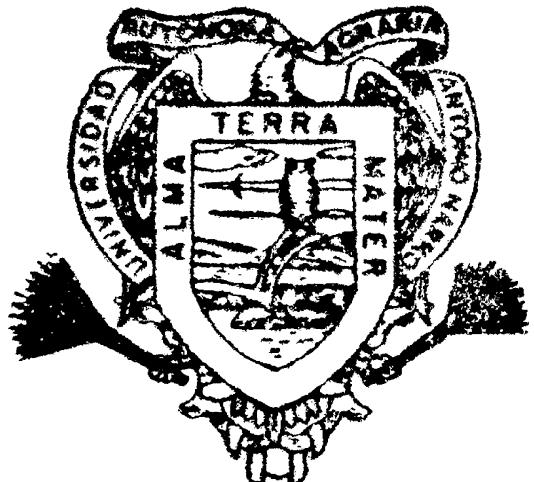


DETERMINACION DE LA METODOLOGIA PARA  
EVALUAR IN VITRO GENOTIPOS DE MAIZ EN BASE  
A SU RESISTENCIA A Fusarium moniliforme shield

ARACELY MUÑOZ MARTINEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS  
ESPECIALIDAD FITOMEJORAMIENTO



Universidad Autonoma Agraria  
Antonio Narro

PROGRAMA DE GRADUADOS  
Buenavista, Saltillo, Coah.  
ENERO DE 1987

DETERMINACIÓN DE LA METODOLOGÍA PARA EVALUAR IN VITRO  
GENOTIPOS DE MAÍZ EN BASE A SU RESISTENCIA A FUSARIUM  
MONILIFORME SHELD

ARACELY MUÑOZ MARTÍNEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

EN LA ESPECIALIDAD DE FITOMEJORAMIENTO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

"ANTONIO NARRO"

PROGRAMA DE GRADUADOS

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO

ENERO DE 1987

Tesis elaborada bajo la supervisión del comité particular  
de asesoría y aprobada como requisito parcial, para optar al  
grado de

MAESTRO EN CIENCIAS ESPECIALIDAD  
DE FITOMEJORAMIENTO

C O M I T E P A R T I C U L A R

Asesor Principal: Leticia Escobedo B.

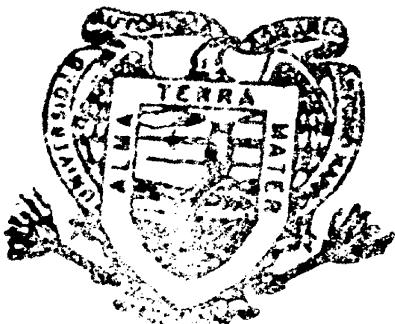
M.C. LETICIA ESCOBEDO BOCARDO.

Asesor: Gustavo Olivares

M.C. GUSTAVO OLIVARES SALAZAR

Asesor: Abiel Sanchez A.

M.C. ABIEL SANCHEZ ARIZPE.



BIBLIOTECA  
GRADUACIONES  
Y TESIS  
I.A.N.

Eleuterio Lopez Perez  
DR. ELEUTERIO LOPEZ PEREZ  
SUBDIRECTOR DE ASUNTOS DE POSGRADO.

Buenavista, Saltillo, Coahuila, enero 1987

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por su valiosa ayuda económica que hizo posible la realización de mis estudios.

A la Asociación Nacional de Universidades e Institutos de Enseñanza Superior, por su apoyo económico para llevar a cabo mis propósitos.

Mi especial agradecimiento a la Ing. M.C. Leticia Escobedo Bocardo y al Ing. M.C. Gustavo Olivares Salazar, por su importante ayuda y valiosa orientación en la realización de este trabajo.

Al Ing. M.C. Abiel Sánchez Arizpe, por su participación en la revisión de este trabajo y sus acertadas sugerencias.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por hacer tan agradable mi estancia en ella.

A Lupita Prado, por la elaboración mecanográfica de este trabajo.

Al Instituto Mexicano del Maíz, por la importante participación en la realización de este trabajo.

## DEDICATORIA

A MI MADRE: Sra. Elsa Martínez de Muñoz

A MI ESPOSO:                   Gilberto

A MI PEQUEÑO HIJO:           Gilberto

# COMPENDIO

Determinación de la Metodología para evaluar in vitro  
Genotipos de maíz en base a su resistencia a Fusarium  
moniliforme shield

POR

ARACELI MUÑOZ MARTINEZ

MAESTRIA

FITOMEJORAMIENTO

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
BUENAVISTA. SALTILLO, COAHUILA. ENERO 1987

M.C. Leticia Escobedo Bocardo -Asesor-

Palabras clave: Selección in vitro, Fusarium  
moniliforme, filtrado tóxico,  
maíz.

En el presente estudio se contemplaron dos objetivos principales, el primero fue elaborar la metodología para evaluar in vitro genotipos de maíz en base a su resistencia a Fusarium moniliforme y el segundo hacer una comparación de la eficiencia de la metodología de evaluación in vitro con la metodología tradicional.

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales perteneciente al Instituto Mexicano del Maíz y constó de dos fases, en la primera se determinó la concentración de filtrado tóxico óptimo para diferenciar los materiales de maíz en cuanto a su resistencia a *E. moniliforme*, las concentraciones óptimas fueron 20, 24 y 28 por ciento, considerándose materiales resistentes las líneas: 43-46 ♀ 2-3-2 y SSE 232-10-11-i-1, los medianamente resistentes AN12, AN2, 255-18-19, MLS4-1, SSE-232-1-1-26-6 y Zap br2, 211-1-1 y susceptibles AN20 y AN1.

En la segunda fase del trabajo de laboratorio se evaluaron 189 familias de hermanos completos derivados de la variedad sintética "Lucio Blanco", considerándose como parámetros: longitud de raíz, longitud de tallo y peso fresco, dentro de esta segunda etapa también se consideró la evaluación en campo de las 189 familias de hermanos completos bajo condiciones de incidencia natural en Celaya, Gto.

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE METHODOLOGY FOR EVALUATION OF GENOTYPES IN MAIZE BASED ON RESISTANCE TO Fusarium moniliforme  
in vitro

By

ARACELI MUÑOZ MARTINEZ

Master's Degree

Plant Breeding

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
BUENAVISTA. SALTILLO, COAHUILA. January 1987

M.C. Leticia Escobedo Bocardo -Advisor-

Key words: in vitro selection, Fusarium moniliforme  
toxic filtrate, maize.

The present investigation was carried out with two main objectives, the first consists of to elaborate methodology to evaluate in vitro genotypes of maize based on resistance to Fusarium moniliforme and to compare the efficiency of this methodology with the traditional one.

## INDICE DE CONTENIDO

	Página
INDICE DE CUADROS. . . . .	X
INTRODUCCION. . . . .	1
REVISION DE LITERATURA . . . . .	3
-ANTECEDENTES DEL CULTIVO DE TEJIDOS. . .	3
-INFORMACION GENERAL DE <u>Fusarium monilifor</u> me Sheld. . . . .	6
-TIPOS DE RESISTENCIA. . . . .	8
-MECANISMOS DE RESISTENCIA A PUDRICION DEL TALLO . . . . .	10
-METODOS DE INOCULACION. . . . .	10
MATERIALES Y METODOS . . . . .	12
-AISLAMIENTO Y MULTIPLICACION DEL HONGO. .	12
-PREPARACION DEL FILTRADO TOXICO . . . .	13
-PREPARACION DEL MEDIO NUTRITIVO . . . .	14
-SIEMBRA DEL MATERIAL VEGETATIVO . . . .	15
-EVALUACION DE LOS MATERIALES VEGETATIVOS.	16
-PRUEBAS DE LABORATORIO. . . . .	16
-PRUEBAS DE CAMPO. . . . .	17
RESULTADOS. . . . .	20
DISCUSION . . . . .	36
CONCLUSIONES. . . . .	39
LITERATURA CITADA . . . . .	41

