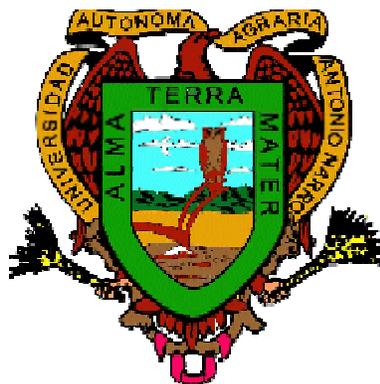


**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"**

DIVISIÓN DE AGRONOMIA



***Selección de líneas de Maíz Zea mays L. Para Tolerancia a Sequía
y al Hongo Fusarium moniliforme (Sheld.) Bajo condiciones de
Laboratorio***

Por:

FERNANDO GASPAR MONTES DE OCA VILLATORO

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para

Obtener el Título de:

Ingeniero Agrónomo en Producción

Buenavista Saltillo, Coahuila, México.

Marzo del 2003

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO “

DIVISIÓN DE AGRONOMIA

Selección de líneas de Maíz *Zea mays* L. Para Tolerancia a Sequía y al Hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld.) Bajo condiciones de laboratorio.

POR:

FERNANDO GASPAR MONTES DE OCA VILLATORO

TESIS

APROBADA POR EL COMITÉ DE TESIS

**ING. MC. TOMAS MANZANARES A.
PRESIDENTE DEL JURADO**

**Q.F.B. MA. ELENA GONZALES G.
SINODAL**

**LIC. EMILIO PADRÓN CORRAL
SINODAL**

EL COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMIA

M.C. LEOPOLDO ARCE GONZALES

BUENAVISTA SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO

MARZO DEL 2003

DEDICATORIA

A mis Padres

JAVIER MONTES DE OCA OCAMPO

ASUNCIÓN VILLATORO ESPINOZA

Con mucho cariño y respeto que les tengo, por facilitarme el ser y su gran esfuerzo y sacrificio para la obtención de esta carrera.

A mí cuñada Ma. Luisa por darme el apoyo cuando mas lo necesitaba y por su constante ayuda y amistad.

A mis hermanos:

Eliseo montes de oca villatoro.

Oscar montes de oca villatoro.

Mauricio j. Montes de oca villatoro (+)

A Mis amigos que se juntan entre A y B, la generación 94 y a todos a mis primos y sobrinos.

AGRADECIMIENTOS

A **DIOS** por permitirme tener vida, salud y paciencia para la culminación de mi carrera y de este trabajo.

A la **UAAAN** e **INSTITUTO MEXICANO DEL MAIZ**, por permitirme hacer uso de sus instalaciones, obtener una profesión y concluir el presente trabajo

Al **ING. MC. TOMAS MANZANARES AGUIRRE**, por su valiosa colaboración y por facilitar el material genético necesario en este trabajo y en la revisión, formato y edición de este trabajo.

A la **Q.F.B. MARIA ELENA GONZALEZ GUAJARDO**, por asesoría en el trabajo realizado en el laboratorio, su disponibilidad en la revisión así como por su amistad y ayuda brindada.

Al **LIC. EMILIO PADRÓN CORRAL**, por facilitar su asesoría en la parte estadística e interpretación de los resultados.

Al **ING. RODOLFO BENTANCOURT MOTA**, por su apoyo y asesoría en el trabajo realizado en el laboratorio.

INDICE

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
INDICE DE CUADROS.....	viii
I.- INTRODUCCION.....	1

PRIMERA PARTE (SEQUÍA).

II.- REVISIÓN DE LITERATURA.

LA SEQUIA Y SUS CONSECUENCIAS.....	6
- DEFINICIONES DE SEQUIA.....	7
- RESPUESTA DE LA PLANTA HACIA LA SEQUIA.....	8
- FUNCION DEL AGUA EN LAS PLANTAS.....	9
- EFECTO DE LA SEQUIA SOBRE LAS PLANTAS.....	10
- EFECTO DE LA SEQUIA SOBRE EL CRECIMIENTO VEGETAL.....	10
LA RESISTENCIA A LA SEQUIA.....	13
- CARACTERISTICAS DE LAS PLANTAS RESISTENTES A LA SEQUIA.....	16
- ALGUNOS CRITERIOS PARA LA SELECCIÓN DE PLANTAS.....	18
CON RESISTENCIA A SEQUIA.	
- METODOS DE ESTUDIOS PARA LA RESISTENCIA A SEQUIA.....	19
- SELECCIÓN DE GENOTIPOS RESISTENTES A SEQUIA.....	20
MEDIANTE AGENTES OSMÓTICOS.	

- POLIETILEN GLICOL (PEG).....	20
- CLORURO DE SODIO (NaCl).....	21
- SACAROSA.....	21
- MANITOL.....	22
III.- MATERIALES Y METODOS.....	24
- PREPARACION DEL MATERIAL PARA SIEMBRA.....	29
- SIEMBRA DE LOS MATERIALES.....	29
- INCUBACIÓN.....	30
- TOMA DE DATOS.....	30
- ANALISIS ESTADISTICO.....	30
IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32

SEGUNDA PARTE (*FUSARIUM*)

II.i - REVISIÓN DE LITERATURA.....	38
- DISTRIBUCION GEOGRAFICA E IMPORTANCIA ECONOMICA.....	38
- DESCRIPCIÓN DEL GENERO <i>FUSARIUM</i>	40
- TAXONOMÍA DEL HONGO.....	41

- CARACTERISTICAS DEL HONGO <i>Fusarium Moniliforme</i>	42
<i>(Gibberella fujikuroi)</i> .	
- DISEMINACIÓN.....	42
- EPIDEMIOLOGIA.....	43
- SINTOMATOLOGIA.....	45
- TOXINAS PRODUCIDAS POR <i>Fusarium</i>	47
- EFECTOS DE LAS TOXINAS.....	49
- METODOS DE INOCULACION.....	50
- METODO DE LA PUNTA DE LA MAZORCA (TIP-Of-Ear).....	50
- METODO DE INYECCION.....	50
- USO DEL FILTRADO TÓXICO EN LA SELECCIÓN	52
DE MATERIALES CON RESISTENCIA A ENFERMEDADES.	
- TRABAJOS DENTRO DE LA UNIVERSIDAD.....	52
- CONTROL.....	54
III. i - MATERIALES Y METODOS	57
- RECOLECCION DEL MATERIAL ENFERMO.....	57
- PREPARACION DEL MEDIO PARA EL AISLAMIENTO DEL HONGO...57	
- SIEMBRA DEL MATERIAL GENETICO.....	58
- IDENTIFICACION DEL PATÓGENO.....	58
- CONSERVACION DEL HONGO.....	59
- PREPARACION DEL MEDIO PARA OBTENER EL FILTRADO	59

TOXICO.

- PASTEURIZACIÓN.....	60
- INOCULACION DEL SUSTRATO.....	60
- TOMA DE DATOS.....	60
- ANALISIS ESTADISTICOS.....	61

IV. i - RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....62

- DISCUSION COMPARACIÓN ENTRE SEQUIA Y <i>Fusarium</i>	68
--	----

V. - CONCLUSIONES.....70

VI.- LITERATURA CITADA.....72

INDICE DE CUADROS

CUADRO	PAGINA
3.1 MATERIAL GENETICO UTILIZADO (GENEALOGIA).....	24
COLECTAS DE LOS ESTADOS DE COAHUILA, NUEVO LEON, ZACATECAS Y SAN LUIS POTOSI.	
4.1 ANALISIS DE VARIANZA (ANVA) PARA LA VARIABLE.....	32
LONGITUD DE RAIZ A LA PRESION OSMOTICA DE -5 BARS CON MANITOL.	
4.2 ANALISIS DE VARIANZA (ANVA) PARA LA VARIABLE	33
LONGITUD DE PLUMULA A LA PRESION OSMOTICA DE -5 BARS CON MANITOL.	
4.3 MEDIAS DE LA VARIABLE DE LONGITUD DE RAIZ.....	34
CON MANITOL.	
4.4 CONCENTRACION DE LAS 10 MEDIAS MAS ALTAS	36
Y UN TESTIGO DE LA VARIABLE LONGITUD DE RAIZ USANDO UNA PRESION OSMOTICA DE -5 BARS, ORDENADOS DE MAYOR A MENOR SEGÚN LA PRUEBA D..M.S. CON $\alpha = 0.05$.	

4.5	CONCENTRACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE.....	37
	LONGITUD DE PLUMULA USANDO UNA PRESION OSMOTICA DE -5 BARS, ORDENADAS DE MAYOR A MENOR SEGÚN LA PRUEBA D.M.S. CON $\alpha = 0.05$.	
4.6	ANALISIS DE VARIANZA (ANVA) PARA LA VARIABLE.....	62
	DE LONGITUD DE RAIZ INOCULADO CON <i>Fusarium moniliforme</i> . (SHELD.)	
4.7	ANVA PARA LA VARIABLE LONGITUD DE PLUMULA.....	63
	INOCULANDO CON <i>Fusarium moniliforme</i> . (SHELD).	
4.8	MEDIAS DE LA VARIABLE LONGITUD DE RAIZ.....	63
	CON FILTRADO TOXICO DE <i>Fusarium moniliforme</i> AL 25%.	
4.9	CONCENTRACION DE LAS 10 MEDIAS MAS ALTAS	66
	Y UN TESTIGO DE LA VARIABLE LONGITUD DE RAIZ INOCULANDO LA SEMILLA CON FILTRADO TOXICO DE <i>Fusarium moniliforme</i> (SHELD). ORDENADAS DE MAYOR A MENOR DE ACUERDO LA PRUEBA DE MEDIAS D.M.S.	
4.10	CONCENTRACION DE MEDIAS PARA LA VARIABLE.....	67
	LONGITUD DE PLUMULA INOCULANDO LA SEMILLA CON FILTRADO TOXICO DE <i>Fusarium moniliforme</i> (SHELD). ORDENADAS DE MAYOR A MENOR DE ACUERDO LA PRUEBA DE MEDIAS D.M.S.	

INTRODUCCIÓN

Dentro de los factores que provocan más pérdidas a la producción de maíz se consideran: déficit hídrico o sequías prolongadas, heladas, plagas y enfermedades pues debido a ello los rendimientos se ven mermados en gran parte.

Estos problemas son debidos al medio ambiente el cual es difícil de controlar, lo mismo el uso de productos químicos hace incostable la producción. Por este motivo es necesario la utilización de técnicas de laboratorio que sean eficientes, rápidas y económicas al evaluar para hacer una rápida selección de materiales sobresalientes.

La sequía es uno de los factores que más limita la productividad de los cultivos en las áreas temporaleras, ésta es ocasionada por la falta de precipitación total o parcial, por una precipitación insuficiente, o por una mala distribución.

En nuestro país se estima que cada año se pierden de un 23 a un 37 por ciento de área sembrada, por efecto de la sequía.

Sin duda alguna el maíz es el cultivo más importante en México y uno de los cereales básicos en el mundo. En el país los datos oficiales mencionan que el 36% de la superficie agrícola se siembra con maíz y el 80% de la misma en zonas de temporal. El arraigo y la trascendencia de este cultivo en México, es consecuencia de su valor cultural, ya que es el componente principal de la dieta de la población humana y presenta bajos costos de producción dentro de la agricultura tradicional y además tiene la capacidad de adaptarse a las condiciones ambientales imperantes, sin embargo la producción nacional no alcanza a cubrir la creciente demanda de este grano teniendo que recurrir a las importaciones.

