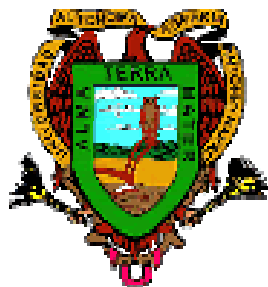


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



**Selección de Maíces Criollos Pigmentados resistentes al hongo
Fusarium moniliforme (Sheld.) y Sequía.**

POR:

JESÚS ISAÍAS PECH US.

TESIS

**Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:**

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Abril de 2006.**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**

Selección de Maíces Criollos Pigmentados resistentes al hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld.) y Sequía.

POR:

JESÚS ISAÍAS PECH US

TESIS

**Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial
Para obtener el Título de:**

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

Aprobada Por:

El presidente del Jurado

Dr. Ramón F. García Castillo.

Sinodal

Sinodal

Q.F.B. Ma. Elena González Guajardo.

Ing. Raúl Gándara Huitrón.

Sinodal

Dr. José Guadalupe Bolaños Juárez.

Coordinador de la División de Ciencia Animal

Dr. Ramón F. García Castillo.

**Buenvista, Saltillo, Coahuila, México
Abril de 2006.**

DEDICATORIAS.

A Dios por haberme permitido terminar mi carrera y poder regalarle ésta satisfacción a mis Padres, y por haber guiado e iluminado mi camino, también por ayudarme en la búsqueda de soluciones a mis problemas. Muchas Gracias Señor.

A MIS PADRES.

Sra. María Elena Us Pech.

Sr. Roberto Pech Santos.

Por que son mi escudo de batalla para superar día con día los obstáculos de la vida.

Por permitirme la vida, que es lo más bonito que los padres pueden dar a los hijos, por ésta oportunidad, sus consejos, comprensión y cariño, sobre todo por la confianza que depositaron en mí cuando un día me alejé de ustedes, gracias por que se quitaron el pan de la boca para dárnoslo a nosotros sus hijos.

A ti Papá, por ser un ejemplo a seguir, por que creíste en mí y me diste la educación y oportunidad de superarme, gracias por que siempre te preocupaste por nosotros. Gracias Papá.

A ti Mamá, por que eres lo mejor de mi vida, por que con mucho sufrimiento me diste la vida y cariño, por tus desvelos, cuidados y sacrificios, por que siempre estas con migo apoyándome, tus consejos siempre los llevo con migo, gracias Mamá porque tus bendiciones siempre llegaron a mí y por todo lo que has hecho por nosotros

Dios los bendiga siempre.

A mis hermanitos:

Roberto

Josué y

Carlos Enrique

Por que también pusieron de su parte, empeño y esfuerzo por hacer posible mi formación, por lo momentos felices y tristes que pasamos juntos, muchas gracias.

A todos mis primos con quienes compartí mi infancia y pasamos buenos momentos, con afecto a ustedes; por que algún día vean realizado sus sueños.

A todos mis Tíos por que de alguna forma siempre estuvieron con nosotros apoyándonos.

A la Familia Pech España, por que forman parte de mí y que de alguna manera participaron en mi formación.

A mi sobrino, José Roberto, porque trajo alegría en la casa, por que algún día pueda compartir sus travesuras.

A mis Abuelitos:

Maria Amada Santos Martín.

Lino Javier Pech Fuentes.

Ma. Magdalena Pech Ballote.

Santos Us Can.

Le doy a gracias a Dios por que aún les da vida y pudieron ver culminado mi formación, y por sus consejos y cuidados que pusieron en mí.

A mi Abuelito Sr. Javier, por sus consejos, ejemplos y el tiempo que empleó en las pláticas con nosotros sus nietos, muchas gracias.

A mis amigos y paisanos:

Víctor, Mario, Adalberto, Isaías, Miguel, Gleyber, Jesús E., José gó, Marcos, Miguel, Ángel, Amado, Felipe, Juan Ramón, Julio, Juan, Jorge, Juan P., Mayra, More, Ana Rosa, Elvia, Vicky, Socorro, Lucia, Juanita, Yesenia y Nicte Há, con quienes compartí parte de mi vida.

A mis paisanos los Chenes que juntos pasamos por maravillosos y duros momentos pero que unidos como siempre, logramos sonreír hasta en los peores momentos.

AGRADECIMIENTOS

A MI “ALMA MATER”.

Por abrigarme en su seno desde el primer día que ingresé en ella, hasta el final de mi carrera, porque me ayudó a superarme y me enseñó a querer lo más hermoso que alimenta a nuestro pueblo Mexicano “El campo” y por que me enseñó a utilizar y aprovechar al máximo los frutos que nos brinda, muchas gracias.

Mi más sincero agradecimiento a la **Q.F.B. Maria Elena González Guajardo**, por que me aceptó en el servicio social y posteriormente como su tesista, por su tiempo y dedicación, así como por su apoyo incondicional y confianza que me ofreció durante el trabajo, gracias maestra por sus sugerencias en la revisión y por todo el apoyo que me brindo para terminar exitosamente este trabajo, muchas gracias.

Agradezco a la **M.C. Cristina Vega Sánchez**, por el apoyo brindado con sus materiales y por la revisión del presente trabajo.

Agradezco al **Dr. Ramón F. García Castillo** por la revisión del trabajo y por formar parte del jurado calificador.

Agradezco al **Dr. José Guadalupe Bolaños Juárez** por su apoyo en la interpretación de la parte estadística y por sus sugerencias durante la revisión de la misma, muchas gracias.

Agradezco al **Dr. Alfredo de la Rosa Loera** por su apoyo en el análisis estadístico del trabajo, así como por su tiempo empleado en la revisión de la interpretación del trabajo.

Agradezco al **Ing. Raúl Gándara Huitrón** por el apoyo con la genealogía de los materiales analizados, sus sugerencias en el trabajo y por formar parte del jurado calificador.

Agradezco a la **T.L.Q. Graciela Vázquez Rosales** por el apoyo brindado en el laboratorio, con la toma de lecturas y por su confianza muchas gracias.

Agradezco a la **T.Q.L. Martha Jaramillo Sánchez** por su apoyo en el laboratorio y por que siempre supo alentarme con sus pláticas y ejemplos durante el tiempo que llevo el presente trabajo.

Agradezco también a uno de mis mejores amigos Víctor M. por que desde que llego con nosotros a sido como un hermano para mí, por que siempre tuvimos un tiempo para escucharnos y nunca faltó un consejo de su parte, por las alegrías y tristezas y por que en algunos casos nos enojamos pero que nuestra amistad nos mantuvo en las buenas y en las malas, y que siempre me acompañó en las buenas comidas y en los tacos con sal, gracias amigo.

A todos los maestros de esta Institución que contribuyeron en mi formación Profesional, al brindarme parte de sus conocimientos y su amistad durante mi carrera. Gracias.

A la **División de Ciencia Animal** y a sus maestros por sus enseñanzas para culminar la carrera de Ingeniero Agrónomo Zootecnista. Muchas gracias.

Al **Instituto Mexicano del Maíz (I.M.M.)** porque contribuyó con sus instalaciones en la realización de este trabajo. Muchas gracias

Agradezco a la **Fundación Desarrollo Educacional de Campeche (FUNDEC)** por la Beca Crédito con que me apoyó para poder solventar parte de mis estudios y lograr el término de mi carrera. Muchas gracias.

INDICE

DEDICATORIAS.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	IV
INDICE DE CUDROS.....	IX
RESUMEN.....	X
I. INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	3
OBJETIVOS GENERALES.....	6
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
HIPÓTESIS.....	7
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	8
Información general del <i>Fusarium moniliforme</i> Sheld y <i>Gibberella fujikuroi</i> Saw.....	8
Descripción del genero <i>Fusarium</i>	9
Taxonomía del hongo.....	9
Distribución e importancia de la pudrición de tallo y mazorcas en el maíz causadas por <i>Fusarium</i>	11
Toxinas.....	13
Síntomas anatómicos y Fisiológicos producidas por las toxinas.....	14
Clasificación de las toxinas.....	15
Impacto de las toxinas en el desarrollo de enfermedades.....	16
Producción de toxinas por <i>Fusarium moniliforme</i>	18
Métodos de inoculación artificial del hongo <i>Fusarium moniliforme</i>	19
Método de inyección.....	19
Método de Bala (BB – pellet).....	20
Método de la punta de la mazorca (Tip – of – Ear).....	20
Método de palillo de dientes.....	21
Método del filtrado toxico <i>in Vitro</i>	22

Etapas Fenológicas del maíz y Fases en las cuales el maíz es más susceptible de ser atacados por <i>Fusarium moniliforme</i>	22
Fases en las cuales las plantas son más susceptibles de ser atacados por <i>Fusarium moniliforme</i>	24
Mecanismos de resistencia de las plantas al ataque de las toxinas.....	25
Control y combate de las enfermedades.....	27
Conceptos sobre sequía.....	29
Función del agua en la planta.....	30
Efectos de las sequías sobre las plantas.....	31
La resistencia a la sequía.....	32
Características de las plantas resistentes a las sequías	34
Rasgos morfológicos.....	35
Rasgos fisiológicos.....	35
Métodos de estudio para la resistencia a sequía.....	36
Método de invernadero.....	38
Método de laboratorio.....	39
Método de campo.....	40
Selección de genotipos resistentes a sequía mediante agentes osmóticos.....	40
Sacarosa.....	40
Manitol.....	41
Polietilenglicol (PEG).....	42
Cloruro de sodio.....	42
 III. MATERIALES Y METODOS.....	 43
Selección de genotipos de maíz resistentes a enfermedades.....	45
Recolección del material enfermo.....	47
Preparación del medio para aislamiento del patógeno.....	47
Aislamiento del hongo en laboratorio.....	48
Siembra del material enfermo.....	50
Conservación del patógeno.....	51

Preparación del medio para la obtención de filtrado tóxico PDS.....	52
Inoculación del medio PDS.....	54
Agitación del PDS inoculado.....	55
Pasteurización.....	56
Siembra del material genético en cajas de petri con papel sanita y filtrado tóxico.....	57
Selección de genotipos de maíz tolerantes a sequía.....	58
Siembra en taco (papel germinador o secante) secuestradores de humedad.....	59
Descripción del manitol.....	60
Preparación de la solución del manitol.....	60
Cálculos de la presión osmótica.....	61
Preparación de la solución del manitol.....	62
Preparación del material para la siembra.....	63
Siembra de los materiales.....	63
Incubación.....	63
Toma de datos.....	64
Análisis estadístico.....	64
Modelo lineal y prueba de hipótesis.....	64
 IV. Resultados y discusión.....	 68
V. Conclusiones.....	86
VI. Bibliografía.....	89

INDICE DE CUADROS.

