alargamiento del entrenudo sobre el quinto nudo empuja al sexto sobre la tierra. El continuo alargamiento de los entrenudos subsecuentes del tallo resultará una mayor altura de los nudos restantes del tallo. Si las condiciones superficiales del suelo son convenientes (húmedo y excesivamente caliente), las raíces de apoyo sobre el sexto nudo pueden entrar con éxito al suelo, proliferan y limpian con eficacia la capa superior del suelo de agua y alimento (Nielsen, 2001).

Las raíces adventicias ó de anclaje son las últimas en desarrollarse apareciendo cuando las plantas presentan aproximadamente 10 hojas, se originan a partir de los primeros dos nudos aéreos y desde el subnudo más cercano a la superficie del suelo.

Las raíces adventicias que son gruesas, carnosas y de gran vigor, penetran y según el nudo en que se originen a profundidades de entre 5 y 15 cm. Cumplen básicamente una función de sostén, permitiéndole a las plantas de maíz un mejor anclaje y, aunque limitadamente, participan en la absorción de nutrientes.

Una vez desplegada la hoja cotiledonar, se asoma desplegándose rápidamente la primera hoja verdadera. El desarrollo de las siguientes hojas verdaderas y hasta que la planta completa un total de cuatro, tiene su origen en nudos subterráneos.

La hoja cotiledonar junto a las primeras cuatro hojas verdaderas, corresponden a hojas embrionarias que nacen en los subnudos, tres, cuatro, cinco, seis y siete respectivamente. El segundo subnudo corresponde al punto de unión del mesocotilo y el coleoptilo y el primero a la unión del escutelo con el embrión (Ritchie *et. al.*, 1992).

Las etapas reproductivas se extienden de R1 a R6. La etapa R1 es (etapa de jiloteo) cuando la seda se hace visible fuera de la cáscara. En la etapa R2 los granos son blancos y pequeños asemejándose a las ampollas y ocurre de 10 – 14 días después del jiloteo. La etapa R3 (etapa de leche) ocurre a 18 – 22 días después del jiloteo. Los granos exhiben un color amarillento en el exterior, y el líquido interno ahora es blanco lechoso debido a la acumulación de almidón. Aunque inicialmente es lenta su transformación, el embrión ahora crece rápidamente e incrementa el índice de acumulación de materia seca. En la etapa de masa (R4), la cual ocurre de 24 a 28 días después del jiloteo, el líquido comienza a espesarse como una goma blanca

dentro de los granos, y la mazorca adquiere una tonalidad rosácea. La etapa R5 (35 a 42 días después del jiloteo) es la etapa del dentado de los granos, donde los granos comienzan a secarse y exhiben una forma dentada en su tapa. Alrededor 55 días después del jiloteo las mazorcas están fisiológicamente maduras (R6). En esta etapa, todos los granos han logrado su peso seco máximo. Las zonas negras se han formado internamente en la base de los granos, indicando que el crecimiento del grano ha cesado (Ritchie *et al.*, 1993).

Arquitectura de la Raíz y Productividad de la Planta

La disponibilidad de agua y nutrientes limitan el crecimiento de la planta en los ecosistemas, y desde luego en los sistemas de producción de cultivos. La práctica moderna de los ecosistemas agrícolas han impulsado la producción de alimentos apoyándose en la intensa irrigación y fertilización, quienes a su vez han generado serios problemas al medio ambiente a nivel global.

La adquisición de los recursos del suelo por el sistema radicular de la planta, es por consiguiente un tema de amplio interés en la agricultura y la ecología, así como un complejo y un problema desafiante en la biología básica de la planta Lynch (1995).

Arquitectura de la raíz

El término arquitectura en referencia a temas biológicos, usualmente denota la configuración espacial de algún montaje complejo de subunidades con la implicación de configuración global y algunas funciones de significancia.

El término referido a la raíz, ha sido usado en varios contextos para referirse a los distintos aspectos de la forma del sistema radical de una planta, describiendo la configuración espacial del sistema radicular, e.g. la geometría de los ejes de la raíz. Usualmente estudios de la arquitectura de la raíz no incluyen detalles finos de la estructura, tales como los pelos de la raíz, pero son de completo interés en un sistema radical (Lynch, 1995).

Morfología. La morfología de la raíz refiere a los rasgos superficiales de un eje sencillo u órgano de la raíz, incluyendo características de la epidermis semejante a pelos de la raíz, ondulación de los ejes y senescencia de la misma. Rasgos anatómicos relacionados con las células de la raíz y organización de tejidos, son estas usualmente consideraciones de las partes de la arquitectura.

Aunque no hay estimaciones cuantitativas correctas de la magnitud e importancia de la represión de la productividad de la planta, la importancia de la arquitectura de la raíz en la productividad de la planta proviene en realidad de la disponibilidad y distribución de los recursos del suelo. Así que el despliegue espacial de la raíz estará en gran medida determinado por la habilidad de la planta para aprovechar los recursos. En este sentido la arquitectura de la raíz es un fundamental aspecto en la productividad de la planta, especialmente en ambientes caracterizados por bajos contenidos de agua y nutrientes (Lynch, 1995).

La Poliembrionía en Maíz

La poliembrionía (PE) puede expresarse como la obtención de dos ó más plantas productivas a partir de una semilla; el parecido fenotípico entre estas plantas hermanas es alto en la mayoría de los casos, aunque es frecuente que se presenten también casos de alto contraste entre ellas, e.g. precoces vs tardías, altas vs enanas, diferencias de color entre plantas anatómicas, color verde vs. color morado, etc. (Portal U. A. C. 2005)

Cabe aclarar que la PE en vegetales es muy amplia ya que presenta varios tipos, sea por su origen o expresión (Webber, 1970). En maíz la PE es un fenómeno poco usual pero documentable (Pesev *et al.* 1976; Castro, 1970; Espinoza *et al.* 1998). Sin embargo el fenómeno puede conferirle al maíz grandes beneficios ya que al desarrollarse con éxito se generan plantas múltiples productivas, con capacidad competitiva y mayor calidad nutritiva en grano.

Los granos de maíz común son fuente alimenticia para humanos y animales domésticos; contienen en su mayor parte hidratos de carbono (74%), y en menor proporción proteínas (9%), aceites comestible (3.4%) y uno por ciento de fibra (Paliwal *et al.*, 2001).

Análisis bromatológicos en maíces comunes que llenan actualmente el mercado mundial de granos indican que los niveles de proteína cruda están en la banda de 7.4 a 8.4 por ciento, con bajo contenido de aminoácidos esenciales (Dale, 1997); excepción hecha en maíces altamente especializados, sea para calidad proteica ó

para alto contenido de aceite cuyos valores son significativamente más altos que los anteriores.

Comparando con otros cereales, el grano de maíz es una fuente importante de energía pero menor como fuente de proteína, tanto en proporción como en calidad, dada las carencias en aminoácidos esenciales (Dale, 1997; Araba, 1998, citado en Feed an Grain, 1998).

Desde la mejora genética del maíz, se han desarrollado variedades especializadas tanto para la calidad proteica (ricos en lisina y triptofano) como para alto contenido de aceite (de 6 a 9% de grasa cruda), las cuales están en proceso de adopción por los agricultores y usuarios.

En México, los maíces de alta calidad proteica (conocidos como QPM, por su denominación en inglés: Quality Protein Maize, se han venido promoviendo durante los últimos años con éxito limitado todavía (Espinosa, 2000); los maíces de alto contenido en aceite (conocidos como HOC: high oil corn), no ingresan al mercado nacional de semillas por su origen transgénico, así como las variantes en el manejo especializado para su producción (Du Pont[®], México 2006).

La condición poliembriónica en semillas de maíz y una característica natural que puede ser aprovechable como una vía alterna en el diseño de variedades de aplicación especial, bajo la hipótesis de que dos ó más embriones por semilla permitirían incrementar la capacidad de almacenamiento de nutrientes de calidad en el grano. (Castro, 1973; Rodríguez, 1981; Espinoza et al, 1998; Espinoza et al, 1999).

Tolerancia ó Resistencia a Sequía en el Cultivo de Maíz

La sequía afecta la producción agrícola cerca del 60% de las tierras de los trópicos (Sánchez, Nicholaides y Couto, 1977) y reducen los rendimientos del maíz (15%) anualmente en las tierras bajas tropicales y subtropicales, llegando a causar pérdidas estimadas en 16 millones de toneladas de grano (Edmeades, Bolaños y Lafitte, 1992).

Sequía

Desde el punto de vista agronómico y climatológico es un período de suficiente duración para producir un déficit o estrés de agua en la planta, la cuál afecta el crecimiento y desarrollo de los cultivos (Griffiths, 1985; Rajaram, 1989).

En la región noreste de México el maíz ocupa el primer lugar de los cultivos de temporal más extensamente practicados. Se calcula que en México esta especie cubre más del 50% del área total que se encuentra bajo cultivo, y de esta gran parte se encuentra en zonas de temporal, lo cual limita la producción del grano. Sin embargo, en la actualidad el rendimiento en ambos casos está afectado por diferentes factores bióticos y abióticos (Gámez, *et al.*, 2000), de ahí que el estudio y la investigación que se pretende con este trabajo es el de seleccionar las variedades ó híbrido de maíz que muestren una mayor resistencia a sequía.

El agua es el líquido esencial para la planta, además de ser su componente principal (60 a 90%, según la especie) ya que contribuye al mantenimiento y preservación de las funciones vitales de las mismas.

El agua en la planta

En las plantas la mayoría de los compuestos orgánicos del contenido celular o protoplasma deben estar hidratados; cuando el agua es removida del tejido vegetal ocurre una alteración en las propiedades físicas y químicas de los carbohidratos, proteínas, ácidos nucleicos y otros compuestos del protoplasma. El agua es el solvente en el que se procesan la mayoría de las reacciones químicas del protoplasma. Sin embargo, bajo condiciones de campo en gran medida el suministro ó abastecimiento es inadecuado para el desarrollo satisfactorio de las plantas, por lo tanto los procesos fisiológicos como la transpiración, la respiración y la fotosíntesis que son vitales para el crecimiento de las mismas, pueden ser adversamente influenciados por el déficit hídrico (Palmar y Moore, 1968).

Potencial hídrico y el movimiento del agua. La cantidad de agua presente en un sistema (planta) es una medida útil del estado hídrico de la planta, pero no permite determinar el sentido de los intercambios entre las distintas partes de una planta, ni entre el suelo y la planta.

El agua en estado líquido es un fluido, cuyas moléculas se hallan en constante movimiento. La movilidad de estas moléculas dependerá de su energía libre, es decir de la fracción de la energía total que puede transformarse en trabajo. La magnitud más empleada para expresar y medir su estado de energía libre es el potencial hídrico (Ψ). El Ψ se mide en atmósferas, bares, pascales y mega pascales, siendo $0,987 \text{ atm} = 1 \text{ bar} = 0,1 \text{ Mpa}$. A una masa de agua pura, libre, sin interacciones con otros cuerpos, y a presión normal, le corresponde un Ψ igual a cero. El Ψ está

fundamentalmente determinado por la presión y por la actividad del agua. Esta última depende, a su vez, del efecto osmótico, presencia de solutos, y del efecto matricial, interacción con matrices sólidas o coloidales.

El Ψ se puede expresar en función de sus componentes: $\Psi = \Psi_p + \Psi_o + \Psi_m$. El Ψ_p , potencial de presión, es nulo a presión atmosférica, positivo sobre presiones por encima de la atmosférica, y negativo en condiciones de tensión o vacío.

El Ψ_o , potencial osmótico, representa la disminución de la capacidad de desplazamiento del agua debido a la presencia de solutos. A medida que la concentración de soluto (es decir, el número de partículas de soluto por unidad de volumen de la disolución) aumenta, el Ψ_o se hace más negativo. Sin la presencia de otros factores que alteren el potencial hídrico, las moléculas de agua de las disoluciones se moverán desde lugares con poca concentración de solutos a lugares con mayor concentración de soluto. El Ψ_o se considera cero para el agua pura.

Es necesario tener presente la influencia de la temperatura, que se ha omitido por considerarla constante, pero que por supuesto afecta al Ψ . Un aumento de temperatura tiene un efecto positivo sobre el Ψ , y una reducción de la temperatura tiende a disminuirlo. El Ψ en los seres vivos es siempre negativo o cero.

El concepto de potencial hídrico es de gran utilidad puesto que permite predecir cómo se moverá el agua bajo diversas condiciones. El agua se mueve de forma espontánea desde una zona de potencial hídrico grande a una zona con el potencial

menor, independientemente de la causa que provoque esta diferencia. Un ejemplo sencillo es el agua que baja por una pendiente en respuesta a la gravedad. El agua arriba de la pendiente tiene más energía potencial que debajo de la pendiente.

La presión es otra forma de potencial hídrico. En las disoluciones, el potencial hídrico está afectado por la concentración de las partículas en disolución (solutos). Si aumenta la concentración de soluto, el potencial hídrico disminuye, inversamente, cuando la disolución disminuye de concentración, el potencial hídrico aumenta.

Los tres factores que normalmente determinan el potencial hídrico son (a) la gravedad, (b) la presión, y (c) la concentración de solutos en una disolución. El agua se mueve desde la región con mayor potencial hídrico a la región con menor potencial hídrico, sea cual sea la causa de esta diferencia de potencial. Si en el camino no hay barreras este desplazamiento se realizará sin aporte externo de energía y el flujo se dirigirá mayoritariamente a través de las zonas de menor resistencia (Modificada de Curtis, H., and Barnes, N., 1997. "*Invitación a la Biología*". 5ª ed. Ed. Panamericana).

El agua en las células. A nivel celular se ha determinado en general que las plantas emplean mecanismos de ajuste osmótico para mantener su crecimiento bajo condiciones de déficit hídrico, gracias al transporte, acumulación y compartimentar iones inorgánicos o de solutos orgánicos (Hajibajheri et al., 1987; Premachandra et al., 1989; Voetberg y Shart 1991; Spicket et al., 1992).