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
3.1 COMPOSICION DEL MEDIO NUTRITIVO DE. Murashige y Skoog. . . . .	14
3.2 ESCALA RECOMENDADA PARA DETERMINAR LA PUDRICION DE TALLOS DESPUES DE LA INFECCION NATURAL (FAO, 1976). . . . .	18
4.1 EVALUACION <u>in vitro</u> DEL EFECTO DEL FILTRADO TOXICO DE <u><i>E. moniliforme</i></u> EN 189 FAMILIAS DE HERMANOS COMPLETOS PROCEDENTES DE LA VARIEDAD SINTETICA LUCIO BLANCO. RUIZNAVISTA, COAH 1985-1986. . . . .	22
4.2 EVALUACION DE LA INCIDENCIA NATURAL DE <u><i>E. moniliforme</i></u> EN 189 FAMILIAS DE HERMANOS COMPLETOS PROCEDENTES DE LA VARIEDAD SINTETICA LUCIO BLANCO. CELAYA, GTO. 1984 . . .	29

## INTRODUCCION

El cultivo in vitro de células, tejidos y órganos de plantas es una de las ramas de la biotecnología en la que el empleo de estas técnicas en aplicaciones agrícolas es muy importante en tres aspectos fundamentales: la micropropagación de cultivares, la preservación de germoplasma agronómico y silvestre, y el mejoramiento genético (Robert y Loyola, 1985). Especialmente en la selección in vitro de genotipos para condiciones adversas; estas técnicas han tenido éxito para seleccionar genotipos bajo condiciones de sequía, altas y bajas temperaturas y pH alcalinos.

En lo que respecta a las técnicas de selección in vitro de genotipos resistentes a enfermedades, aún no están definidas, por lo que es necesario, antes que nada llevar a cabo el desarrollo de las mismas.

La importancia de estas técnicas se desprende del problema actual que representa la presencia de enfermedades en los cultivos de interés a nivel nacional, buscando con esto un método de evaluación rápido y económico comparado con los métodos tradicionales.

Para el caso concreto del cultivo del maíz, el cual es afectado por Fusarium moniliforme Sheldon que ocasiona la pudrición de tallos y cuya incidencia los últimos años se ha incrementado, constituyendo un serio problema limitante de la producción en las áreas agrícolas más importantes del país.

El control de esta enfermedad utilizando el método químico además de aumentar los costos de producción, no es

muy efectivo, lo que hace necesario detectar material genéticamente resistente, sin embargo, la metodología tradicional para detectar genotipos resistentes requiere de sembrar en el campo, esperar el desarrollo del cultivo, inocular artificialmente el patógeno y que las condiciones ambientales sean propicias para su desarrollo, siendo esta metodología tardía y costosa comparada con la metodología de selección in vitro que se pretende desarrollar.

Los objetivos del presente trabajo son:

- Elaborar la metodología para evaluar in vitro genotipos de maíz en base a su resistencia a Fusarium moniliforme.
- Comparar la eficiencia de la metodología de evaluación in vitro con la metodología tradicional.

## REVISION DE LITERATURA

### Antecedentes del Cultivo de Tejidos

Partenon (1963) citado por Street (1973), define el término de cultivo de tejidos como el mantenimiento y crecimiento de células vegetales in vitro, bajo condiciones asépticas en medios nutritivos especiales en el laboratorio.

El cultivo de tejidos se basa en la totipotencia celular según Narasimhan (1970), este término fue definido por Hossay et al. (1975), como la capacidad que tienen las células somáticas (2N) de poder dividirse y diferenciarse hasta formar un todo organismo completo, éste se logra bajo condiciones controladas de laboratorio.

Para obtener el crecimiento de los vegetales y su completo desarrollo, es necesaria la participación de factores físicos y químicos, los cuales son proporcionados por la naturaleza. Los cultivos in vitro el desarrollo de la secuencia fenotípica o parte de ésta se logra en el interior de un recipiente de vidrio en el que son proporcionadas a las células, tejidos y órganos, los nutrientes, vitaminas y hormonas, así como las condiciones ambientales requeridas para su desarrollo (Hallaschka 1977).

Durante los últimos 15 años las técnicas para cultivar células, tejidos y órganos vegetales in vitro, han tenido un enorme desarrollo que permite aplicarlas a prácticamente todas las especies, estas técnicas han dado lugar a un gran avance en el conocimiento básico de la biología de las

plantas y ha abierto también, muchas posibilidades para la solución de problemas agrícolas y hortícolas y para su explotación comercial, convirtiéndose así en una tecnología biológica de gran potencial económico que empieza a cobrar un auge enorme en todo el mundo (Robert y Loyola, 1985).

El primero que utilizó un medio sintético de cultivo de composición totalmente conocida para cultivar endospermo de maíz fue Straus (1960) citado por Sánchez y Albores (1979), quien logró hacer crecer callos de maíz a partir de endospermo de maíz dulce de las líneas negro mexicano y los mantuvo por subcultivos en un medio sintético que contenía sales minerales, 2 por ciento de sacarosa y ácido indolacético (AIA).

Sin embargo, no se había logrado obtener cultivos sómaticos de células diploides de maíz, hasta que Gresshoff y Dory (1973) lograron inducir callos de maíz a partir de embriones seccionados y macerados, en un medio sintético conteniendo ácido nátriaenacético y kinetina.

Green y Phillips (1975) reportaron que la diferenciación de los callos hasta formar plantas completas en maíz provenientes del cultivo de embriones maduros in vitro, depende de su constitución genética y de la adición de diferentes reactivos químicos al medio nutritivo.

Gensembach y Green (1975) reportaron la utilización del cultivo in vitro de callos provenientes de embriones maduros de maíz (Tes. raya L.) con el carácter de androesterilidad citoplásica con el propósito de obtener individuos resistentes a Helminthosporium maydis, Raza T, ya que la mayoría de las poblaciones con esas características son susceptibles. Utilizaron el medio Linsmaier y Skoog (LS) modificado, con adición de tiamina y cinco mg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> por litro.

Existen estudios importantes que confirman que el empleo de metabolitos tóxicos producidos por el agente parásito es de gran utilidad, como una metodología eficiente en la selección in vitro de plantas resistentes a las enfermedades. Raghavan (1977) realizó trabajos en que incorporó al medio de cultivo ácido fusárico producido por Fusarium, y en él sembró embriones de Phaseolus vulgaris, observó una interferencia en la absorción de agua por los embriones germinados y características típicas de marchitamiento en las hojas embrionicas. Steiner y Byther (1969) citado por Rojas (1974) emplean activamente la toxina producida por Helminthosporium en su programa de mejoramiento de la caña de azúcar en Hawaii.

Rojas (1974) menciona que los síntomas producidos por el filtrado tóxico de A. carthami, son iguales cualitativa y cuantitativamente a los producidos por el hongo en condiciones naturales.

Sanabria (1977) también realizó estudios en donde usó el filtrado tóxico del cultivo de Alternaria carthami Cor dia, conteniendo el metabolito tóxico específico y el propio patógeno en plantas de cártamo en laboratorio e invernadero, para evaluar la resistencia de las variedades a la mancha de la hoja, reportando que la substancia tóxica afecta la respiración y disminuye la sobrevivencia en las plantas, por lo que se ha considerado el método más eficiente.

Otro autor que realizó trabajos de selección in vitro, fue Salinas (1979) evaluó la resistencia de variedades de tomate (Lycopersicum sculentum) a Alternaria solani, empleando el filtrado tóxico de este hongo, encontrando que es factible el uso de metabolitos tóxicos para selección de variedades resistentes.

Trapaga (1980) su estudio consistió en la producción del filtrado tóxico en medio líquido del hongo Fusarium culmorum (W.G, Sm) Sacc., en diferentes concentraciones en variedades de trigo para seleccionar genotipos resistentes al hongo, concluyendo que los efectos de la toxina son semejantes en invernadero y en condiciones naturales y que la fitotoxina del hongo es específica para variedades de trigo.

#### Información General de Fusarium moniliforme Sheld

Alexopoulos (1977) ubica el género Fusarium dentro de la siguiente taxa:

Clase: Deuteromycetes

Orden: Moniliales

Familia: Tuberculariaceae

Género: Fusarium

Las características elementales para los miembros de esta familia son: producción de macroconidios largos en forma de media luna, multiseptados, que son llevados típicamente por esporodoquios y microconidios muy pequeños, esféricos, ovales, elongados o en forma de media luna sobre hifas simples, ramificadas o no, por lo común también producen cladosporas en el micelio y a menudo se forman esclerocios (Alexopoulos 1977).