La sequía es uno de los factores ambientales que mayormente limita la productividad de los cultivos en la mayoría de las áreas temporales y es definida como la ausencia o escasez de precipitación que afecta a este tipo de agricultura en diferente grado según la época en que se presenta, de su intensidad y duración. En nuestro país se estima que cada año se pierden cosechas de un 23 a 37% del área sembrada, por efecto de la sequía.

En los estados de Coahuila, chihuahua, Nuevo León, Durango, Zacatecas y San Luis Potosí, la precipitación varía año con año y rara vez el campesino obtiene una buena cosecha.

El maíz esta fuertemente ligado a la tradición y cultura de México, puesto que ha sido la base de su alimentación desde hace varios siglos. Aún y cuando

desde 1941 se iniciara el mejoramiento genético de este cultivo, se enfoco principalmente hacia la formación de híbridos para área de riego, e incrementar la producción de grano en el país a corto plazo poniendo poca atención a las áreas de secano o temporal. En la actualidad; dichas áreas de temporal son de especial consideración, dado que representan el 87.5 por ciento de la superficie sembrada con el ámbito nacional, cubriendo ambientes con condiciones ecológicas muy diversas y bajo diferentes sistemas de cultivo, donde predominan las siembras tradicionales y comúnmente los bajos rendimientos, satisfaciendo solo en forma parcial las necesidades de subsistencia. Lo anterior debido a que la principal fuente de humedad es la precipitación, la cual varia en cantidad y distribución de un año a otro y de región en región.

En nuestro país el 87.5 por ciento de la superficie cultivada corresponde a terrenos de temporal y participan con un 60 por ciento del valor total de la producción. El maíz (*Zea mays* L.) tiene un lugar primordial, ya que a nivel nacional se siembra 8' 712, 385 ha de las cuales 7' 675, 721 ha son cultivadas bajo condiciones de temporal, con un rendimiento medio en temporal de 1.639 ton/ha (Secretaria de Agricultura y Recursos Hidraulicos (SARH), 1981). Este cultivo constituye uno de los productos de mayor importancia desde el punto de vista alimenticio, ya que gran parte de la población lo consume en su dieta diaria.

El crecimiento y desarrollo de las plantas así como su rendimiento depende de varios factores, siendo uno de los más limitantes la falta de humedad disponible en el suelo, a causa de la escasa e irregular precipitación. Esto frecuentemente

origina daños severos a la planta, reduciendo grandemente la producción como constituyente de la planta, siendo un elemento vital para el desarrollo de procesos fisiológicos y bioquímicos que le permiten completar adecuadamente todas sus fenológica.

En muchas ocasiones el hombre ha hecho frente a esta situación, con el uso de riego, variedades precoces que escapen a la sequía o bien valiéndose de algunas técnicas para conservar la humedad en el suelo. Esfuerzos que hasta la fecha han sido insuficientes para solucionar este problema.

Los trabajadores seleccionan generalmente para resistencia a la sequía comparando el rendimiento de genotipos mediante un sistema de riego-sequía, o en los años en que se presentan estas condiciones. Sin embargo, este procedimiento consume mucho tiempo y no permite identificar las características morfológicas y/o fisiológicas de la planta que están asociadas con dicha resistencia. En la actualidad son de suma importancia estudios tendientes a encontrar diversos mecanismos o características que permitan a las plantas sobrevivir y producir bien bajo condiciones de humedad limitada.

Se ha constatado que los resultados obtenidos a nivel plántula coinciden aún en las últimas etapas fenológicas del cultivo.

objetivos de este trabajo fueron los de utilizar la metodología *In vitro* como apoyo al programa de mejoramiento genético del maíz, como un criterio más de selección de genotipos tolerantes a sequía y a la pudrición de tallo y mazorca provocado por el hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld.). y como segundo determinar si existe relación entre la tolerancia a la sequía y la tolerancia al filtrado tóxico extraído de este hongo.

De acuerdo a lo antes señalado se plantearon las siguientes hipótesis:

- 1) Existe variabilidad en la respuesta de los materiales evaluados en el laboratorio tanto para la tolerancia a sequía como para la tolerancia a *Fusarium moniliforme* (Sheld)
- 2) Los materiales que se seleccionen para sequía pudieran ser los mismos seleccionados para *Fusarium moniliforme* (Sheld.)

SELECCIÓN DE LINEAS DE MAIZ PARA TOLERANCIA A SEQUÍA

II.- REVISIÓN DE LITERATURA

La sequía y sus consecuencias.

La sequía o deficiencia de agua es el factor ecológico que más limitan la producción de las cosechas. En nuestro país el 80 por ciento de la superficie cultivada depende de la precipitación pluvial como única fuente de agua. Esta superficie se conoce como área de temporal. En el mundo ésta área representada una proporción del 75 por ciento en lo que en este aspecto nuestra situación sea representativa de la mundial, y los trabajos al respecto tengan una trascendencia no solo nacional sino internacional (Muñoz, 1980). En ambos ámbitos su grado de efectación puede ser ligero, reduciendo la producción agrícola o bien muy severa, donde se pierden toda la cosecha.

El agua es el componente más abundante e importante de los seres vivos. Sin embargo bajo condiciones de campo en ocasiones el suministro o abastecimiento es inadecuado para el desarrollo satisfactorio de las plantas. Consecuentemente los procesos fisiológicos como la transpiración, respiración, y fotosíntesis los cuales influyen en la tasa de crecimiento de las plantas pueden ser adversamente influenciados por el déficit hídrico (Parmar y More, 1968).

Las pérdidas ocasionadas por una sequía prolongada pueden ascender a muchos cientos de millones de pesos. Las pérdidas directas son consecuencias de los rendimientos reducidos de las cosechas. Las estimaciones de pérdidas indirectas son más difíciles de evaluar, pero incluirán pérdidas por cultivos no sembrados, por el abandono de tierras, y por los cambios de uso de la tierra después de la sequía. Si bien las industrias agrícolas padecen las pérdidas primarias, en última instancia el costo se extiende sobre la nación entera cuando el gobierno otorga subsidios para compensar al sector agrícola y cuando, después de la escasez del producto, se elevan los precios al consumidor (Quizenberry, 1987).

Definiciones de sequía.

El estudio de la resistencia a la sequía requiere una definición objetiva del término sequía, pero hasta la fecha, no se ha propuesto una de excepción universal. Un artículo de la organización meteorológica Mundial sobre las definiciones de sequía incluye 14 que se basan en la precipitación, 13 en la precipitación y las temperaturas medias, 11 en los índices climáticos y estimaciones de evapotranspiración, y 15 se basan en los parámetros suelo-agua y de los cultivos. Algunos criterios comunes que se emplearon en las definiciones fueron la precipitación, la temperatura del aire, la humedad relativa, la evaporación de una superficie de agua libre, la transpiración de las plantas, el viento, las corrientes de aire, la humedad del suelo y las condiciones de la planta. La sequía

fue definida como cualquier período durante el cual las deficiencias de agua del suelo afectan el crecimiento de las plantas cultivadas. (Quizenberry, 1987).

La sequía es un estrés ambiental de suficiente duración para producir un déficit o estrés de agua en la planta, lo cual causa disturbios en los procesos fisiológicos (Kramer, 1980).

Es un periodo durante el cual las carencias de humedad de la planta y/o del suelo afecten el crecimiento y desarrollo de los cultivos (Rajaran, 1989).

El glosario de Metereologia define a la sequía como un período anormalmente seco, para que se presente un desequilibrio hidrológico como daños a cultivos, escasez de agua, etc. Dentro del área afectada. (Griffiths, 1985).

Respuesta de la planta hacia la sequía.

El daño causado por la sequía se manifiesta comúnmente mediante una secuencia de alteraciones fisiológicas que pueden incluir una tasa de crecimiento menor, el rizado de las hojas, la clorosis, la machitez, la reducción de la fotosíntesis, la alteración de la respiración, la pérdida de la integridad celular, la necrosis localizada y por ultimo, la muerte de la planta. (Rajaram, 1989).

La mayoría de las plantas de maíz cuando están expuestas a un esfuerzo por sequía enrollan sus hojas y dejan de crecer y sino mueren dentro de este

período, lo más frecuente es que cuando vuelvan a tener condiciones favorables de humedad ya no puedan seguir creciendo sino que a la altura que hayan alcanzado sale la panoja y la planta madura; y como es una planta más pequeña de lo normal, su cosecha es pequeña o nula. (Brauer, 1983).

Bajo condiciones de sequía la cantidad de agua requerida para la transpiración y la evaporación directa excede al agua disponible en el suelo y si las condiciones no se equilibran, mediante la aplicación de agua de riego, la planta comenzará a marchitarse hasta morir. (Griffiths, 1985).

Función del Agua en las Plantas.

Cuando se introduce el agua en las plantas y se esparce en los tejidos realiza las funciones esenciales que explica el porqué les es indispensable. (Maximov, 1954).

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

La célula es un coloide hidrófila, la planta necesitará agua para formar nuevas células y para rehidratar las que ya posee; Igualmente necesita agua para sintetizar muchos de sus alimentos. (Rojas, 1978).

Efecto de la Sequía sobre las Plantas.

El déficit hídrico es uno de los factores que en mayor grado limitan la producción de los cultivos. El maíz aún cuando es uno de los cultivos más tolerantes a los déficit hídricos, también es afectado por estos de ahí que año con año se presenten desde ligeros decrementos hasta pérdidas totales en la producción de grano, esto dependerá de la intensidad y la duración de la sequía y de la etapa fenológica del cultivo. (Robledo et al, 1993).

Efecto de la sequía sobre el crecimiento vegetal.

La pérdida de turgencia puede ocasionar que las hojas se marchiten reduciendo así la intercepción de luz y la fotosíntesis al cerrar los estomas, lo que su vez puede afectar no sólo el crecimiento de la parte aérea, sino 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).

La sequía inhibe la elongación celular, reduce la fotosíntesis, interfiere con la absorción de nutrientes y altera el nivel hormonal de la planta. (Bradford y Hsiao, 1982).

Espinosa et al (1994) al evaluar el efecto del déficit hídrico en el crecimiento del tallo de dos variedades de maíz, encontraron que el déficit hídrico severo redujo drásticamente la longitud de tallo y volumen de las células, la longitud de entrenudos y crecimiento del tallo.

Si la sequía ocurre durante la etapa vegetativa del cultivo, el impacto principal es una reducción en el crecimiento foliar y la velocidad con la que el cultivo cubre el terreno. Debido a una menor intercepción acumulada de radiación solar, se puede esperar una baja en la producción de materia seca, y por lo tanto de rendimiento de grano si el índice de cosecha se mantiene constante. (Bolaños y Edmeades, 1988).

Ferreira (1986) concluyó que el déficit hídrico en el maíz causó una reducción de las variables de crecimiento, longitud de raíz principal, peso seco 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 incrementó por el efecto del déficit hídrico.

Quezada y Orozco (1985) estudiaron el efecto de la sequía en diferentes estados de crecimiento en el maíz H-28 encontraron que las plantas fueron

afectadas en diferentes intensidades a través de los diferentes estados vegetativos. Cuando la sequía ocurrió antes y durante la emergencia de la espiga, causó atrasos en la floración femenina y masculina, siendo más marcados en la primera. En el estado de rápido crecimiento vegetativo redujeron considerablemente la altura de la planta, área foliar, número y longitud de entrenudos, peso seco de hojas tallos, olote y grano. El bajo rendimiento estuvo asociado a una caída en el número de granos, área foliar y longitud de mazorca.