En la célula vegetal el agua está presente en la pared celular y en el protoplasto (principalmente en la vacuola). Los flujos de entrada y salida de agua del protoplasto dependerán de la relación que exista entre su Ψ y el Ψ del medio externo: Si $y_{\text{interno}} = y_{\text{externo}}$: Equilibrio dinámico; no hay flujo neto; si $y_{\text{interno}} > y_{\text{externo}}$: Habrá una salida neta de agua del protoplasto, pudiéndose alcanzar el estado de plasmólisis; Si $y_{\text{interno}} < y_{\text{externo}}$: hay una entrada neta de agua y, en consecuencia, un aumento de volumen del protoplasto, alcanzándose el estado de turgencia. (Esto de acuerdo a un reporte de la Universidad Politécnica de Valencia, 2003).

Cuando el agua se introduce en las plantas y se esparce en los tejidos, realiza las funciones esenciales que explican el porque le es indispensable:

- Vuelve permeable las membranas de las células.
- Se infiltra y llena las vacuolas de las células produciendo la turgencia que mantiene suficientemente rígidas a las hojas y tallos jóvenes.
- Actúa como medio de dispersión de los coloides del protoplasma.
- Al combinarse con el bióxido de carbono del aire da origen gracias a la fotosíntesis al complejo edificio de los carbohidratos.

(Maximov, 1954)

Debido a que la célula es un coloide hidrófilo la planta necesita agua para formar nuevas células y para rehidratar las que ya poseen; igualmente necesita agua para sintetizar muchos de sus alimentos (Rojas, 1978).

La disponibilidad de agua es una condición esencial para la germinación de las semillas, ya que determina la imbibición y posterior activación de procesos metabólicos, como rehidratación, mecanismos de reparación (membranas, proteínas y ADN), elongación celular y aparición de la radícula Dubreucq *et al.*, (2000).

La absorción de agua y su trayectoria en la raíz. La absorción de agua consiste en su desplazamiento desde el suelo hasta la raíz, y es la primera etapa del flujo hídrico en sistema continuo suelo-planta-atmósfera. En una planta en crecimiento activo, existe una fase de agua líquida que se extiende desde la epidermis de la raíz a las paredes celulares del parénquima foliar.

Se acepta, que el movimiento del agua desde el suelo al aire, a través de toda la planta, se puede explicar sobre la base de la existencia de gradientes de potencial hídrico a lo largo de la vía, se producirá de modo espontáneo si Ψ en la raíz es menor que Ψ suelo.

La atmósfera de los espacios intercelulares del parénquima lagunar del mesófilo foliar está saturada de vapor de agua, mientras que el aire exterior rara vez lo está, por lo que el vapor de agua se mueve desde el interior de la hoja al exterior siguiendo un gradiente de potencial hídrico. Este proceso, denominado transpiración, es la fuerza motriz más importante para el movimiento del agua a través de la planta (Reporte de la Universidad Politécnica de Valencia, 2003).

El sistema radical sirve para sujetar la planta al suelo y, sobre todo, para encontrar las cantidades necesarias de agua que la planta requiere. El agua entra en la mayoría de las plantas por las raíces, especialmente por los pelos radicales. Estos pelos, largos y delgados poseen una elevada relación superficie/volumen y pueden introducirse a través de los poros del suelo de muy pequeño diámetro. Los pelos absorbentes incrementan de esta manera la superficie de contacto entre la raíz y el suelo. El camino que siguen el agua y los solutos en la planta puede ser apoplástico o simplástico, o una combinación de ambos. Pero se piensa que el agua discurre en la raíz mayoritariamente por el apoplasto mojando paredes y espacios intercelulares. (Reporte de la Universidad Politécnica de Valencia, 2003)

Efecto de la sequía sobre las plantas

Si la sequía ocurre durante la etapa vegetativa del cultivo, el impacto principal es una reducción en el crecimiento foliar. Debido a una intersección acumulada de radiación solar, se puede esperar una baja en la producción de la materia seca y por lo tanto en rendimientos de grano (Bolaños 1989).

Ferreira, (1986) menciona que el déficit hídrico en maíz causa una reducción de las variables de crecimiento, longitud de raíz principal, peso de la parte aérea y raíces. La relación PSR / PSPA (Peso seco de raíz entre/Peso seco de la parte aérea) y la densidad de raíces se incrementa por el déficit del hídrico.

Bajo condiciones de sequía en el campo, la causa más común de una escasa formación de granos en maíz, parece ser el aborto de los óvulos polinizados. El aborto ocurre aparentemente porque el flujo de sustancias asimiladas de la corriente fotosintética al grano en desarrollo es inadecuado, aun cuando los niveles de carbón reducido y nitrógeno están presentes en los tejidos vegetativos. El bajo contenido de agua del ovario parece afectar la viabilidad de cada grano en desarrollo para actuar como un depósito efectivo, aun si el número de granos por mazorca se reduce (Zinselmeier, Westgate y Jones, 1995).

Efecto de la sequía en la fotosíntesis. La tasa fotosintética es un proceso que disminuye en intensidad 20% ó cesa por completo cuando la planta está sometida a un desequilibrio hídrico y haya perdido de un 16 a 47% de agua, debido principalmente al cierre de los estomas que impiden el paso del CO₂ hacia el cloroplasto (Lljin, (1957); Soriano y Montaldi, 1980).

La pérdida de turgencia puede ocasionar que las hojas se marchiten reduciendo así la intercepción de la luz y la fotosíntesis al cerrar las estomas, lo que a su vez puede afectar no solo el crecimiento de la parte aérea, si no también el de las raíces y su habilidad para transportar el agua y minerales del suelo. El efecto en la parte aérea es mayor, como resultado hay un mayor desarrollo de la raíz (Sharp y Davies, 1979).

Características morfológicas y fisiológicas. Las características de las plantas que crecen con un balance de agua desfavorable en comparación con las que crecen con las mediciones óptimas de humedad son:

Rasgos Morfológicos

- Tamaño reducido de la planta (enanismo)
- Incremento del sistema radicular.
- Células más pequeñas en las hojas que a su vez causan:
 - Estomas menores y muy juntos entre sí.
 - Láminas pequeñas y gruesas en las hojas.
 - Mayor número de pelos por unidad de superficie si las hojas son pubescentes.

Rasgos Fisiológicos.

- Transpiración más rápida por unidad de área cuando la respiración neta por planta puede disminuir.
- Tasa de fotosíntesis más rápida por unidad de área.
- Menor potencial osmótico.
- Menor viscosidad protoplasmática.
- Mayor permeabilidad protoplasmática.
- Mayor resistencia a marchités.
- Anticipación en el florecimiento y la producción de frutos.
- Aumento del porcentaje de agua ligada por unidad de peso seco de los tejidos.

(Deubemire, 1982)

La resistencia a la sequía

La resistencia de una planta a la sequía, es la capacidad que ésta tiene para sobrevivir ante condiciones de sequía ambiental. Pueden presentarse dos modalidades básicas de resistencia a sequía: Tolerancia y Evasión.

La tolerancia: es la capacidad de una planta para sobrevivir bajo condiciones de sequía ambiental basándose en su habilidad para soportar niveles avanzados en la caída del potencial hídrico; **la evasión** es la capacidad de una planta para sobrevivir bajo condiciones de sequía basándose en su habilidad para conservar niveles relativamente altos de potencial hídrico (Muñoz, 1980).

La resistencia a la sequía desde el punto de vista agrícola se refiere a la capacidad de una planta cultivada para rendir su producto económico con agua disponible limitada, sin embargo, evolutivamente la resistencia a la sequía es la capacidad de la planta ó especie para sobrevivir y reproducirse bajo humedad limitada. Es evidente que los mecanismos responsables de la supervivencia pueden diferir de aquellos que permitan el rendimiento económico. Debido a la historia evolutiva del maíz, es poco probable que ésta especie haya evolucionado mecanismos para la supervivencia a bajas condiciones de humedad (Qualls y Fischer, 1983).

Para el fitomejorador el término resistencia a la sequía está relacionado con un ambiente desfavorable por falta de humedad y se refiere a la capacidad de un genotipo para ser más productivo que otro con una determinada cantidad de agua en el suelo (Quizenberry, 1987).

Se considera que el escape es la forma más importante y más exitosa de resistencia a la sequía, ya que se logra mediante la combinación de madurez del genotipo y las fechas de siembra, pero debido a lo imprescindible de las lluvias ésta no es muy factible (Fischer et al, 1984).

Características de las plantas resistentes a la sequía. Diversas características fisiológicas y morfológicas contribuyen a la tolerancia a sequía, entre ellas, la defoliación, alteraciones de ángulos de inserción de las hojas, una mayor proporción de raíces / vástago, cutícula cerosa gruesa, mantenimiento de la turgencia, estomas cerrados, capacidad de continuar la translocación fotosintética y la distribución de asimiladas y menor acumulación de prolina. (Rajaram, 1989).

Las plantas de maíz que crecen y desarrollan en condiciones de sequía presentan una longitud de raíz mayor que la altura de la planta. (Chavana, 1990)

Sharp y Davies (1979) reportan que las plántulas de maíz sujetas a déficit hídrico moderados de agua exhibieron un incremento absoluto en crecimiento radical, manifestado en la longitud total y el peso seco, sugieren que éstas respuestas son en forma alguna una función de alta capacidad para la acumulación de solutos y para el mantenimiento de la turgencia de los ápices radiculares, sometidos a bajos potenciales hídricos.

A medida que disminuye el agua en el suelo, el crecimiento de las raíces es importante, porque aumenta el radio y la profundidad de los tejidos radiculares capaces de absorber agua y porque incrementa la densidad radicular, acortando las

distancias a todos los puntos con humedad en el suelo. Especies con esta capacidad de crecimiento radicular en suelos secos, son comparativamente tolerantes a sequía. (Hurd, 1974; Garwood y Sinclair, 1979; Ogata *et al*, 1985)

Millar (1976) con la finalidad de explicar porque el sorgo resiste condiciones de sequía relativamente mejores que el maíz, comparó los sistemas radiculares de ambos en términos de extensión lateral y penetración vertical y número de raíces primarias y no encontró diferencias. En un estudio más detallado encontró que el sorgo formó dos veces más raíces secundarias por longitud de raíz primaria que el maíz y tuvo las raíces más fibrosas.

Tolerancia o resistencia a *Fusarium moniliforme* (Sheld) en el cultivo de maíz.

Taxonomía y descripción del patógeno *Fusarium moniliforme*

Alexopoulos y Mims (1979) ubican al género *Fusarium* dentro de la siguiente taxa:

Reino.....Mycetae

Subdivisión.....Amastigomycota

Orden.....Moniliales

Familia.....Tuberculariaceae

Género..... *Fusarium*

Especie.....*moniliforme*

El género *Fusarium moniliforme* fue descrito por Link en 1915 quién consideró las siguientes características: conidioforos alargados en forma de botella con ramas a intervalos regulares ó verticilados, septados individuales ó agrupados en esporodoquios; conidios de dos tipos a saber: microconidios elípticos piriformes, unicelulares; 1) microconidios falcados, en forma de media luna ó elípticos, dos a nueve septas, ápice puntiagudo, romo en forma de gotero, base en forma de pie, clamidiosporas, si se producen globosas, uni o bicelulares, lisas ó rugosas y generalmente de color café (Romero, 1993).

La identificación a nivel especie y subespecie presenta alto grado de dificultad, pues se basa principalmente en caracteres morfológicos de esporas que se pueden apreciar solo utilizando metodologías bastante complejas, por lo que muy pocos fitopatólogos se han dedicado a estudiar este aspecto.

Diseminación. Pruebas en invernadero confirmaron la transmisibilidad del patógeno es por la semilla, ya que siempre fue aislado de los tejidos internos de las plantas originadas de semillas infectadas en algunos estados de crecimiento (Naik et al, 1982).

El hongo es sistémico sus principales vectores son el agua y el viento o el que se encuentra invernando en el suelo, penetra por la parte basal del tallo, hojas y mazorcas. El desarrollo de la enfermedad y su diseminación son favorecidos por condiciones de sequía y temperatura de 28 a 30° C (Foley, 1962; Ooka y Comedla, 1977).

Epidemiología. El patógeno *Fusarium moniliforme* (Sheld) inverna en forma de peritecios, micelio ó clamidiosporas en restos de plantas infectadas, particularmente

en pedúnculos de maíz. En la primavera, cuando el clima es cálido húmedo, las ascosporas son llevadas por el viento hacia los tallos y mazorcas del maíz, en las cuales penetran directamente o a través de heridas y producen infecciones. Forma también conidios sobre restos infectados de la planta de maíz, pero esto es más frecuente sobre órganos vegetales infectados en climas cálidos húmedos sirviendo como inóculo secundario. Las enfermedades son favorecidas por los climas secos de principios de la estación y por climas húmedos cerca o después de la maduración del maíz. Así mismo, la gran densidad de plantas, alto nivel de nitrógeno y bajo de potasio en la planta y madurez precoz de híbridos, hace que éstas plantas sean más susceptibles a las enfermedades (Agrios, 1991).

La **opacidad** de la semilla se refiere a la alta concentración proteica en el grano de maíz. Warren (1978) citado por Reyna (1990) observó que las altas concentraciones de lisina en el grano, incrementa la pudrición de la mazorca por *F. moniliforme*.

Una vez que el patógeno ha penetrado en la planta, continua la desintegración del parénquima del tallo en forma gradual, conforme la planta madura éste tejido se descompone, ocasionando decadencia del tallo. Cuando la planta es infectada después de la germinación de la semilla, el hongo puede penetrar por la región cotiledonar, plúmula ó coleoptilo. También ha sido reportada la penetración directa al emerger las raíces adventicias y la radícula primaria cuando se rompe la coleorriza (Lawrence, et al, 1981).