Cuadro.	Pág.
1 Material genético utilizado.....	43
2 Modelo del análisis de varianza para una distribución completamente a la azar.....	65
3 Análisis de varianza para la variable longitud de raíz, inoculado con el hongo <i>Fusarium moniliforme</i> (Sheld.).....	68
4 Concentración de medias para la variable longitud de raíz inoculado con filtrado tóxico de <i>Fusarium moniliforme</i> , de acuerdo a la prueba de DUNCAN con $\alpha = 0.05$	69
5 Análisis de varianza para la variable longitud de plúmula inoculado con <i>Fusarium moniliforme</i>	72
6 Concentración de medias para la variable longitud de plúmula, Inoculado los genotipos con el filtrado tóxico del <i>Fusarium moniliforme</i> de acuerdo a la prueba de medias DUNCAN con $\alpha = 0.05$	73
7 Análisis de varianza para la variable longitud de raíz sometido los genotipos bajo un déficit hídrico con manitol.....	77
8 Concentración de medias para la variable longitud de raíz bajo un déficit hídrico con manitol, de acuerdo a la prueba de DUNCAN con $\alpha = 0.05$	78
9 Análisis de varianza para la variable longitud de plúmula, bajo estrés hídrico con manitol.....	81
10 Concentración de medias para la variable longitud de plúmula bajo estrés hídrico con manitol, de acuerdo a la prueba de DUNCAN con $\alpha = 0.05$	82

RESUMEN.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de cultivo de tejidos “*in Vitro*” del Instituto Mexicano del Maíz (I. M. M.) “Dr. Mario Castro Gil” de la UAAAN.

Su importancia radica en la necesidad de seleccionar materiales que sean resistentes a los daños severos como lo es la sequía, y a las incidencias de enfermedades causadas por el hongo *Fusarium moniliforme* en tallos y mazorcas, ya que urge recuperar nuestras semillas criollas que forman parte de la alimentación del pueblo mexicano y que son la base genética para producir variedades que incluyan un mejoramiento integral.

Se contó con 24 genotipos de maíces pigmentados a los cuales se les práctico la prueba de resistencia al filtrado tóxico de *Fusarium moniliforme* y a secuestradores de humedad con manitol, realizando 20 repeticiones para cada material.

Para el análisis de *Fusarium moniliforme* se practicó la técnica de siembra con cajas de petri, los cuales fueron esterilizados previamente, dentro de las cajas se acomodaron dos círculos de papel sanita y se colocaron cinco semillas en cada caja de petri, luego se prosiguió a saturar el papel sanita con el filtrado tóxico al 25 por ciento, terminado esto se instalaron las siembras en una cámara germinadora con temperaturas entre 25 a 30°C sin luz.

Para el análisis de sequía se optó por la técnica de taco humedeciendo el papel sanita con manitol hasta que cubriera completamente la humedad, después se sembraron en el centro del papel sanita cinco semillas por repetición para cada material.

Se tomaron lecturas en centímetros para la variable longitud de raíz y plúmula, para la prueba del filtrado tóxico de *Fusarium moniliforme* las lecturas se tomaron cada octavo día, pero al tercer día después de la siembra se la agregaba 15 ml del sustrato tóxico debido a la resequedad del sustrato por las temperaturas existentes en el interior de la cámara germinadora.

Para la prueba de sequía las lecturas se tomaron al séptimo día después de la siembra, tomándose medidas en centímetros para las variables longitud de raíz y plúmula.

Teniendo ya las medidas de cada variable en las dos pruebas se prosiguió a someterlos a un análisis estadístico, donde se usó un diseño de distribución completamente al azar, utilizando la prueba DUNCAN con $\alpha = 0.05$, encontrándose en ambas pruebas alta significancia.

Con lo anterior pudimos conocer aquellos materiales que muestran resistencia al filtrado tóxico de *Fusarium moniliforme* y a la prueba de sequía utilizando manitol como secuestrador de humedad.

Los mejores criollos pigmentados con resistencia a la incidencia de *Fusarium moniliforme* fueron el 1310 y el 1219, y los seleccionados como tolerantes a la sequía son el 2406 y el 2405.

I. INTRODUCCIÓN.

El maíz en México es mucho más que un cultivo, es el elemento central de la cultura culinaria rural y urbana, es corazón de la historia y el presente de los pueblos de México, de su economía, de sus religiones e ilusiones.

Las semillas criollas nos han garantizado el alimento y forman parte de nuestra cultura, están adaptadas a nuestro ambiente, soportan sequías, suelos pobres y enemigos naturales, además se pueden almacenar por largos períodos de tiempo, cosa que no es posible con las semillas mejoradas, porque se agorran muy rápido. Los maíces criollos pigmentados en su mayoría son blandos y harinosos, característica importante para la elaboración de productos alimenticios, pero no se comercializan por no tener aceptación en el mercado.

La pérdida de muchas variedades de maíces criollos se debe en gran parte a que el agricultor ya no produce para su propia seguridad alimentaria, ahora se produce para el mercado, lo cual obliga a los agricultores a producir lo que el mercado pide y no lo que necesitamos y sabemos producir.

El cultivo del maíz fue uno de los primeros en sufrir el rigor de la transformación tecnológica, se empezaron a comercializar variedades de maíces blancos y amarillos, que eran los exigidos por los comerciantes y la industria, desplazando así gran cantidad de variedades criollas de colores.

Seamos conscientes de la importancia que revisten las semillas pigmentadas para la industria, estos son la base genética para desarrollar variedades mejoradas, si recuperamos las semillas y el conocimiento asociado a ellas, no solo rescatamos las semillas y conocimientos básicos para nuestra seguridad

alimentaria, sino que también estaremos en condición de defenderlos de cualquiera que se quiera apropiarse de ellas, esta es una forma de resistencia y rechazo a todas las formas de privatización de las semillas en general de la vida.

La pérdida de muchas variedades de maíces criollos pigmentados se debe en gran parte a que el mercado ha hecho que el agricultor se interese más en producir para tener dinero y no para tener seguridad alimentaria, pues la mayoría de los maíces criollos pigmentados se desconocen en el mercado.

Las variedades mejoradas de maíz en sus sistemas de monocultivo, con alto rendimiento de insumos y excelentes condiciones ambientales tienen altos rendimientos, lo que produce ventajas para los empresarios vinculados al campo y para las ciudades; mas no para el pequeño productor.

La importancia de recuperar nuestros maíces criollos de colores, es que éstos garantizan su alimento a la familia campesina, además de poderlos almacenar por largos períodos de tiempo sin que se agorjen.

Los maíces criollos están adaptados a nuestro ambiente y soportan sequías pudiendo ser sembradas en asociación con otros cultivos como la yuca (*Manihot sculenta* Crantz) y ñame (*Dioscorea* spp.) que forman parte de nuestro sistema de producción y garantizan la seguridad alimentaria.

Si perdemos el maíz no solo perdemos las semillas de maíz, sino también la seguridad alimentaria de nuestras zonas urbanas y además de que estos maíces criollos son la base genética para producir variedades que incluyan un mejoramiento integral, que en el caso de los maíces pigmentados reditué en mayores ventajas tanto para consumo directo como uso industrial además de resistencia a enfermedades y condiciones adversas.

Justificación.

En México, las zonas semiáridas cubren una superficie aproximada de 3.3 millones de hectáreas y tiene una precipitación de 200 a 450 mm anuales. Por otra parte el área de temporal suma el 80 % de la superficie total cultivable.

La sequía es uno de los factores que mas 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 pierde de 23 a 37 % del área sembrada, por efecto de la sequía.

En la actualidad solo la actividad pluvial y el riego oportuno puede aliviar por completo los efectos de la sequía sobre el rendimiento de los cultivos. Actualmente no existe un método confiable para aumentar la precipitación, durante los periodos de sequía.

Si no se dispone de agua para irrigación las únicas soluciones son prácticas de cultivos que aumenten la disponibilidad de agua en el suelo o la generación de nuevas variedades o híbridos que puedan tolerar en forma más eficiente la sequía. Entre los trabajos para seleccionar materiales tolerantes a sequía destacan los métodos de laboratorio e invernadero que hacen innecesario recurrir a experimentos en el campo, ya que en estos no hay la seguridad de contar con los periodos de sequía experimentalmente requeridos.

Una forma en la que podemos determinar la viabilidad y seleccionar genotipos tolerantes a sequía es mediante experimentos de laboratorio en condiciones controladas y uniformes.

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

Entre las enfermedades de mayor importancia se encuentran algunas que causan grandes daños, como lo es la pudrición de tallos y mazorcas provocado por el hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld.) la cual constituye el principal problema fitopatológico de este cultivo a nivel nacional, existiendo regiones en donde se reduce la cosecha hasta mas de un 30 % y en otras afecta la calidad del grano.

Esta enfermedad es de suma importancia puesto que acompaña a la necrosis del tallo ocasionando el acame de las plantas, lo cual además de las pérdidas en el rendimiento, trae consigo dificultad en la cosecha y baja calidad en el producto a consecuencia de las pudriciones de las mazorcas.

La importancia de la técnica de selección *in Vitro* de genotipos resistentes a enfermedades, se desprende del problema actual que presenta la presencia de enfermedades en los cultivos de interés a nivel nacional, buscando con esto un método de evaluación rápida y económica comparado con los métodos tradicionales y con la ventaja de que no se disemina la enfermedad.

El control de esta enfermedad utilizando el método químico, además de aumentar los costos de producción, no es muy efectivo por la capacidad de este hongo para invernar, lo que hace necesario buscar otro método para detectar material genéticamente resistente y de esta manera se incrementa la producción y se evita el uso de productos químicos en el control de enfermedades.

Por lo anterior el Instituto Mexicano del Maíz (I. M. M.) perteneciente a la UAAAN hace uso del filtrado tóxico donde previamente se ha desarrollado el

patógeno, para la evaluación y selección de germoplasma en estado de plántula bajo condiciones de laboratorio, en donde se ha constatado que los resultados obtenidos a nivel plántula coinciden aún en las últimas etapas fonológicas del cultivo.

Objetivos generales.

1. Utilizar la metodología *in Vitro* como apoyo al programa de mejoramiento genético del maíz, como un criterio mas de selección de genotipos tolerantes a sequía y a la pudrición del tallo y mazorca provocado por el hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld.).
2. Contribuir a conservar la biodiversidad en México de los maíces, principalmente los maíces criollos pigmentados.
3. Determinar si existen materiales que presenten tolerancia tanto a sequía como a *Fusarium moniliforme* (Sheld.).

Objetivos específicos.

1. Comprobar cual o cuales de los maíces criollos que el Instituto Mexicano del Maíz tiene contemplado dentro de su programa de Mejoramiento genético, son los que resulten los más sobresalientes
2. Detectar los maíces criollos pigmentados que sean tolerantes a enfermedades y a condiciones adversas del medio ambiente.

3. Comparar las variables evaluadas de longitud de plúmula y de raíz para determinar los mejores materiales.

Hipótesis.