Rojas (1978) cita que los efectos de la falta de agua en la fisiología de la planta son numerosos y tienen que ver prácticamente con todos los aspectos de su vida. Algunos efectos metabólicos son los siguientes:

- La abscisión iónica y el transporte parece no son afectados o al menos no hay evidencia de ello.

- La fotosíntesis disminuye en sequía.

- Falla el transporte.

- La respiración en órganos de vida activa aumenta por sobre lo normal.

- La síntesis de proteínas disminuye, así como una disminución de ácidos nucleicos.

- Por la falta de proteínas y la falta de turgencia que trae consigo poca presión para un buen alargamiento celular, determinan que el crecimiento en sequía sea pobre. Induce precocidad.

- En plantas unisexuales la sequía afecta la sexualidad, siendo la sequía atmosférica más perjudicial que la edáfica.

-Ya que las funciones fisiológicas de la planta son afectadas inversamente, el rendimiento que es el resultado de dichas funciones, también lo será.

LA RESISTENCIA A LA SEQUÍA

Se puede definir la resistencia a la sequía como la capacidad de la planta 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 en base a 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 de las plantas anuales es muy alta al inicio del desarrollo, y va disminuyendo a medida que se diferencian los órganos reproductivos hasta la ocurrencia de los órganos florales, en cuya etapa la resistencia es mínima. Esta resistencia variable a través de las etapas del ciclo de vida de las plantas es denominada ontogénica, y se diferencia de la resistencia promedio entre especies, variedades o plantas, a la cual se denomina filogenética.

Para valorar la resistencia a la sequía es necesario no solo tener el comportamiento de la planta bajo sequía, sino también bajo ausencia de sequía.

Con base en el modelo riego-Sequía la resistencia a la sequía puede definirse como la capacidad de una planta para reducir bajo sequía en función de su potencial genético medio y de la interacción de ese potencial con las variaciones de humedad. Esto indica que una variedad resistente a la sequía se debe seleccionar de acuerdo con el promedio (bajo ambas condiciones de humedad) y por la capacidad para reducir su producción en menor grado al pasar de la condición favorable a la desfavorable. (Muñoz, 1980).

El término tolerancia a sequía se vincula con un medio de escasa humedad e implica la capacidad de un genotipo de ser más productivo que otro con una determinada cantidad de humedad. (Rajaran, 1989).

En un sentido estrictamente biológico la tolerancia a la sequía implicaría una mayor producción de materia seca bajo condiciones de sequía, y no solamente un mejor índice de cosecha (Bolaños y Edmeades, 1989).

La resistencia a la sequía en un sentido agrícola se refiere a la capacidad de una planta cultivada para rendir su producto económico con agua disponible limitada. En un contexto evolutivo la resistencia a la sequía sería la capacidad de una planta o de una especie para sobrevivir y eventualmente reproducirse bajo humedad limitada. (Qualset, 1984; citado por Fischer *et al*, 1984).

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

La resistencia a la sequía de un modo general puede definirse como la capacidad de la planta para sobrevivir bajo sequía. Sin embargo, desde el punto de vista del Fitomejoramiento es necesario considerar además de la sobrevivencia el rendimiento relativo bajo buena humedad y bajo sequía (Cortes, 1981).

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

Jones *et al*, (1981) mencionan que el término resistencia a la sequía aplicado a las plantas cultivadas, es normalmente usado para cubrir un rango de mecanismos, por los cuales las plantas resisten, crecen y reproducen satisfactoriamente en áreas expuestas a sequía periódica.

Núñez (1984) establece que la resistencia a la sequía, es un término general que describe la habilidad de una planta para sobrevivir a las deficiencias hídricas del suelo y de la atmósfera y que no hay una forma universal por la cual un cultivo alcance la resistencia a la sequía.

Bajo el nombre general de resistencia a la sequía se designa todo el complejo que puede descomponerse en varios tipos de resistencia a la sequía, tales como reacciones de latencia, tolerancia a la sequía, tolerancia a la desecación de marchitez permanente, susceptibilidad, etc. (Brauer, 1983)

La resistencia a la sequía es un fenómeno complejo. Las hojas de algunas líneas puras e híbridos son dañados severamente por el calor y la sequía, mientras que otras que crecen al lado pueden permanecer verdes y sin daño aparente durante severos periodos de sequía (Jugenheimer, 1987).

El aumento de la frecuencia de genes para una o dos características de resistencia a la sequía, manteniendo el mismo rendimiento, puede conducir a un mejor rendimiento bajo condiciones limitantes. (Fischer et al, 1984).

Características de las Plantas Resistentes a la sequía.

Saint- Clair (1981) citado por López (1987) menciona que la resistencia a la sequía de las plantas se origina por los siguientes factores: morfológicos, fisiológicos y bioquímicos, condiciones del suelo y de la atmósfera y que la verdadera resistencia a la sequía, depende particularmente del grado de desecación que el protoplasma de una planta pueda soportar.

Diversas características fisiológicas y morfológicas contribuyen a la tolerancia a la sequía, entre ellas, la defoliación, alteraciones de los 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 traslocación fotosintética y la distribución de asimilados y menor acumulación de prolina (Rajaram, 1989).

Daubemire (1982) reporta las siguientes características de las plantas que crecen con un balance de agua desfavorable en comparación con las que crecen en condiciones óptimas de humedad.

Rasgos morfológicos:

- 1) Tamaño reducido del brote (enanismo).
- 2) Incremento del sistema radical.
- 3) Células más pequeñas en las hojas las cuales a su vez causan:
 - a) Láminas pequeñas y gruesas o láminas segmentadas.
 - b) Estomas menores y muy juntos entre sí.
 - c) Más pelos por unidad de superficie si las hojas son pubescentes.
- 4) Cutícula y paredes gruesas, con más lípidos en la superficie de la transpiración.

Rasgos fisiológicos:

- 1) Tasa de transpiración más rápida por unidad de área. Cuando la transpiración neta por plantas puede disminuir.
- 2) Tasa de fotosíntesis más rápida por unidad de área.
- 3) Menor potencial osmótico.
- 4) Menor viscosidad protoplásmica.

- 5) Mayor permeabilidad protoplásmica.
- 6) Mayor resistencia a la marchitez.
- 7) Anticipación en el florecimiento y la producción de frutos.
- 8) Aumento del porcentaje de agua ligada por unidad de peso seco de los tejidos.

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

Algunos Criterios Para la Selección de Plantas Con Resistencia a Sequía.

Kuruvadi (1980) indico varios métodos para clasificar variedades por su grado de resistencia a sequía: Evaluación de genotipo para rendimiento en el campo bajo temporal, medida de la tasa de fotosíntesis, densidad, tamaño, y comportamiento de los estomas, agua retenida en las hojas cortadas, medición de la temperatura de la hoja, potencial hídrico en los tejidos de la planta, porcentaje de germinación de semillas de diferente presión osmótica con manitol, evaluación del contenido de prolina, betaina, ácido abscísico, agua fisiológica, proteínas, azúcares y actividad de enzima, estudio del potencial y modelo del sistema radical, presencia de pubescencia de la hojas, área foliar y evaluación del factor de recuperación después de castigo de agua en diferentes etapas de la planta.

se ha hecho intentos de medir la resistencia a la sequía mediante diversos métodos de laboratorio. Algunos de los resultados más satisfactorios se han obtenido mediante pruebas de marchitamiento en las que las plántulas se han

sometido, a) A altas temperaturas, b) Sequía de suelo, c) Sequía atmosférica. La recuperación después de dichos tratamientos constituye una medida de la resistencia al calor y a la sequía (Poehlman, 1986).

Debido a la dificultad en el control de la variación experimental en el campo, muchos de los métodos han sido desarrollados para inducir estrés hídrico en las más controladas condiciones en el invernadero.

Krizek (1981) categorizó estos métodos como aquellos que i) Depende de la regulación del tiempo y/o cantidad de agua dada a la planta. ii) Incorporar un osmótico como polietilenglicol (PEG) en el medio de crecimiento. iii) Inclusión de una membrana semipermeable para excluir el osmótico del contacto con la raíz de la planta. iv) Involucrar columnas de agua variando el peso.

Métodos de estudios para la resistencia a sequía.

Hay ciertas etapas del desarrollo de los cultivos en que son más susceptibles a las deficiencias de agua. Es por esto, que muchas de las técnicas propuestas para estudiar la sequía se basan principalmente en algunos estados de desarrollo de la planta y es conveniente, también seleccionar genotipos que sean tolerantes a la sequía durante cierto estado de desarrollo (Slatyer, 1969).

Algunos estudios de tolerancia a sequía en la etapa de germinación se han realizado bajo condiciones de campo; pero el control de la humedad y de las

condiciones ambientales los hace muy imprecisos. Sin embargo, bajo condiciones de laboratorio estas técnicas han dado buenos resultados.

Para estudiar la resistencia a la sequía en plantas, se han empleado métodos diversos tanto en invernadero como en laboratorio; algunos se basan en índices como la tolerancia a la presión osmótica, a la marchitez permanente y el calor, así como la estabilidad de la clorofila (Muñoz, 1980).

En estudios sobre el efecto de la sequía en la germinación o crecimiento de plántulas en medio líquido, el potencial hídrico puede ser simulado al adicionar sustratos osmóticos al agua. Así el suelo se descarta para eliminar las complicaciones inherentes al medio suelo-agua, con ello se elimina el componente métrico, y el potencial hídrico total equivale al potencial osmótico de la solución. (Rivera, 1988).

Selección de Genotipos Resistentes a Sequía Mediante Agentes Osmóticos.

Polietilen Glicol (PEG).

Los polietilenglicoles (PEGs) han sido ampliamente usados como agentes osmóticos, debido a que son químicamente inertes, no tóxicos aún en altas concentraciones, solubles en agua, estables e inactivos, simuladores de sequía y no penetran la cubierta de la semilla a altos pesos moleculares son compuestos

fisiológicamente inertes, no iónicos y no provocan efectos secundarios en el metabolismo de las plantas (Viqueira *et al*, 1981).

Álvarez (1991) uso la técnica *In vitro* de cultivo de embriones en un medio de cultivo el MS adicionando con PEG. Encontró que este reactivo es factible su uso en soluciones acuosas usando semillas completas como material vegetativo, pero no en medio sólido ya que no este reactivo no permite su solidificación.

Cloruro de sodio (NaCl).

La germinación es también afectada por la salinidad del suelo. Las sales solubles como cloruro de sodio puede reducir o impedir la germinación por efecto de los iones o por la disminución del potencial osmótico del suelo (Young *et al*, 1983) citado por Fulbrigt (1988).

Sacarosa.

Marquez (1979) sometió 8 variedades de maíz a sequía por el método de germinación de semillas en concentraciones molares de sacarosa, concluyo que esta técnica es un buen auxiliar en la evaluación de germoplasma, en los programas de mejoramiento encaminado a la selección y formación de variedades para áreas de régimen de humedad deficiente.

Álvarez (1991) usó tres reactivos como indicadores de sequía, sacarosa, PEG y manitol con el objeto de determinar cual es el mejor la técnica *In vitro* usando como medio de cultivo el MS. Para sacarosa encontró datos muy variados dentro de las repeticiones de cada material ya que la sacarosa resulto metabolizable por la planta, por lo que se descarta su uso.