Sintomatología. El hongo *F. moniliforme* puede causar pudrición de tallo mancha de la hoja, pudrición de la espiga y grano, Damping – off y tizones en plántulas (Stayer y

Cantliffe, 1984). En la pudrición del tallo, los entrenudos inferiores se ablandan y son de color canela ó café en su exterior, mientras que internamente puedan ser de color rosa ó rojizo. La medula del tallo se desintegra dejando intacto solo los haces vasculares. La pudrición afecta también a las raíces de las plantas. La pudrición del tallo hace que las hojas tengan un color gris opaco y que ocurra una muerte prematura y rompimiento del tallo. Con frecuencia, sobre la superficie de los tallos podridos aparecen pequeños peritecios redondos de color negro (Agrios, 1991).

La pudrición de la mazorca (a menudo denominada pudrición roja de la mazorca) se caracteriza porque en ésta última aparece un moho rojizo que con frecuencia comienza a desarrollarse en la punta. Cuando las mazorcas son infectadas prematuramente por el hongo, se pudren totalmente entre ellas y las vainas estrechamente unidas se desarrolla un moho con un color que va de rosado a rojizo. El hongo forma peritecios en las vainas y el pedúnculo de la mazorca. Las mazorcas del maíz que han sido infectadas por *Gibberella* son tóxicas para el hombre y algunos animales domésticos como el cerdo (Agrios, 1991).

Gibberella es uno de tantos hongos que ocasionan el tizón en las plántulas en maíz y pueden ir en las semillas infectadas o bien puede atacar a las plántulas y semillas desde el suelo. En cualquiera de los casos, las semillas que han germinado son atacadas ó destruidas antes de que la plántula emerja del suelo ó después de haber emergido, caso en el cual ésta es destruida o se atrofia y muestra clorosis y después muere. Por lo común se observan varias lesiones de color oscuro ó café claro sobre la raíz principal y las raíces laterales y en el entrenudo inferior. (Agrios, 1991)

Las plantas marchitas permanecen erectas y en los entrenudos más bajos se desarrollan pequeñas lesiones de color café – oscuro. En los estados finales de la infección, el tejido parenquimatoso desaparece, los haces vasculares quedan desgarrados y los tejidos de alrededor se decoloran. En la pudrición de la mazorca el daño producido por *G. fijiuroi* se circunscribe a granos individuales o áreas limitadas de la mazorca. Los granos infectados desarrollan un moho algodonoso y puede germinar en la mazorca. Cuando la infección es tardía, los granos muestran rayas en el pericarpio. Las mazorcas invadidas por el barrenador del tallo y gusano elotero son las más infectadas por éste hongo (De León, 1984).

Distribución e importancia de la pudrición del tallo y mazorca del maíz

Las enfermedades del maíz causadas por *Gibberella* se encuentran ampliamente se encuentran ampliamente distribuidas por todo el mundo y grandes pérdidas considerables. Los ejemplos más importantes de estas enfermedades son las pudriciones del tallo y de la mazorca (Agrios, 1991).

La distribución del *Fusarium moniliforme* es amplia, así como su importancia económica, pues entre sus hospedantes comunes figuran el maíz, arroz, caña de azúcar y el plátano, a los que les causa ahogamiento, pudriciones y otras anormalidades (Romero, 1993).

Actualmente uno de los problemas fitopatológicos del maíz en México es la marchités de causada por el hongo *Fusarium moniliforme* que ocasiona daños de hasta el 100 por ciento en condiciones óptimas para su desarrollo (Flores y Delgado, 1991).

La Sociedad Americana de Fitopatología (1980) reportó que la pudrición del tallo está ampliamente distribuida en Estados Unidos y otros países productores de maíz. En cuanto a las pérdidas ocasionadas por la pudrición de tallo y de mazorcas se encontró de un 10 a 20% de pérdidas en Estados Unidos y de un 25 a 30% en otros países, además se ha reportado que puede ocasionar hasta un 50% de pérdidas en molindas (Citado por Agrios, 1991).

Se concluye que el hongo *Fusarium moniliforme*, se encuentra establecido en todo el globo terráqueo y sobre todo en zonas templadas, húmedas y semihúmedas, las cuales podemos encontrarlas en regiones tropicales y subtropicales (Kucharek y Kommedohl, 1966).

En México se encuentra establecido en zonas maiceras, las cuales tienen las condiciones bióticas y abióticas necesarias para la sobre vivencia del hongo, el cual causa cuantiosas pérdidas en las cosechas (García, 1979).

Toxinas

Agrios (1991) reporta que el genero *Fusarium* produce sus toxinas principalmente en el maíz y otras gramíneas que infecta en el campo o después que el maíz es almacenado en los graneros. La Zearalenona y el Tricoteceno y sus derivados correspondientes, son producidos por varias especies de *Fusarium*, principalmente en el maíz enmohecido, la Zearalenona conocida como micotoxina F-2, es producida por *Fusarium roseum*, *F. Moniliforme*, *F. Trisinctum*, y *F. Oxysporum*.

Qureshi y Hagler (1992) citan que las fumonisinas B1 (FB1) son unos de los metabolitos descubiertos por *Fusarium moniliforme* (Sheld), ocurriendo de manera

natural en maíz y causa la muerte a varias especies de animales incluyendo a ratas, caballos, cerdos y patos. Por su parte, Viñas (1984) reporta que la micotoxina Zearalenona fue encontrada en concentraciones bajas en los granos de maíz, señalando también que las especies de *Fusarium moniliforme* (*G. Fujikuroi*) es el predominante.

Impacto de las toxinas en el desarrollo de las enfermedades. Uno de los efectos más importantes de las pudriciones de poscosecha de frutos y hortalizas, especialmente de semillas y del deterioro de los alimentos es la inducción de micotoxicosis, es decir, enfermedades de animales y del hombre ocasionadas por el consumo de forrajes y alimentos invadidos por hongos que producen sustancias tóxicas denominadas micotoxinas, ocasionadas por hongos comunes y de amplia distribución como: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Stachybotrys*, que ocasionan enfermedades graves e incluso la muerte.

La Zearalenona (micotoxina F-2) producida por *F. moniliforme* y otras dos especies, es más tóxica para el cerdo en el cual genera anomalías y degeneración del sistema genital conocidas como "Síndrome Estrogénico". Las tricotecinas de las cuales la más común se conoce como micotoxina T-2, son producidas por las mismas especies y por otras distintas del género *Fusarium*, en los cerdos ocasiona entre otros síntomas, desgano o inactividad, degeneración de las células de la médula ósea, nódulos linfáticos en intestinos, diarrea, hemorragia e incluso la muerte. Otros animales como las vacas, polluelos y los corderos también son afectados (Agrios, 1991).

Van – Ash *et al.*, (1992) estudiaron la fototoxicidad de las toxinas fumonisina B1, moniliformina y toxina T-2 en cultivos de callos de maíz en un medio de cultivo MS modificado conteniendo 0.1, 1.0, 10, 0 100 mg de toxina por litro. Estos investigadores encontraron que el crecimiento de los callos se redujo con el aumento de la concentración de la toxina en el medio de cultivo, resultando en una inhibición significativa a 1.0 mg/Lt (1.30 μ M) y altos niveles de toxina.

Fenología del maíz y etapas más susceptibles a *Fusarium*

Bolaños y Edmeades (1993) mencionan que la fenología de un cultivo se refiere a los cambios periódicos de que este experimenta durante su desarrollo por efecto del medio.

El conocimiento de las etapas fenológicas de los cultivos es de suma importancia debido a que permiten planear y operar varias actividades agrícolas, entre las cuales podemos citar a la fecha de siembra, floración y madurez fisiológica.

Una gran cantidad de investigadores en sus observaciones concluyen que *F. moniliforme* ataca con mayor efectividad en la fase de crecimiento seminal de la raíz *in Vitro* y después de la floración en las plantas establecidas en campo. Lo cual nos permite evaluar tolerancia a través del laboratorio y de campo con eficiencia.

Villalpando *et al.*, (1971) menciona que la siembra, emergencia, octava hoja, floración, estado lechoso, estado mañoso y madurez fisiológica, son las principales fases fonológicas del maíz.

Escobedo y Olivares (1987) reportan que al evaluar materiales *in Vitro* en medios de cultivo adicionado con filtrado tóxico encontraron una significativa reducción de longitud de tallo, raíz, peso fresco y seco de la plántula a los diez días de sembrada.

Mecanismos de resistencia del maíz y combate a enfermedades

Las plantas contrarrestan el ataque de los patógenos mediante características estructurales que actúan como barreras físicas e impiden que el patógeno penetre y se propague en ellas, o por medios de reacciones bioquímicas que tienen lugar en las células y tejidos, las cuales producen sustancias tóxicas para el patógeno o crean condiciones que inhiben el desarrollo. La combinación de características estructurales y reacciones bioquímicas que utilizan las plantas para defenderse de los patógenos difieren en distintas interacciones hospedantes – patógeno, incluso al tratarse del mismo hospedante y patógeno, las combinaciones con la edad de la planta, el tipo de órganos y tejidos de esta al ser atacados y el estado nutricional de la planta así como las condiciones climáticas (Agrios, 1996).

Agrios (1991) define dos tipos de resistencia genética en la planta, las cuales se clasifican de la siguiente manera:

Resistencia verdadera. La resistencia a enfermedades que es encontrada genéticamente por la presencia de uno, varios o muchos genes para la resistencia de las plantas contra el ataque al patógeno, se conoce como resistencia verdadera.

En éste tipo de resistencia, el hospedante y el patógeno son más ó menos incompatibles entre sí, debido a la falta de reconocimiento químico entre ellos, ó que

la planta hospedante se defiende a si misma del patógeno mediante los diferentes mecanismos de defensa que ya tiene activados, en respuesta a la infección del patógeno.

Existen dos tipos de resistencia verdadera:

1. Resistencia Horizontal. Todas las plantas tienen cierto nivel de resistencia no específica, pero no siempre la misma, que es eficaz contra cada uno de sus patógenos. Esta resistencia está bajo control de muchos genes de ahí el nombre de resistencia poligénica ó de genes múltiples. El gran número de genes que participa en la resistencia horizontal al parecer controla las diversas etapas de los procesos fisiológicos de la planta, que generan las sustancias y estructuras para sus mecanismos en defensa. La resistencia horizontal no evita que las plantas sean infectadas si no que retarda el desarrollo de de cada uno de los loci de infección en la planta, y por lo tanto, retrasa la propagación de la enfermedad.

2. Resistencia Vertical. Puede ser monogénica, estos genes controlan una etapa importante de la interacción entre el patógeno y la planta u hospedante, responde desarrollando una reacción de hipersensibilidad y de esta forma, el patógeno no puede establecerse ni multiplicarse en la planta hospedante.

Existen hasta la fecha diferentes métodos para poder reducir los ataques de *Fusarium moniliforme* los cuales no son totalmente confiables, sin embargo han sido utilizados como pocas opciones en causas muy extremas. Daniels (1983) menciona que el combate de los hongos sistémicos en la semilla con agua caliente alternándola con agua fría, controla a *Fusarium moniliforme* en las semillas de maíz infestado en forma natural. El tratamiento consiste en remojar la semilla en agua

destilada por periodos de cuatro horas a temperatura de 60° C, sin que se vea afectada la germinación. Por su parte, Romero (1993) menciona que para el control de éste hongo es recomendable la destrucción de los residuos de cosecha, el uso de funguicidas para proteger la semilla y plántulas (Arazan, Benlate ó Tecto 60), y sobre todo siembra de variedades resistentes. El control de las enfermedades de maíz por *Gibberella* se basa en el uso de variedades resistentes, de una fertilización balanceada en nitrógeno y potasio y de la baja densidad de plantas en campo (Agrios, 1991).

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente experimentación se llevó a cabo en el laboratorio de cultivo *in vitro* de maíz perteneciente al Instituto Mexicano del maíz “Dr. Mario Castro Gil” (IMM) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro localizada en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Ensayo 1. Selección de Genotipos de Maíz Resistentes a Sequía Utilizando Manitol como Secuestrante de Humedad

Uno de los principios bases para discriminar experimentalmente en laboratorio a genotipos de maíz tolerantes a sequía, es el de utilizar reactivos de alto peso molecular, los cuales actúan secuestrando agua y simulan condiciones de estrés hídrico.

Fundamento

La sequía es uno de los factores ambientales que mayormente limita la productividad de los cultivos. En México, la mayor parte de la producción de maíz la realiza bajo condiciones de temporal; esto ha permitido que de manera empírica se seleccione a genotipos que presentan ciertas aptitudes para escapar de la sequía. Desde el punto de vista técnico, maíces criollos de ésta naturaleza, son incluidos en fondos genéticos con provecho para diseñar nuevas variedades, tolerantes a condiciones de sequía, pero capaces de rendir más y mejor que los criollos. En la evaluación de los genotipos, producto de los procesos de mejora genética, son de utilidad métodos de

laboratorio sobre sequía, que sirvan para detectar los que presenten aptitudes de tolerancia a sequía.

Investigadores del IMM ha desarrollado una metodología que permite identificar genotipos de maíz tolerantes a sequía mediante el uso de secuestradores de humedad y tres técnicas distintas de evaluación que se mencionan a continuación pero con recomendación hacia la tercera técnica, por ser la que presenta más ventajas en la toma de datos.

1. Siembra en medio nutritivo artificial adicionado secuestradores de humedad.
2. Siembra en caja petri - sanita y secuestradores de humedad.
3. Siembra en taco (papel germinador ó secante) y secuestradores de humedad.