Foley (1962) reporta que la infección por Fusarium es sistémica, él lo observó en sus trabajos en los que inoculaba un entrenudo y la infección aparecía en otro.

F. moniliforme afecta raíces, base de la planta y entrenudos inferiores además la infección comienza después de la polinización y se vuelve más severa cuando la planta madura; presenta coloraciones que van del blancuzco al salmón en la médula, tallos quebrados y maduración prematura, por lo que se le denomina como pudrición del tallo del maíz.

F. moniliforme se desarrolla en residuos de cosecha o sobre la superficie del suelo, bajo condiciones favorables infecta tallos de maíz, penetrando directamente por la base de la hoja o utilizando heridas; progresó en los entrenudos bajos, mazorcas, granos y raíces (Compendio de Enfermedades del Maíz, 1980).

Estudios realizados por Oaka y Kommedahl (1970) sobre las formas de diseminación de F. moniliforme reportan que el viento y el son los principales agentes transportadores del hongo. El desarrollo de la enfermedad y su disminución son favorecidos por condiciones de sequía y temperaturas de 28 a 30°C.

Existe controversia sobre la importancia de la infección de la semilla, porque existen reportes que sugieren que el inóculo de la semilla es menos importante que el inóculo que se encuentra en el suelo (Thomas y Buddenhagen, 1980).

Warren y Kommendahl (1973) realizaron estudios sobre prevalencia y patogenicidad de especies de Fusarium en raíces de maíz, residuos de cultivo y en suelo, encontrando que las especies que más prevalecieron fueron en los siguientes porcentajes: F. oxysporum 62 por ciento, F. solani 21 por ciento, F. roseoum 12 por ciento y F. moniliforme 5 por ciento.

Nyvall y Kommedahl (1970) probaron la sobrevivencia y el saprofitismo de F. moniliforme en maíz, para ello tallos de maíz fueron enterrados a diferentes profundidades, niveles de humedad y temperatura, observando posteriormente que el hongo sobrevive mejor en fragmentos de maíz enterrados a una profundidad de 30 cm, a 5-35 por ciento de contenido de humedad y 5-10°C de temperatura. Esto fue cubierto con tejidos de maíz en descomposición, es decir, parénquima y esclerénquima adjunto a la epidermis del tallo y a tejido vascular en nudos, entrenudos y hojas, la sobrevivencia fue más baja en raíz y en pequeños fragmentos de hospedero.

## Mecanismos de Resistencia a Pudrición del Tallo

Sutherland et al. (1983) reportaron que la lignina se encuentra constituyendo el complejo lignocelulosa en las células interiores de las plantas, ésta resiste la biodegradación producida por numerosos organismos, pero es degradada por algunos hongos y bacterias, varias cepas de Fusarium son incluidos entre los degradadores de lignina, entre éstos se encuentra F. moniliforme.

### Métodos de Inoculación

Existen métodos con varios grados de eficiencia y precisión que han sido empleados en inoculación artificial de maíz con patógenos que causan pudriciones de tallo y mazorca.

Según Pappelis (1970) un método de inoculación de tallos que utilizó en sus estudios de doble inoculación de tallos de maíz con Diplodia zea y Giberella zea consistió en usar una suspensión de esporas, en el primero y cuarto entrenudo, otra fue el barrenar los entrenudos inferiores e insertar semilla de avena estéril, infestada previamente con D. zea o G. zea.

El mecanismo de doble inoculación permite estudios de un amplio rango de respuestas dentro de una misma planta, eliminando variaciones debido a las diferencias dentro de una misma especie.

Para evaluar la técnica de inoculación de pudrición de mazorca por Fusarium en maíz, Gulya et al. (1980) utilizaron varios métodos de inoculación, los que se mencionan a continuación: la inoculación de la punta de la mazorca, que implica llevar hacia atrás la cubierta de la mazorca y

mejoramiento, estos grados de resistencia son: alta, media y baja resistencia.

Van Der Plank (1968) reporta dos tipos de resistencia, la primera cuando una variedad es más resistente a algunas razas de un patógeno que a otras es llamada horizontal o general y cuando la resistencia es igual a todas las razas del patógeno es llamada vertical o específica.

La resistencia horizontal está controlada por muchos genes, por eso se dice que es poligénica, retarda el desarrollo de la enfermedad una vez que ésta se ha iniciado y la esibiliza, es influenciada por el medio ambiente.

La información relativa a resistencia ayuda al entendimiento de la herencia de la resistencia a pudrición de tallo de maíz y provee las bases para hacer mejoramiento.

Lunsford et al. (1975) realizaron estudios para observar la influencia materna como respuesta de maíz a *E. monili*, ellos trabajaron cuatro líneas mejoradas, infestando con *E. moniliforme*, los análisis dialélicos de esas pruebas muestran que la habilidad combinatoria general y variante maternas eran altamente significativas, la habilidad combinatoria específica y varianzas reciprocas fueron no significativas, por lo tanto, la acción génica aditiva y efectos maternos no son más importantes que la acción génica dominante.

Este efecto de la hembra podría ser causado por tejido interno de la semilla o factores citoplásmicos en el embrión.

El-Haddad et al. (1976) realizaron estudios de resistencia y concluyeron que la pudrición del tallo tiene un tipo de resistencia materna cuantitativa u horizontal.

cubrirla con una bolsa de plástico, el rociado con una suspensión conídial de *E. moniliforme* y la otra el pinchado de la mazorca con palillos infestados; con la primera técnica se ha tenido más éxito pero requiere de tiempo y puede no ser el más confiable, con la suspensión conídial se observó que bajo la severidad de la pudrición de mazorca, ésto pudo ser dado por el efecto de la cubierta y no por la resistencia del grano, pero es el que se aproxima más al modo natural de infección, con respecto a la técnica del pinchado ésta produce un alto grado de infección aún cuando el inoculo es depositado en un simple punto.

Otro de los métodos eficientes es el de inoculación con palillo de dientes, el cual requiere de establecer el cultivo e inocular las plantas artificialmente con el hongo, cuando se inicia el período de floración, son introducidos en el segundo entrenudo inferior del tallo de la planta de maíz, ayudándose de una pequeña perforación realizada con un taladro manual.

Swartz (1978) indica que la resistencia debe determinarse correlacionando el grado de desintegración del tallo con el porcentaje de pérdidas del cultivo, mientras que Mesterhazy (1979) concluye que la selección para resistencia de raíces equivaldría a seleccionar tallos resistentes o tolerantes.

## MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Cultivo in vitro de Tejidos Vegetales perteneciente al Instituto Mexicano del Maíz de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

El trabajo constó de dos fases, en la primera se evaluaron in vitro 10 líneas endogámicas de maíz, proporcionadas por el Instituto Mexicano del Maíz, para conocer su resistencia a Fusarium moniliforme estas 10 líneas fueron: Zap br<sub>2</sub>-211-1-1, AN<sub>1</sub>, AN<sub>2</sub>, AN<sub>12</sub>, AN<sub>20</sub>, 255-18-19, 43-46 & 2-3-2, SSE 232-1-1-26-6, MLS4-1 y SSE 232-10-11-1. Estas líneas se probaron bajo ocho diferentes concentraciones de toxina, las cuales fueron 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, y 28 por ciento, con el objeto de conocer la concentración óptima de toxina que nos permitiera diferenciar las líneas de maíz en base a su resistencia a F. moniliforme para posteriormente utilizar la concentración óptima de los materiales durante la segunda fase de la investigación

### Aislamiento y Multiplicación del Hongo

Se colectaron plantas enfermas con síntomas visibles de F. moniliforme, las que se trasladaron completas al Laboratorio, con la finalidad de aislar al patógeno, cultivarlo in vitro e incrementarlo para producir la toxina. Su identificación se llevó a cabo en el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, siguiendo el criterio propuesto por Sheldom.