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

1. Existe gran variabilidad en respuesta de los materiales criollos evaluados en el laboratorio en presencia de secuestradores de humedad y al filtrado toxico del hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld.).
2. Dentro de los maíces criollos pigmentados existe algún o algunos criollos que presentan resistencia a la incidencia del hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld.).
3. Los materiales que sean seleccionados para la resistencia a *Fusarium moniliforme* podrían ser los mismos que se seleccionen para tolerancia a sequía.

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

Información general del *Fusarium moniliforme* Sheld y *Gibberella fujikuroi* Saw.

Damarys et al (1976) cita que el hongo *Fusarium moniliforme* es el más importante en cuanto a enfermedades fungosas se refiere que limita en gran medida la producción de maíz, causando cuantiosas pérdidas económicas; así como cambios en su contenido nutritivo, sabor en los productos y contaminación de los granos con micotoxinas, además se sabe que este hongo es el más frecuente encontrado atacando a la mazorca.

González et al. (1988) mencionan que *Fusarium moniliforme* (Sheld.) ha sufrido un incremento sustancial a través del tiempo convirtiéndose en el causal de una enfermedad muy importante en la pudrición de la mazorca y el grano, esto se incrementa aun más por la práctica del monocultivo de este cereal.

García (1984) reporta que *F. moniliforme*, causa la pudrición del raíz, de la caña y de la mazorca, así como la marchités de las plántulas. Aunque menciona que esta enfermedad es menos común que la pudrición rosada causada por el hongo *Gibberella saubunetti*.

López et al. (1990) realizaron estudios de las pérdidas causadas por la pudrición de la mazorca de maíz en Taulabe Comayahua, Honduras en el año de 1987. Encontrando que *Fusarium moniliforme* (*Giberella fujikuroi*) y *Sternocarpella*

ssp., fueron identificadas como los agentes causales de la pudrición de la mazorca produciendo pérdidas estimadas del 25.8 por ciento.

Marín et al. (1992) realizaron estudios sobre las enfermedades de los cereales en Cataluña, España, encontrando que en maíz *Ustilago zeae*, *Fusarium moniliforme* (*Giberella fujikuroi*) y *G. zeae* fueron los agentes causales mas importantes de las enfermedades mencionadas.

Descripción del género *Fusarium*.

Romero (1993) cita que el género *Fusarium moniliforme* fue descrito por Link en 1915 quien consideró las siguientes características: conidioforos alargados en forma de botella, con ramas a intervalos regulares o verticilados, septadas, individuales o agrupados en esporodoquios; conidios de dos tipos, a saber: microconidios elípticos piriformes, unicelulares; 1) macroconidios falcados, 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 pie; clamidosporas, si se producen globosas, uni o bicelulares, lisas o rugosas y generalmente de color café.

Taxonomía del hongo.

Romero (1993) menciona que el arreglo de la taxonomía dentro del género *Fusarium* varía de acuerdo a los autores dedicados a su estudio. Así, Saccardo

menciona cerca de 500 especies; Reinking y Wollenweber consideran solamente 139 en su libro “Die fusarien” publicado en 1935.

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

Reino.....Mycetae.

Subdivisión.....Amastigomycota.

Orden.....Moniliales.

Familia.....Tuberculariaceae.

Genero.....*Fusarium*.

Especie.....*moniliforme*.

Las características básicas para los miembros de esta clase son: existencia de micelio septado así como ausencia de reproducción sexual por medio de conidias, razón por la cual son llamadas hongos imperfectos.

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

Distribución e importancia de la pudrición de tallo y mazorca en el maíz causadas por *Fusarium*.

Romero (1993) menciona que la distribución del *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 les causa ahogamiento, pudriciones u otras anormalidades. En maíz provoca la pudrición del tallo y mazorcas, en la caña de azúcar la pudrición del tallo o Pokkah-bong y en el arroz la enfermedad de Bokanae o gigantismo provocado por la giberelina producida por este hongo.

Mc Gee (1988) señala que de las pudriciones causadas por las especies *Fusarium moniliforme* y *F. graminearum*, la especie moniliforme es la mas reportada como causante de daños en las zonas maiceras de México, especialmente cuando las plantas se acerca a la madurez y ésta se encuentra asociada con períodos de sequía. Pérez (1985) reporta una marcada y sobresaliente incidencia de este patógeno en tallos de maíz por daños de podredumbre en la zona maicera del bajo.

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

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

Zwatz (1984) indica que las condiciones de temperatura en Austria favorecieron la producción de micotoxinas por el patógeno *Fusarium ssp* en el campo y en el almacén los hongos *Aspergillus sp*, *Penicillium sp* y *Alternaria sp*, están relacionadas con la calidad del forraje y sanidad de los animales.

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

García (1979) encontró que *Fusarium moniliforme* se encuentra establecido en las zonas maiceras de México las cuales tienen las condiciones bióticas y abióticas necesarias para la sobrevivencia del hongo, el cual causa cuantiosas pérdidas en las cosechas.

González y col. (1988) reportaron que en los estados de Puebla y Tlaxcala en los últimos años han tenido un incremento en el ataque de *Fusarium*

moniliforme provocando en las mazorcas con madurez fisiológica y comercial, germinación anticipada y pudrición del grano del maíz.

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

Toxinas.

Agrios (1991) reporta que 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. trisinctum*, y *F. oxysporum*. 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*.

Qureshi y Hagler (1992) citan que las fumonisinas B1 (FB1) son unos de los metabolitos recientemente descubiertos por *Fusarium moniliforme* (Sheld), ocurriendo de manera natural en maíz y causa la muerte de varias especies de animales incluyendo ratas, caballos, cerdos y patos.

Viñas (1984) reporta que la micotoxina Zearelenona fue encontrada en concentraciones bajas en los granos de maíz, señalando también que las especies de *Fusarium moniliforme* (*G. fujikuroi*) es el predominante.

Síntomas anatómicos y fisiológicos producidas por las toxinas.

Fuentes (1960) reporta que en las observaciones de los síntomas de infección por *Fusarium moniliforme* se denota un color rosado a rojizo hasta llegar al gris al extirpar el totomoxtle de la mazorca encontrándose que la pudrición invade a un grupo o grupos de mazorcas.

En el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT, 1978) se observó que al existir hongos con coloración café-rojiza en los entrenudos basales eran características de invasión del hongo *Fusarium moniliforme* el cual en ataques severos los debilita y estas plantas podrían sucumbir fácilmente por la acción del viento y de la lluvia. Además, al hacer disección del tallo se comprobó que el tejido parenquimatoso desaparecía y solo quedaban los conductos vasculares.

Álvarez (1988) menciona que cuando la infección por *Fusarium moniliforme* inicia por las raíces, trae como consecuencia que las hojas de la parte superior presenten coloración grisáceo y éstas mueren (la planta aparece como si hubiera helado de su parte terminal o de su parte donde está la panoja o espiga).

Stayer y Cantliffe (1987) concluyeron que ahogamientos, carbonos de plántulas, manchado de hojas, pudriciones de tallo, espiga, grano y raíz están relacionados con el ataque de *Fusarium moniliforme*.

Clasificación de las toxinas.

Graniti (1972) menciona que las toxinas de acuerdo a su toxicología pueden clasificarse de la siguiente manera:

- A) Zootoxinas. Son producidas por animales entre los que podemos mencionar a los insectos, nemátodos, serpientes, arácnidos y peces.
- B) Fitotoxinas. Son sustancias alcaloides y glucósidas las cuales excretan hongos y plantas clasificadas como superiores.
- C) Toxinas microbiales. Son excretadas por organismos unicelulares como son los hongos y bacterias, microplasma y spiroplasma, las cuales producen sustancias como micotóxicas, aflatoxinas y botulinas.

Wheeler (1975) clasifica a las toxinas conforme a los síntomas que se producen en el organismo.

- A) Patotoxinas. Se asemejan al agente causal produciendo todas las características de la enfermedad en las plantas susceptibles, como ejemplo de este caso podemos mencionar a *Victoriana*, *Fusicoccina* y antimetabolitos de la metionina.

- B) Vivotóxicas. Son sustancias producidas en el hospedero infectado y que manifiestan solamente una parte de los síntomas. En esta categoría podemos encontrar el ácido fusárico que son toxinas no específicas.
- C) Fitotóxicas. Estas son sustancias producidas por el patógeno, pero no manifiestan ninguno de los síntomas de la enfermedad que producen y como ejemplo tenemos el ácido fusárico, el cual es sintetizado por metabolismo de *Alternaria solani*.
- D) Fitoagresiva. Son sustancias que en bajas concentraciones no son tóxicas al huésped, pero son responsables de toda la sintomatología de la enfermedad.

Impacto de las toxinas en el desarrollo de enfermedades.

Graniti (1972) menciona que las toxinas son sustancias producidas por organismos vivos en pequeñas cantidades activas, las cuales tienen efectos en el hospedero como estimulantes, inhibitorios y en algunos casos letales al organismo de acuerdo al lugar donde se produjo.

Estas pueden deambular en todo el organismo, ya que son fácilmente translocables y difusibles, además, tienen la cualidad de no volatilizarse y ser perjudiciales a las plantas, animales y personas.

Ley (1985) indica que la enfermedad equina llamada Leucoencefalomalacia guarda una estrecha relación, ya que ésta se presenta cuando el animal ha sido alimentado con maíz contaminado por *Fusarium moniliforme* aunque aun no se sabe que micotoxina es responsable de este trastorno.

Douglas y Contreras (2005) señalan que la contaminación con micotóxicas puede ocurrir en el cultivo durante la cosecha, en el almacenaje e incluso después de fabricar el alimento. Las micotóxicas son compuestos muy estables que causan una amplia variedad de efectos perjudiciales a las aves, los cuales dependen de la naturaleza y concentración de la micotoxina en la dieta, especie, edad, estado nutricional y de salud del ave al momento de recibir alimento contaminado.

Las micotoxinas que mas afectan el sistema inmune de las aves son aflatoxinas, ocratoxinas y tricotecenos, sus efectos son:

- A) Aflatoxinas. En el sistema inmune puede presentarse a nivel de la respuesta celular o sobre los efectos humorales, cuyos efectos provocan atrofia de la Bursa de Fabricio, Timo y Bazo.
- B) Ocratoxinas. Afectan también al metabolismo de los carbohidratos, especialmente la gluconeogenesis, cuando se administra ocratoxina a los animales, se observa Linfocitopenia y disminución de las células linfoides, especialmente en le timo, Bursa de Fabricio y las placas de Peyer.
- C) Tricotecenos. Parece ser que el efecto tóxico produce una inhibición primaria de la síntesis de proteína, seguido de una interrupción de la síntesis de ADN y ARN, el efecto tóxico de los tricotecenos, especialmente de la toxina T-2 y DAS, consideradas las más cáusticas dentro del grupo, resulta en una necrosis extensa de la mucosa oral y de la piel que se pone en contacto con las toxinas.