Técnica 3. Siembra en Taco (papel germinador ó secante) y

Secuestradores de Humedad

Mediante el uso de compuestos de alto peso molecular como el manitol y el polietilenglicol que actúan secuestrando el agua y simulan condiciones de estrés hídrico y el uso de semilla completa de maíz es posible identificar genotipos tolerantes a sequía.

Materiales y Reactivos. Semillas de maíz; papel germinador ó secante Anchor de procedencia estadounidense; cinta adhesiva (masking tape); lápiz tinta y bolsa de polietileno.

Equipo. Balanza analítica; incubadora de temperatura controlada; destilador; parrilla electromagnética; agitador magnético; matraz Erlenmeyer; cámara germinadora; autoclave y estufa.

Reactivos. Agua destilada y manitol.

Descripción del manitol. Sinónimos: Azúcar del maná, D – manitol[®], Diosmol[®], Manicol[®], Manidex, Osmitol, Osmosal.

El manitol es un alcohol derivado de la sacarosa ó glucosa con un poco menos poder endulzante que el azúcar común. También se obtiene de las algas marinas y de la hierba del maná (*Fraxinus ornus* L.). Tiene un peso molecular de 182.174; puede ser absorbido por las plantas y ser metabolizable por las células.

La cantidad de manitol que se requiere para llevar el medio de cultivo a la presión osmótica a -5 bar, se calculó por medio de la ecuación de Van't – Hoff; ya que toma en cuenta el factor temperatura y por lo tanto los cálculos son más exactos; esto de acuerdo a lo señalado por Salisbury y Ross, (1978).

Preparación de la solución

Ecuación de Van't – Hoff.

$$\Pi = \frac{RT}{V} NS$$

Donde:

Π = Presión osmótica en bares.

R = Constante de los gases.

T = Temperatura 273 + °C = °K.

V = Volumen (1 L)

NS = Número de moles.

Para – 5 bares.

$$NS = \frac{5 \times 1}{0.082 \times 298} = 0.204$$

1 mol ----- 182.174 gL⁻¹ (*Peso molecular del Manitol*)

0.204 ----- x

$$x = 37.284 \text{ gL}^{-1}$$

Esto quiere decir que se requieren 37.284 g / lt. De manitol para llevar la solución a la presión osmótica de – 5 bar.

Preparación de la solución de manitol. En un matraz Erlenmeyer se colocaron los 37.284 g/L de manitol necesarios para llevar la solución a la presión osmótica que se requiere (-5 bar), éste se aforó a un litro con agua destilada, Una vez lograda el matraz con la solución se colocó en una parrilla electromagnética con agitador, dejándola el tiempo necesario (20 min.) para su total homogenización.

Preparación para la siembra. Se utilizó papel secante ó germinador; el papel se dividió en dos partes iguales; se rayó con el lápiz tinta y se le coloca una fracción de cinta masking tape a lo largo del papel y siguiendo la línea trazada; a continuación se pegaron las semillas a la cinta a una distancia de cinco centímetros entre ellas.

Siembra de los materiales. Para la evaluación de los genotipos en laboratorio se sembraron cinco semillas por cada material. Antes de sembrar cada uno de los materiales el papel germinador se humedeció con manitol hasta cubrirlo totalmente y posteriormente se enrolló en forma de taco; por último cada taco se identificó y fue colocado en bolsas de polietileno.

Incubación. El proceso de incubación se llevó a cabo en una cámara germinadora, a temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ con iluminación natural, debido a su puerta transparente. Se le adicionó más manitol (5 ml) a cada taco a los cinco días.

Toma de datos. Esta se realizó a los 10 días después de la siembra debido a que hay un mejor desarrollo de estructuras en las plántulas de maíz; de este modo, en los casos de genotipos poliembrionicos, se pueden diferenciar mejor los casos de dos ó más plántulas y radículas por semilla, además de que a mayor tiempo se puede presentar una excesiva contaminación.

Ensayo 2. Selección de Genotipos de Maíz Utilizando Inoculación Artificial de *Fusarium moniliforme*

Uno de los factores que mayormente limita la producción de maíz son las enfermedades sobre todo las de tipo fungoso, el problema es considerado nacional e internacional y requiere atención prioritaria. El IMM ha desarrollado la metodología para la selección de genotipos de maíz resistentes a *Fusarium moniliforme*; este método se basa en la discriminación experimental utilizando toxinas naturales producidas por *F. moniliforme*.

Fundamento. Para el control de enfermedades es indispensable el control por medio ambiente como humedad y temperatura; de tal manera, que esto en condiciones naturales es muy difícil, por lo que surge la necesidad de la implementación de una metodología que permita seleccionar genéticamente materiales con ciertas aptitudes de resistencia al ataque del hongo *F. moniliforme*, y que sirvan de apoyo al

fitomejorador en la producción de nuevas variedades tolerantes a las toxinas emitidas por este patógeno.

1. Recolección de material enfermo

Materiales. Bolsa de polietileno; talache; objeto punzocortante.

Procedimiento. Se realizó un muestreo y extracción del hongo a plantas infestadas por *Fusarium* mostrando síntomas como podredumbre de tallo, raíz, mazorca ó necrosis (coloración rosa violácea oscura ó necrótica), secado del tallo, grano chupado, etc.

2. Preparación del medio para el aislamiento del patógeno

Reactivos. Medio de cultivo (papa – dextrosa – agar) PDA; agua destilada; alcohol al 70%.

Materiales. Matraz erlenmeyer 1000 ml; probeta graduada de 1000 ml y cajas petri.

Equipo. Balanza analítica; autoclave y parrilla electromagnética.

Procedimiento. Se pesan 39 g de PDA, y se colocan en un matraz erlenmeyer, se afora a un litro con agua destilada, y se coloca en una parrilla electromagnética con agitador para su total homogenización y posterior esterilización.

3. Aislamiento del hongo en laboratorio

Reactivos. PDA – medio de cultivo (papa – dextrosa – agar); agua destilada; hipoclorito de sodio ó calcio y Alcohol de 96 grados.

Materiales. Caja petri; vasos de precipitado 250, 500, 1000 y 4000 ml; bisturí quirúrgico; mechero; pinzas de disección; mascarillas quirúrgicas; material vegetativo enfermo y cinta mágica.

Equipo. Campana de flujo laminar; incubadora; microscopio compuesto binocular; micrómetro; destilador; balanza analítica; parrilla electromagnética; barras magnéticas; autoclave y estufa.

Procedimiento. El medio que se utiliza para aislar el patógeno es el PDA, para lo cual se requiere 39 g de PDA y se colocan en un matraz erlenmeyer al que se le añade 1000 ml de agua destilada; posteriormente el matraz se coloca en una parrilla electromagnética para su total homogenización.

El medio es esterilizado por medio de alta presión en un autoclave a una presión de 15 lb/ pulgada al cuadrado a una temperatura de 120 °C. Por separado se esterilizan las cajas petri necesarias para hacer su llenado de PDA dentro de la campana de flujo laminar. Una vez que solidifique el medio se procede a la siembra de material vegetativo enfermo.

4. Siembra de material enfermo

Materiales. Cajas petri; vasos de precipitado de 250 y 500ml; mechero de alcohol; pinzas de disección; mascarilla quirúrgica; bisturí quirúrgico; cinta mágica y material vegetativo enfermo.

Equipo. Campana de flujo laminar e incubadora.

Procedimiento. Se realizaron cortes pequeños de la planta enferma, se lavó con una solución jabonosa al 4% y se enjuagó con agua destilada; después se lavan estos mismos trozos de la planta con alcohol al 70% y posteriormente se enjuago con agua destilada; mas adelante se procede a la esterilización de dicho material lo cual se efectúo en un área estéril utilizando una campana de flujo laminar, la cuál funciona a base de luz ultravioleta y filtros de aire para crear un área de total asepsia;

se lavaron los trozos de la planta enferma con hipoclorito de sodio al 5% y se enjuagó una vez más con agua destilada y esterilizada, para después proceder a la siembra en cajas petri conteniendo el medio PDA estéril e incubado por un periodo mínimo de cinco días.

5. Conservación del patógeno

Reactivos. Aceite mineral.

Material. Pipeta de 5 a 10 ml; cepa pura de hongo; mecheros de alcohol y mascarillas quirúrgicas.

Equipo. Campana de flujo laminar; autoclave y refrigerador.

Procedimiento. Si se pretende conservar el hongo una vez desarrollado se le agrega aceite mineral (esterilizado tres veces) todo en condiciones de asepsia y se procede a refrigerar para su posterior uso.

6. Preparación del medio para la obtención de filtrado tóxico PDS

Sustancias y reactivos. Papa natural; agua destilada; dextrosa; sacarosa y algodón.

Materiales. Papel aluminio; bisturí quirúrgico; vaso de precipitado; embudo buchner; matraz kitasato; tapón horadado; manta de cielo.

Equipo. Parrilla eléctrica y autoclave.

Procedimiento

Se requieren 200 g de papa natural, la cual es cortada en trozos pequeños y colocados en un vaso de precipitado al cuál, se le añaden 1000 ml de agua destilada. El vaso es colocado en una parrilla eléctrica a temperatura de ebullición. Al momento de empezar a hervir se cuentan 30 minutos y se le está añadiendo el agua que

evapore. Una vez transcurridos los 30 minutos se procede a filtrar, para lo cual se utiliza manta de cielo. Lo que resulte de éste filtrado se afora a 3000 ml, y se coloca en un matraz erlenmeyer de 4000 ml, que contiene 30 g de sacarosa y 20 g de dextrosa más una barrita magnética. Se coloca una torunda de algodón en la boca del matraz, se cubre con papel aluminio y se sella perfectamente para proceder a su esterilización en la autoclave.

7. Inoculación del medio PDS

Reactivos. Medio PDS; alcohol y cepa de hongo.

Material. Vaso de precipitado y espátula.

Equipo. Campana de flujo laminar.

Procedimiento. Una vez que se enfría el medio se procede a inocularlo con pequeños trozos de micelio aproximadamente 6 trozos de un centímetro cuadrado, todo en perfectas condiciones de asepsia.

8. Agitación de PDS inoculado

Reactivos. Medio PDS inoculado con cepa de hongo y agua destilada.

Material. Barritas magnéticas; matraz erlenmeyer 4000 ml; sanitas 25 hijas; cinta adhesiva (masking tape) 50 cm; algodón (4 torundas); un metro de papel aluminio; reactivos de Benedict; tiras de glucosa; embudo Buchner; papel filtro; pinzas de disección; pizeta; vaso de precipitado 500 ml; matraz kitasato 1000 ml y matraz Erlenmeyer 1000 ml (3)

Equipo. Parrilla electromagnética y autoclave.

Procedimiento. Una vez inoculado el PDS se cubre el matraz para lograr oscuridad y se colocó en una parrilla electromagnética por 20 días (cuando se presente turbio ó una especie de natita) en los cuales el azúcar debe consumirse por el hongo y da lugar a la obtención de la toxina. Para confirmar la ausencia de azúcares se utiliza el reactivo Benedict o bien tiras de glucosa. Transcurridos los 20 días se filtró el PDS inoculado por medio de una bomba de vacío, embudo Buchner, matraz kitasato y papel filtro. Una vez obtenido éste filtrado se procedió a su esterilización en autoclave en matraces de 1000 ml para evitar contaminación en baño maría.

9. Pasteurización

Reactivos. PDS inoculado y agitado por diez días, filtrado y esterilizado.

Materiales. Matraz Erlenmeyer de 1000 ml (3)

Equipo. Autoclave; llave de agua corriente y refrigerador.

Procedimiento. Una vez esterilizado el filtrado tóxico se procede a la pasteurización (cambio drástico de temperatura) y refrigeración hasta su uso.

10. Siembra de material genético en papel germinador y filtrado tóxico.

Preparación para la siembra. Se utilizó papel secante ó germinador, el papel se dividió en dos partes iguales a lo largo se raya con el lápiz tinta y se le colocó la cinta masking tape a lo largo del papel, siguiendo la línea trazada, a continuación se pegaron las semillas a la cinta y a una distancia de cinco centímetros entre ellas.

Siembra de los materiales. Para la evaluación de los genotipos en laboratorio se sembraron cinco semillas por cada material. Antes de sembrar cada uno de los materiales el papel germinador se humedeció con el filtrado tóxico hasta cubrirlo totalmente y posteriormente se enrolló en forma de taco; por último cada taco se identificó y fue colocado en bolsas de polietileno.

Incubación. El proceso de incubación se llevó a cabo en una cámara germinadora, a una temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ con iluminación natural, debido a su puerta transparente. Se le adicionó más filtrado tóxico (5 ml) a cada taco a los cinco días.

Toma de datos. Esta se realizó a los 10 días después de la siembra debido a que hay un mejor desarrollo de estructuras en las plántulas de maíz; de este modo, en los casos de genotipos poliembriónicos, se pueden diferenciar mejor los casos de dos ó más plántulas y radículas por semilla, además de que a mayor tiempo se puede presentar una excesiva contaminación.

Variedades e híbrido de maíz utilizados en los ensayos

Para la presente investigación se evaluaron cuatro genotipos (Cuadro 1), los cuales se sometieron a dos pruebas, una sobre resistencia a sequía, exponiendo los materiales a una solución de manitol a -5 bar; y la otra sobre resistencia a toxina del hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld) a una concentración de 25%.

Cuadro 1. Variedades e híbrido de maíz utilizados en los ensayos manitol y filtrado tóxico de *Fusarium moniliforme* (Sheld).

Genotipo	Descripción
UA - IMM - NAP	Normal de alta poliembriónía; origen UAAAN 2004, vía selección recurrente de medios hermanos. Calificación de invernadero: primavera, 2005.
UA - IMM - BAP	Braquítica de alta poliembriónía; origen UAAAN 2004, vía selección recurrente de medios hermanos. Calificación de invernadero: primavera, 2005.
VAN – 210	Variedad sintética Antonio Narro; No - poliembriónica temporalera, utilizable por la región Ixtlera del norte de México; con rendimiento de una a tres toneladas ha^{-1} en función del manejo.
DK 2020	Híbrido Comercial No – poliembriónico, de marca registrada, alto rendimiento; recomendados para ambientes del Bajío mexicano.