Manitol.

Rivera (1988) menciona que las dos metodologías de laboratorio, la de germinación de embriones de semillas de maíz en manitol y medio de cultivo nutritivo, es la que ofrece mejores posibilidades ya que permite evaluar parámetros de plantulas tales como longitud de tallo y radícula, peso seco de tallo y radícula, porcentaje de germinación y velocidad de germinación.

Rodríguez (1989) concluye que la técnica utilizada en laboratorio utilizando manitol como agente osmótico es efectiva, económica y rápida para seleccionar genotipo tolerantes a sequía.

En general los agentes osmóticos por ejemplo NaCl, polietilenglicol (PEG), manitol, Sorbitol, Dextran, etc. Tienen la ventaja de inducir más rápido y con exactitud niveles precisos de tensión osmótica que otras técnicas pero a menudo inducen efectos colaterales tóxicos (Krizek, 1981).

El material seleccionado para resistencia a sequía en laboratorio o bajo condiciones controladas necesita de la validación de estos materiales en estudios de campo para una mayor confiabilidad de los resultados, por lo que se pueden hacer algunas comparaciones de estos entre ambos métodos.

Williams *et al*, (1967) compararon híbridos y líneas autofecundadas de maíz bajo sequía en laboratorio, usando soluciones de manitol a 15 atmósferas, de presión osmótica en caja petri; determinaron el porcentaje de germinación y encontraron una correlación positiva altamente significativa ($r = 0.65$) los rendimientos de los genotipos en el campo, indicaron que la metodología de presión osmótica, es una base metodológica para identificar resistencia a sequía.

III.- MATERIALES Y METODOS.

La presente investigación se llevo acabo en el laboratorio de cultivos de tejidos vegetales del Instituto Mexicano del Maíz "Dr. Mario E. Castro Gil" de la Universidad Autónoma Agraria " Antonio Narro, " esta se localiza en Buenavista Saltillo, Coahuila, y se sitúa geográficamente entre las coordenadas 101° Longitud Oeste y 25° 22' latitud Norte, a una Altitud de 1742 m.s.n.m.

El material genético es proveniente de derramadero Municipio de Saltillo del estados de Coahuila, se encuentra ubicado Kilómetros de U.A.A.N.

Cuadro 3.1 Material Genético Utilizado (GENEALOGIA) Colectas de los estados de Coahuila, Nuevo León, Zacatecas y San Luis Potosí

GENOTIPOS	ORIGEN
101-----	Ejido Cruz de Elorza N.L. Criollo Tremes
102-----	San Antonio de las Cabras municipio G. cepeda
103-----	Ejido de la Gloria Municipio G. Cepeda Criollo
104-----	
105-----	Negro Casimiro
106-----	Ejido del Jagüey Blanco Pepitilla
107-----	Ejido José Maria Morelos Saltillo Pinto Mosca
108-----	Azul Santa Fe

109-----	San Cayetano de Vacas Arrollo N.L. Bco.Tremes
110-----	
111-----	Rojo Santa Fe
112-----	Ejido Plan de Ayala Var. Criollo
113-----	Ejido Labrador Blanco Tremes
114-----	El Clavel municipio de Saltillo Criollo Colorado
115-----	San Fco. De Berlanga N.L. maíz morado
116-----	Ejido El Porvenir Tacaba General C. Blanco
117-----	Rojo Santa Fe
118-----	San Juan Del Palmar DR. Arroyo N.L. B. Tremes
119-----	
120-----	Puerta de Aquilan DR. Arroyo N.L. Ancho Precoz
121-----	Azul San Fe
122-----	San Juan del Palmar DR. Arroyo N.L. B. Tremes
123-----	El Salvador Criollo Tremes
124-----	El Moral municipio saltillo colorado Tremes
125-----	
126-----	La presita Mier y Noriega
127-----	
128-----	San Antonio de Almito Mier y Noriega N.L.
129-----	Morado Santa Fe
130-----	Ejido San Francisco Criollo
131-----	Lo- Estanque N.L. municipio DR. Arroyo N.L.

132-----	
133-----	Santa fe
134-----	San Francisco de Berlanga N.L. B. V. intermedio
135-----	
136-----	El pinolito municipio Arteaga
137-----	Ejido El Recreo Coah. Bco. Delgado
138-----	Santa Fe de Berlanga N.L. tremes dulce Azul
139-----	Mazapil Zacatecas
140-----	Ejido General cepeda
141-----	Ejido Pueblo municipio saltillo Criollo
142-----	Llanos de la Unión municipio s. pinto Mosca
143-----	Rojo Santa Fe
144-----	
145-----	Ejido la Mojada municipio Criollo
146-----	
147-----	Localidad Cuahutemoc saltillo pepitilla
148-----	Rosa Santa Fe
149-----	Localidad Cuahutemoc saltillo pepitilla
150-----	
151-----	Los temporales Rojo Tremes
152-----	Cerros Blancos Mier y Noriega N.L. M. alto
153-----	Rincón de los Pastores criollo Morado
154-----	

155-----	Ejido Guadalupe Victoria Criollo
156-----	
157-----	
158-----	Ejido Pocito
159-----	Ejido Cuatla municipio saltillo Criollo
160-----	Ejido Jagüey de Fer
161-----	
162-----	San José de la Martha municipio Galeana N.L.
163-----	Ejido Puebla municipio saltillo Criollo
164-----	Ciénega del Toro N.L. Criollo
165-----	Los llanos la Unión saltillo Morado
166-----	Rojo Santa Fe
167-----	Ejido el Porvenir municipio galeana Temporal
168-----	Santa Fe
169-----	Ejido Salitre General Cepeda Criollo Blanco
170-----	Llanos de la Unión Pinto Mosca
171-----	Medionolita del Lobo saltillo Pepitilla
172-----	Medionda del lobo
173-----	San Antonio de la Cruz real de M. S.L.P.
174-----	Palma Gordo municipio saltillo Pinto Mosca
175-----	Cerros Blancos N.L.
176-----	El Clavel, saltillo Pepitilla
177-----	Llanos de la Unión municipio s. pinto mosca

178 -----	Palma Gorda municipio saltillo Criollo Pepitilla
179 -----	El Pocito DR. Arroyo N.L. Tardío Alta
180 -----	Los Temporales Criollo Tremes
181 -----	Monte el Quemado General Cepeda Criollo Bco.

Este trabajo se dividió en dos fases, la primera se evaluaron 81 líneas más un testigo, los cuales se expusieron a una presión osmótica de -5 bars adicionando manitol a través del método del taco, (compuesto de alto peso molecular que actúa secuestrando la humedad simulando condiciones de sequía). En la segunda fase se evaluaron exactamente los mismos materiales pero éstos se inocularon con un filtrado tóxico al 25 porciento extraído del hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld.).

El instituto Mexicano del Maíz a través de la Biotecnología ha desarrollado una metodología que permite identificar genotipos tolerantes ha sequía utilizando medios nutritivos artificiales los cuales son adicionados con manitol, compuesto de alto peso molecular que actúa secuestrando el agua y simulando condiciones de sequía hídrica. En el presente trabajo se suplieron las semillas por soluciones osmóticas.

El manitol es un reactivo químico que no es absorbido por las plantas y aun menos metabolizable por las células, siendo buen inductor de condiciones de sequía permitiendo seleccionar genotipos tolerantes a sequía.

Preparación del Material Para Siembra.

Se utilizo papel sanita para hacer los tacos, se hizo en dos capas para poder poner la semillas de maíz en el centro.

Siembra de los Materiales.

Antes de la siembra se realizo la colocación de las semillas para poder identificar cada material con su número de genotipo (Cuadro 3.1).

Con la ayuda de pinzas previamente esterilizadas, se agarraron 10 semillas de cada material, poniendo cinco semillas por cada taco las cuales corresponden a la repetición 1 y 2 de cada genotipo.

Antes de sembrar cada uno de los materiales se humedeció el papel sanita con manitol hasta que cubriera completamente la humedad, y luego se sembró en el centro del papel sanita.

Incubación.

La siembra se llevó a cabo dentro del cuarto de incubación a una temperatura de 25 -27 °C y con iluminación constante de luz blanca y fría proporcionada por lámparas de luz fluorescente de 20 Watts, colocados de manera especial para evitar la sombra.

TOMA DE DATOS

Se tomaron los siguientes parámetros:

- Longitud de Raíz.
- Longitud de plumula.

Estos parámetros se tomaron al octavo día después de la siembra y se expresaron en centímetros para los dos parámetros.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el Diseño Experimental Bloques Incompleto (Loticé Simple 9 x 9) en dos repeticiones.

Se realizó un análisis de varianza individual para cada una de las variables de respuestas respectivas, además se utilizó la prueba de comparación múltiple de Media, Diferencia Mínima significativa (D.M.S).

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la primera fase o de sequía se encontraron los siguientes resultados. En los análisis de varianza individualmente para las variables estudiadas tales como longitud de raíz y longitud de plumula. (Cuadro 4.1 y 4.2), para la fuente de variación tratamientos o genotipos. Se encontraron diferencias altamente significativas a $\alpha = 0.01$ Esto nos indica que hay diferentes respuestas de los genotipos en ambas variables cuando son sometidos a la presión osmótica de -5 bars con manitol.

Cuadro 4.1 Análisis de Varianza (ANVA) Para la variable longitud de raíz a la presión osmótica de -5 bars con manitol.

FV	GL	SC	CM	Fc	Ft
TRA NO AJUST.	80	2624.89062	32.811134		
REPETICIONES	1	27.660156	27.660156		
BLO. AJUST.	16	348.360107	21.772507		
TRA. AJUST.	80	2309.718750	28.871485	2.0342**	0.002
ERROR INBLO	64	908.346924	14.192921		
TOTAL	161	3909.257813			

C.V. = 26.18%

Cuadro 4.2 Análisis de varianza (ANVA) Para la variable longitud de plumula a la presión osmótica de -5 bars con manitol.

FV	GL	SC	CM	Fc	Ft
TRA NO AJUST.	80	588.113037	7.351413		
REPETICIONES	1	9.768066	9.768066		
BLO. AJUST.	16	34.223312	2.138957		
TRA. AJUST.	80	20775.515625	259.693939	61.0431**	0.000
ERROR INBLO	64	272.273254	4.254270		
TOTAL	161	904.377686			

C.V. = 46.12%

Donde las diferencias encontradas entre los materiales son debido a que la población o líneas provienen de diferentes base genética.

El coeficiente de variación de una media de confiabilidad de los datos, en mis experimentos, estos son confiables en longitud de raíz (manitol), y confiable con reserva en longitud de plumula (manitol). (Padrón, 1996).

Cuadro 4.3 Medias de la variable de longitud de raíz con manitol.