El aislamiento y multiplicación del hongo se llevó a cabo de la siguiente manera: de las plantas colectadas se

tomaron trozos de la región inferior del tallo, de aproximadamente 10 cm de longitud, los que en una área estéril fueron desinfectados con alcohol al 70 por ciento durante cinco minutos, pasándolos después con agua destilada y esterilizada. Posteriormente, estos trozos fueron cortados en segmentos más pequeños de aproximadamente un cm de longitud, los que se colocaron en cajas petri con medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA).

Para su incubación, las cajas petri se colocaron en una cámara bioclimática a temperatura de 25°C, observándose el desarrollo del micelio hasta que formaron estructuras reproductivas, las que se sembraron de nuevo para purificar al hongo y multiplicarlo en cajas petri estériles con PDA más 500 ppm de estreptomicina. Las cajas petri se depositaron en una cámara bioclimática a 25°C, a los 15 días se observó el desarrollo del micelio. Después de cubierta la caja petri por el hongo, se conservó a 5°C para su posterior utilización.

#### Preparación del Filtrado Tóxico

Para preparar el filtrado tóxico se utilizó el medio de cultivo Papa-Dextrosa-Sacarosa (PDS), el que se preparó de la siguiente manera: se pesaron 500 g de papa cortada en trozos, con cáscara, se colocaron en un vaso de precipitado junto con un litro de agua destilada, se pusieron a hervir durante 30 minutos reponiendo el agua que se evaporó. Esta infusión se filtró dos veces a través de una manta de celo, luego se le añadieron 40 g de Dextrosa y 30 g de Sacarosa y se aforó a tres litros con agua destilada; y finalmente se esterilizó en la autoclave a una temperatura de 120°C por 20 minutos.

Una vez preparado el medio PDS, se inoculó bajo condiciones de asepsia absoluta con el hongo *E. moniliforme* y se colocó en una parrilla de agitación magnética durante 15 días a 27°C para estimular el desarrollo del hongo. Después de transcurrido este tiempo, el medio nutritivo mas el hongo se filtraron, utilizando un matraz kitasato conectado a una bomba de vacío, utilizando para ello filtros Whatman no.1. Una vez obtenido el filtrado tóxico, se pasteurizó a 60°C durante 30 minutos, dicho filtrado se conservó a una temperatura a 5°C para su posterior utilización (Trapaga, 1980).

#### Preparación del Medio Nutritivo

El medio nutritivo que se utilizó para el cultivo in vitro de embriones de maíz fue el de Murashige y Skoog (MS) Cuadro 3.1.

Cuadro 3.1. Composición del medio nutritivo Murashige y Skoog.

#### SUSTANCIAS INORGÁNICAS

CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	440	mg
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	mg
KNO <sub>3</sub>	1900	mg
KI	830	μg
CoCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	25	μg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	mg
N <sub>3</sub> BO,	6.2	mg
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O	250	μg
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	370	mg
MnSO <sub>4</sub> . 4H <sub>2</sub> O	17	mg
CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	25	μg
ZnSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	8.6	mg
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	27.8	mg
Na <sub>2</sub> EDTA	37.30	mg

## SUSTANCIAS ORGANICAS

Meso-Inositol	100.00	mg
Ac. nicotínico	0.50	mg
Piridoxina-HCl	0.50	mg
Tiamina-HCl	0.10	mg
Glicina	2.00	mg
Sacarosa	30.00	g
Agar	7.5	g

La preparación del medio nutritivo se llevó a cabo de la siguiente manera: en un vaso de precipitado se colocaron 500 ml de agua destilada, se agregaron las sustancias inorgánicas diluidas en pequeñas cantidades de agua destilada, posteriormente se agregaron las soluciones orgánicas también diluidas en agua destilada, se aforaron a un litro con agua destilada, luego se agregaron 30 g de sacarosa y se procedió a su dilución, después se ajustó a un pH de 5.8. Posteriormente, se agregaron 7.5 g de agar, para que se disolvieran todos sus componentes; el medio nutritivo fue colocado en un agitador electromagnético con temperatura regulada.

## Siembra del Material Vegetativo

Para realizar la evaluación del comportamiento de los materiales utilizados, en presencia del filtrado tóxico, se usó la técnica del cultivo in vitro de embriones utilizando la siguiente metodología: se extrajeron los embriones con la ayuda de un bisturí, se esterilizaron con una solución de hipoclorito de sodio al 4 por ciento durante cinco minutos, para después enjuagarse con agua destilada y esterilizada.

Con la finalidad de detectar diferencias entre tratamientos (diferentes concentraciones de filtrado tóxico), se empleó la prueba de rango múltiple de Duncan al 5 por ciento.

En la primera fase se determinó el nivel óptimo de filtrado tóxico para la evaluación de los materiales, el cual nos permitió continuar con la segunda fase.

En la segunda fase del presente trabajo se utilizaron 189 familias de hermanos completos derivados de la variedad "Lucio Blanco" que tiene características agronómicas deseables para la región del Bajío.

### Pruebas de Campo

Estas 189 familias de hermanos completos se probaron en el campo bajo incidencia natural y en el laboratorio con un 25 por ciento de toxina, posteriormente se hizo la clasificación de los materiales según su comportamiento en resistentes, medianamente resistentes y susceptibles.

Estas mismas 189 familias de hermanos completos se sembraron en Celaya, Gto., y se evaluaron en base a su resistencia a *E. moniliforme* bajo condiciones de infección natural. Para la evaluación en campo se utilizó la escala recomendada por la FAO en 1976 que consiste en cortar longitudinalmente el tallo y registrar visualmente la cantidad del tejido degradado por la enfermedad (Cuadro 4.1).

Cuadro 3.2. Escala recomendada para determinar la pudrición de tallos después de la infección natural (FAO, 1976)

Grado de pudrición del tallo	Descripción del síntoma
1	Infección no visible (sin desintegración de tejidos)
3	1-2 nudos desintegrados
5	1-2 entrenudos desintegrados
7	Más de dos entrenudos desintegrados pero tejido aún presente alrededor
9	Toda la porción del tallo desintegrado.

Para hacer la clasificación de los materiales vegetativos en la primera fase, se utilizó la escala recomendada por la FAO (1976) anteriormente citada y posteriormente obteniendo una media ponderada del daño ( $\bar{x}$ ) de la siguiente manera:

$$\bar{x} = \frac{(n \times 1) + (n \times 3) + (n \times 5) + (n \times 7) + (n \times 9)}{\text{número de plantas}}$$

$\bar{x}$  = media ponderada del daño

n = el número de plantas multiplicadas por el grado de pudrición del 1 al 9

Esta misma fuente de información recomienda considerar los siguientes aspectos:

- Los tallos deben de revisarse justo antes de la cosecha.
- La región inferior de los tallos que contengan tres entrenudos de la base de las raíces hacia

arriba, deben de ser analizados.

c) los tallos deben cortarse a lo largo al ser mues-treados.

Considerando como material resistente a los que obtu-vieron medias de 1 a 3, medianamente resistentes las medias de 3 a 7 y susceptibles las medias de 7 a 9.

Con el fin de hacer la comparación de los resultados obtenidos in vitro de los 10 genotipos utilizados con la eva-luación de los mismos con el método de palillo de dientes, se utilizó información disponible de trabajos anteriores.

## RESULTADOS

En la primera fase para determinar la concentración de filtrado tóxico que nos permitiera diferenciar los materiales de maíz en cuanto a su resistencia a Fusarium moniliforme, los análisis de varianza efectuados nos indican que 20, 24 y 28 por ciento son los niveles de filtrado tóxico más adecuados.

De acuerdo a los resultados de los análisis de varianza realizados para cada uno de los parámetros, longitud de tallo, longitud de raíz, peso fresco y peso seco, se encontró que las líneas que mostraron valores estadísticamente similares al testigo sin filtrado tóxico para estos parámetros, fueron 43-46Q2-3-2 y SSE 232-10-11-1, considerándolos, por lo tanto, como líneas resistentes. Las líneas que presentaron valores intermedios fueron AN<sub>12</sub>, AN<sub>2</sub>, 255-18-19, MLS<sub>4-1</sub>, SSE-232-1-1-26-6 y Zap br<sub>2</sub>-2-11-1-1 por lo que se les considera como líneas medianamente resistentes, las líneas que mostraron los más bajos valores para estos parámetros en presencia del filtrado tóxico fueron AN<sub>20</sub> y AN<sub>1</sub>, calificándolas como líneas susceptibles.