Procedimiento experimental

La unidad experimental consistió de cinco semillas y testigo en ambos ensayos, dispuestas en taco papel germinador o secante, bajo ambiente controlado ($28 \pm 1^\circ\text{C}$) durante diez días. En cada ensayo de trabajo se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con arreglo factorial 4×2 y tres repeticiones.

Modelo

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + E_{ij}$$

Donde :

Y_{ij} = *Re presenta la $i j$ –ésima observación de cualquier variable.*

μ = *Media general del experimento.*

τ_i = *Re presenta la i –ésimo tratamiento.*

E_{ij} = *Re presenta el $i j$ –ésimo error experimental.*

Donde :

$i = 1, 2$

$j = 1$

En los casos de diferencias significativas, se aplicó la prueba de rango múltiple de Tukey al nivel de $\alpha = 0.05$; de éste modo, se clasificó a los tratamientos y se eligió el mejor o los mejores genotipos, en la variable de interés

Variables evaluadas

Las variables de respuesta incluidas en esta experimentación, en el caso de los dos ensayos, son las siguientes:

Por ciento de germinación (PG). Se cuantificó y se registró los casos donde la semilla expresó algún grado tejido verde, aún en los que exhiban anomalías.

Número de plántulas por semilla (NPS). Mediante la observación, se realizó una clasificación plántulas individuales, dobles, triples o más en caso de PE; lo que nos llevo a la obtención de la frecuencia poliembriónica (PPE).

Número de radículas por semilla (NRS). Se identificó y cuantificó el número de radículas en caso de plántulas PE, lo que nos lleva a la obtención de la frecuencia de radículas por semilla (PRS).

Longitud de radícula (LR). Medición en milímetros de radícula ó radículas en casos de PE; desde el la base de la semilla hasta la punta de la raíz, para caso de plántulas PE se promedian las mediciones.

Número de raíces laterales (NRL) y Nodulares (NRN). Mediante observación se identificaron y cuantificaron el número de raíces.

Longitud de tallo (LT). Medida en milímetros, desde la base del tallo ó corona hasta la punta del apéndice del cogollo; en genotipos PE se miden los tallos y se promedió entre el mismo número.

Peso fresco completo (PFC). Peso en gramos de las plántulas completas.

Peso fresco de raíz. Peso en gramos del sistema radical de la plántula.

Peso fresco de tallo. Peso en gramos del tallo ó de tallos en genotipos con características PE, según el caso.

Peso Seco. Se deshidrataron las partes de tallo y raíces en una estufa a 58°C, previamente identificadas en un sobre de papel y se probó la deshidratación en gramos a 72 horas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la presente investigación se indagó la respuesta a nivel de plántula de cuatro genotipos de maíz sometidos a dos ensayos: uno relativo al uso de manitol como secuestrante de humedad y el otro, infectando las semillas con toxinas naturales de *Fusarium moniliforme* (Sheld) en una solución al 25%. Los genotipos de maíz utilizados fueron dos poblaciones experimentales que presentan frecuencia poliembriónica, una denominada NAP (Normal de alta poliembriónía) y la otra BAP (Braquítica de alta poliembriónía); en contra parte, se utilizaron dos materiales de semillas normal mono-embriónica es decir no poliembriónica (No-PE), denominadas VAN – 210 y DK 2020. El trabajo experimental se llevó a cabo en laboratorio bajo condiciones controladas de humedad y temperatura ($28^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$).

Los genotipos de mayor interés, por su condición novedosa son las poblaciones experimentales NAP y BAP, las cuales tienen un por ciento de poliembriónía mayor al 55 % (Espinoza *et al.*, 2004); los otros dos genotipos son materiales comerciales, una es variedad para temporal en la zona de influencia de la universidad, con rendimiento de 2 a 3 t ha⁻¹, la otra es un híbrido de alto rendimiento (≥ 9 t ha⁻¹) para regiones de trópico seco – Bajío en México. Es conveniente repetir que las mediciones en cada ensayo se practicaron en plántulas de 10 días de edad, cada genotipo se representó por cinco semillas en cada una de las tres repeticiones; las semillas se sembraron en servilletas de papel germinador, depositando los rollos de manera vertical en contenedores, los cuales permanecieron por el tiempo señalado en la cámara de crecimiento.

En lo sucesivo, los ensayos se denominarán “manitol” y “toxina”, teniendo cada uno de ellos las fuentes de variación: tratamientos, genotipos e interacción.

Los dos ensayos se valoraron a través de once variables; en el Cuadro 2 se muestran aquellas que presentaron significancia ($P < .05$) al menos en una de sus fuentes de variación.

Cuadro 2. Cuadrados medios y significancia de variables relevantes en los ensayos manitol y toxina de *Fusarium moniliforme* (Sheld).

Variable	F. de V.	gl	Manitol			Toxina		
			CM	Sig	CV	CM	Sig	CV
Por ciento de germinación (PG)	A	3	Sin relevancia estadística			470.6	*	8.9
	B	1				0.000	ns	
Núm. de plántulas por semilla (NPS)	A	3	0.960	**	20.7	1.2	**	15.7
	B	1	0.026	ns		0.010	ns	
Núm. de radículas por semilla (NRS)	A	3	0.127	**	9.9	0.038	*	9.2
	B	1	0.002	ns		0.004	ns	
Longitud de radícula (LR)	A	3	Sin relevancia estadística			4715.4	ns	25.5
	B	1				21063.4	*	
Núm. de raíces laterales (NRL)	A	3	Sin relevancia estadística			4.9	*	21.8
	B	1				3.1	ns	
Núm. de raíces nodulares (NRN)	A	3	Sin relevancia estadística			9.2	**	36.4
	B	1				0.327	ns	
Longitud de tallo (LT)	A	3	371.8	ns	19	Sin relevancia estadística		
	B	1	31610	**				
Peso fresco completo (PFC)	A	3	0.089	ns	15.9	0.431	**	14.4
	B	1	0.586	**		0.004	ns	
PSR/PST	A	1	0.576	**	27.6	0.120	*	19.6
	B	3	0.024	ns		0.087	ns	
PST/PFT	A	1	0.0001	ns	23.5	Sin relevancia estadística		
	B	3	0.004	*				

Nota: La fuente interacción A*B no resultó significativa en ninguna de las variables

CM = Cuadrado medio; Sig.= Significancia; *, **, Significancia estadística 0.05 y 0.01; ns = no significativa; CV = Coeficiente variación; PST = Peso seco tallo; PFT = Peso fresco tallo; PSR = Peso seco raíz; A = Genotipos; B = Tratamientos.

La variable por ciento de germinación (PG) no fue afectada por el manitol ni por el filtrado tóxico de *Fusarium*, sin embargo, existe diferencia ($P < .05$) entre genotipos en el ensayo de toxina; la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) señaló a BAP como el genotipo más afectado en su germinación (87%), en promedio de los casos testigo y tratado, comparándolo con el resto de los materiales. Lo más probable es que el caso se influyó por efectos de muestreo ante el limitado número de semillas (30) por genotipo y ensayo.

Cuadro 3. Medias generales y desviación estándar de cada una de las variables sometidas a estrés hídrico con manitol y toxina de *Fusarium moniliforme* (Sheld).

Variable	Manitol		Toxina	
	Media general	Desviación estándar	Media general	Desviación estándar
PG (%)	98	± 3.8	97	± 3.8
PPE* (%)	62	± 19	67	± 14
NPS	1.3	± 0.2	1.4	± 0.1
NRS	1.1	± 0.05	1.1	± 0.05
PRS* (%)	17	± 8.6	14	± 13.4
LR (mm)	177.8	± 53.6	219.8	± 49
NRL	5.1	± 1.1	5.3	± 1
NRN	1.7	± 0.7	2.4	± 0.8
LT (mm)	143.3	± 25.3	240.8	± 33.5
PFC (g)	1.0	± 0.1	1.3	± 0.2
PSR/PFR (%)	20	± 0.05	10	± 0.02
PST/PFT (%)	10	± 0.02	7	± 0.005
PSR/PST (%)	100	± 0.2	80	± 0.14

Nota: Las medias se comportaron de forma atípica debido a la influencia de los materiales PE.

PG = Por ciento germinación; PPE = Por ciento poliembriónia; NPM = Número plántulas por semilla; NRM = Número raíces por semilla; PRS = Por ciento de raíces por semilla LR = Longitud radícula; NRL = Número raíces laterales; NRN = Número raíces nodulares; LT = Longitud tallo; PFC = Peso fresco completo; PSR = Peso seco raíz, PFR = Peso fresco raíz. PST = Peso seco tallo; PFT = Peso fresco tallo. * Por cientos exclusivos para genotipos poliembriónicos.

Por otra parte, la variable número de plántulas por semilla (NPS) muestra diferencias notables entre genotipos en el ensayo manitol; a diferencia de VAN – 210 y DK 2020,

que presentaron una plántula por semilla, los genotipos NAP y BAP, como era de esperarse por su característica poliembriónica, generaron casos de dos ó más plántulas por semilla, en proporciones de 76% y 48% respectivamente; a pesar de ésta diferencia porcentual, son estadísticamente iguales. La incidencia de PE en NAP se desglosa con casos dobles (69%), triples (3.4%) y cuádruples (3.4%). Por su parte, las proporciones en BAP fueron de 38% dobles y 10% de casos triples por semilla.

El ensayo de toxina presentó una PE alta y muy similar (66 y 69%) para estos dos genotipos. En NAP la proporción de dobles y triples fue 53 y 13%. En el caso del BAP se obtuvieron proporciones de dobles y triples en 57 y 12%. Al parecer tanto el manitol como el filtrado tóxico puede causar disturbios morfológicos y fisiológicos más no alteran las propiedades genéticas del material, es decir se mantiene la frecuencia poliembriónica.

De acuerdo a la experiencia de campo de los generadores de las poblaciones PE, lo más deseable es la obtención de dos plantas por semilla, quienes potencialmente duplicarían con ello la producción, tanto de mazorca como de forraje. Inicialmente en los procesos de selección se propusieron sólo incrementar la frecuencia PE, lográndose hasta ahora proporciones promedio en las poblaciones de NAP y BAP de 70 por 100 bajo condiciones de invernadero, y de al menos 55 por 100 en siembras directas en campo; todo ello, a partir de frecuencias de 1.5% en la población base ó de origen (Castro, 1973; Rodríguez y Castro, 1978; Espinoza *et al.*, 1998; Espinoza y Vega, 2000).

El planteamiento de que la condición gemelar o poliembriónica de las poblaciones PE generados en el Instituto Mexicano del Maíz (IMM) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) debe estar asociado a un mayor y mejor contenido de nutrientes en la semilla, principalmente en cuanto a aceites y proteína embrionaria, se ha venido documentando; inicialmente por la vía de análisis bromatológicos de las semillas (Espinoza *et al.* 1999) y, recientemente por la cuantificación de ciertos nutrientes específicos, como el caso de ácidos grasos, oleico y linoleico, así como los aminoácidos lisina y triptofano; los maíces PE del IMM poseen al menos 50% más grasa y 60% más lisina que los maíces comunes (Valdés *et al.* 2005).

La variable número de radículas por semilla germinada (NRS) germinada no se ve afectada por los tratamientos de manitol y toxina, pero si en función de los genotipos utilizados ($P < .01$, ensayo manitol; y $< .05$, ensayo toxina; ver Cuadro 2). De acuerdo con los resultados, existe variabilidad de respuesta entre los materiales poliembriónicos en los dos ensayos; NAP y BAP impusieron su capacidad genética de formar, dos o más radículas por plántula; en diferentes proporciones. Los otros dos genotipos, que ya se sabe son No – PE, presentaron invariablemente una sola raíz primaria por semilla, de acuerdo a lo esperado.

En el estudio citológico sobre semillas de maíz PE publicado por Erdelska (1996), la poliembriónía se origina de tres maneras; esto, en función del origen de los embriones y en su posición de la semilla; una de ellas permite embriones múltiples

con estructuras de germinación independientes; las otras dos formas de PE, pueden compartir una ó más estructuras seminales a la germinación.

Lo relevante en estos dos ensayos es que tanto BAP como NAP exhibieron casos de dos ó más radículas, correspondientes a dos ó más plántulas por semilla. En ésta ocasión destacó NAP, ya que bajo manitol y filtrado tóxico se detectaron 20% de raíces primarias múltiples; por otra parte, BAP presentó una frecuencia menor, aunque notable, exhibiendo 14% bajo manitol y 8% bajo filtrado tóxico. Con respecto a ésta diferencia entre las dos poblaciones PE, no se cuenta con datos suficientes, pero lo más probable es que el caso se influyó por efectos de muestreo ante el limitado número de semillas (30) por genotipo y ensayo. Algo que también debe destacarse, es que los casos detectados de radículas múltiples en estos ensayos corresponden a dos ó más radículas independientes pero que comparten otras estructuras seminales como el mesocotilo e hipocotilo; no se detectó caso alguno de radículas completamente independientes, lo que pudiera significar la posibilidad de la PE éste tipo en BAP y NAP carezca ó tenga baja frecuencia de casos de embriones dobles, o de más rango, originados en la semilla de manera independiente como serían los provenientes de células nucelares diferenciadas.

La variable longitud de radícula (LR), de acuerdo a la prueba de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$), tuvo un comportamiento estadísticamente igual entre genotipos, en los ensayos manitol y toxina. El manitol no produjo falla significativa con respecto al testigo, a diferencia de la toxina que influyó de manera negativa en esta variable, reduciéndola en 24% en comparación del testigo (Fig. 1). Resultados similares fueron

obtenidos por Sinha (1992) quién menciona que en maíz la longitud de la radícula se ve afectada en proporciones de 9 a 76%, en un rango de 100 – 2,000 mg/L de toxina producida por *Fusarium moniliforme*.