Agrios (1996) cita que la Zearelenona, es producida por *Fusarium moniliforme*. Esta toxina es mas tóxica para el cerdo, en el cual ocasiona anormalidades y degeneración del sistema genital, conocido como el “síndrome estrogénico”. Los cerdos hembras que se alimentan con forraje que contiene dicha toxina muestran vulvas hinchadas en las que se produce lesiones por sangrado, atrofia, ovarios no funcionales, aborto y procrean además crías que al nacer son pequeñas y débiles.

El mismo autor indica que las ocratoxinas ocasionan la degeneración y necrosis del hígado y el riñón, así como también otros síntomas en los animales domésticos. Algunas de estas toxinas persisten en la carne de los animales alimentados con forrajes contaminados y pueden ser transmitidas a la cadena alimentaria humana planteando posiblemente un problema de salud pública.

Producción de toxinas por *Fusarium moniliforme*.

Douglas y Contreras (2005) mencionan que las micotoxinas son capaces de producir efectos tóxicos y depresión del sistema inmune, pero los cuadros clínicos de inmunosupresión se pueden conducir con otros agentes patológicos. El hecho de que exista una gran variedad de micotoxinas que afectan diversos órganos, dificulta aun más el reconocimiento de la condición.

Vasonder (1986) indica que al analizar maíz y avena posiblemente sanos los cuales fueron utilizados para alimento de caballo, detectó en ellos la toxina

llamada aflatoxina en condiciones menores de 10 ppm, cantidad que no es suficiente para intoxicar un equino.

Stebbins (1981) realizó en tallos de maíz cinco aislamientos de *Fusarium roseum*, en los cuales identificaron dos micotoxinas importantes denominados Zearalenona y Vomitoxina.

Kimura (1981) señala que a través de un método sistémico es posible purificar micotoxinas producidas por *Fusarium moniliforme* como el Nivalenol, Toxina T-2, Toxina H T-2, Moniliformina y Zearalenona.

Métodos de inoculación artificial del hongo *Fusarium moniliforme*.

Las necesidades de poder evaluar materiales con diverso grado de resistencia a *Fusarium moniliforme*, ha permitido desarrollar métodos confiables de inoculación del hongo.

Estos métodos nos permiten tener la seguridad de que el hongo se encuentra presente infectando a la planta en cualquiera de sus órganos.

Método de inyección.

Consiste en mantener cautivas y en suspensión esporas del hongo *Fusarium moniliforme*, en un matraz Erlenmeyer, de donde son extraídas a través de una jeringa hipodérmica, con el cual son inyectados varios mililitros de la

suspensión por todas las bracteas y dentro de la punta de la mazorca. La inoculación mas efectiva del hongo con este método es 10 días después de espigar produciendo el mayor grado de infección.

Flores y Delgado (1991) evaluaron la técnica de inoculación *in Vitro* e invernadero de progenitores de híbridos de maíz para determinar tolerancia a *Fusarium moniliforme*. Encontraron una alta correlación entre los resultados obtenidos en el 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 *Fusarium moniliforme*.

Método de Bala (BB-pellet).

Para poder realizar este método, es necesario tener la pistola BB, lo que permite que al ser detonado dentro de la mazorca, lo cubrirá con esporas hasta una profundidad de aproximadamente dos pulgadas debajo de la punta, se concluye que las etapas más eficaces por la inoculación con este método son 10, 15 y 20 días después de espigar el maíz, ocurriendo así la mas alta infección en materiales susceptibles.

Método de la punta de la mazorca (Tip-of-Ear).

Este método consiste en separar las bracteas hacia abajo, hasta que la punta de las mazorcas quede completamente descubierta, aprovechando para

aplicar 10 milímetros aproximadamente de esporas en suspensión con la ayuda de una botella de plástico. Realizada esta acción se procede a reacomodar nuevamente hasta cubrir la punta para mayor seguridad se recomienda colocar papel glassine y así evitar contaminaciones externas.

Método de palillo de dientes.

Gayla et al. (1980) describen el método de la siguiente manera:

Es necesario estar provisto de palillos de dientes comunes, los cuales son esterilizados ya sea hirviéndolos en recipientes o en autoclave de cuatro a seis veces con exceso de agua, con la finalidad de extraer residuos de compuestos fitotóxicos.

Posteriormente, estos son colocados en vaso de precipitado en forma vertical, cubiertos con una tercera parte de caldo de papa. Los vasos se tapan con papel aluminio y se procede a esterilizarlos en autoclave por 30 minutos a 121 °C. Una vez esterilizados se procede a sembrar con *Fusarium moniliforme* e incubado por espacio de tres semanas.

Para inocular las mazorcas es necesario insertar un palillo a través de las brácteas, en forma perpendicular a la axila de las mazorcas del maíz y éste se deja hasta el final de la cosecha.

Método del filtrado tóxico In Vitro.

Escobedo y Olivares (1987) lograron desarrollar el método de evaluación *in Vitro* de materiales de maíz para resistencia a *Fusarium moniliforme*. Esta técnica consiste en colocar los embriones extraídos del maíz, en un medio de cultivo adicionado con un 25 por ciento del filtrado tóxico del hongo, evaluándose a los 10 días la longitud del tallo, longitud de raíz, peso fresco y seco de la plántula.

Etapas Fenológicas del maíz y Fases en las cuales el maíz es más susceptibles de ser atacado por *Fusarium moniliforme*.

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

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

Villalpando (1990) considera que en la caracterización de cultivos es importante la definición de los conceptos de fase y etapa fenológica, por tal razón, se define a continuación.

Fase fenológica. Representa cada uno de los rasgos o fenómenos periódicos que presentan los vegetales.

Etapa fenológica. Es el intervalo comprendido entre dos fases sucesivas como por ejemplo, la etapa de floración, amarre o de fruto.

Álvarez (1988) muestra el esquema siguiente de un maíz con un ciclo de 110 días, con 10 fases y 14 etapas.

Fases.	Días.
1. emergencia del coleóptilo.	7
2. primeras raíces de la corona y tercera hoja de emergencia.	14
3. Alargamiento rápido del tallo y formación del nudo.	30
4. Formación de la mazorca.	42
5. Formación de la espiga.	49
6. Derrame del polen.	56
7. Emergencia del jilote.	60
8. Expansión rápida de la mazorca.	65
9. Madurez Fisiológica.	95
10. Madurez comercial.	110

Etapas.	Días.
1. Crecimiento seminal de la raíz.	2 al 15
2. Crecimiento de la corona de la raíz.	4 al 59
3. Crecimiento de la hoja principal.	8 al 49
4. Diferenciación de la espiga.	19 al 26

5. Diferenciación del vástago de la mazorca.	22 al 30
6. Dehiscencia.	56 al 70
7. Polinización.	6 a 63
8. Iniciación del embrión.	64
9. Formación del meristemo de la plántula / radícula.	73
10. Acumulación del almidón del endospermo.	74 a 84
11. Formación de las células meristemáticas de la punta del tallo del coleóptilo y radícula.	75
12. diferenciación del eje de la plántula / radícula.	81
13. Formación de células meristemáticas del primer entrenudo y de la hoja.	101
14. Maduración del grano.	110

Villalpando et al. (1971) mencionan que la siembra, emergencia, octava hoja, floración, estado lechoso, estado masoso y madurez fisiológica, son las principales fases fenológicas del maíz.

Fases en las cuales las plantas son más susceptibles de ser atacados por *Fusarium moniliforme*.

Una gran cantidad de investigadores en sus observaciones concluyen que *F. moniliforme* ataca con mayor efectividad en la fase del crecimiento seminal de la raíz *in Vitro* y después de la floración en las plantas establecidas en campo. Lo

cual nos permite evaluar tolerancia a través del laboratorio y de campo con eficiencia.

Scoott y Futrell (1970) redujeron los porcentajes de germinación hasta en un 42 a 49 por ciento, cuando aplicaron al suelo *Fusarium moniliforme* reduciendo el crecimiento del tallo.

La Sociedad Americana de Fitopatología (1980), indica que la presencia de hongos de coloración café-rojiza, empieza a desarrollarse en las partes superiores de los granos o conjunto de ellos distribuidos en la espiga.

El hongo inicia su invasión inmediatamente después de que ha sido efectuada la polinización, a esta acción del hongo se le conoce como infección prematura la cual se agrava a medida que la planta llega a su madurez.

Escobedo y Olivares (1987) reportan que al evaluar materiales *in Vitro* en medios de cultivo adicionado con filtrado tóxico encontraron una significativa reducción en longitud del tallo, raíz, peso fresco y seco de la plántula a los 10 días de sembrada.

Mecanismos de resistencia de las plantas al ataque de toxinas.

Agrios (1996) comenta que las plantas contrarrestan el ataque de los patógenos mediante características estructurales que actúan como barreras físicas e impiden que el patógeno penetre y se propague en ellas, o por medio de

reacciones bioquímicas que tienen lugar en células y tejidos, las cuales producen sustancias tóxicas para el patógeno o crean condiciones que inhiben su desarrollo.

La combinación de las características estructurales y reacciones bioquímicas que utilizan las plantas para defenderse de los patógenos difieren en las distintas interacciones hospedantes – patógeno, incluso al tratarse del mismo hospedante y patógeno, las combinaciones con la edad de la planta, el tipo de órganos y tejidos de ésta al ser atacados y el estado nutricional de la planta así como las condiciones climáticas.

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

Resistencia verdadera. La resistencia a las enfermedades que es encontrada genéticamente por la presencia de uno, varios o muchos genes para la resistencia de las plantas contra el ataque al patógeno, se conoce como resistencia verdadera. En este tipo de resistencia, el hospedante y el patógeno son más o menos incompatibles entre si, debido a la falta de reconocimiento químico entre ellos, o por que la planta hospedante se defiende a si misma del patógeno mediante los diferentes mecanismos de defensa que ya tiene, o activados, en respuesta a la infección por el patógeno, existen dos tipos de resistencia verdadera: horizontal y vertical.

1. **Resistencia horizontal.** Todas las plantas tienen un cierto nivel de resistencia no específica, pero no siempre la misma, que es eficaz contra cada uno de sus

patógenos. Esta resistencia está bajo el control de muchos genes, de ahí el nombre de resistencia poligénica o de genes múltiples. El gran número de genes que participa en la resistencia horizontal al parecer controla las diversas etapas de los procesos fisiológicos de la planta, que generan las sustancias y estructuras que sus mecanismos de defensa. La resistencia horizontal no evita que las plantas sean infectadas sino que retarda el desarrollo de cada uno de los loci de infección en la planta, y por lo tanto, retrasa la propagación de la enfermedad,

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

Control y combate de las enfermedades.

Existen hasta la fecha diferentes métodos para poder reducir los ataques de *Fusarium moniliforme* los cuales no son totalmente confiables, sin embargo, han sido utilizados como pocas opciones en causas muy extremas.

Entre los métodos podemos mencionar al químico, biológico y cultural.

Daniels (1983) menciona que el combate de los hongos sistémicos en la semilla con agua caliente, alternándola con agua fría, controla a *Fusarium moniliforme* en semillas de maíz infestado en forma natural. El tratamiento consiste en remojar la semilla en agua destilada por períodos de cuatro horas a una temperatura de 60 °C, sin que se vea afectada la germinación.