En la segunda fase de laboratorio se evaluaron 189 familias de hermanos completos derivados de la variedad sintética "Lucio Blanco" en donde se utilizó un 25 por ciento de filtrado tóxico ya que en la primera prueba se determinó que este nivel nos permitía diferenciar el comportamiento de los genotipos en cuanto a resistencia y como testigo se utilizó el cero por ciento de filtrado tóxico y además se consideraron sólo tres parámetros que son: longitud de tallo, de raíz y peso fresco, el peso seco no se consideró porque en la pri-

mera prueba se determinó que las diferencias son mínimas y no permiten encontrar diferencias significativas.

La diferenciación de materiales se realizó de acuerdo a los resultados obtenidos de los análisis de varianza y se denominaron materiales resistentes aquellas familias que no presentaron diferencia significativa en los tres parámetros estudiados, es decir, los valores que presentaron el testigo y el 25 por ciento de filtrado tóxico fueron estadísticamente similares. Las familias que mostraron diferencia significativa entre tratamientos para uno de los tres parámetros evaluados se consideraron como medianamente resistentes, las familias que presentaron diferencias significativas para los tres parámetros se consideraron susceptibles.

En el Cuadro 4.1 se presentan los valores de F calculados para cada familia evaluada en los dos tratamientos: 0 y 25 por ciento de filtrado tóxico.

Dentro de esta segunda etapa también se consideró la evaluación en campo de las 189 familias de hermanos completos realizada bajo condiciones de incidencia natural en Celaya, Gto. En el Cuadro 4.2 se presentan los resultados de dicha evaluación en donde se consideraron como resistentes aquellos que presentaron valores de media ponderada de datos al tallo entre 1 y 2, como medianamente resistentes entre 3 y 4, como medianamente susceptibles entre 5 y 6 y como susceptibles entre 7 y 9.

Cuadro 4.1. Evaluación in vitro del efecto del filtrado tóxico de *E. moniliforme* en 189 familias de hermanos completos procedentes de la variedad sintética Lucía-Blanco. Buenavista, Coah. 1985-1986

No. de familia	Longitud de tallo	Longitud de raíz	Peso fresco	Clasificación
11	3.0 NS	11.5 *	0.3 NS	MR
13	4.6 NS	1.8 NS	1.5 NS	R
14	6.3 *	2.4 NS	0.6 NS	MR
15	23.4 **	5.7 *	9.8 *	S
16	1.6 NS	0.4 NS	3.5 NS	R
18	8.0 *	6.8 *	3.5 NS	MS
19	1.8 NS	6.3 *	1.1 NS	MR
37	10.5 *	2.4 NS	1.3 NS	MR
38	0.5 NS	16.2 **	1.2 NS	MR
39	3.8 NS	3.1 NS	5.9 *	MR
40	1.9 NS	1.9 NS	19.4 **	MR
41	0.2 NS	2.0 NS	0.0 NS	R
42	5.7 *	11.6 *	10.4 *	S
43	0.0 NS	2.7 NS	1.1 NS	R
44	25.2 **	10.2 *	7.6 *	S
45	13.8 **	5.9 *	8.5 *	S
47	1.7 NS	0.0 NS	6.0 *	MR
48	0.8 NS	2.6 NS	0.5 NS	R
51	0.1 NS	0.7 NS	14.9 **	MR
52	3.4 NS	5.5 *	16.3 **	MS
53	9.7 *	6.6 *	5.0 NS	MS
54	1.8 NS	0.9 NS	4.9 NS	R
55	7.0 *	5.8 *	17.9 **	S
56	7.9 *	6.6 *	4.9 NS	MS
57	1.6 NS	12.1 *	3.6 NS	MR
61	0.2 NS	1.1 NS	0.7 NS	R
62	0.3 NS	1.2 NS	3.1 NS	R
63	55.1 **	5.9 *	18.5 **	S

Cuadro 4.1. . . . . Continuación

No. de familia	Longitud de tallo	Longitud de raíz	Peso fresco	Clasificación
64	2.8 NS	81:0 **	11.3 *	MS
65	0.7 NS	4.4 NS	1.9 NS	R
70	3.1 NS	1.0 NS	2.4 NS	R
71	0.2 NS	2.1 NS	0.1 NS	R
79	0.7 NS	0.0 NS	1.7 NS	R
80	0.3 NS	1.1 NS	0.0 NS	R
82	0.3 NS	3.1 NS	0.8 NS	R
83	0.4 NS	6.6 *	10.5 *	MS
84	1.3 NS	2.1 NS	0.0 NS	R
85	9.8 *	16.8 **	2.0 NS	MS
86	7.5 *	2.2 NS	3.1 NS	MR
88	0.0 NS	12.9 **	5.5 *	MS
90	0.1 NS	4.7 NS	1.1 NS	R
91	0.8 NS	0.6 NS	9.1 *	MR
92	3.5 *	14.1 **	10.0 *	S
93	0.7 NS	1.1 NS	2.2 NS	R
94	1.7 NS	46.7 **	26.4 **	MS
95	11.8 *	65.2 **	24.8 **	S
108	3.6 NS	2.6 NS	6.0 NS	R
109	0.7 NS	0.0 NS	1.7 NS	R
110	4.9 NS	0.3 NS	0.1 NS	R
111	2.5 NS	2.2 NS	0.1 NS	R
112	5.3 NS	1.3 NS	0.4 NS	R
113	27.0 **	3.3 NS	7.3 *	MS
114	15.3 **	2.0 NS	2.6 NS	MR
115	0.0 NS	3.5 NS	0.0 NS	R
116	40.3 **	17.0 **	6.3 *	S
117	0.9 NS	3.5 NS	11.5 **	MR
118	1.0 NS	0.2 NS	4.0 NS	R
119	3.4 NS	2.1 NS	2.3 NS	R

Cuadro 4.1. . . . . Continuación

No. de familia	Longitud de tallo	Longitud de raíz	Peso fresco	Clasificación
120	12.8 *	2.0 NS	8.5 *	MS
121	4.1 NS	7.0 *	2.6 NS	MR
122	0.4 NS	0.6 NS	1.0 NS	R
123	4.1 NS	3.0 NS	3.3 NS	R
124	5.8 **	2.3 NS	7.4 *	MS
125	3.0 NS	0.3 NS	5.5 *	MR
126	16.2 **	3.3 NS	22.8 **	MS
127	0.7 NS	3.4 NS	6.1 *	MR
128	1.5 NS	2.3 NS	3.8 NS	R
129	0.1 NS	0.5 NS	0.0 NS	R
130	0.9 NS	0.3 NS	0.1 NS	R
131	0.1 NS	0.1 NS	2.6 NS	R
132	0.7 NS	0.3 NS	0.2 NS	R
134	0.1 NS	0.8 NS	0.1 NS	R
135	0.3 NS	0.1 NS	7.1 *	MR
136	0.1 NS	0.1 NS	0.1 NS	R
137	0.2 NS	2.7 NS	0.9 NS	R
139	0.3 NS	2.8 NS	0.0 NS	R
140	0.9 NS	0.4 NS	0.0 NS	R
141	0.5 NS	0.9 NS	1.8 NS	R
142	2.1 NS	1.2 NS	0.0 NS	R
143	9.0 *	0.8 *	4.5 *	S
144	0.8 NS	0.4 NS	1.3 NS	R
145	1.6 NS	0.3 NS	0.0 NS	R
146	2.6 NS	0.0 NS	1.3 NS	R
147	0.8 NS	4.4 NS	6.8 *	MR
148	3.3 NS	2.3 NS	5.0 NS	R
149	0.1 NS	0.0 NS	0.1 NS	R
150	0.9 NS	0.2 NS	0.5 NS	R
151	0.0 NS	0.5 NS	0.3 NS	R