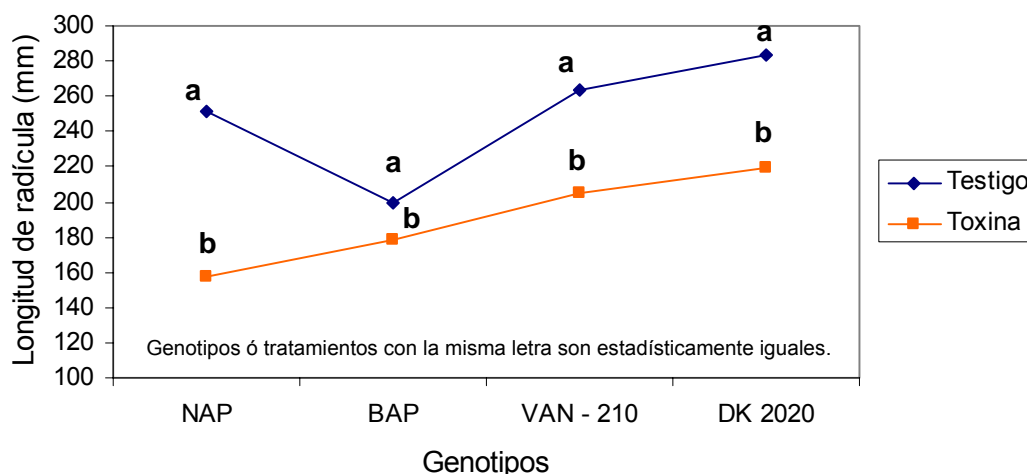


Figura 1. Longitud de radícula en genotipos de maíz sometidos a filtrado tóxico de *Fusarium moniliforme* (Sheld).

La raíz seminal consta de dos estructuras, la radícula y las raíces laterales; en una etapa mayor a la germinación y etapa juvenil de la plántula se inicia la manifestación de raíces nodulares ó de corona (Ritchie *et al.*, 1992; Hochholdinger *et al.*, 2004). Los ensayos experimentales de éste trabajo se hicieron en plántulas de 10 días de edad, etapa que permitió observar los tres tipos de raíces.

Los resultados indican que el manitol y el filtrado tóxico no afectaron las variables número de raíces laterales (NRL) y número de raíces nodulares (NRN). Sin embargo, en el ensayo de toxina hubo variabilidad de respuesta entre genotipos, siendo NAP y DK 2020 quienes produjeran una mayor cantidad de raíces laterales y nodulares (Cuadro 4).

Cuadro 4. Concentración de medias para la variable número de raíces laterales (NRL) y número de raíces nodulares (NRN) bajo filtrado tóxico de *Fusarium moniliforme* (Sheld) al 25%; prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Número raíces laterales			Número raíces nodulares		
Genotipos	Medias		Genotipos	Medias	
	Testigo	Toxina		Testigo	Toxina
NAP	6.2	6.8 a	DK 2020	4.1	4.5 a
VAN - 210	4.9	5.9 ab	VAN - 210	1.6	2.1 b
DK 2020	4.4	5.0 ab	NAP	1.8	1.9 b
BAP	4.3	4.8 b	BAP	1.8	1.6 b
Media general	4.9	6.1		2.3	2.5

Nota: Medias con la misma letra en la columna son estadísticamente iguales.

En el Cuadro 4, es notable la variación de los materiales a la edad de diez días en los dos ensayos, con promedios superiores a los reportados por Hochholdinger, *et al.*, (2004) quienes muestran información gráfica que una plántula de maíz a los diez días después de la germinación solo muestra radícula, tres raíces laterales y una raíz nodular. En cuanto a los datos de la tesis el efecto de la toxina permite discriminar entre genotipos; en raíces seminales los genotipos NAP y variedades comerciales generan prácticamente el mismo número (de 5 a 7 raíces), pero en raíces nodulares, es indiscutible la superioridad del híbrido comercial DK 2020, quien supera con el doble de los otros genotipos. Las raíces nodulares o de corona, son las raíces definitivas que sostendrán y nutrirán la planta adulta; un anclaje temprano parece ser una característica de alta productividad.

La variable longitud de tallo (LT) muestra un comportamiento estadísticamente igual entre genotipos en los dos ensayos. El manitol como tratamiento tuvo un efecto drástico negativo, reduciendo la característica en 40% promedio, en comparación del

testigo (Fig. 2). Resultados similares presentan Méndez *et. al.*, (2003), quienes desarrollaron plántulas de tres híbridos de maíz, sometidos a cinco potenciales osmóticos con manitol: 0, -3, -6, -9 y -12 bares, encontrando que un déficit hídrico severo, reduce drásticamente la longitud del tallo hasta 98% a potenciales de -9 y -12 bares.

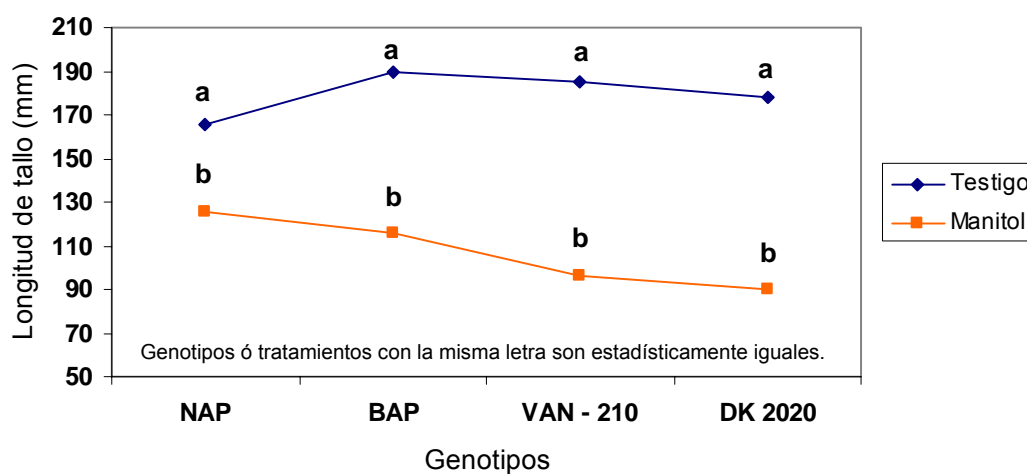


Figura 2. Variable longitud de tallo (LT) en genotipos de maíz sometidos a solución osmótica a base de manitol a un potencial osmótico de -5 bar.

El peso fresco de la plántula completa (PFC) de las plántulas a los 10 días de edad, presentó un comportamiento interesante (Cuadro 5); el tratamiento manitol redujo el peso promedio de plántulas en 26% lo cuál indica que la solución limitó la cantidad de agua en cada una de las plántulas tratadas, seguramente debido a diferencias de gradientes (Ψ) interno y externo, lo que provocó una salida de agua y por ende una reducción en peso (esto, de acuerdo a un reporte de la Universidad Politécnica de Valencia, 2003).

Resultados similares fueron publicados por Méndez *et al.* (2003), quienes desarrollaron plántulas de tres híbridos de maíz, sometidos a cinco potenciales osmóticos con manitol: 0, -3, -6, -9 y -12 bares y encontraron que tanto el peso del vástago como el de la radícula fueron completamente reducidos (100%) a potenciales de -9 y -12 bares.

Cuadro 5. Concentración de medias para la variable peso fresco completo (PFC) bajo estrés hídrico con manitol y filtrado tóxico de *Fusarium moniliforme* (Sheld) al 25%; prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Genotipos	Medias (g)			
	Testigo	Manitol	Testigo	Toxina
DK 2020	1.30	0.98	1.48 a	1.50 a
NAP	1.32	0.94	1.50 a	1.44 a
BAP	1.11	0.75	1.08 ab	1.33 ab
VAN – 210	1.01	0.82	0.97 b	0.86 b
Medias generales	1.18 a	0.87 b	1.25	1.28

Nota: Medias con la misma letra en columna ó fila son estadísticamente iguales.

Los resultados numérico-estadísticos relativos al ensayo de toxina, indican que éste no produjo efecto alguno, pero existen diferencias ($P < .05$) entre genotipos, donde el DK 2020 y NAP lograron un peso más alto (Cuadro 5), debido quizás a sus capacidades genéticas; es destacable que el genotipo VAN – 210, probadamente precoz, presente una longitud de tallo competitiva, pero que no se refleja en el peso de la planta (masa corporal).

VARIABLES COMPUESTAS: Estas variables, se generaron para detectar la importancia de la proporción de materia seca (MS) en tallo y raíz; en plántulas de 10 días de edad expuestas a manitol y toxina de *Fusarium moniliforme*.

La relación PSR/PST (peso seco raíz/peso seco tallo) con un cociente mayor a uno; indica una mayor proporción de MS en raíz en etapa juvenil de la planta, lo que puede reflejar la capacidad de anclaje temprano y el inicio de la absorción eficiente de nutrientes. El análisis de varianza indica que esta variable resultó de importancia ($P < .05$) entre genotipos en los dos ensayos, manitol y toxina, a diferencia de una segunda variable que relaciona el peso seco y fresco de tallo (PST/PFT), la cuál resultó significativa ($P < .05$) en el ensayo manitol.

La diferencia entre genotipos respecto de (PSR/PST) es indiscutible en los dos ensayos ($P < .01$, ensayo manitol; y $< .05$, ensayo toxina); la prueba de medias (Cuadro 6) muestran variabilidad de respuesta de los genotipos; donde DK 2020 produjo una mayor cantidad de MS en el sistema radical que en la parte aérea (tallo), superando con ventaja a los materiales PE de manera notable, pero no definitivo a VAN – 210; esta característica pudiera ser tomada como un indicador de productividad y usarlo como patrón para calificar a nuevos materiales, como eficientes o de gran potencial productivo cuando éste cociente (PSR/PST) sea mayor a 1.

Cuadro 6. Concentración de medias para la variable compuesta PSR/PST bajo estrés hídrico con manitol y filtrado tóxico de *Fusarium moniliforme* (Sheld) al 25%, de acuerdo a la prueba de Tukey con $\alpha = 0.05$.

Genotipos	Medias (g)			
	Testigo	Manitol	Testigo	Toxina
DK 2020	1.17	1.60 a	0.96	1.12 a
VAN - 210	1.11	1.05 ab	0.83	0.89 ab
NAP	0.91	0.90 b	0.75	0.76 b
BAP	0.66	0.60 b	0.60	0.85 b

Nota. Medias con la misma letra en la columna son estadísticamente iguales.

El contraste más llamativo en el análisis de ésta primera variable compuesta, se refiere a los materiales NAP y BAP, donde la poliembrionía tuvo una participación muy importante; debido a que no se detectaron casos de sistemas radiculares separados; como una de las versiones enunciadas por Erdelska (1996), si no que ambas poblaciones presentaron dos radículas pero un solo complejo radical, a pesar de la alta frecuencia PE observada; esta condición propicia que la parte aérea, compuesta por dos ó más tallos, arroje una mayor cantidad de materia seca en relación al sistema radicular, y por lo tanto, un cociente (PSR/PST) inferior a la unidad.

La variable definida como la proporción PST/PFT (peso seco tallo/peso fresco tallo) muestra diferencias significativas en el ensayo manitol ($P < .05$), ya que el tratamiento manitol afecta de manera positiva la materia seca en 24% en comparación del testigo. Las plántulas tratadas con manitol obtuvieron un porcentaje medio de 11% de MS en el tallo, lo que nos hace suponer que el resto (89%) está constituido por agua (Cuadro 7). Los genotipos se comportaron estadísticamente igual ($P < .01$ y $P < .05$) en ambos ensayos.

Cuadro 7. Concentración de medias para la variable compuesta PST / PFT, bajo estrés hídrico con manitol; prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Genotipos	Medias (g)	
	Testigo	Manitol
DK 2020	0.082	0.114
BAP	0.080	0.114
VAN – 210	0.085	0.100
NAP	0.078	0.101
Medias generales	0.081 b	0.107 a

Nota: Medias con la misma letra son estadísticamente iguales

Resultados contrarios obtuvieron Shiralipour y West (1984) quienes mencionaron, que el estrés de sequía en maíz, creado con una solución 0,2 M de manitol (potencial osmótico de -0,49 MPa) durante cinco días, reduce el peso seco del vástago un 40%.

Grado de asociación entre las variables PE y PSR/PST

Con el propósito de apreciar la correspondencia del fenómeno poliembrionía en la acumulación de materia seca en plántulas, en los ensayos manitol y toxina, se practicó un análisis de correlación.