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

Río (1990) estudió el efecto de la aplicación de 104 Kg/ha de potasio en combinación con la quema de rastrojo sobre la incidencia y severidad de la pudrición de mazorcas en el maíz Guayape blanco 102, causado por *Sternocarpella maydis* y *Fusarium moniliforme* en Honduras. Encontró que la quema de rastrojo destruyó algún material o planta contaminados y la severidad de la enfermedad decreció, pero no influyó significativamente sobre la incidencia. El potasio no tuvo un efecto significativo sobre la incidencia y severidad de la enfermedad.

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

Sequía.

Conceptos sobre sequía.

El agua es el líquido más abundante e importante para los seres vivos, pero que en condiciones de campo en gran medida el abastecimiento es inadecuado para un buen desarrollo de las plantas por lo tanto los procesos fisiológicos de las plantas como la transpiración, respiración, y fotosíntesis que son vitales para el buen crecimiento de las plantas, pueden ser adversamente influenciadas por el déficit hídrico.

Griffiths (1985) en el glosario de meteorología define a la sequía como un período anormalmente seco, para que se presente un desarrollo hidrológico como daños a cultivos, escasez de agua, etc, dentro del área afectada.

Brawer (1985) señala que la importancia de los programas de mejoramiento de maíz de temporal y la conveniencia de incorporar a los maíces regionales temporales, genes de resistencia a la sequía de manera que estos maíces permitan al agricultor obtener una cosecha modesta en condiciones en que generalmente se pierde a causa de la sequía.

Rajaram (1989) señala a la sequía como un período durante el cual la carencia de humedad de la planta y/o del suelo afecta el crecimiento y desarrollo de los cultivos.

Kramer (1980) menciona que 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.

Quizemberry (1987) define a la sequía como cualquier período durante el cual las deficiencias de agua en el suelo afectan el crecimiento y desarrollo de las plantas cultivadas.

Función del agua en la planta.

Maximov (1954) menciona que cuando el agua se introduce en las plantas y se esparce en los tejidos realiza las funciones esenciales que explican el porqué le es indispensable.

- 1). Vuelve permeable a las membranas de las células.
- 2). Se infiltra y llena las vacuolas de estas 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.

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

Efecto de la sequía sobre las plantas.

Quesada y Muñoz (1985) estudiaron el efecto de la sequía en diferentes estadíos de crecimiento en el maíz H-28 y 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 marcada en la primera.

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

Espinoza y col. (1994) mencionan que al evaluar el efecto del déficit hídrico en el crecimiento del tallo en 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 la longitud de tallo.

Robledo y col. (1993) consideran que el déficit hídrico es uno de los factores que en mayor grado limitan la producción de los cultivos. El maíz aun cuando es uno de los cultivos más tolerantes a los déficits hídricos, también es afectado por éstos de ahí que año con año se presenten desde ligeros

decrementos hasta pérdidas totales en la producción de granos, esto dependerá de la intensidad y duración de la sequía y de la etapa fenológica del cultivo.

La resistencia a la sequía.

Resistencia de una planta hacia la sequía, es la capacidad que ésta tiene para sobrevivir ante condiciones de sequía ambiental.

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

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

Fischer et al. (1984) comentan que 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.

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 sequía.

Jugenheimer (1981) cita que la resistencia a la sequía es un fenómeno complejo. Las hojas de algunas líneas puras e híbridas son dañadas severamente por el calor y la sequía, mientras que otras que crecen al lado pueden permanecer verdes y sin daños aparentes durante severos periodos de sequía.

Quizenberry (1987) dice que para el fitomejorador el término resistencia a 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 en el suelo.

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

Rajaram (1989) señala que 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.

Muñoz (1980) señala que para valorar la resistencia a la sequía es necesario no solo tener el comportamiento de la planta bajo sequía, sino también bajo no sequía. Con base en el modelo riego – sequía. La resistencia a la sequía puede definirse como la capacidad de una planta para rendir 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 rendir su producción en menor grado al pasar de la condición favorable a la desfavorable.

Características de las plantas resistentes a la sequía.

Molina (1980) realizó podas radiculares a plántulas de maíz y seleccionó los genotipos tolerantes a poda radicular, como medio directo para mejorar la tolerancia a sequía, además encontró en la etapa de floración plantas con dos tipos de espigas, unas con espigas ramificadas y otras con espigas no ramificadas, las cruas con espigas no ramificadas mostraron un rendimiento superior.

Rajaram (1989) señala que diversas características fisiológicas y morfológicas contribuyen a la tolerancia a sequía, entre ellas, la defoliación, alteraciones de los ángulos de inserción de las hojas, una mayor proporción de raíces / vástagos, cutícula cerosa gruesa, mantenimiento de la turgencia, estomas cerrados, capacidad de continuar la translocación fotosintética y la distribución de asimilados y menor acumulación de prolina.

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

Rasgos morfológicos.

1. Tamaño reducido de la planta (enanismo).
2. Incremento del sistema radicular.
3. Células más pequeñas en las hojas las cuales a su vez causan:
 - A). Estomas menores y muy juntos entre si.
 - B). Láminas pequeñas y gruesas en las hojas.
 - C). Mayor número de pelos por unidad de superficie si las hojas son pubescentes.
 - D). Cutícula y paredes gruesas.

Rasgos Fisiológicos.

1. Transpiración mas rápida por unidad de área cuando la transpiración neta por planta puede disminuir.

2. Tasa de fotosíntesis mas rápida por unidad de área.
3. Menor potencial osmótico.
4. Menor viscosidad protoplasmática.
5. Mayor permeabilidad protoplasmática.
6. Mayor resistencia a la marchités.
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.

Métodos de estudio para resistencia a sequía.

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.

Slatyer (1969) establece que hay ciertas etapas del desarrollo de los cultivos en los 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.

Muñoz (1975) menciona que en las plantas cultivadas se han establecidos diversos métodos para seleccionar genotipos resistentes a la sequía, de éstas las más notables se pueden mencionar las siguientes.

- A). Tolerantes a la marchités permanente.
- B). Tolerancia al calor.
- C). Tolerancia a la presión osmótica.
- D). El uso de antitranspirantes.

Rivera (1988) menciona que en estudio sobre el efecto de la sequía en la germinación o crecimiento de plántulas en medio líquido, el potencial hídrico fue simulado al adicionar sustratos osmóticos al agua. Así el suelo se descarta para eliminar el componente métrico, y el potencial hídrico total equivale al potencial osmótico de la solución.

Rojas (1978) indica que hay dos formas de lograr la resistencia a la sequía como son:

- A). Por fortalecimiento.
- B). Por cruzas y selección.
- C). El fortalecimiento se puede lograr haciendo pasar las plantas por períodos de sequía en los primeros estados de desarrollo.

Kuruvadi (1980) indicó varias técnicas para clasificar variedades por su grado de resistencia a sequía: evaluación de genotipos 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 en diferente presión osmótica con manitol, evaluación del contenido de proteína, betaina, ácido absicico, agua fisiológica, proteínas, azúcares y actividad enzimática, estudio del potencial y modelo del sistema radical, presencia de pubescencias de las hojas, área foliar y evaluación del factor de recuperación después del castigo de agua en diferentes etapas en las plantas.

Robledo (1989) declara que en todo el mundo se han venido utilizando diversas técnicas para la selección de genotipos tolerantes a sequía, las cuales se clasifican en técnicas de: invernadero, laboratorio y de campo.

Método de invernadero.

Beltrán (1983) menciona que posiblemente se pueda practicar selección indirecta para rendimiento, con selección preventiva de raíces en el invernadero, esto para condiciones de sequía.

Williams et al. (1967) presentan tres métodos sencillos y rápidos en la determinación de los maíces mas tolerantes a sequía:

A). Exposición de semillas a temperatura de 52 °C por seis horas.

B). Germinación de semillas en una solución de manitol a una presión osmótica de 15 atmósferas.

C). Sometiendo plántulas a un período permanente de sequía por 14 días en el invernadero.

Método de laboratorio.

Parmar y Moore (1966) señalan que al producir el efecto de la sequía simulado con soluciones de polietilen-glicol (6, 8 y 10 atmósferas de presión osmótica) sobre la germinación y desarrollo de plántulas de maíz, observaron reducción en la germinación y longitud de raíz primaria, encontrando apropiado el uso de sustratos osmóticos para simular sequía. Estos mismos autores en 1986, usando Carbowax 6000, manitol y cloruro de sodio en soluciones de alta presión osmótica para simular los efectos de la sequía, fueron capaces de diferenciar dos líneas de maíz.

Thill et al. (1979) reportan que durante periodos han utilizado varios solutos como cloruro de sodio, glucosa, sacarosa, manitol y polietilenglicol (PEG) y otros han sido utilizados para simular condiciones de sequía durante la germinación de semillas. El manitol y el PEG han sido los mas ampliamente usados, por ser químicamente inertes, simular sequía y no penetrar a la semilla por su elevado peso molecular. El manitol es menos usado porque puede moverse de la solución a las semillas en germinación.

Método de campo.

Nour y Weibel (1978) mencionan que el mejoramiento de tolerancia a la sequía ha sido limitado por la carencia de un método sencillo de selección. Las observaciones en el campo no pueden ser repetidas. Además los métodos de campo no son muy representativos-

Rodríguez (1989) cita que clasificar variedades resistentes a sequía en el campo, es muy costoso, tomaría mucho tiempo y es muy laborioso.

En base a lo anterior, se deduce que hay que considerar los métodos de laboratorio e invernadero.

Selección de genotipos resistentes a sequía mediante agentes osmóticos.

Sacarosa.

Márquez (1979) sometió 8 variedades de maíz a sequía por el método de germinación de semillas en concentraciones molares de sacarosa , concluyó que esta técnica es un buen auxiliar en la evaluación de germoplasma, en los programas de mejoramiento encaminado a la selección y formulación 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 la mejor técnica *in vitro* usando

como medio de cultivo el MS. Para sacarosa detectó datos muy variados dentro de las repeticiones de cada material ya que la sacarosa resultó metabolizable por la planta, por lo que se descarta su uso.

Manitol.

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

Rodríguez (1989) concluye que la técnica utilizada en el laboratorio utilizando manitol como agente osmótico es efectivo, económico y rápido para seleccionar genotipos tolerantes a sequía.

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 cajas de 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.

Polietilen Glicol (PEG).

Los polietilenglicoles (PEGs), han sido ampliamente usados como agentes osmóticos, debido a que son químicamente inertes, no tóxicos aun en altas concentraciones, solubles en agua, estables e inactivos, simuladores de sequía y no penetran la cubierta de la semilla presentan altos pesos moleculares, son compuestos fisiológicamente inertes, no iónicos y no provocan efectos secundarios en el metabolismo de las plantas.