GENOTIPO	MEDIAS
1	8.87
2	6.27
3	5.65
4	4.61
5	2.47
6	4.74
7	3.44
8	4.63
9	3.73
10	1.25
11	5.22
12	4.29
13	3.62
14	3.26
15	5.29
16	4.72
17	1.61
18	2.38
19	1.90
20	1.05
21	4.57
22	7.24
23	5.66
24	5.49
25	5.05
26	6.30
27	6.13
28	5.29
29	6.91
30	4.56
31	6.80
32	7.19
33	5.83
34	6.15
35	3.74
36	2.37
37	2.93
38	4.46
39	4.64
40	3.64
41	2.82

42	3.86
43	3.98
44	1.68
45	2.85
46	3.15
47	1.94
48	3.10
49	2.57
50	2.82
51	3.70
52	2.58
53	3.27
54	3.16
55	2.09
56	1.67
57	1.47
58	2.68
59	2.57
60	2.39
61	3.12
62	6.56
63	6.35
64	5.17
65	5.66
66	5.56
67	6.96
68	6.23
69	5.69
70	9.23
71	8.41
72	6.13
73	6.50
74	7.42
75	4.93
76	6.77
77	7.33
78	5.93
79	4.44
80	3.38
81	2.14

Como se encontraron diferencias altamente significativas para las variables de respuestas, antes vistas se obtuvo comparación de medias con la prueba de rango múltiple Diferencia Mínima Significativa (D.M.S.) con $\alpha = 0.05$ para seleccionar las mejores medias de los tratamientos o genotipos.

Cuadro 4.4 Concentración de las 10 medias mas altas y un testigo de la variable longitud de raíz usando una presión osmótica de -5 bars, ordenados de mayor a menor según la prueba D.M.S. con $\alpha = 0.05$

TRATAMIENTO	MEDIA
30	22.7900 A
43	22.0100 A
29	20.8400 AB
32	20.4300 AB
34	20.1600 AB
40	19.9000 AB
28	19.6300 AB
42	19.4100 AB
33	19.4100 AB
76	19.1700 AB
60 testigo	13.7700 B

D.M.S. = 7.5149

Los genotipos estadísticamente superiores para la variable longitud de raíz fueron el 30 y el 43 (Cuadro 4.4).

Para la variable longitud de plumula los 10 genotipos mas relevantes fueron estadísticamente iguales junto al testigo tales como 70, 1, 71, 74, 77, 22, 32, 67, 29, 31 y el 64 como se observa en (Cuadro 4.5).

Cuadro 4.5 concentración de medias para la variable longitud de plumula usando una presión osmótica de -5 bars, ordenadas de mayor a menor según la prueba D.M.S. con $\alpha = 0.05$

TRATAMIENTO	MEDIA
70	9.2300 A
1	8.8700 A
71	8.4100 A
74	7.4200 A
77	7.3300 A
22	7.2400 A
32	7.1900 A
67	6.9600 A
29	6.9100 A
31	6.8000 A
64 testigo	5.1700 A

D.M.S. = 4.1144

SELECCIÓN DE LINEAS DE MAÍZ PARA TOLERANCIA A *Fusarium moniliforme* (SHELD.)

II. i - REVISIÓN DE LITERATURA

Distribución Geográfica e Importancia Económica.

Las enfermedades del maíz causada por *Fusarium moniliforme* (Sheld.) Snyder y Hansen, se encuentran ampliamente distribuidas por todo el mundo y ocasionan perdidas considerables por las pudriciones de tallo y mazorca provocadas por este hongo en este cultivo (Agrios, 1991).

La distribución de *Fusarium moniliforme* es amplia, así como su importancia económica, pues entre sus hospedantes comunes figuran el maíz, el arroz, la caña de azúcar y el plátano, a los que ocasionan ahogamiento, pudriciones u otras anomalías. En maíz provocan la pudrición de tallo y mazorca, en la caña la pudrición de tallo o Pokkah-bong y en el arroz la enfermedad de Bakanae o gigantismo provocada por la Giberelina producida por este hongo (Romero, 1993).

Marin et al, (1992) estudiaron las enfermedades de los cereales en Cataluña, España. Encontraron que en maíz *Ustilago Zeae*, *F. moniliforme* (*G. Fujikuroi*), *F. gramineurum* (*G. Zeae*) y *G. Zeae* fueron los agentes causales más importantes de dichas enfermedades.

López et al, (1990) hicieron una estimación de las pérdidas causadas por la pudrición de la mazorca de maíz en Taulabe Comayahua, Honduras en el año 1987. Encontraron que *F. moniliforme* (G. Fujikuroi) y *Sternorcarpella sp* fueron identificados como los agentes causales de la pudrición de la mazorca produciendo pérdidas estimadas del 25.8 por ciento.

Pan y Zhang (1992) concluyeron que bajo condiciones Climáticas similares, las pérdidas de rendimiento de las líneas susceptibles fue de un 25-82 por ciento más alto que el de las líneas resistentes. Los factores climáticos tienen menor efecto sobre el rendimiento del maíz que la susceptibilidad al patógeno.

Logrieco et al, (1993) estudiaron la ocurrencia y toxicidad de *Fusarium* subglutinans en 25 muestras de maíz de diferentes áreas geográficas en el Perú. Los patógenos más frecuentemente encontrados fueron *F. subglutinans* en un 48 por ciento, *F. moniliforme* (G. *Fujikuroi*) en un 46 por ciento, *F. equiseti* (5 por ciento) y otras especies de menor importancia.

Cepeda (1991) cita que en el maíz de riego de la Zona templada húmeda de Michoacán la principal enfermedad es la pudrición de tallo y mazorca causada por *F. moniliforme* (Sheld.) Snyder y Hansen, la cual causa pérdidas anuales entre un 20 a 30 por ciento por la utilización de genotipos susceptibles.

González et al, (1988) citan que el germinado prematuro del maíz y la pudrición de la mazorca ocasionada por *F. moniliforme*, se ha incrementado en la

región de Tlaxcala y Puebla donde ocasiona pérdidas de mazorcas muy considerables.

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

Descripción del género *Fusarium*.

El género *Fusarium* fue descrito por Link en 1915, quien considera las siguientes características: Conidióforos alargados en forma de botella, con ramas a intervalos regulares o verticiladas, septadas, individuales o agrupadas en esporodocios; Conidios de dos tipos, a saber: microconidios elípticos o piriformes, unicelulares o bicelulares, no curvados, en cabezuelas o en cadenas; 2) macroconidios falcados, en forma de media luna o elípticos, dos a nueve septas, ápice puntiagudo, romo o en forma de gotero, base en forma de pié; Clamidosporas, si se producen globosas, ovales o piriformes, individuales o en grupos, intercalares o terminales, uní o bicelulares, lisa o rugosas y generalmente de color café. (Romero, 1993).

Taxonomía del Hongo.

El arreglo taxonómico dentro del género *Fusarium* varía de acuerdo a los autores dedicados a su estudio. Saccardo menciona cerca de 500 especies; Reinking y Wollenweber consideran solamente 139 en su libro " Die Fusarium " publicado en 1935; Snyder y Hansen opinan que toda la población fusarial descubierta hasta la fecha puede distribuirse en 10 especies. (Romero, 1993).

Alexopoulos (1979) ubica al género *Fusarium* dentro de la siguiente taxa.

Reino---Mycetae.

División----Amastigomycota.

Subdivisión--Deuteromycotina.

Clase-----Deuteromycetes.

Orden-----Mononiliales.

Familia-----Tuberculariaceae.

Género-----*Fusarium*

Especie-----moniliforme (Sheld.) Snyder y Hansen.

Las características básicas de esta clase son la existencia de micelio septado, ausencia de estructuras sexuales o reproducción sexual, razón por la cual se les llama hongos imperfectos y la reproducción asexual por medio de conidios.

Características del hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld.)

(*Gibberella fujikuroi*).

Presenta peritecios de color violeta con centrum tipo nectria, como *Gibberella Zeae*; ascas cilíndricas, adelgazadas hacia la base; ascosporas ovoides a elípticas con los extremos redondeados bicelulares. Fase conidial caracterizada por microconidias abundantes, formando cadenas largas o cortas, hialinas, unicelulares; macroconidias angostas, de paredes delgadas, septadas (3 a 5 septas transversales), falcadas. (Romero, 1993).

Barnett y Hunter (1972) menciona que el hongo posee un micelio extendido y algodonoso, frecuentemente con matices rosas, púrpuras o amarillos; Conidióforos variables delgados, simples o cortos y robustos, solos o agrupados en un esporodoquio; conidias hialinas, frecuentemente sostenidas en pequeñas cabezas; macroconidias con varias células delgadas, curvadas o encorvadas de forma típica de canoa; macroconidia celular ovoide y oblonga, nacen solas o en cadena.

Diseminación.

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

Ooka y Kommedahl (1977) mencionan que el viento y el agua son los principales vectores del hongo. El desarrollo de la enfermedad y su diseminación son favorecidos por condiciones de sequía y temperatura de 28 a 30 °C.

Foley (1962) concluye que el hongo es sistémico y que las plantas que son contaminadas por inóculo el cual es transportado por el viento o el que se encuentra invernando en el suelo, penetra por la parte basal del tallo, hojas y mazorcas.

Lawrence *et al* (1981) reportan al barrenador europeo del maíz (*Ostrinia nubilis*) como vector de conidias de *F. moniliforme*, al inocular las plantas cuando se alimenta de ellas.

Epidemiología.

Fusarium moniliforme (Sheld.) inverna en forma de peritecios, micelio o clamidosporas 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. Así mismo, la gran densidad de plantas, altos niveles de nitrógeno y bajo de

potasio en la planta y la madurez precoz de híbridos, hace que las plantas sean más susceptibles a las enfermedades (Agrios, 1991).

Stover (1980) citado por Reyna (1990) menciona que el crecimiento óptimo de *F. moniliforme* oscila entre los 26 y 33 °C, y que a temperaturas mayores el crecimiento disminuye.

Bottalico y logrieco (1988) encontraron que la fertilización nitrogenada incremento la susceptibilidad a las especies de *Fusarium* y la enfermedad fue más severa con cantidades mayores de 200 Kg./ha.

La opacidad de la semilla se refiere a la alta concentración de proteicas en el grano del maíz. Warren (1978) citado por reyna (1990) observo que altas concentraciones de Lisina en el grano incrementa la pudrición de la mazorca por *F. moniliforme*.

El –Meleigi y Claflin (1982) citan que la incidencia de tallos podridos es más alta bajo condiciones de suelo seco (22 porciento) y muy bajo (6 porciento) en suelos con humedad al 50 porciento de capacidad de campo.

Lawrence et al, (1981) citan que el hongo puede transportarse sistémica mente desde la semilla o a través de los tejidos parenquimatosos del tallo hasta el olote para infestar los granos el desarrollo. Una vez que el patógeno ha penetrado en la planta continúa la desintegración del parénquima del tallo en forma gradual, conforme la planta madura este 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 cotiledonal, plúmula o coleoptilo. También ha sido reportada la penetración directa al emerger las raíces adventicias y la radícula primaria cuando se rompe la coleorriza.

Sintomatología.

Stayer y Cantliffe (1984) mencionan que este hongo puede causar pudrición de tallo, mancha de la hoja, pudrición de la espiga y grano, Damping –off y tizones en plántulas.

Álvarez (1988) citan que *F. moniliforme* causa daño a la raíz dando como resultado un marchitamiento de la parte aérea ocasionando que las plantas tengan un color gris opaco.

Jugenheimer (1987) cita que la presencia de *Fusarium* en el grano se manifiesta con la aparición de una coloración salmón pálido en el pedicelo o casquete de la punta de los granos; los cuales eventualmente muestran un crecimiento de moho polvoso de color rosáceo, compuesto por una gran cantidad de esporas o conidias.