Los resultados indican que el coeficiente de correlación (r) es positivo, ligeramente mayor a cero en los dos ensayos, lo que determina que existe una asociación positiva entre éstas dos variables (Fig. 3; Fig. 4)

Ensayo Manitol

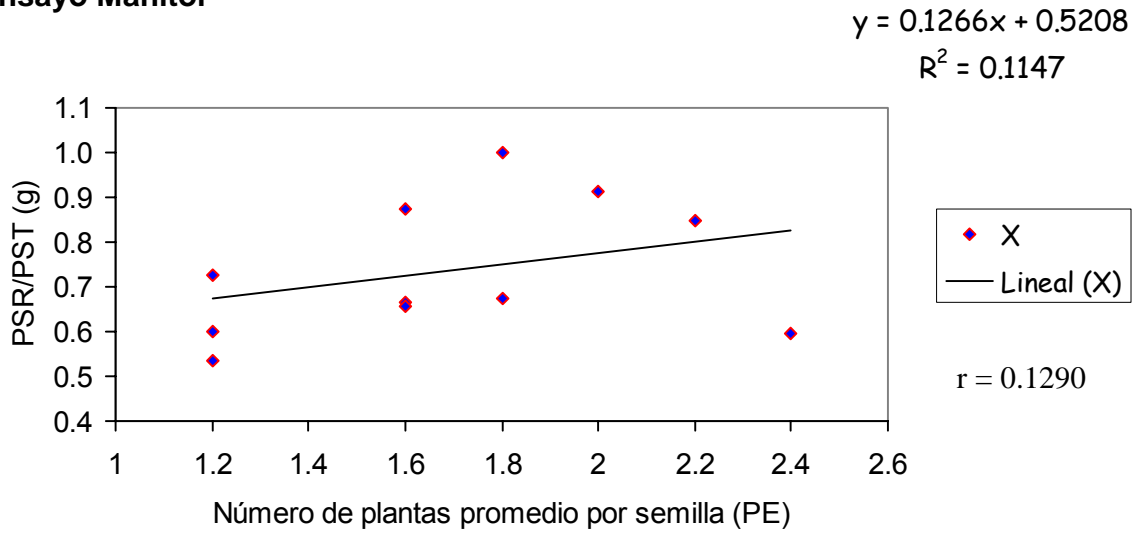


Figura 3. Grado de asociación entre poliembrionía de los genotipos de maíz denominados NAP, BAP y la variable PSR/PST, ensayo manitol.

Ensayo Toxina

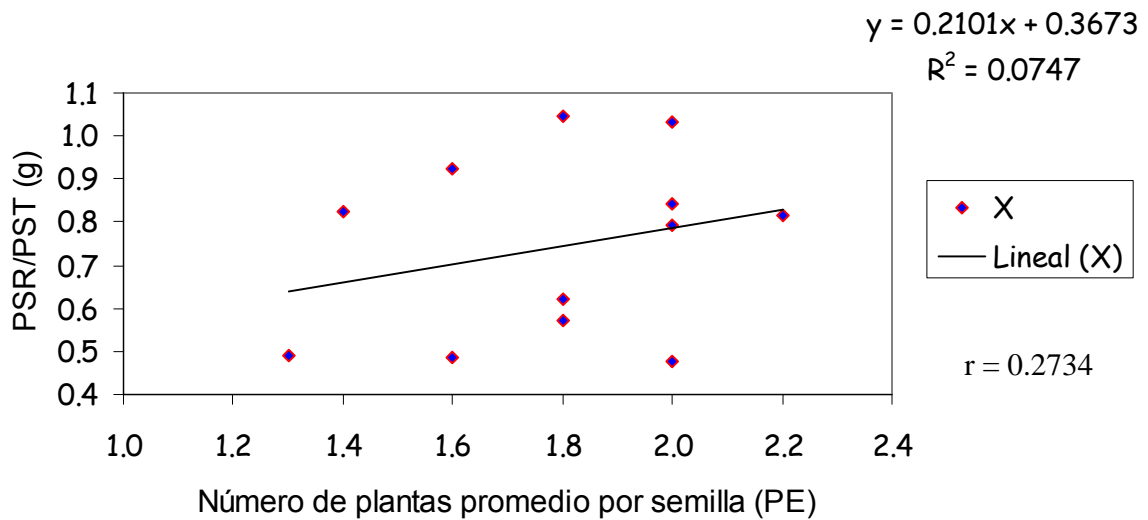


Figura 4. Grado de asociación entre poliembrionía de los genotipos de maíz denominados NAP, BAP y la variable PSR/PST, ensayo toxina.

Como ya se mencionó, el número de plantas por semilla (NPS) en poblaciones PE se comportó de manera distinta al número de complejos radicales en las plántulas, debido a que éstas presentan estructuras compartidas en prácticamente todos los casos de radículas dobles. La experimentación permitió documentar casos de raíces en las plántulas; donde existen casos en el cuál, una plántula presenta dos ó tres tallos por un solo sistema radicular; pero también tallos de dos ó tres con igual número de radículas, compartiendo raíces laterales y nodulares. Los resultados y análisis de los datos permiten afirmar que las poblaciones PE en este estudio poseen un sistema radical sencillo, aunque con casos frecuentes de 2 ó 3 radículas pero que no influyen de manera determinante para incrementar el monto de materia seca radical; la variación inicial detectada en este trabajo permite avistar que es posible practicar algún tipo de selección para mejorar el desempeño de la raíz a nivel plántula.

Un dato de interés lo constituye la observación de que a una frecuencia poliembriónica entre 1.8 a 2.0 se obtuvo un equilibrio (parte aérea/raíz) igual a uno, en ambos ensayos (Fig. 3, 4), lo que indicaría un mejor funcionamiento de la planta.

El coeficiente de determinación (r^2), muestra una proporción muy baja explicada por el modelo, en los dos ensayos (Fig. 3, 4), por lo que es recomendable aumentar la población muestra en estudio.

Conclusiones

El desarrollo experimental y los resultados de esta investigación, validan la utilidad de estudios de laboratorio para caracterizar germinación y desarrollo de plántulas de 10 días de edad, de manera rápida y confiable en variables consideradas de importancia en la tolerancia a sequía y toxina de *Fusarium*.

El análisis estadístico aplicado a los datos, muestra variabilidad de respuesta de los materiales bajo estudio en los parámetros medidos en los ensayos manitol y toxina de *Fusarium*, sin embargo, no se encontraron materiales poliembrionicos resistentes de manera simultanea para ambos ensayos; al parecer, las características de resistencia pudieran estar ligadas a genes diferentes.

Los resultados e interpretación dan pie a concluir que los genotipos superan los efectos adversos de los tratamientos manitol y toxina, ya que permitieron la germinación, desarrollo de raíz y parte aérea, sin embargo, el manitol afecta negativamente la longitud de tallo, la concentración de materia seca en el sistema radical y la cantidad de agua en las plántulas; pero aumenta de manera significativa la proporción de materia seca en el tallo con respecto al testigo. En contra parte, la toxina produce una lesión y reduce la longitud de la radícula sin afectar la proporción de materia seca en el complejo radical. Ambos tratamientos mantienen el número de raíces laterales y nodulares en los cuatro materiales.

De acuerdo a lo anterior la poliembrionía en maíz puede ser un carácter aprovechable para la producción de nuevos materiales de alta competencia, ya que se comportaron a la altura de genotipos calificados ante estos agentes restrictivos.

RESUMEN

En la presente investigación se indagó la respuesta a nivel de plántula de cuatro genotipos de maíz sometidos a dos ensayos: uno relativo al uso de manitol como secuestrante de humedad y el otro, infectando las semillas con toxinas naturales de *Fusarium moniliforme* (Sheld) en una solución al 25%. Los genotipos de maíz utilizados fueron dos poblaciones experimentales que presentan frecuencia poliembriónica, una denominada NAP (Normal de alta poliembriónía) y la otra BAP (Braquítica de alta poliembriónía); en contra parte, se utilizaron dos materiales de semillas normal mono-embriónica es decir no poliembriónica (No-PE), denominadas VAN – 210 y DK 2020. El trabajo experimental se llevó a cabo en laboratorio bajo condiciones controladas de humedad y temperatura ($28^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$).

Los genotipos de mayor interés, por su condición novedosa son las poblaciones experimentales NAP y BAP, las cuales tienen un por ciento de poliembriónía mayor al 55% (Espinoza *et al.*, 2004); los otros dos genotipos son materiales comerciales, una es variedad para temporal en la zona de influencia de la universidad, con rendimiento de 2 a 3 t ha⁻¹, la otra es un híbrido de alto rendimiento (≥ 9 t ha⁻¹) para regiones de trópico seco – Bajío en México. Las mediciones en cada ensayo se practicaron en plántulas de 10 días de edad, cada genotipo se representó por cinco semillas y testigo en cada una de las tres repeticiones; las semillas se sembraron en servilletas de papel germinador, depositando los rollos de manera vertical en contenedores, los cuales permanecieron por el tiempo señalado en la cámara de crecimiento.

Las variables de respuesta incluidas en esta experimentación, en el caso de los dos ensayos, fueron las siguientes: Por ciento de germinación (PG); número de plantas por semilla (NPS); número de raíces por semilla (NRS); longitud de radícula (LR); número de raíces laterales (NRL); número de raíces nodulares (NRN); longitud de tallo (LT); peso fresco completo (PFC); variables compuestas: peso seco de raíz / peso fresco de raíz (PSR/PFR); peso seco de tallo / peso fresco de tallo (PST/PFT) y peso seco de raíz / peso seco de tallo (PSR/PST). En cada ensayo se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con arreglo factorial 4*2, y tres repeticiones. En los casos de diferencias significativas, se aplicó la prueba de rango múltiple de Tukey al nivel de $\alpha = 0.05$; de éste modo, se clasificó a los tratamientos y se eligió el mejor o los mejores, en la variable de interés.

La variable por ciento de germinación (PG) no fue afectada por el manitol ni por el filtrado tóxico de *Fusarium*, sin embargo, existe diferencia entre genotipos en el ensayo toxina, la prueba de tukey ($\alpha = 0.05$) señaló a BAP como el genotipo más afectado en su germinación (87%) en promedio de los casos testigo y tratado. Por otra parte, la variable NPS muestra diferencias notables entre genotipos en el ensayo manitol; NAP y BAP como era de esperarse por su característica poliembriónica generaron casos de dos ó más plántulas por semilla, en proporciones de 76% y 48% respectivamente; a pesar de ésta diferencia porcentual son estadísticamente iguales. El ensayo de toxina se presentó una PE alta y muy similar (66 y 69%) para estos dos genotipos; al parecer, tanto el manitol como el filtrado tóxico pueden causar disturbios morfológico y fisiológicos más no alteran las propiedades genéticas del material, es decir mantiene la frecuente poliembriónica.

La variable número de radículas por semilla germinada (NRS) no se ve afectada por los tratamientos manitol y toxina, pero sí en función de los genotipos utilizados; de acuerdo con los resultados existe variabilidad de respuesta entre los materiales poliembrionicos en los dos ensayos; NAP y BAP impusieron su capacidad genética de formar dos ó más radículas por plántula. En ésta ocasión destacó NAP, ya que bajo manitol y filtrado tóxico se detectaron 20% de raíces primarias múltiples; por otra parte BAP presentó una frecuencia menor, aunque notable, exhibiendo 14% bajo manitol y 8% bajo filtrado tóxico.

La variable longitud de radícula (LR) tuvo un comportamiento estadísticamente igual entre genotipos en los ensayos manitol y toxina. El manitol no produjo falla significativa con respecto al testigo a diferencia de la toxina que influyó de manera negativa reduciendola en 24% en comparación del testigo.

El manitol y el filtrado tóxico no afectaron las variables numero de raíces laterales (NRL) y número de raíces nodulares (NRN), sin embargo en la prueba de la toxina NAP y DK 2020 produjeron una mayor cantidad de raíces laterales y nodulares respectivamente.

La longitud del tallo (LT) muestra un comportamiento estadísticamente igual entre genotipos en los dos ensayos. El manitol como tratamiento tuvo un efecto drástico negativo, reduciendo la característica en 40% promedio, en comparación del testigo. Por otra parte, el peso completo de la plántula (PFC) presentó un comportamiento interesante ya que el manitol redujo el peso promedio en plántulas en 26%, lo cual indica que la solución limitó la cantidad de agua en cada plántula, seguramente debido a diferencias de gradientes (Ψ).

Variables compuestas. La importancia de estas variables es detectar la importancia de la materia seca en tallo y raíz; en plántulas a los diez días de edad. El genotipo DK 2020 produjo una mayor cantidad de MS en el sistema radical que en la parte aérea, superando a los materiales PE, debido a que la poliembrionía tuvo una participación muy importante; ya que no se detectaron casos de sistemas radiculares separados, esta condición propicia que la parte aérea, compuesta por dos ó más tallos, arroje una mayor cantidad de materia seca en relación al sistema radicular. Por otra parte, el manitol afecta de manera positiva la proporción PST/PFT aumentándola en promedio 24% en plántulas tratadas.

El grado de asociación entre PE y PSR/PST es positivo; el coeficiente de correlación (r^2) es ligeramente mayor a cero en los dos ensayos. Un dato de interés lo constituye la observación de que a una frecuencia poliembriónica entre 1.8 a 2.0 se obtuvo un equilibrio (parte aérea/raíz) igual a uno, en ambos ensayos, lo que indicaría un mejor funcionamiento de la planta.

Por lo anterior se obtuvieron las siguientes conclusiones: los resultados validan los estudios de laboratorio para caracterizar germinación y desarrollo de plántulas de 10 días de edad de manera rápida y confiable en variables consideradas de importancia en la tolerancia a sequía y toxina de *Fusarium*. De acuerdo a los análisis estadísticos no se encontraron materiales poliembriónicos resistentes de manera simultánea para ambos ensayos al parecer, las características de resistencia pudieran estar ligadas a genes diferentes. Los genotipos superan los efectos adversos de los tratamientos manitol y toxina, ya que permitieron la germinación, desarrollo de raíz y parte aérea, sin embargo, el manitol afecta negativamente la longitud de tallo, la concentración de materia seca en el sistema radical y la cantidad de agua en las plántulas; pero

aumenta de manera significativa la proporción de materia seca en el tallo con respecto al testigo. En contra parte, la toxina produce una lesión y reduce la longitud de la radícula sin afectar la proporción de materia seca en el complejo radical. Ambos tratamientos mantienen el número de raíces laterales y nodulares en los cuatro materiales.

De acuerdo a lo anterior la poliembrionía en maíz puede ser un carácter aprovechable para la producción de de nuevos materiales de alta competencia, ya que se comportaron a la altura de genotipos calificados ante estos agentes restrictivos.