Álvarez (1991) usó la técnica *in Vitro* en cultivos 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 un medio sólido ya que este reactivo no permite su solidificación.

Cloruro de sodio. (NaCl).

Fulbright (1988) establece que la germinación es también afectada por la salinidad del suelo, las sales solubles como cloruro de sodio pueden reducir o impedir la germinación por efectos de los iones o por la disminución del potencial osmótico del suelo.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Cultivo “*In Vitro*” de maíz perteneciente al Instituto Mexicano del Maíz (I. M. M.) “Dr. Mario E. Castro Gil” de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” localizada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, situada geográficamente entre las coordenadas 101° Longitud Oeste y 25° 22’ Latitud Norte, a una altitud de 1742 m.s.n.m.

El material genético que se utilizó para realizar la presente investigación, son maíces criollos pigmentados con diferente origen: UAAAN, Villa Hidalgo Nayarit, Jalisco, Querétaro y Chihuahua.

Cuadro 1. Material Genético Utilizado.

Nombre.	Genealogía.	Origen.	Año.
2405	M. Morado. O – B.	Villa Hidalgo Nay.	02 – 03.
2406	M. Morado claro. O – B.	Villa Hidalgo Nay.	02 – 03.
2412	M. Morado Tula – 1. O – B.	Villa Hidalgo Nay.	02 – 03.
2413	M. Morado Tula – 1. O – R.	Villa Hidalgo Nay.	02 – 03.
2414	M. Morado Tula – 2. O – B.	Villa Hidalgo Nay.	02 – 03.
2415	M. Morado Tula – 2. O – R.	Villa Hidalgo Nay.	02 – 03.
2419	M. Morado Tula – 3. O – B.	Villa Hidalgo Nay.	02 – 03.

2420	M. Pepitilla negro. O – R.	Villa Hidalgo Nay.	02 – 03.
2422	AN- 388 M. Rojizo. O – B.	Villa Hidalgo Nay.	02 – 03.
2423	AN- 388 M. Rojizo. O – R.	Villa Hidalgo Nay.	02 – 03.
2424	AN- 388 M. Negro. O – B.	Villa Hidalgo Nay.	02 – 03.
1219	M. Morado Torrecillo.	UAAAN.	02 – 03.
1220	VAN- 210. M. Morado	UAAAN.	02 – 03.
1222	VAN- 210. M. Morado Villagrán.	UAAAN.	02 – 03.
1306	VAN- 210. M. Pepitilla Rojo. O – B.	UAAAN.	2003.
1310	VAN- 210. M. Chopalote.	UAAAN.	2003.
1313	VAN- 210. M. Rojo bola. O – R.	UAAAN.	2003.
Canelo.	Canelo.	Chihuahua.	2003.
Dulce amarillo.	Dulce amarillo.	Villa Hidalgo Nay.	99 – 00.
Pozolero rojo.	Pozolero rojo.	Ixtlan del Río Jalisco.	2002.
Maíz blanco pozolero.	Blanco pozolero.	Jalisco.	2003.
Forrajero amarillo.	Forrajero amarillo.	Guadalupe Nayarit.	2002.
Zanahoria.	Zanahoria.	UAAAN.	1997.
Maíz negro.	Maíz negro.	Querétaro Qro.	2004.

Para el presente trabajo se evaluaron 24 materiales criollos pigmentados, a los cuales se le practicaron dos análisis, el primero fue la prueba de resistencia al filtrado tóxico del hongo *Fusarium moniliforme* al 25 por ciento y el siguiente análisis fue para resistencia a sequía sometiendo los materiales a una solución de manitol de –5 Bars.

Selección de genotipos de maíz resistentes a enfermedades.

Principio.

Uno de los factores que mayormente limita la producción de maíz son las enfermedades sobre todo la de tipo fungoso, el problema es considerado nacional e internacional y requiere atención prioritaria

Fundamento.

Para el control de enfermedades es indispensable el control del medio ambiente como humedad y temperatura; de tal manera, que esto en condiciones naturales es muy difícil, por lo que surge la necesidad de la implementación de una metodología que permita seleccionar genéticamente materiales que sirven de apoyo al fitomejorador.

El I.M.M. ha desarrollado una metodología para selección de genotipos de maíz resistentes a *Fusarium moliniforme* y *Macrophomina phaseoli*.

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio de Cultivo *in Vitro* de maíz; en el cual se han probado las siguientes técnicas de evaluación.

A) Medio nutritivo artificial como sustrato, adicionado de filtrado tóxico y embrión de maíz como parte vegetativa.

B) Caja de petri conteniendo dos círculos de papel sanitario más filtrado tóxico y semilla de maíz.

C) Se utiliza papel secante, filtrado tóxico y semilla de maíz.

D) Técnica del palillo de dientes.

Procedimiento

Para la realización de este trabajo se seleccionó la técnica B, donde antes de la siembra se prepararon las cajas de petri previamente esterilizadas y su papel sanita, luego se colocaron los materiales con su número de genotipo.

Se colocaron cinco semillas por caja correspondiendo a la repetición uno y dos hasta la veinte de cada material, a germinar en cajas de petri de 100 x 15, utilizando como sustrato papel sanita o toalla de color blanco.

La inoculación del sustrato se realizó con la ayuda de una jeringa automática, 10 ml por repetición.

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, colocadas de manera especial para evitar la sombra.

Toma de datos.

Se tomaron los siguientes parámetros:

1. Longitud de raíz.
2. Longitud de plúmula.

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

1.-Se realizó una recolección en el campo del material enfermo.

Materiales.

Bolsa de polietileno, talache, y un objeto punzo cortante

Procedimiento.

Efectuar el muestreo de plantas infestadas por *Fusarium* mostrando síntomas como podredumbre de tallo, raíz, mazorca o necrosis (coloración rosa violácea obscura o necrótica) secado de tallo, grano chupado etc.

2.-Preparación del medio para aislamiento de patógeno.

Reactivos.

Medio de cultivo (papa-dextrosa-agar).

- 1.- PDA.
- 2.- Agua destilada.

3.- Alcohol al 70 %.

Material y cristalería.

- 1.- Matraz Erlenmeyer 1000 ml.
- 2.- Probeta graduada de 1000 ml.
- 3.- Cajas de petri.

Equipo.

- 1.- Balanza analítica.
- 2.- Autoclave.
- 3.- Parrilla electromagnética.

Procedimiento.

Se pesan 39 gramos de PDA, se colocan en un matraz Erlenmeyer y se afora a un litro con agua destilada, se le agrega una barrita magnética y se coloca en una parrilla electromagnética para su total homogenización y posterior esterilización.

3.- Aislamiento del hongo en el laboratorio.

Reactivos.

- 1.- PDA –medio de cultivo (papa-dextrosa-agar).
- 2.- Agua destilada.
- 3.- Hipoclorito de sodio o calcio.

4.- Alcohol del 96 grados.

Material y cristalería.

1.- Caja de petri.

2.- Vasos de precipitado 250, 500, 1000, 4000 ml.

3.- Bisturí quirúrgico.

4.- Mechero.

5.- Pinzas de disección.

6.- Mascarillas quirúrgicas.

7.- Material vegetativo.

8.- Mechero de alcohol.

9.- Cinta mágica.

Equipo.

1.- Campana de flujo laminar.

2.- Incubadora.

3.- Microscopio compuesto binocular.

4.- Micrómetro.

5.- Balanza analítica.

6.- Destilador.

7.- Parrilla electromagnética.

8.- Barritas magnéticas.

9.- Autoclave.

10.- Estufa.

Procedimiento.

El medio que se utiliza para aislar el patógeno es el PDA para la cual se requiere de 39 gramos de PDA los cuales se colocan en un matraz Erlenmeyer al cual se le añade 1000 ml de agua destilada posteriormente el matraz se coloca en una parrilla electromagnética para su total homogenización.

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

4.- Siembra del material enfermo.

Material y cristalería.

- 1.- Cajas de petri.
- 2.- Vasos de precipitado de 250 y 500 ml.
- 3.- Mechero de alcohol.
- 4.- Pinzas de disección.
- 5.- Mascarilla quirúrgica.
- 6.- Bisturí quirúrgico.
- 7.- Cinta mágica.
- 8.- Material vegetativo enfermo.

Equipo.

- 1.- Campana de flujo laminar.
- 2.- Incubadora.

Procedimiento.

Realizar cortes pequeños de la planta enferma, lavar con una solución jabonosa al 4% y enjuagar con agua destilada

Después lavar estos mismos trozos de planta con alcohol al 70 % y enjuagar con agua destilada

Se esteriliza el material lo cual se efectúa en un área estéril utilizando una campana de flujo laminar la cual funciona a base de luz ultravioleta y filtros de aire para crear un área de total asepsia, lavar los trozos de planta enferma con hipoclorito de sodio al 5 % y enjuagar con agua destilada y esterilizada para después proceder a su siembra en cajas de petri conteniendo medio de PDA estéril e incubando por un periodo mínimo de 5 días.

5.- Conservación del patógeno**Reactivos.**

- 1.- Aceite mineral.

Material y cristalería.

- 1.- Pipeta de 5 a 10 ml.
- 2.- Cepa pura de hongo.

3.- Mecheros de alcohol.

4.- Mascarillas quirúrgicas.

Equipo.

1.- Campana de flujo laminar.

2.- Autoclave.

3.- Refrigerador.

Procedimiento.

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

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

Substancias y reactivos.

1.- Papa natural.

2.- Agua destilada .

3.- Dextrosa.

4.- Sacarosa.

5.- Algodón.

Material y cristalería.

- 1.- Papel aluminio.
- 2.- Bisturí quirúrgico.
- 3.- Vaso de precipitado.
- 4.- Embudo buchner.
- 5.- Matraz kitasato.
- 6.- Tapón horadado.
- 7.- Manta de cielo.

Equipo.

- 1.- Parrilla eléctrica.
- 2.- Autoclave.

Procedimiento.

Se requieren 200 gramos de papa natural, la cual es cortado en trozos pequeños y colocados en un vaso de precipitado al cual, se le añaden 1000 ml. de agua destilada. El vaso es colocado en una parrilla eléctrica a temperatura de ebullición. Al momento de empezar a hervir se cuentan 30 minutos y se le está añadiendo el agua que evapora. Una vez transcurridos los 30 minutos se procede a filtrar para la cual se utiliza manta de cielo.

Lo que resulte de este filtrado se afora a 3000 ml, y se coloca en un matraz Erlenmeyer de 4000 ml, que contiene 30 gr. de sacarosa y 20 gr. de dextrosa mas una barita magnética. Se coloca una torunda de algodón en la boca del matraz se

cubre con papel aluminio y se sella perfectamente para proceder a su esterilización en la autoclave.

7.- Inoculación de medio PDS

Reactivos.

- 1.- Medio PDS.
- 2.- Alcohol.
- 3.- Cepa de hongo puro.

Material y cristalería.

- 1.- Vaso de precipitado de 100 ml.
- 2.- Espátula.