Cuadro 4.1. . . . . . . . . . . Continuación

No. de familia	Longitud de tallo	Longitud de raíz	Peso fresco	Clasificación
152	0.8 NS	0.1 NS	1.0 NS	R
153	0.0 NS	0.5 NS	1.1 NS	R
154	0.0 NS	1.1 NS	0.2 NS	R
155	0.6 NS	0.0 NS	2.8 NS	R
156	12.1 *	7.7 *	0.3 NS	MS
157	1.8 NS	7.6 *	7.1 *	MS
158	0.1 NS	47.8 **	1.1 NS	MR
159	0.1 NS	0.1 NS	0.4 NS	R
160	10.0 *	2.5 NS	6.2 *	MS
164	0.3 NS	3.5 NS	0.2 NS	R
165	4.6 NS	1.5 NS	14.3 NS	R
166	5.1 NS	2.9 NS	6.3 *	MR
167	0.1 NS	1.8 NS	2.5 NS	R
168	0.3 NS	2.6 NS	2.3 NS	R
169	1.9 NS	2.3 NS	1.5 NS	R
170	12.8 NS	38.4 NS	0.4 NS	R
172	0.2 NS	0.5 NS	0.4 NS	R
173	0.3 NS	0.0 NS	4.1 NS	R
174	0.0 NS	4.0 NS	0.0 NS	R
175	1.8 NS	1.0 NS	0.5 NS	R
176	0.4 NS	1.0 NS	1.1 NS	R
177	0.0 NS	1.6 NS	0.0 NS	R
178	30.8 **	3.6 NS	76.2 **	MS
179	1.6 NS	0.3 NS	0.0 NS	R
180	1.1 NS	0.1 NS	1.0 NS	R
181	1.7 NS	0.2 NS	1.5 NS	R
182	5.5 NS	10.1 *	3.8 NS	MR
184	4.5 NS	1.0 NS	0.3 NS	R
185	0.7 NS	0.9 NS	1.1 NS	R
186	1.2 NS	0.4 NS	3.4 NS	R
188	2.1 NS	3.3 NS	18.4 **	MR

Cuadro 4.1. . . . . Continuación

No de familia	Longitud de tallo	Longitud de raíz	Peso fresco	Clasificación
189	1.4 NS	0.4 NS	1.4 NS	R
190	0.8 NS	0.0 NS	0.2 NS	R
191	0.1 NS	0.0 NS	4.7 NS	R
192	0.6 NS	0.8 NS	0.1 NS	R
193	1.6 NS	0.0 NS	0.0 NS	R
194	0.7 NS	0.7 NS	4.1 NS	R
195	0.7 NS	0.1 NS	0.1 NS	R
199	3.9 NS	18.2 **	2.6 NS	MR
200	0.3 NS	9.3 *	0.6 NS	MR
201	19.6 NS	30.4 **	12.5 **	MS
202	14.8 *	18.9 **	15.6 **	S
203	1.1 NS	1.4 NS	0.1 NS	R
204	0.9 NS	0.1 NS	1.1 NS	R
205	0.3 *	25.6 **	9.7 *	S
206	47.9 **	21.3 **	21.3 **	S
207	1.3 NS	13.6 *	1.7 NS	MR
208	30.9 **	49.7 **	1.7 NS	MS
209	1.3 NS	9.5 *	3.9 NS	MR
210	0.7 *	9.3 *	8.3 *	S
211	3.0 *	309.2 **	5.9 *	S
212	203.6 **	4202.5 **	74.3 **	S
213	21.1 **	22.0 **	31.7 **	S
214	17.9 **	39.8 **	3.6 *	S
215	1.5 NS	33.0 **	9.0 *	MS
216	1.2 NS	10.5 *	0.0 NS	MR
218	0.6 NS	3.1 NS	0.4 NS	R
219	0.5 NS	2.3 NS	2.0 NS	R
220	10.1 *	7.8 *	4.8 NS	MS
221	17.1 **	33.1 **	13.6 *	S
222	40.5 **	8.4 *	13.2 *	S
223	21.0 **	19.5 **	21.8 **	S

Cuadro 4.1. . . . . . . . . . . . . Continuación

No de familia	Longitud de tallo	Longitud de raíz	Peso fresco	Clasificación
224	0.7 NS	1.2 NS	0.4 NS	R
225	1.5 NS	13.7 *	1.3 NS	MR
226	11.0 *	61.6 **	23.5 **	S
227	8.5 *	16.2 **	6.4 *	S
228	1.2 NS	7.8 *	1.5 NS	MR
229	0.0 NS	38.5 **	0.3 NS	MR
230	6.6. *	103.8 **	4.1 NS	MS
231	8.2 *	45.2 *	2.8 NS	MS
232	4.4 NS	0.1 NS	6.0 *	MR
233	5.5 *	55.9 **	2.7 NS	MS
234	4.2 NS	4.1 NS	4.1 NS	R
235	0.0 NS	7.1 *	0.2 NS	MR
236	9.1 *	0.3 NS	1.5 NS	MR
237	0.0 NS	4.0 NS	0.6 NS	R
238	0.1 NS	0.7 NS	0.0 NS	R
239	0.1 NS	31.0 **	4.2 NS	MR
240	11.6 *	0.3 NS	1.9 NS	MR
241	9.2 *	22.0 *	6.9 *	S
242	109.7 **	12.8 *	22.0 **	S
243	95.2 **	8.7 *	17.7 **	S
244	19.8 **	32.6 **	7.5 *	S
245	0.0 NS	0.9 NS	9.1 *	MR
246	15.3 **	26.1 **	15.2 **	S
247	31.1 **	165.3 *	37.7 *	S
248	11.8 *	13.0 *	3.5 NS	MS
249	0.8 NS	3.3 NS	6.5 *	MR
250	1.5 NS	0.8 NS	0.2 NS	R
251	34.7 **	4.8 NS	13.0 *	MS
252	4.2 NS	2.2 NS	10.4 *	MR
253	7.3 *	6.9 *	3.0 NS	MS
258	10.3 *	0.5 NS	2.8 NS	MR

Cuadro 4.1. . . . . . . . . . . . Continuación

No. de familia	Longitud de tallo	Longitud de raíz	Peso fresco	Clasificación
259	6.6 *	2.9 NS	7.2 *	MS
260	10.9 *	2.9 NS	0.1 NS	MR
262	5.9 *	2.8 NS	1.5 NS	MR
263	16.1 **	31.8 **	6.6 *	S
264	0.2 NS	0.5 NS	11.5 NS	R
265	4.3 NS	0.2 NS	0.4 NS	R
266	0.9 NS	3.9 NS	10.9 *	MR
267	5.9 *	74.2 **	0.9 NS	MS

Donde: R = Resistente

NS = No susceptible

MR = Medianamente resistente

MS = Medianamente susceptible

Cuadro 4.2. Evaluación de la incidencia natural de F, moniliforme en 189 familias de hermanos completos procedentes de la variedad sintética Lucio Blanco. Celaya Gto. 1986.

No. de familia	X ponderada de daño al tallo	Clasificación
11	6.2	MR
13	5.4	MR
14	5.4	MR
15	7.8	S
16	3.0	R
18	6.2	MR
19	6.2	MR
37	6.2	MR
38	4.6	MR
39	7.0	S
40	6.2	MR
41	6.6	MR
42	7.0	MR
43	6.0	R
44	7.0	S
45	6.2	MR
47	6.2	R
48	6.2	S
51	6.6	MR
52	6.6	MR
53	6.4	R
54	4.2	MR
55	6.2	R
56	7.0	MR
57	7.0	S
61	5.0	MR
62	5.0	MR
63	7.0	S
64	5.0	MR
65	7.0	R

Cuadro 4.2. . . . . . . . . . . . . Continuación

No. de familia	$\bar{X}$ ponderada de daño al tallo	Clasificación
70	5.8	MR
71	7.0	S
79	3.4	R
80	3.8	MR
82	5.0	MR
83	5.4	MR
84	5.0	MR
85	5.8	MR
86	3.0	R
88	5.0	MR
90	7.4	S
91	3.9	MR
92	6.5	MR
93	1.4	R
94	4.3	MR
95	5.9	MR
108	5.4	MR
109	4.2	MR
110	3.0	R
111	7.0	S
112	7.0	S
113	3.3	R
114	7.0	S
115	5.2	MR
116	4.2	MR
117	6.2	MR
118	7.0	S
119	7.0	S
120	5.4	MR
121	7.0	S
122	6.6	MR

Cuadro 4.2. . . . . Continuación

No de familia	$\bar{x}$ ponderada de daño al tallo	Clasificación
123	1.8	R
124	5.8	MR
125	5.4	MR
126	6.6	MR
127	5.4	MR
128	7.0	S
129	3.8	R
130	5.8	MR
131	6.6	MR
132	6.2	MR
134	5.4	MR
135	5.0	MR
136	6.2	MR
137	5.4	MR
139	5.4	MR
140	5.0	MR
141	2.2	R
142	6.2	MR
143	3.0	R
144	6.2	MR
145	5.0	MR
146	4.6	MR
147	5.0	MR
148	3.0	R
149	2.2	R
150	4.2	MR
151	4.6	MR
152	6.2	MR
153	5.0	MR
154	7.4	S
155	7.0	S

## Continuación

Cuadro 4.2. . . . .