LITERATURA CITADA

- Agrios, N. G. 1985. Fitopatología. Limusa. México 113 – 114. 1991. Manual de las enfermedades de las plantas. Limusa. México. 582 p.
- Agrios, N. G. 1991 Manual de las enfermedades de las plantas. Ed. Limusa. México. P. 528
- Agrios, N. G. 1996. Fitopatología. Ed. Limusa. México.
- Alexopoulos, C. J. and C. W. Mims. 1979. Introductory mycology. Third Edition. John Wiley and Sons. New York, USA. 632 p.
- Álvarez B., J. R. 1991. Implementación de la metodología de los cultivos "In Vitro" de embriones como una alternativa para seleccionar genotipos de maíz tolerantes a sequía. Tesis de Licenciatura UAAAN. Buenavista Saltillo Coah. México.
- Beltrán, E.D. 1983. Estudio de la heterosis en algunas características relacionadas con la resistencia a sequía en el sorgo para grano (*Sorghum bicolor* L. Moench). Tesis de Maestría en Ciencias. UAAAN. Colegio de Graduados, Buenavista, Saltillo, Coah. México.
- Bolaños, J. A. Y G. O. Edmeades. 1989. Selección para la Tolerancia a Sequía en Maíz Tropical. En: Tolerancia a Factores Ambientales adversos al cultivo de maíz. III Seminario. IIC - BID - PROCIANDINO. Quito, Ecuador. PROCIANDINO. Programa del Maíz. CIMM y T. México. Pp. 125 - 139.
- Bolaños, J. A. Y G. O. Edmeades. 1993. La fenología del maíz en síntesis de los resultados experimentales del PRM 1992. vol. A CIMMYT, Guatemala. Pp. 251 - 261.
- Castro Gil, M. 1970. Frecuencias of maize by teosinte crosses in a simulation of a natural association. Maize Gen. Coop.

- Chavana, V. G. 1990. Selección de genotipos de maíz (*Zea mays* L.) tolerantes a sequía en una fase inicial de desarrollo. Tesis de licenciatura. UAAAN. Buenavista Saltillo Coah. México.
- Conover, D. G. and D. R. Geiger. 1984. Germination of Australian channel millet (*Echinochloa turnerana*(Domin) J. M.Black) seeds. II. Effect of anaerobic conditions, continuous flooding, and low water potential. *Australian Journal of Plant Physiology* 11 (5): 409-417.
- Daniels, B. A. 1983. Elimination of *Fusarium moniliforme* from corn seed. *Plant Disease*. USA. 67: 609 - 611.
- Daubenmire, R. F. 1982. *Ecología Vegetal*. 3ª Ed. Limusa México. Pp. 128, 145 - 146, 163 - 165.
- De León, C. 1984. *Enfermedades del maíz, una guía para su identificación en el campo*. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). 3ª Ed. 114 p.
- Douglas, Z. y M. Contreras, 2005. *Industria Avícola. La revista para empresarios y profesionales de la avicultura Latinoamericana*. Grupo de Agronegocios. Fabulare - México.
- Edmeades, G.O., Bolaños, J. & Lafitte, H.R. 1992. Progress in breeding for drought tolerance in maize. *In* D. Wilkinson, ed. *Proc. 47th Ann. Corn and Sorghum Ind. Res. Conf.*, Chicago, Illinois, Dec. 1992, p. 93-111. Washington, DC, ASTA.

- Escobedo, B., L. y Olivares. S., G. 1987. Metodología para evaluar "In Vitro" genotipos de maíz basándose en su resistencia a *Fusarium moniliforme*. Revista agraria. UAAAN. 3 (2): 171 - 186.
- Espinosa, C. A. 2000. Investigación y producción de semillas de maíces de calidad proteínica (QPM), en el INIFAP. espinoal@inifap2.conacyt.mx
- Espinoza Velázquez J; L E Valdez Lara; M L Reyes Vega (2004). Calidad nutricional del grano en poblaciones de maíz poliembriónico. In: J Valdés R (ed). Resultados de Proyectos de Investigación; Dirección de Investigación, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, México. ISSN 968-844-032-9.
- Espinoza, P., N. Rodríguez O. J. L. Cárdenas., E y Muñoz O. A. 1994. Efecto del déficit hídrico en el crecimiento del tallo de dos variedades de maíz (*Zea mays* L.) Memorias del XV Congreso Nacional de Fitogenética. Monterrey N. L. México del 25 al 30 de septiembre. Pp.354
- Erdelska, O. 1996, Acta Botanicorum Poloniae TOM 65 (1-2) CTOP. 001123-00125
- Ferreira, D., M. A. 1986. Efecto de la toxicidad del aluminio en maíz. Tesis de Maestría. UACH. Colegio de Postgraduados Chapingo, México. P. 120.
- Fischer K. S., E. C. Johnson y G. o. Edmeades. 1984. Mejoramiento y selección de maíz tropical para incrementar su resistencia a sequía. CIMMYT. El Batán, México. P. 20
- Flores, O., A. y Delgado L. E. 1991. Evaluación de la técnica de inoculación "In Vitro" e invernadero en progenitores de maíz, para determinar la tolerancia a *Fusarium moniliforme*. Memorias de XVIII Congreso Nacional de Fitopatología, Puebla, Puebla. Del 24 al 26 de julio de 1991. 142 pp.

- Fulbright. T. E..1988. Effect of temperature, water potential, and sodium chloride on Indiangrass germination. *Journal of Range Management*. 41 (3): 201 - 207.
- Gómez, H. *et al.*, 2000. Evaluación del efecto de la sequía osmótica en la degradación de almidón de dos variedades de maíz. Departamento de Botánica. Facultad de Ciencias Biológicas, UANL.
- García A. M. 1979. *Enfermedades de las Plantas de la República Mexicana*. Edit. Limusa, 1ª EDIC. México. Pp. 93
- Graniti, A. 1972. The evolution of toxin concept in plant disease. Woo RK. AB. Ballio and Graniti (Eds) Academic Press, USA. Pp. 15 - 16.
- Griffits, J. F. 1985. *Climatología Aplicada*. Publicaciones culturales. México. P 70.
- Hajibajheri, M.A. , Harvey, D.M.R. and Flowers, T.J. 1987. Quantitative ion distribution within root cells of salt sensitive and salt tolerance maize varieties. *New Phytol*. 105:3677-379.
- Hochholdinger, F. *et al.*, 2004. Genetics of root formation in maize (*Zea mays* L.) Reveals Root – Type specific developmental programs.
- José Espinoza Velázquez¹, Lizbeth E. Valdez Lara³ , Ma de la Luz Reyes Vega², Humberto de León Castillo 1998. Whole grain nutrient quality in polyembryonic maize populations.
- Kraner, P, M. 1980. Drought stress and the origin of plant to water, and high temperature stress. (Ed) M. C. Tuner and P. J. Kramer. Wiley. New York, USA.
- Kucharek, T. A. and T. kommedohl. 1966. Kemmel infection and corn stalk root caused by *Fusarium moniliforme*. *Phytopathology*.
- Kuruvadi,1980. Genetic studies on dryland wheat. Postdoctoral research investigation. Agriculture, Canada, research station Swift Current.

- Lawrence, E. B., Nelson, P. E. and Ayers. J. E. 1981. Histopathology of sweet corn seed and plants infected with *Fusarium moniliforme* an *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*. 71: 379:386.
- Lynch, J. 1995. Root architecture and plant productivity. Departement of Horticulture, The Pennsylvania State University, Unversity Park, Pennsylvania 16802 – 201 *Plant Physilogy*.109: 7 – 13.
- Ma. Elena González Guajardo¹, Humberto de León Castillo¹, Manual de Laboratorio para la Selección de Genotipos en Maíz.
- Márquez, F. J. A. 1979. Estudio de la resistencia a la sequía de ocho variedades de maíz, por el método de germinación de semillas en concentraciones molares de sacarosa. Tesis de maestría. ITESM. Monterrey N. L. México.
- Maximov, N. A. 1954. Fisiología Vegetal. 2ª Ed. CECSA. México. Pp. 336 - 339.
- Méndez, N. J, Ibarra, F, Merazo, J. Germinación de semillas y desarrollo de plántulas de tres híbridos de maíz (*Zea mays* L.) bajo soluciones osmóticas con Manitol. Departamento de Agronomía, Escuela de Ingeniería Agronómica, Universidad de Oriente, Maturín, 6201, Estado Monagas, Venezuela.
- Muñoz D. A. 1980. Resistencia a la sequía y mejoramiento genético. *Ciencia y Desarrollo*. CONACYT. México. 33: 26 - 35.
- Muñoz S., M.A. 1987. Determinación de la metodología para evaluar In Vitro genotipos de maíz en base a su resistencia a *Fusarium moniliforme* (Sheld.). Tesis de Maestría. UAAAN. Buenavista Saltillo, Coah. México. 43 p.
- Parmar, M. T. And Moore. 1966. Effects of simulated drought by polyethylenglycol solutions on corn plants (*Zea mays* L.). Germination and seedling develoment. *Agron. J.* 58: 381 – 392.

- Poelhman, J. M. 1986. Mejoramiento Genético de Cosechas. Limusa. México. Pp. 110 – 115.
- Qualls y Fischer, 1983. Mejoramiento y selección de maíz tropical para incrementar su resistencia a sequía CYMMYT, El Batán, México. P. 20.
- Quizemberry., J. E. 1987. Mejoramiento de plantas para resistencia a sequía y aprovechamiento del agua. En: Christiansen, M. N. y Ch. F. Lewis(eds), Mejoramiento de plantas bajo condiciones poco favorables. Limusa. México. P. 233 - 256.
- Qureshi, M A. and Hagler, W. M. Jr. 1992. Effect of fumonisins B1 exposure on chicken macrophage functions "In Vitro". Poult. Sci.
- R.L.(Bob) Nielsen 2001, Agronomy Dep., Purdue Univ. West Lafayette. Corn Root Development.
- Rajaram, S. 1989. Mejoramiento de trigo para obtener tolerancia a sequía. Perspectivas y opiniones. En: Mejoramiento de la sequía en trigo. Memoria del taller. Marcos, Juárez, Argentina, del 28 al 30 de agosto de 1989. CIMM y T. México.
- Ritchie, S.W. & Hanway, J.J. 1992. How a corn plant develops. Special report No. 48. Ames, IA, USA, Iowa State University.
- Rivera, G. M. 1988. Evaluación de metodología para seleccionar genotipos de maíz tolerantes a sequía. Tesis de maestría en ciencias. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah, México. Pp. 125.
- Robledo, T.V. 1989. Comportamiento de características cuantitativas y patrones de crecimiento radical en relación. Rev. Agraria 10 (8): 98 - 102.

- Rodríguez Q., J.L. 1989. Selección In Vitro de genotipos de maíz resistentes a sequía. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista Saltillo, Coah. 52 p.
- Rojas, G. M. 1978. Fisiología Vegetal Aplicada. Mc Graw Hill. México. 252 Pp.
- Salisbury, F. B. and C. W. Ross. 1978. Plant Physiology. Second Edition. Wadsworth Publishing Company, Inc. Belmont, California.. p. 18-31.
- Sánchez, P.A., Nicholaides, J.J., III & Couto, W. 1977. Physical and chemical constraints to food production in the tropics. *In* G. Bixler & L.W. Shenilt, eds. *Chemistry and world food supplies: the new frontiers*, CHEMRAWN II, p. 89-105. Los Baños, Philippines, IRRI.
- Sharma, N. K., C. B. Singh and D. Khara. 1985. Ascorbic acid in relation to drought resistance in *Vicia faba* L. FABIS, Newsletter Faba Bean Information Service, ICARDA. No 11: 13-14.
- Shiralipour, A. and S. H. West. 1984. Inhibition of specific protein synthesis in maize seedlings during water stress. Proceedings Soil and Crop Science Society of Florida 43: 102-106.
- Rodríguez, H., S. A., M. Castro Gil. 1978. Estudios sobre la herencia de semillas con dos embriones. Avances de investigación pág. 19. Universidad autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coah, Méx. Fascículo, 83 pp.
- Romero, C. S. 1993. Hongos Fitopatógenos. 2ª Ed. Edit. Chapingo, México. 225 Pp.

- Scott, G. E. and M. C. Futrell. 1970. Seedling reaction of in bred and single crosses of maize to *Fusarium moniliforme* Plant Disease Reporter Vol. 54 (4): 483.
- Stayer, R. C. and D. J. Cantliffe. 1987. Infection of endosperm mutants of sweet corn by a *Fusarium spp* and effects on seed vigor. Phytopatology. 74 (2); 189 - 194.
- Stebins, T. C. 1981. Pathogenecity and toxin production "In Vitro" by *Fusarium moniliforme* from corn. Phytopathology. 71 (2): 258.
- Till, D. C., R. D. Schirman y A. Appley. 1979. Osmotic stability of manitol and polyethylenglycol. Solutions used as germination media. Agron. J. 71 (2): 258
- Valdés, E. L. 2005. Ganancia en calidad nutrimental del grano, como respuesta asociada a la selección para poliembrionía en maíz.
- Villalpando, J. F. I. Del Real. L. I. y Ruiz, C. J. A. 1971. Temperatura y Tecnología Agrícola. Apuntes de Curso, Guadalajara Jal.
- Viñas, I. 1984. Investigation of micotoxins and mycoflora of maize from silos. Phytopathology Mediterranean 22 (1): 2327 (Abst).
- Warren, H. L, and S. K. V. Ovalen. 1986. Efect of fungicides on ear and stalk rot of maize. Phytopathology. 76: 179 - 181.
- Wheeler, H. 1975. Plant patogenesis Spring Verlang. Berlin. Pp. 28 - 30.
- Williams T. V., R.S. Shell and J.F. Ellis. 1967. Methods of measuring drought tolerance in sweet corn. Crop Sci. 7: 179-181.
- Zinselmeier, C., Westgate, M.E. & Jones, R.J. 1995. Kernel set at low water potential does not vary with source/sink ratio in maize. Crop Sci., 35: 158-163.