Equipo.

- 1.- Campana de flujo laminar.

Procedimiento.

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

8.- Agitación de PDS inoculado.

Reactivos.

1.- Medio PDS inoculado con cepa de hongo.

Material y cristalería.

1.- Barritas magnéticas matraz Erlenmeyer 4000 ml.

3.- Sanitas 25 hojas.

4.- Cinta adhesiva (maskintape) 50 cm.

5.- Algodón (4 torundas).

6.- Un metro de papel aluminio.

7.- Reactivos de Benedict.

8.- Tiras de glucosa.

9.- Embudo buchner.

10.- Papel filtro.

11.- Pinzas de disección.

12.- Pizeta.

13.- Agua destilada.

14.- Vaso de precipitado 500 ml.

15.- Matraz kitasato 1000 ml.

16.- Tres matraces Erlenmeyer 1000 ml.

Equipo.

- 1.- Parrilla electromagnética, bomba de vacío.
- 2.- Autoclave.

Procedimiento.

Una vez inoculado el PDS se cubre el matraz para lograr oscuridad y se coloca en una parrilla electromagnética por 7 días (cuando se presenta turbio o con una especie de natita) en los cuales el azúcar debe consumirse por el hongo y dar lugar a la obtención de la toxina. Para confirmar la ausencia de azúcares se utiliza el reactivo Benedict o bien tiras de glucosa.

Transcurridos los 7 días se procede a filtrar el PDS inoculado por medio de una bomba de vacío, embudo buchner, matraz kitasato y papel filtro.

Una vez obtenido este filtrado se procede a su esterilización en autoclave en matraces de 1000 ml para evitar contaminación en baño maría.

9.- Pasteurización.**Reactivos.**

- 1.- PDS inoculado y agitado por 7 días, posteriormente filtrado y esterilizado.

Material y cristalería.

- 1.- Tres matraces Erlenmeyer de 1000 ml.

Equipo.

- 1.- Autoclave.
- 2.- Llave de agua.
- 3.- Refrigerador.

Procedimiento.

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

10.- Siembra del material genético en cajas de petri con papel sanita y filtrado tóxico.**Procedimiento.**

Se procede a sembrar 5 semillas por caja de petri siendo esto la primera repetición y se realiza lo mismo hasta alcanzar las 20 repeticiones para los 24 materiales criollos, la caja de petri es previamente esterilizada y preparada con dos círculos de papel sanita a saturación completa de la solución del filtrado tóxico al 25 por ciento.

La semilla es colocada sobre el papel sanita dentro de la caja de petri, posteriormente a esto, cada caja es previamente identificada y sellada con cinta mágica, etiquetada y se colocan en incubación con temperaturas de 25 - 30 °C sin luz, al tercer día después del inicio de la incubación se le agregan 15 ml de la misma solución de filtrado tóxico debido a que el sustrato se reseca por las

temperaturas existentes en el interior de la cámara de germinación así como por la absorción del líquido por las propias semillas.

Para la toma de datos, estos se realizaron cada octavo día después de la siembra.

Selección de genotipos de maíz tolerantes a sequía.

Principio.

Con el uso de reactivos de alto peso molecular que actúan secuestrando agua y simulan condiciones de estrés hídrico, se evaluaron en el laboratorio genotipos de maíz tolerantes a sequía.

Fundamento.

La sequía es uno de los factores ambientales que mayormente limita la productividad de los cultivos. En México la mayor parte que se dedica a la producción del maíz se realiza bajo condiciones de temporal; debido a que las condiciones ambientales que afectan a la producción del maíz y a que otras especies no se pueden controlar; de esta manera se seleccionan genéticamente materiales que produzcan bajo escasa humedad.

El I. M. M. ha desarrollado a través de la biotecnología una metodología que permite identificar genotipos de maíz tolerantes a sequía mediante el uso de secuestradores de humedad y tres técnicas distintas de evaluación que a continuación se mencionan pero con recomendación hacia la tercera técnica. Por múltiples ventajas:

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

Siembra en taco (papel germinador o secante) secuestradores de humedad.

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

Materiales y reactivos.

Papel germinador o secante.

Cinta adhesiva (masking tape).

Semilla de maíz.

Lápiz tinta.

Bolsa de polietileno.

Equipo

Balanza analítica.

Incubadora.

Destilador.

Descripción del manitol.

El manitol es un reactivo químico que puede ser absorbido por las plantas y ser metabolizable por las células, pero se hizo un estudio previo de concentraciones y se detectó la dosis óptima substituyendo así al PEG, siendo buen inductor de condiciones de sequía permitiendo seleccionar genotipos tolerantes a sequía. Con la ayuda de la ecuación de Van't-Hoff y el uso de manitol se modifican las presiones osmóticas de los medios nutritivos.

Para determinar la cantidad de manitol que se requiere para llevar el medio de cultivo a la presión osmótica de -5 bars se utilizó en esta metodología la ecuación de Van't-Hoff ya que toma en cuenta el factor temperatura y por lo tanto los cálculos son más exactos.

De esta manera el potencial osmótico de las lecturas directas del osmómetro, como una función de la concentración de la solución, J. H. Van't Hoff descubrió en 1887 una relación empírica que parece exactamente la ley de los gases perfectos.

Preparación de la solución de manitol.

Ecuación de Van't Hoff.

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

V

Dónde:

Π = Presión osmótica en bares.

R = Constante de los gases 0.82.

T = Temperatura $273 + C^{\circ} = K^{\circ}$.

V = Volumen (1 lt.).

Ns = Número de moles.

Esta ley señala que el potencial osmótico (actualmente presión osmótica) será equivalente a la presión de un gas bajo condiciones equivalentes esto es que si la solución estuviera suspendida en un volumen equivalente como un gas ejercerían una presión en las paredes equivalentes al valor absoluto (positivo) del potencial osmótico.

Para preparar la solución a la concentración deseada se realizó lo siguiente:

Los grados centígrados se convirtieron a grados Kelvin, donde se utilizó una temperatura constante de $25^{\circ}C$, por lo tanto:

$$273 + ^{\circ}C = ^{\circ}K$$

$$273 + 25^{\circ}C = 298^{\circ}K$$

Cálculos de la presión osmótica.

$$\Pi = \frac{R T}{V} Ns = \Pi V = R T Ns =$$

$$\Pi V$$

$$n_s = \frac{\quad}{R T} =$$

$$N_s = \frac{5 \times 1}{.082 \times 298} = \frac{5}{24.43} = 0.204 \text{ mols}$$

$$1 \text{ mol} \quad \frac{182.17 \text{ g/l. (peso molecular manitol)}}{.204} \quad x$$

$$x = 37.162 \text{ g/ lto.}$$

$$1 \text{ Atm.} = 1.013 \text{ bar} = 0.987 \mu\text{pa (mega pascales)}$$

Esto quiere decir que se necesitan o se requieren 37.162 g/ lt. de manitol para llevar la solución a la presión osmótica de -5 bars.

Preparación de la solución de manitol.

En un matraz Erlenmeyer se colocaron los 37.162 g/lto. de manitol necesarios para llevar la solución a la presión osmótica que se requiere (-5 bars), este se aforó a un litro con agua destilada. Una vez hecha se colocó el matraz en una parrilla electromagnética con un agitador magnético dentro, dejándola el tiempo necesario para su total homogenización.

Preparación del material para la siembra.

Se utilizó papel secante del utilizado en ensayos de germinación y humedecidos a saturación completa con las soluciones a la concentración a evaluar previo al humedecimiento. El papel secante se divide en 2 y se raya con distancia de dos centímetros a partir de la parte media sujetando las semillas con pegamento. Se utiliza doble hoja del mismo tamaño y cantidad de solución; en una se siembra y con otra se cubre.

Siembra de los materiales.

Para la evaluación de genotipos en laboratorio se siembran cinco semillas para cada repetición (5 semillas por cada repetición el cual son 24 tratamientos por 20 repeticiones),

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

Una vez hecho lo anterior, el papel secante con la siembra de semilla es enrollado en forma de taco. Posteriormente a esto, cada taco, previamente identificado es colocado en bolsas de polietileno.

Incubación.

La siembra se llevó a cabo dentro del cuarto de incubación a una temperatura de 25 -30 °C y con iluminación constante de luz blanca y fría proporcionada por lámparas de luz fluorescente de 40 watts.

Toma de datos.

La toma de datos se realizó a los 7 días después de la siembra; si se deja mas tiempo en la germinadora puede haber una contaminación en los materiales. Se midió la longitud de plúmula y raíz desde la base hasta la punta.

Análisis estadístico.

Uno de los principales objetivos del análisis de los datos de un diseño experimental es cuantificar y evaluar la importancia de las fuentes de variación (factores de tratamientos y de clasificación). Esto puede ser obtenido a través del análisis de varianza (ANVA). Donde se utilizó el diseño experimental distribución completamente al azar con 24 tratamientos y 20 repeticiones.

Modelo lineal y prueba de hipótesis

El modelo lineal aditivo es el siguiente:

$$X_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij},$$

Donde:

μ = Media general alrededor de la cual oscilan los valores de todas las observaciones.

α_i = efecto del tratamiento i.

ϵ_{ij} = error experimental, variación debida al azar o variación de muestreo (causas no pertinentes) y es considerado N (o σ^2).

Se probaron las siguientes hipótesis estadísticas

Ho: $T_1 = T_2 = T_3 = \dots = T_t$. Los tratamientos son iguales

Ha: $T_1 = T_2 \neq \dots \neq T_t$. Un tratamiento es distinto a los demás

Se realizo un análisis de varianza para cada una de las variables cuyos componentes de dicho análisis se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Modelo del análisis de varianza para una distribución completamente al azar.

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F CALCULADA
TRATAMIENTO	a-1	$n \sum (\bar{x}_i - \bar{x})^2$	$\frac{S.C}{G.L} = A$	$\frac{A}{B}$
ERROR.	a (n – 1)	Diferencia	$\frac{S.C}{G.L}$	
TOTAL	an - 1	$\sum (x_{ij} - \bar{x})^2$		

Para cada una de las variables evaluadas se calculó el coeficiente de variación (c.v.) mediante la siguiente fórmula.

$$C.V = \frac{S}{x} * 100$$

Donde:

CV = Coeficiente de variación.

S = Varianza del error experimental.

CME = Cuadro medio del error experimental.

—

X = Media general

100 = constante para reportar el dato en porcentaje.

Se realizó una comparación de medias para cada una de las variables, y así clasificar los tratamientos y elegir a los mejores. Se utilizó la prueba de DUNCAN con $\alpha = 0.05$



Donde:

t_{α} = t múltiple obtenida de las tablas de DUNCAN para $\alpha = 0.05$ y $\alpha = 0.01$

S x = error estándar de media =



s^2 = Varianza o cuadrado medio del error experimental.

n = Número de repeticiones o número de valores necesarios para calcular los promedios en estudio.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

***Fusarium moniliforme* (Sheld).**

En el cuadro 3. Se presenta el análisis de varianza para la variable longitud de raíz, encontrándose en dichos análisis diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en la fuente de tratamientos, lo cual quiere decir que puede deberse a la composición genética de cada material, por lo tanto hubo variabilidad en su respuesta hacia la medición de este carácter, habiendo materiales que desarrollaron mas longitud de raíz que otros en presencia del filtrado toxico de *Fusarium moniliforme*, lo que se deberá tomar en cuenta al momento de hacer selección para este tipo de problemas que afectan de manera considerable la producción de este cultivo.