La sociedad Americana de fitopatología (1980) menciona que la pudrición de la mazorca se caracteriza por la aparición de un moho rojizo que con frecuencia empieza a desarrollarse en el casquete de cada grano o grupo de

granos distribuidos sobre toda la espiga. Cuando las mazorcas son infectadas prematuramente por el hongo se pudren totalmente y entre ellos y

las vainas estrechamente unidas se desarrollan un moho de color rosado a rojizo. La podredumbre comienza, enseguida de la polinización y se agrava conforme la planta madura.

Gibberella es solo una de tantos hongos que ocasionan el tizón de las plántulas del maíz y puede ir en las semillas infectadas o bien atacar a las plántulas y semillas desde el suelo. Las semillas que han germinado son atacadas y destruidas antes de que la planta emerja del suelo o después de haber emergido, ésta es destruida o, se atrofia y muestra clorosis y después la muerte. Se observan varias lesiones de color oscuro o café claro sobre la raíz principal en 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. fujikuroi* se circunscribe a granos individuales o áreas limitadas de la mazorca. Los granos infectados desarrollan un moho algodonoso y pueden germinar en la mazorca (germinación prematura). Cuando la infección es tardía, los granos muestran rayas en el pericarpio. Las mazorcas invadidas por barrenador de tallo y gusano elotero son más infectadas por este hongo (De León, 1984).

Toxinas producidas por *Fusarium*.

El género *Fusarium* produce sus toxinas principalmente en el maíz y otras gramíneas que infecta en el campo o después de 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. Tricinatum* y *F. Oxisporum*. Las tricotecinas de las cuales la más conocida es la T-2 son producidas por las mismas especies y por otras distintas del género *Fusarium*. (Agrios, 1991).

Kamimura et al, (1982) obtuvieron Nivalenol, Deoxynivalenol, Fusarenon-X, Toxina T-2, Moniliformina, Toxina H-T2, Diacetoxyscirpenol, Butenolide y Zearalenona en granos y alimentos contaminados por diversas especies de *Fusarium*.

Thiel et al, (1982) obtuvieron Moniliformina, Deoxynivalenol y Zearalenona de granos de maíz infectados por *F. graminearum*, *F. moniliforme* var. Subglutinans en Traskeian en Sudáfrica.

Saeta et al (1991) estudiando la naturaleza química de los metabolitos de *F. moniliforme* y *A. Flavus*, contaminantes de el maíz en Egipto usando los

medios de cultivo, TLG, GC y MS, encontraron que Diacetoxyscirpenol, Ipomeamol, Ipomeanina y Diplodiatoxina fueron identificados como los metabolitos producidos por *F. moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*) en maíz fermentado.

La toxina vasinfuscarina se cree que es una proteína con propiedades enzimáticas que produce el oscurecimiento del tejido parenquimatoso que da como resultado el marchitamiento vascular (Trapaga, 1980).

Qureshi y Hagler (1992) citan que la fumonisina B1 (FB1) es uno de los metabolitos recientemente descubierto producido por *Fusarium moniliforme* Sheld, ocurriendo de manera natural en maíz y causa la muerte de varias especies de animales incluyendo ratas, caballos, cerdos y patitos.

Thiel et al, (1991) citan que la Leucocefalomacia (LEM) es una de las enfermedades de los equinos causadas por la ingestión de alimentos contaminados con el hongo *F. moniliforme*. Estos investigadores condujeron un estudio usando niveles de fumonisinas B1 y B2 en alimentos asociados con casos confirmados de Leucocefalomacia equina encontrado que las fumonisinas son factores causales en el desarrollo de LEM en caballos.

Efectos de las toxinas.

Uno de los efectos más importantes de las pudriciones de postcosecha 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).

Séller y Cutler (1984) observaron una pequeña inhibición de división de raíces tratadas con bajas concentraciones de moniliformina y altas concentraciones causaron un trastorno en el aparato del uso y consecuentemente

la mitosis C y acumulación de metafase, en una concentración de 0.001 mg/Lt. Durante 8, 24, y 48 horas.

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.

METODOS DE INOCULACION

Método de la punta de la Mazorca (Tip -Of -Ear).

Las brácteas son separadas hacia abajo, hasta que la punta de la mazorca que expuesta, en ésta se aplican aproximadamente 10 ml. De suspensión de esporas; auxiliándose con una botella de plástico. Posteriormente las brácteas son recomendadas para cubrir la punta, además de que se cubren con glassines para evitar la contaminación (Boling et al , 1963) citado por Lugo, 1990).

Método de Inyección.

Se utiliza una jeringa con aguja hipodérmica, la cual está conectada a un matraz que contiene una suspensión de esporas; con la jeringa se inyectan varios

mililitros de la suspensión, por todas las brácteas y dentro de la punta de la mazorca.

Gulya et al, (1980) probó dos técnicas de inoculación para trabajos sobre resistencia genética de variedades de maíz al hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld.) y concluye que el mejor método es al utilizar una inyección

de una suspensión conidial a la mazorca obteniendo un alto porcentaje de maíz con pudrición de mazorcas.

Cepeda (1991) estudió los métodos de inoculación de *F.moniliforme* en tallo de maíz, para determinar la mejor técnica en campo. Encontró que es necesario utilizar inóculo producido en laboratorio para seleccionar genotipos tolerantes y dentro de estas metodologías la que provoca mayor incidencia es el palillo con medio de cultivo y micelio. En los métodos donde el inóculo proviene del suelo es indistinto utilizar cualquiera de las dos herramientas (palillo con inóculo de suelo y palillo con inóculo del suelo).

Flores y Delgado (1991) evaluaron la técnica de inoculación *In vitro* e invernadero de progenitores de híbridos de maíz para determinar tolerancia a *F. moniliforme*. Encontraron una alta correlación entre los resultados obtenidos en laboratorio y los obtenidos en invernadero para los parámetros evaluados en los

genotipos de maíz. La técnica es confiable para evaluar la tolerancia de maíz a *F. moniliforme*.

Uso del Filtrado Tóxico en la Selección de Materiales con Resistencia a Enfermedades.

En la búsqueda de nuevas técnicas de selección de plantas resistentes a enfermedades, las cuales no están sujetas a los cambios climatológicos naturales pero que proporcionan información igualmente confiable que las técnicas tradicionales, se ha empleado recientemente el método de aplicación de las toxinas de los patógenos como agente seleccionador (Gutiérrez *et al*, 1992).

Trabajos Dentro de la Universidad.

Pérez (1985) evaluó el efecto de varios niveles de filtrado tóxico de *Fusarium sp* para ver el comportamiento *In vitro* de varias líneas de maíz. Encontró que el uso de cultivo de tejidos en trabajos que impliquen la aplicación de filtrado tóxico como parte de programas de resistencia genética a enfermedades es adecuada para el caso de *Fusarium sp.*, pues permite la diferenciación bastante clara entre los del filtrado tóxico para diferenciar materiales de maíz son 20, 24 y 28 por ciento. Los parámetros de longitud de raíz, longitud de tallo, peso fresco y peso seco, son eficientes en conjunto para la evaluación de los materiales.

Escobedo y Olivares (1987) diseñaron una metodología para la evaluación *In vitro* genotipos de maíz en base a su resistencia a *Fusarium moniliforme* (Sheld.), encontraron que las concentraciones más adecuadas del filtrado tóxico fueron las de 20 , 24 y 28 porciento. Las mismas líneas fueron probadas con el método del palillo, el cual reporto resultados muy parecidos, esto indica que el método de cultivo *In vitro* es efectivo en la evaluación de resistencia a *Fusarium moniliforme* (Sheld.)

Dávalos (1986) evaluó *In vitro* la resistencia de 10 líneas de maíz a *Fusarium sp* mediante la siembra de embriones en un medio de cultivo MS adicionando con el filtrado tóxico del hongo de cepas de diferentes localidades a una concentración del 25 porciento. Concluyo que la metodología de evaluación *In vitro* resulto ser práctica y adecuada para la determinación de plantas de maíz dada la coincidencia entre los resultados de campo y laboratorio.

Martínez (1987) evaluó técnicas de laboratorio e invernadero para evaluar la resistencia a la pudrición de tallo del maíz. La segunda resulto ineficiente porque no se detectaron efectos de ninguna de las concentraciones, determino que las concentraciones óptimas de filtrado tóxico fue la de 75 y 100 porciento. La técnica *In vitro* utilizando plántulas colocadas individualmente en tubos de vidrio de base plana fue mejor que cuando se usaron cajas petri.

Muñoz (1987) con la finalidad de elaborar la metodología para evaluar *In vitro* genotipos de maíz en base a su resistencia a *F. moniliforme* y hacer una

comparación de la eficiencia de esta metodología con la metodología tradicional. Encontró que las concentraciones óptimas del filtrado tóxico para seleccionar genotipos fueron 20, 24 y 28 por ciento. La metodología mediante el uso del filtrado tóxico permite clasificar los genotipos de maíz en resistentes medianamente resistentes y susceptibles.

Salazar (1989) caracterizó los aislamientos de *Fusarium moniliforme* (Sheld). De la región de úrsulo Galván, Veracruz. Logro hacer una caracterización de *Fusarium moniliforme*. De la cepa de esta localidad en lo que se refiere a la medida de sus estructuras asexuales; macroconidias y microconidias el desarrollo de las colonias y condiciones de crecimiento.

Control.

Romero (1993) menciona que para el control de este hongo es recomendable la destrucción de los residuos de cosecha, el uso de fungicidas para proteger la semilla y plántulas (Arazán, Benlate o Tecto 60), y sobre todo la siembra de variedades resistentes.

El control de las enfermedades del maíz por *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*) se basa en el uso de variedades resistentes, de una fertilización balanceada en nitrógeno y potasio y de la baja densidad de plantas en el campo.

Ri3 (1990) estudio el efecto de la aplicaci3n de 104 Kg/ha de potasio en combinaci3n con la quema del rastrojo sobre la incidencia y severidad de la pudrici3n de mazorcas en el ma3z Guayapeblanco 102, causada por *Sternocarpella maydis* y *F. moniliforme* en Honduras. Encontr3 que la quema del rastrojo destruy3 alg3n material o plantas contaminadas y la severidad de la enfermedad decreci3, pero no influy3 significativamente sobre la incidencia y severidad de la enfermedad.

Osunlaja (1990) comparo el sistema de labranza convencional y el sistema de falta de labranza para el control de la pudrici3n de tallo y ra3z del ma3z provocada por *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium moniliforme* en un campo con historia de alta incidencia de pudrici3n de tallo en el este de Nigeria. Encontr3 que la incidencia de esta fue significativamente menor bajo pr3cticas de no labranza que en las parcelas con labranza durante dos temporadas de prueba. La aplicaci3n de paracuat o la quema de los residuos del cultivo aparentemente no tienen influencia sobre la incidencia de la enfermedad. Ninguno de los tratamientos afecto la severidad de las enfermedades.

Warren y Ovalen (1986) encontraron que la severidad de la pudrici3n del tallo y mazorca, disminuy3 a consecuencias de una aplicaci3n de Benlate y Ditane M22, dos semanas posteriores a la antesis.

Vakili (1984) cita el uso de fungicidas del hongo en el control biológico de hongos saprofitos y fitopatógenos, donde *Gliocadium roseum* redujo la frecuencia y severidad en la semilla de maíz atacada por *F. moniliforme* (Sheld.)

Lisker y Lillehoj (1991) citan que para prevenir la contaminación por micotoxinas (principalmente aflatoxinas y fusarinas) en precosecha los métodos se enfocan principalmente en el mejoramiento para la resistencia, prácticas culturales (irrigación rotación de cultivos) y control químico.