No. de familia	$\bar{x}$ ponderada de daño al tallo	Clasificación
156	6.2	MR
157	7.4	S
158	7.0	S
159	5.4	MR
160	6.0	MR
164	7.8	S
165	5.8	MR
166	4.6	MR
167	3.4	R
168	4.6	MR
169	5.4	R
170	3.4	MR
172	6.2	MR
173	5.6	MR
174	5.0	MR
175	4.6	S
176	7.0	MR
177	5.4	MR
178	5.8	MR
179	6.0	MR
180	5.0	MR
181	5.4	R
182	3.4	MR
184	5.0	MR
185	4.2	MR
186	5.4	MR
188	5.8	MR
189	5.4	MR
190	4.2	MR
191	5.3	MR
192	5.4	MR
193	5.4	MR

Cuadro 4.2. . . . . . . . . . . . . Continuación

No. de familia	X ponderada de daño al tallo	Clasificación
194	4.6	MR
195	5.4	MR
199	7.8	S
200	1.8	R
201	4.6	MR
202	4.6	MR
203	4.5	MR
204	5.0	MR
205	3.4	R
206	5.0	MR
207	6.6	MR
208	7.0	S
209	2.2	R
210	2.6	R
211	4.2	MR
212	4.2	MR
213	2.6	R
214	5.0	MR
215	5.8	MR
216	6.2	MR
218	7.0	S
219	5.0	MR
220	3.0	R
221	4.6	MR
222	5.4	MR
223	7.4	S
224	3.4	R
225	5.8	MR
226	4.6	MR
227	7.4	S
228	7.0	S

Cuadro 4.2. . . . . Continuación

No. de familia	$\bar{x}$ ponderada de daño al tallo	Clasificación
229	5.5	MR
230	4.2	MR
231	4.6	MR
232	5.3	MR
233	3.8	R
234	4.6	MR
235	2.5	R
236	3.8	R
237	3.4	R
238	2.2	R
239	5.5	MR
240	4.2	S
241	3.3	"
242	4.2	MR
243	4.6	MR
244	7.0	S
245	7.0	S
246	5.8	MR
247	5.5	MR
248	2.5	"
249	4.2	MR
250	7.0	S
251	4.2	"
252	4.5	"
253	3.4	R
258	5.0	MR
259	3.8	R
260	7.0	S
262	6.2	MR

Cuadro 4.2. . . . . Continuación

No. de Familia	$\bar{x}$ ponderada de daño al tallo	Clasificación
263	5.0	MR
264	6.2	MR
265	1.4	R
266	5.0	MR
267	2.2	R

Donde; R = Resistente

S = Susceptible

MR = Medianamente Resistente

## DISCUSION

En las pruebas para determinar el nivel de filtrado tóxico que nos permite diferenciar materiales de maíz in vitro de acuerdo a susceptibilidad a Fusarium se encontró que las concentraciones de 20, 24 y 28 por ciento fueron estadísticamente iguales y son las que nos permiten diferenciar entre materiales susceptibles y resistentes, resultados similares se obtuvieron al aplicar el filtrado tóxico de las cepas de Fusarium colectadas en la Laguna, Veracruz, Navidad, N.L. y Buenavista. Saltillo, Coah.

En las pruebas de laboratorio para determinar el grado de susceptibilidad o resistencia de las líneas, en base a los grados de mafizos producidos se observó que las líneas 43-46 & 2-3-2 y 2-3-2-11-1-1 no tienen valores estadísticamente similares al castigo, sin filtrado tóxico por lo que se les consideró líneas resistentes, las medianamente resistentes fueron 266-1-1-1, MLS4-1, S-1-1-1-1-1-1, Zap br-211-1-1, AN12 y AN2.

Algunas de las líneas resistentes a la cepa que extrajeron diversos grados de mafizos en el filtrado in vitro en presencia del filtrado tóxico de la cepa de Fusarium colectada en Celaya, Gto. se comprobaron de la misma manera al ser cultivados en presencia del filtrado tóxico de la cepa colectada en la Laguna, Laguna (1967, 1968) con mayor diferencia en presencia del filtrado tóxico de la cepa colectada en Navidad, N.L. (Escobedo y Olivares, 1960).

Los materiales que mostraron diversos grados de susceptibilidad a la acción del filtrado tóxico de la cepa colectada en Celaya, Gto., fueron AN<sub>20</sub> y AN<sub>1</sub>, igual comportamiento mostraron en presencia del filtrado tóxico de la cepa colectada en La Laguna, Coah. (Pérez 1986), mientras que con la cepa de Fusarium colectada en Navidad, N.L., sólo la línea AN<sub>20</sub> mostró susceptibilidad (Escobedo y Olivares, 1986). Al compararse los resultados obtenidos en la prueba de laboratorio con los resultados de la evaluación de los mismos materiales genéticos utilizando el método tradicional de evaluación de la resistencia genética a Fusarium en el campo (inoculación con palillo de dientes) realizada en Celaya, Gto, por Escobedo y Olivares, 1986 se encontró que los materiales que mostraron diversos grados de resistencia en el laboratorio, también en el campo se comportaron de la misma manera; a excepción de las líneas AN<sub>2</sub> y AN<sub>12</sub> que en el laboratorio mostraron cierto grado de resistencia y en el campo resultaron susceptibles, igual resultado se presentó para las líneas que en el laboratorio mostraron susceptibilidad y que al ser evaluados en campo también resultaron ser susceptibles.

La efectividad del método de evaluación *in vitro* se aplica en reportes como el de Rötts (1974) donde evidencia una notable correlación entre los daños provocados por un patógeno y aquellos ocasionados por toxinas por ellos producidas en un medio de cultivo. Así también y en forma bastante clara (Santos 1990) al tratar 12 variedades de trigo, observó en invernadero que las plantitas regadas con una suspensión de esporas, así como aquellas regadas con el filtrado tóxico producido por el patógeno, afectaron de igual forma la longitud de raíz y por ciento de clorosis.

En la evaluación in vitro de las 189 familias de hermanos completos derivados de la variedad sintética Lucio Blanco, se encontró una mayor proporción de materiales que presentaron mediana resistencia, un 39 por ciento, mientras que un 44 por ciento correspondió a familias resistentes y un 17 por ciento a susceptibles, estas mismas familias al ser evaluadas bajo incidencia natural del patógeno en el campo, se observó que el 63 por ciento de las familias fueron medianamente resistentes, el 20 por ciento resistentes y 17 por ciento susceptible, coincidiendo en ambos casos el porcentaje de familias susceptibles. Esta comparación no es del todo válida ya que la evaluación bajo incidencia natural depende de las condiciones ambientales prevalecientes durante el ciclo del cultivo, razón por la cual no se puede asegurar que el patógeno haya estado en contacto con las plantas.