III. i - MATERIALES Y METODOS.

En la segunda fase se evaluaron exactamente los mismos materiales (Cuadro 3.1), pero estos se inocularon con un filtrado tóxico al 25 % extraído del hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld). Se agarro un testigo.

Recolección del Material Enfermo.

El material enfermo se obtuvo dentro de la universidad autónoma agraria “Antonio Narro”, en el laboratorio de parasitología.

Preparación del Medio para el Aislamiento del Hongo.

El medio que se utilizó para el aislamiento del patógeno fue el PDA (Papa – Dextrosa – Agar). Para preparar este medio se pesaron 39 grs. De PDA los cuales fueron colocados en un matraz erlenmeyer, se aforo a un litro con agua destilada, dicho matraz se colocó en una parrilla electromagnética para su total homogenización y posteriormente se esterilizó en un autoclave a una presión de 15 lb/pulg² por 20 minutos a 120 °C.

Dentro de la campana de flujo laminar se llenaron las cajas petri, previamente esterilizadas con una cantidad suficiente de PDA; se espero que solidificara el medio para la siembra del material vegetativo enfermo.

Siembra del Material Genético.

Previamente se esterilizo el material que se utilizó en la siembra como son pinzas, cubre bocas, entre otros.

Antes de la siembra se desinfecto el área de siembra con alcohol y fenol, se hizo funcionar unos 15 minutos antes la cámara flujo laminar para evitar contaminaciones.

Se coloca el material vegetativo enfermo (aproximadamente 1 cm²) dentro de las cajas petri, utilizando para esto pinzas de disección previamente esterilizadas. Estas fueron selladas con cita mágica, etiquetadas y colocadas en incubación a 25 °C el tiempo conveniente para que se desarrollara el hongo.

Identificación del Patógeno.

Cuando el hongo manifestó un desarrollo favorable se realizaron resiembras para obtener el hongo en estado puro y multiplicarlo. Se hicieron

laminillas para identificar al microscopio las estructuras que corresponden a *Fusarium moniliforme* (Sheld.).

Conservación del Hongo.

Para conservar el patógeno una vez desarrollado se le agrego aceite mineral esterilizado tres veces, todo bajo condiciones de asepsia, luego se paso a refrigeración para su posterior utilización.

Preparación del Medio para obtener el Filtrado Tóxico.

Se requiere 200 gr. De Papa natural, la cual fue cortada en trozos pequeños y puestos en un vaso de precipitado al cual se le agrego un litro de agua destilada. El vaso se puso en una parrilla eléctrica a temperatura de ebullición. Al momento que empezó a hervir se contaron 30 minutos y se le fue añadiendo el agua que se evaporo. Después de este tiempo se filtro el contenido del vaso utilizado manta de cielo.

Lo que resulto del filtrado se aforo a 3000 ml. Y se coloco en un matraz Erlenmeyer de 4000 ml. Que contenía 30 gr. De sacarosa y 20 gr. De Dextrosa más un agitador magnético. Se coloco una torunda de algodón en dicho matraz, se cubrió la boca con papel aluminio y se sello perfectamente para proceder a su esterilización en autoclave.

Pasteurización.

Después de ser esterilizado el filtrado tóxico se pasteurizo mediante cambios drásticos de temperatura y refrigeración hasta su utilización.

Inoculación del Sustrato.

Al igual que para la fase de sequía las semillas se pusieron a germinar en cajas petri de 100 x 15, utilizando como sustrato papel sanita o toalla de color blanco.

Se pusieron cinco semillas por cada caja petri correspondiendo a la repetición uno y dos de cada genotipo (Cuadro 3.1).

La inoculación del sustrato se realizó por medio de una jeringa automática, 10 ml Por repetición.

TOMA DE DATOS

la toma de datos se realizo a los siete días después de la siembra. Las variables tomadas para esta fase fueron:

- Longitud de raíz.
- Longitud de plumula.

Estos parámetros fueron expresados en centímetros, dependiendo de las semillas germinadas.

ANALISIS ESTADISTICO

Se utilizo el mismo diseño que se describe en el capitulo correspondiente a sequía.

IV. i -RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En el análisis de varianza individual para la variable longitud de raíz se encontraron diferencias altamente significativas a $\alpha = 0.01$. Esto indica que los genotipos tuvieron una respuesta diferente cuando las semillas de estos se inocularon con el filtrado Tóxico de este hongo al 25 por ciento. (Cuadro 4.6)

Cuadro 4.6 Análisis de Varianza (ANVA) para la variable de longitud de Raíz Inoculando con *Fusarium moniliforme*. (Sheld.)

FV	GL	SC	CM	Fc	P>F
TRA NO AJUST.	80	2672.417969	33.405224		
REPETICIONES	1	117.816406	117.816406		
BLO. AJUST.	16	233.713638	14.607102		
TRA. AJUST.	80	2797.968018	34.974602	2.1598**	0.001
ERROR INBLO	64	1036.387939	16.193562		
TOTAL	161	4060.335938			

C.V. = 27.31%

En lo que respecta a longitud de plumula no se encontraron diferencias significativas entre líneas como se observa en el (Cuadro 4.7).

Cuadro 4.7 ANVA para la variable Longitud de Plumula Inoculando con *Fusarium moniliforme*. (Sheld).

FV	GL	SC	CM	Fc	P>F
TRA NO AJUST.	80	1202.689453	15.033618		
REPETICIONES	1	2.091797	2.091797		
BLO. AJUST.	16	204.813263	12.800829		
TRA. AJUST.	80	1187.215088	14.840189	1.3702 NS	0.096
ERROR INBLO	64	693.145752	10.830402		
TOTAL	161	2102.740234			

C.V. = 30.00%

Cuadro 4.8 Medias de la variable longitud de Raíz con Filtrado Tóxico de *Fusarium moniliforme* al 25%.

GENOTIPOS	MEDIAS
1	13.24
2	9.85
3	17.08
4	7.21
5	11.85
6	3.54
7	11.98
8	14.84
9	5.52
10	20.04
11	10.93
12	20.47
13	16.15
14	15.37
15	12.84
16	14.26
17	22.95
18	23.88
19	16.72
20	20.90
21	16.67
22	18.79
23	17.25

24	16.52
25	12.49
26	18.18
27	10.28
28	11.05
29	16.66
30	14.71
31	10.90
32	8.70
33	8.46
34	16.02
35	11.71
36	14.01
37	12.34
38	14.65
39	16.66
40	18.45
41	19.11
42	15.38
43	16.40
44	15.74
45	14.33
46	11.87
47	20.20
48	16.32
49	13.21
50	18.25
51	11.05
52	18.88
53	15.95
54	7.23
55	10.04
56	8.04
57	18.40
58	8.45
59	16.16
60	18.28
61	9.37
62	16.33
63	18.61
64	11.82
65	18.25
66	16.62
67	13.29
68	17.32
69	18.99
70	15.63

71	19.16
72	19.82
73	18.93
74	14.14
75	12.63
76	17.79
77	8.18
78	16.11
79	11.16
80	16.38
81	15.12

Para las líneas que se encontraron diferencias significativas se les aplicó la prueba de rango múltiple (D.M.S.) con $\alpha = 0.05$ para detectar los genotipos mejores.

Los genotipos estadísticamente superiores para la variable longitud de raíz (toxina) fueron los genotipos 18 y el 17. (Cuadro 4.9).

Cuadro 4.9 Concentración de las 10 medias mas altas y un testigo de la variable longitud de raíz inoculando la semilla con el filtrado tóxico de *Fusarium moniliforme* (Sheld). Ordenadas de mayor a menor de acuerdo la prueba de medias D.M.S.

TRATAMIENTO	MEDIA
18	23.8800 A
17	22.9500 A
20	20.9000 AB
12	20.4700 AB
47	20.2000 AB
10	20.0400 AB
72	19.8200 AB
71	19.1600 AB
41	19.1100 AB
69	18.9900 AB
3.54 testigo	13.2900 B

DMS = 8.0271

Cuadro 4.10 Concentración de medias para la variable longitud de plumula inoculando la semilla con el Filtrado tóxico de *Fusarium moniliforme* (Sheld.) ordenadas de mayor a menor de acuerdo la prueba de medias D.M.S.

TRATAMIENTO	MEDIA
46	16.8800 A
38	16.5700 A
45	15.6100 AB
35	15.5900 AB
32	15.0500 AB
19	14.9500 AB
22	14.5400 AB
50	14.3600 AB
41	14.3000 AB
39	14.0700 AB
9.91 testigo	9.9100 B

DMS = 6.5647

Los genotipos estadísticamente superiores para la variable longitud de plumula fueron el 46 y 38 (Cuadro 4.10)

DISCUSIÓN COMPARACIÓN ENTRE SEQUÍA Y *Fusarium*.

Tomando en cuenta las argumentaciones para sequía y para *Fusarium* se acepta la Hipótesis número uno.

Entre los genotipos que representaron los valores estadísticos mas altos para tolerancia a sequía y para tolerancia a *Fusarium* coinciden solamente el genotipo 22 y el 32. ya que los materiales que resultaron seleccionados para sequía no son los mismos seleccionados para tolerancia a *Fusarium*, por lo tanto, la hipótesis dos queda descartada.

Williams et al, (1969) usaron datos obtenidos mediante varios métodos para medir la tolerancia a la sequía. Al usar cruza dialélicas encontraron a partir de las regresiones varianza-covarianza que la herencia de la tolerancia a la sequía del maíz dulce sigue un modelo de dominancia parcial o casi completa. Las estimaciones de AC indicaron que las líneas que manifestaron una ACG. Alta para la tolerancia a la sequía, produjeron el mayor número de híbridos tolerantes a la sequía. Las distribuciones de frecuencia de los porcentajes de germinación, para las generaciones F2 y ambas F1 de la crusa regresiva que germinaron en soluciones de manitol, sugirieron que la tolerancia a la sequía esta bajo control de al menos tres pares de genes, aunque sólo un gene mayor puede estar segregando en algunas familias

Agrios (1985) cita que la resistencia a la enfermedad se debe a una combinación de mecanismos de defensa y son controlados por un grupo de genes complementarios, dicha resistencia es conocida como resistencia general u horizontal. Este tipo de resistencia es casi siempre poligénica y los genes que la controlan se denomina genes menores y el numero es desconocido.

V. – CONCLUSIONES

Se encontró variabilidad en la respuesta de los materiales evaluados tanto para tolerancia a sequía como para tolerancia a *Fusarium moniliforme* (Sheld). Estas nos permitió hacer la selección de los mejores genotipos para ambas condiciones, corroborando que la técnica del uso de manitol como agente osmótico y el uso del filtrado tóxico de *Fusarium moliniforme* (Sheld). Para selección de genotipos con tolerancia para esta enfermedad son buenas herramientas en la selección genotipos tolerantes para ambas condiciones.

El mejor genotipo para tolerancia a sequía dentro de la variable longitud de raíz (manitol) fueron 30 y el 43.

Dentro de la variable longitud de plumula (manitol) los genotipos fueron estadísticamente similares el 70, 1, 71, 77, 22, 32, 67, 29, 31 y el 64.

El mejor genotipo para tolerancia a *Fusarium moniliforme* (Sheld), dentro de la variable longitud de raíz (toxina) fueron el 18 y el 17.

Dentro de la variable longitud de plumula (toxina) los genotipos fueron el 46 y el 38.