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos podemos concluir que:

- 1) Los parámetros que nos permiten evaluar in vitro la resistencia a F. moniliforme son longitud de tallo, longitud de raíz y peso fresco. Las líneas de maíz que mostraron resistencia en laboratorio fueron SSE-232-10-11-1-1, 43-4682-3-2, mostraron media resistencia las líneas AN<sub>2</sub>, 255-18-19, AN<sub>12</sub> Zap br<sub>2</sub>-211-1-1 y MLS4-1, las líneas susceptibles fueron AN<sub>1</sub> y AN<sub>20</sub>.
- 2) La metodología seguida para evaluar in vitro genotipos de maíz, sometiéndolos a la presión del filtrado tóxico producida por Fusarium moniliforme nos permite clasificar los materiales bajo estudio en resistentes, medianamente resistentes y susceptibles.
- 3) Existe coincidencia entre los resultados obtenidos en la evaluación in vitro y la evaluación realizada en campo con el método del palillo de dientes.
- 4) En la prueba de las 120 familias de hermanos completos, formados a partir de la variedad sintética Lucio Blanco, en campo con incidencia natural, se observó un 20 por ciento de resistencia, 17 por ciento de susceptibilidad y 63 por ciento de materiales medianamente resistentes. Mientras que en el laboratorio se observó un 44 por ciento de

resistencia, 17 por ciento de susceptibilidad y 39 por ciento de materiales medianamente resistentes.

This research was conducted in the Tissue Culture Laboratory of the Mexican Institute of Maize in two stages. The first one comprises of determination of optimum concentration of toxic filtrate to differentiate the genotypes of maize for resistance to *E. sativum*. The optimum concentration determined were 20, 24 and 33 per cent and the resistant inbreds were 43-46 R 2-3-2 and SSE 232-10-11-1 and the moderately resistant inbreds were Ah12, AN<sub>2</sub>, 255-13-19, MLS 4-1, SSE-232-10-11-1 and Zap br<sub>2</sub> 211-1-1 and the susceptibilities inbreds were AN<sub>20</sub> and AN<sub>1</sub>.

In the second phase 189 full sib families derived from a synthetic variety "Lucio Blanco", were evaluated in the laboratory with the parameters of root length, stem length and fresh weight, and in the second stage these 189 families were evaluated on the field under natural incidence in Celaya Gto.

LITERATURA

- Alexopoulos, C.J. 1977. Introducción a la micología, EUDEBA  
Buenos Aires, Argentina. 624 p.
- American phytopathological society. 1971. Compendium of corn  
diseases. St. Paul Minnesota. 64 p.
- Cole, J.R. 1973. Toxin from Fusarium moniliforme: Effects on  
plants and animals. Science 179: 1324-1326.
- El-Haddad, M.M., A.M. Mourad y E.R. Fakhoury. 1976. Herencia  
de resistencia a Fusarium moniliforme en maíz inter-  
o intraespecífico. Agric. d. Genet. Citol.  
5: 15-31.
- Escobedo, B.L. y S.G. Olivares 1986. Determinación de la me-  
todología para evaluar in vitro genotipos de maíz  
en base a su resistencia a Fusarium spp. Trabajo  
no publicado presentado al VI Congreso nacional  
de Fitogenética en Tlalnepantla, México.
- FAO. 1975. Reporte de Europa sobre la resistencia de  
Maíz a Fusarium spp.
- Foley, D.C. 1962. Systemic infection of corn by Fusarium mo-  
niliforme. Phytopathology 52: 153-157.
- Gensemback, B.A. and C.E. Green. 1977. Infection of cytoplas-  
ma maize callus tissue by Fusarium moniliforme, Phytophthora-  
maydis and Aspergillus. Plant Pathology 26: 153-164.
- Green, C.E. and R.L. Phillips. 1977. Effect of Fusarium spp.  
tissue culture on Fusarium spp. Plant Pathology 26: 127-129.
- Gresshoff, P.M. and C.H. Hause. 1977. Plant transformation by  
Agrobacteriaceae. Annual Review of Microbiology 28:  
113-138. Life-  
Sci. Sci. 1977.

00608

UAR

- Gulya, T.J. Jr., C.H. Hutchinson y P.J. Laesch, Jr. 1980. Evaluación de técnicas de inoculación y raiting para evaluar la enfermedad de maíz por Fusarium de maíz. *Plant Pathology*. 70: 1116-1118.
- Haissing, B.E. 1962. The impact of plant tissue culture of agriculture. In frontiers of plant tissue cultu-  
re. Ed. by J. H. van der Waarden. p:15-25.
- Hossey, G. J. and D. A. Stevenson. 1975 in vitro .  
Evaluation of plant tissue culture propagation. Autumn converence.  
John Innes Institute Colney Lane. London p. 16-19.
- Kamimura, H. 1982. Simultaneous detection of several Fusarium  
mycotoxins in cereals, grains and foods tuffs. *J.*  
*Assoc. Off. Anal. Chem.* 64(5): 1067-1073.
- Kunasaki, T. 1972. Disease of tropical ornamental  
plants. *Bot. Sci.* 7: 17-18.
- Kuo, M.S. and C. S. Chang. 1954. Evaluation of fusaric  
acid as a factor in development of Fusarium wilt.  
*Phytopathology*. 44: 885-1040.
- Lunsford, W.L. and G. F. Scott. 1975 Maternal  
influence on the response of corn to Fusarium monili-  
stis. *Plant Pathology*. 63: 223-225.
- Mesterhazy, A. 1970. Raiting as a method for evalua-  
ting disease of corn. *Plant disease reporter.*  
62(2): 227-229.
- Nyvall, J. 1972. Saprophytism and survi-  
val of Fusarium moniliiforme in corn stalks. *Phy-  
topathology*. 62: 1227-1235.
- Okie, J. L. 1977. Survival and dispersal  
of Fusarium moniliiforme in corn fields. *Phytopa-*  
*thology*. 67: 1227-1235.
- Pappelis, E. 1970. A new classification for corn stalk rot -  
Fusarium and Cercosporella in Europe.

- Luna, A.A. 1985. Efecto de varios niveles de filtrado tóxico de Fusarium en el comportamiento in vitro de varias líneas de maíz. Tesis Profesional. UAAAN.
- Reghavan, V. 1977. Applied aspects of embryo culture. An applied and fundamental aspects of plant cell tissue an organ culture. Editado por J. Reinert e Y.P.S. Bajaj. Springer-Verlang. Berlin-Heidelberg, N.Y. p. 375-397.
- Montes, M.L. y Loyola, V.M. 1985. (Compiladores) El cultivo de tejidos vegetales en México. 167 p.
- Rojas, A.M. 1974. Prueba de un método de selección de variedades de cártamo (Carthamus tinctorius L.) resistentes a Alternaria cartami Corda, empleando la patotoxina del hongo. Tesis Profesional. ITESM.
- Sarinas, G.S.A. 1979. Evaluación de la resistencia de 6 variedades de tomate (Lycopersicum sculentum Mil.) a Alternaria solani (ETI y G. Martin) L.R. Jones y Grout, empleando el filtrado tóxico del hongo. Tesis profesional. ITESM.
- Sarínaga, A.N. 1977. Evaluación de la resistencia de 6 variedades de cártamo (Carthamus tinctorius L.) empleando el filtrado tóxico de Alternaria cartami. Tesis profesional. ITESM.
- Ulibarri, J.E., y M. Albores. 1979. Auxinas sintéticas en la inducción de caños de maíz (Zea mys L.) Agrociencia 36-37.
- Weet, J.J. 1973. Plant tissue and cell culture. University of California Press. Berkeley, Cal. 1(4):503-504.
- Appelqvist, J.B; R.L. Remello and D.L. Crawford . 1983. Lignocellulose degradation by Fusarium species. Can. J. Bot. 61: 1151-1158.
1976. A method for determining the resistance of maize to a. 13rd International congress of plant pathology. München 16-32.

Thomas, M.D. and I.W. Buddenhagen 1980. Mycologia. 72: 882-887.

Trapaña, A.J.A. 1980. Selección de material germoplásmico de trigo (Triticum aestivum L.) mediante el uso de la fitotoxina del agente causal Fusarium calmorum (W.G. sm) Sacc. bajo condiciones de laboratorio e invernadero. Tesis Profesional. ITESM.

Van Der Plank, J.E. 1968. Disease resistance in plants. Academic Press New York. p. 5.

Warren, H.L. and T. Kommendahl. 1973. Prevalence and phagogeneity to corn of Fusarium species from corn roots, rhizosphere, residues and soil. Phytopathology 63: 1288-1290.