No se encontró relación entre la tolerancia a la sequía al filtrado tóxico de este hongo. Al parecer cada condición esta dada por genes diferentes.

De acuerdo a los resultados de este trabajo se puede dar un seguimiento, teniendo en cuenta los seleccionados genotipos a tolerantes a sequía y a *Fusarium*, se pueden utilizar como investigaciones en campo y dentro de invernaderos en futuro.

VI. - LITERATURA CITADA

Álvarez B., J.R. 1991. *Implementación de la Metodología de cultivo In Vitro de embriones como una alternativa para seleccionar genotipos de maíz (Zea mays L.) tolerantes a sequía*. Tesis de Licenciatura U.A.A.A.N. Buenavista Saltillo, coah. 105 p.

Agrios, G.N. 1985. *Fitopatología*. Limusa. México 113 – 114.

1991. *Manual de las enfermedades de las plantas*. Limusa. México. 582 p.

Alvires V., R. 1994. *Evaluación In vitro de 193 líneas de maíz del trópico húmedo para selección en base a su resistencia al hongo Fusarium moniliforme (Sheldon)*. Tesis de Licenciatura U.A.A.A.N. Buenavista Saltillo, coah. 105 p.

Arnon, I. 1963. *Agricultura in unirrigated lanas*. Simposio Mexicano Israelí para el desarrollo de Zonas áridas. U.A.A.A.N. Buenavista Saltillo, coah. México.

Barriere, Y. 1979. *Breeding early Maize for Fusarium stalk rot resistance*. Ann. Amelior. Plant. 29 (3): 289-304.

Bassey, E.A. 1950. *Morphology and taxonomy of fungi*. The Mapple press Company. USA. 791 p.

Bassiri A.; M. Khosh-Kuni and I. Rouhani. 1977. *The influence of simulated moisture stress conditions and osmotic substrates on germination and growth of cultivated and wild safflowers*. J. Agric. Sci., Camb. 88:95-100.

Beeg , J.E. and N.C. Turner. 1976. *Crop water deficit*. Adv. Agron. 28:161-207.

Bidwell, R.G.S. 1979. Fisiología Vegetal. A.G.T. Editor S.A. México. P 690-692.

Bolaños, J.A. Y G.O. Edmeades. 1989. la importancia del intervalo de floración en el mejoramiento para la resistencia a sequía en maíz tropical. Trabajo presentado en la XXX reunión Anual del PCCMCA. San Pedro Sula, Brasil, abril 2-9, 1989. programa de maíz. CYMMYT, México. 14 P.

Bottalico, A. and Logrieco, A. 1988. Observations on *Fusarium* disease of maize in Basilicata. II. Effect of some cultural factors. *Informatore Fitopatologico*. 38 (2): 55-58.

Brauer, H.O. 1983. Fitogenética aplicada. Los conocimientos de la herencia vegetal al servicio de la humanidad. Limusa. México P 155-161.

Castro B., F. 1987. Respuestas morfológicas de dos especies de frijol (*Phaseolus vulgaris* y *P. acutifolius* A. Gray) a sequía simuladas con polietileno glicol bajo condiciones de invernadero. Tesis Profesional. Universidad Juárez de Durango. Dgo. México. P.

Cepeda, V.M.A. 1991. Métodos de Inoculación de *Fusarium moniliforme* en tallo de maíz. Memorias del XVIII Congreso Nacional De Fitopatología. Puebla Pue. Del 24-26 Julio de 1991. p

Cortés N., J.R. 1981. Selección recurrente para tolerancia a sequía en el compuesto de maíz Calera-74. Tesis de Maestría. UAAAN. Buenavista Saltillo, Coah. México. P.

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. P.

Dávalos U, G. 1986. Evaluación *In vitro* de la resistencia de 10 líneas de Maíz (*Zea mays* L.) a *Fusarium sp* empleando el filtrado tóxico del hongo. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista saltillo, coah. México. 51 p.

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.

Delgado L., E. 1990. Evaluación de la Técnica *In vitro* e invernaderos de progenitores de híbridos de maíz (*Zea mays* L.) para determinar la tolerancia a *Fusarium moniliforme*. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista Saltillo, coah. México. 51 p.

Espinoza P., N.; Rodríguez O., J.L.; Cárdenas S., E y Muñoz O., A. 1994. Efecto de déficit hídrico en el crecimiento del tallo de dos variedades de maíz (*Zea mays* L.). Memorias del XV congreso Nacional de Fitogénica. Monterrey, N.L. México del 25 al 30 de Septiembre. P. 354.

Ferreira, D., M.A. 1986 Efecto de la toxicidad del aluminio en maíz. Tesis de Maestría. UACH. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 120 p.

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. 20 p.

Flores O., A. y Delgado L.E. 1991. Evaluación de la técnica de inoculación *In vitro* e invernadero de progenitores de maíz (*Zea mays* L.) para determinar tolerancia a *Fusarium moniliforme*. Memorias del XVIII congreso Nacional de Fitopatología. Puebla, Puebla. Del 24 al 26 de julio de 1991. p. 142.

González G. , S.G. Leyva M. ,G. y Villaseñor, M.M 1988. Evaluación de técnicas de inoculación de *Fusarium moniliforme* (Sheld). Zinder y Hansen causante de la pudrición de la mazorca y el germinado prematuro del maíz. Rev. México. Fitopatología. 6:237-243.

Kramer, P.J. 1974. Relaciones hídricas de suelo y plantas. Una síntesis moderna. Edutex, S.A. México. 538 p.

Kramer, P.M. 1980. Drought stress and the origen of adaptation of plant to water and high temperatura stress. (Ed.) N.C. Turner and P.J. Kramer, Wiley. New York, USA.

Lazcano D., H.R. 1991. Evaluación *In vitro* de 164 familias de hermanos completos del sintético trópico seco ciclo cero de maíz en base a su tolerancia al filtrado tóxico del hongo *Fusarium moniliforme* Sheldon. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista Saltillo, Coah. México.

Lawrence, E.B.; Nelson, P.E. and Ayers. J.E. 1981. Histopathology of sweet corn seed and plants infected with *Fusarium moniliforme* and *F. Oxysporum*. Phytopathology. 71:379:386.

Lisker, N. And Lillehoj, E.B. 1991. Prevention of mycotoxins contamination (principally aflatoxins and *Fusarium* toxins) at the preharvest stage. In Mycotoxins and Animal Food. (Ed.) Smith, J.E., Henderson. R.S. Boca Raton, USA. CRC press, Inc. 689-1020.

López, J.; padilla, R.; Salvatierra E.; Ocampo, R.; Colindros, A. ; Pineda L.; Bustamante, M.; Monterroso, D. 1990. Estimation of losses caused by Maite ear rot in Taulabe Comayahua, Honduras ceiba. 31 (1):14.

López H., A.J. 1987. Selección y evaluación de genotipos de maíz en condiciones limitantes para aumentar la producción y el rango de adaptación. Tesis de Maestría. UACH-CP. Chapingo, México. 115 p.

Lugo H., F. 1990. Respuesta de dos líneas de maíz a la inoculación de *Fusarium moniliforme*. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista Saltillo, coah. 97 p.

Márquez F., J.A. 1979. Estudio de la resistencia a la sequía de 8 variedades de maíz (*Zea mays* L.) por el método de germinación de semillas en concentraciones molares de sacarosa Tesis de Maestría. ITESM. Monterrey, N.L. México. P.

Martínez C., C. 1987. Técnica de laboratorio e invernadero para la evaluación de resistencia a pudrición de tallo de maíz. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista Saltillo, coah. México.

Martínez M., J.L. 1996. Selección de Líneas de Maíz *Zea mays* L. para tolerancia a Sequía y al hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld.) Bajo Condiciones de Laboratorio. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista saltillo, coah. México.

Maximov, N.A. 1954. Fisiología Vegetal. 2ª Ed. CECSA. México. P 336-339.

Muñoz S., M.A. 1987. determinación de la metodología para evaluar *In Vitro* genotipos de maíz en base a su resistencia a *Fusarium moliforme* (Sheld.). Tesis de Maestría. UAAAN. Buenavista Saltillo, Coah. México. 43 p.

Muñoz o., A. 1980. Resistencia a la sequía y mejoramiento genético. Ciencia y Desarrollo. CONACYT. México. 33:26-35.

Núñez, B.A. 1984. El agua en el sistema Suelo-Planta-Atmósfera. CAEVAG-CIANOC.INIA.SARH. TEMA Didáctico No. 17. Durango, Dgo. México.

Pedreti G., R. 1972. Evaluación del método de semillas de maíz (*Zea mays* L), germinadas en soluciones hipertónicas para mejorar la tolerancia a sequía. Tesis de Licenciatura. ITESM. Monterrey, N.L. México.

Pérez R., A. 1985. Efecto de varios niveles de filtrado tóxico de *Fusarium sp.* En el comportamiento *In Vitro* de varias líneas de maíz. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista Saltillo, coah. 89 p.

Poehlman , J.M. 1986. Mejoramiento genético de las cosechas. Limusa. México. P 110-115.

Quezada A., H. Y A. Muñoz O. 1985. Efectos de la sequía en diferentes estadios de crecimiento en maíz (*Zea mays* L.) H-28. Rev. Chapingo 10 (47-49): 76-79.

Quizenberry, J,E. 1987. Mejoramiento de plantas para la resistencia a la sequía y el aprovechamiento del agua. En: Christiansen, M.N. y Ch F. Lewis (Eds). Mejoramientos de plantas en ambientes poco favorables. Limusa. México. P 233-256.

Reyes C., E.J. 1992. Evaluación de ocho ciclos de NEPOPREC para tolerancia a sequía utilizando la técnica de cultivo *In Vitro*. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista Saltillo, Coahuila, México.

Reyna S., G. 1990. Evaluación de la resistencia de material germoplásmico de 10 líneas de maíz (*Zea mays* L.) para el hongo *Fusarium moniliforme* bajo condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista Saltillo.coah. México. 52 p.

Rivera G., M. 1988. Evaluación de Metodologías para seleccionar genotipos de Maíz tolerantes a sequía. Tesis de Maestría. UAAAN. Buenavista Saltillo, coah. 105 p.

Robledo T., V.; Kuruvadi, S. ; Oyervides G., A. 1993. Relación entre rendimiento y sus componentes en maíz bajo condiciones de temporal. Rev. Agraria 9(2): 126-137.

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. McGraw Hill. México. 252 p.

Romero C., S. 1993. Hongos fitopatógenos. Dirección del Patronato Universitario. A.C UACH. Chapingo, México. 347 p.

Salazar S., C.M. 1989. Caracterización de aislamientos de *Fusarium moniliforme* en el región de Ursulo Galván, Veracruz. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista Saltillo. Coah. 23 p.

Warren, H.L. and S.K.V. Ovalen. 1986. Effect of fungicides on ear and stalk rot of maize. *Phytopathology*. 76: 1106.

Wiggans, S. And F.P. Gardner. 1959. Effectiveness of various solutions for simulating drought conditions as measured by germination and seedling growth. *Agron. J.* 51: 315-318.

Williams T. V., R.S. Shell and J.F. Ellis. 1976. Methods of measuring drought tolerance in sweet corn. *Crop Sci.* 7: 179-181.

Williams T. V., Shell R.S. and Cress, C.E. 1969. Inheritance of drought tolerance in sweet corn. *Crop. Sci.* 9 (1): 19-23.