Cuadro 3. Análisis de varianza para la variable longitud de raíz, inoculado con hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld.).

F.V.	G.I.	S.C.	C.M.	F.C.	F.T. α	
					(0.05	0.01)
Tratamientos.	23	59.4880351	2.5864363	5.549 **	1.76	2.26
Error.	456	212.7101167	0.4664696			
Total.	479	272.1981517				

C.V. = 22 %.

El coeficiente de variación fue de 22 % estando dentro del límite permitido, lo cual indica que la investigación y tomas de datos se llevó a cabo de la forma adecuada por lo que existe confiabilidad en los resultados obtenidos para este trabajo.

En el Cuadro 4.2 se presentan las medias de los materiales evaluados, utilizando la prueba de DUNCAN al nivel de $\alpha = 0.05$.

Cuadro 4. Concentración de medias para la variable longitud de raíz inoculado con filtrado tóxico de *Fusarium moniliforme*, de acuerdo a la prueba de DUNCAN con $\alpha = 0.05$.

Genotipos.	Medias (cm)	Grupos.
1313	12.346	A
Canelo	12.310	A
2405	12.265	A
2419	11.891	AB
1220	11.611	ABC
2406	11.567	ABC
1310	10.454	ABCD
1219	10.026	ABCDE
Pozolero rojo	9.354	ABCDE

2420	9.316	ABCDE
Maíz negro	8.706	BCDE
2415	8.450	CDE
1306	8.390	CDE
1222	8.155	DEF
2423.	8.142	DEF
Forrajero amarillo	7.942	DEF
2413.	7.853	DEF
Maíz Bco. Pozolero	7.760	DEF
2422	7.686	DEF
2424	7.671	DEF
2414	7.000	EF
2412	6.732	EF
Dulce amarillo	5.012	FG
Zanahoria	3.662	G

Genotipos con la misma letra son estadísticamente iguales.

De acuerdo con la prueba de medias, los genotipos con medias estadísticamente superiores para la longitud de raíz resultaron ser el 1313, canelo, 2405, 2419, 1220, 2406, 1310, 1219, pozolero rojo y 2420.

Sin embargo el genotipo Maíz negro fué estadísticamente igual a 2419, 1220, 2406, 1310, 1219, pozolero rojo y el 2420.

A su vez los criollos 1306 y 2415, fueron no significantes estadísticamente con 1220, 2406, 1310, 1219, pozolero rojo, 2420 y maíz negro.

Los genotipos 1222, 2423, forrajero amarillo, 2413, maíz blanco pozolero, 2422 y 2424 son no significativos estadísticamente con los genotipos 1310, 1219, pozolero rojo, 2420, maíz negro, 2415 y 1306.

También los materiales criollos 2414 y 2412 no representaron significancia estadísticamente con los criollos 1219, pozolero rojo, 2420, maíz negro, 2415, 1306, 1222, 2423, forrajero amarillo, 2413, maíz blanco pozolero, 2422 y 2424.

El criollo dulce amarillo y zanahoria son no significantes estadísticamente con respecto a los 1222, 2423, forrajero amarillo, 2413, maíz blanco pozolero, 2422, 2424, 2414 y 2412.

De acuerdo a la prueba de medias para la variable longitud de raíz, se pueden recomendar los genotipos 1313, canelo y 2405 que presentan genes que los hacen resistentes al hongo *Fusarium moniliforme* por el hecho de tener mayor desarrollo radical.

Por lo tanto los genotipos criollos que presentaron el bajo desarrollo radical fueron el dulce amarillo y zanahoria, siendo los mas fuertemente afectados por el inoculado del hongo *Fusarium moniliforme*.

En el Cuadro 5 se presenta el análisis de varianza para longitud de plúmula, encontrándose diferencias significativas ($P \leq 0.01$) para la fuente de tratamientos, esto nos dice que en los materiales criollos que fueron manejados en esta investigación existen algunos materiales que presentan resistencia a la inoculación del hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld.) al 25 por ciento, con una probabilidad de 99 por ciento de seguridad en que al menos un material presento mayor longitud de plúmula con respecto de los demás materiales.

El nivel de significancia para la variable longitud de plúmula, nos indica que hay una gran diferencia entre los materiales analizados, y esto es debido al cúmulo de genes presentes en cada material criollo y al diferente origen geográfico de los genotipos, entonces era lógico esperar variación en su respuesta a este carácter.

Cuadro 5. Análisis de varianza para la variable longitud de plúmula inoculado con *Fusarium moniliforme* (Sheld.).

F.v.	Gl.	Sc.	Cm.	Fc.	Ft. α	
					(0.05	0.01)
Tratamientos.	23	46.1766977	2.0076825	5.99**	1.76	2.26
Error.	456	152.8550126	0.3352084			
Total.	479	199.0317103				

C.V.= 16 %.

El coeficiente de variación que se obtuvo en el análisis, para la variable longitud de plúmula fue de 16 por ciento, por lo tanto los datos obtenidos se consideran confiables, con esto se demuestra que dentro de los materiales analizados, existen algunos que presentan resistencia a *Fusarium moniliforme* para la variable longitud de plúmula.

Debido a que en la variable longitud de plúmula se encontró alta significancia se le aplicó a los materiales una prueba de medias, para clasificar los mejores genotipos. Siendo la prueba de rango múltiple DUNCAN con $\alpha = 0.05$.

Cuadro 6. Concentración de medias para la variable longitud de plúmula, inoculado los genotipos con el filtrado tóxico de *Fusarium moniliforme* de acuerdo a la prueba de medias DUNCAN con $\alpha = 0.05$.

Genotipos.	Medias (cm)	Grupos.
1310	18.273	A
1219	16.549	AB
1306	15.053	BC
Forrajero amarillo	14.861	BCD
2420	14.674	BCDE
Canelo	14.427	BCDE
1313	13.899	BCDEF

2419	13.823	BCDEFG
2405	13.423	CDEFG
1220	13.311	CDEFGH
Maíz Bco. Pozolero	13.233	CDEFGH
Pozolero rojo	12.936	CDEFGH
2414.	12.800	CDEFGH
2412	12.637	CDEFGH
2406.	12.456	CDEFGH
2423	12.374	CDEFGH
2413	12.000	DEFGH
2424	11.802	EFGH
2415	11.380	FGH
1222	11.110	FGH
Dulce amarillo	10.803	GHI
2422	10.302	HI
Zanahoria	8.341	I
Maíz negro	8.326	I.

Genotipos con la misma letra son estadísticamente iguales.

De acuerdo a la prueba de medias los genotipos superiores estadísticamente para la variable longitud de plúmula resultaron ser los criollos 1310 y 1219, los cuales podrían poseer genes que los hacen más resistentes al hongo *Fusarium moniliforme*.

A su vez los genotipos 1306, forrajero amarillo, 2420 canelo, 1313 y 2419 son estadísticamente iguales al genotipo 1219.

El grupo de criollos 2405, 1220, maíz blanco pozolero, pozolero rojo, 2414, 2412, 2406, y 2423, son estadísticamente iguales a los criollos 1306, forrajero amarillo, 2420, canelo, 1313 y 2419.

Sin embargo el genotipo 2413 es estadísticamente igual al forrajero amarillo, 2420, canelo, 1313, 2419, 2405, 1220, maíz blanco pozolero, pozolero rojo, 2414, 2412, 2406 y 2423.

A su vez el criollo 2424 es no significativo estadísticamente con los criollos 2420, canelo, 1313, 2419, 2405, 1220, maíz blanco pozolero, pozolero rojo, 2414, 2412, 2406, 2423 y 2413.

Los genotipos 2415 y 1222 son no significantes estadísticamente con 1313, 2419, 2405, 1220, maíz blanco pozolero, pozolero rojo, 2414, 2412, 2406, 2423, 2413 y 2424.

El genotipo dulce amarillo es no significativo estadísticamente con respecto de 2419, 2405, 1220, maíz blanco pozolero, pozolero rojo, 2414, 2412, 2406, 2423, 2413, 2424, 2415 y 1222.

El criollo 2422 es no significativo estadísticamente con 1220, maíz blanco pozolero, pozolero rojo, 2414, 2212, 2406, 2423, 2413, 2424, 2415. 1222 y dulce amarillo.

Los materiales zanahoria y maíz negro no presentan significancia estadísticamente con dulce amarillo y 2422.

Para los dos análisis se encontró que en la variable longitud de raíz y plúmula los genotipos más altos estadísticamente fueron diferentes, siendo los más sobresalientes para este segundo carácter el criollo 1310 y el 1219 con una mayor velocidad en el desarrollo de la parte aérea de la plántula.

Por lo tanto los materiales criollos que presentaron un pobre desarrollo de plúmula fueron el maíz negro y el zanahoria.

Sequía.

En el Cuadro 7. se presenta el análisis de varianza de sequía para la variable longitud de raíz, donde hubo diferencias significativas ($P \leq 0.01$) en la fuente de tratamientos, esto quiere decir que pudiera ser debido al hecho de haber manejado materiales que provienen de diferentes nichos ecológicos y por el germoplasma que contienen dichos materiales, estos presentan variabilidad en su respuesta hacia la medición de esta variable, y pudiera ser debido al hecho de haber manejado materiales provenientes de distintas regiones habiendo

materiales que bajo la severa circunstancia de alto estrés hídrico lograron desarrollar un mayor sistema radical que otros; siendo favorable este carácter para seleccionar materiales que se cultiven en áreas, regiones o localidades de escasa o poca precipitación pluvial en zonas marginadas.

Por lo tanto hay una probabilidad del 99 por ciento de que alguno o algunos de los materiales muestren diferencias en longitud radicular. Estos aspectos deberán ser tomados en cuenta en las investigaciones encaminadas a la selección de materiales que sean resistentes a la sequía, que es uno de los fenómenos naturales que hacen mermar la producción de este cultivo.

Cuadro 7. Análisis de varianza para la variable longitud de raíz sometido los genotipos a un déficit hídrico con Manitol.

F.v.	Gl.	Sc.	Cm.	Fc.	Ft. α	
					(0.05 0.01)	
Tratamiento.	23	54.33944786	2.3625860	7.07**	1.76	2.26
Error.	546	152.4583768	0.3343385			
Total.	479	206.7978553				

C.V. = 18 %.

El coeficiente de variabilidad encontrado en el análisis de la variable longitud de raíz fue de 18 por ciento, y se considera dentro del límite permitido en una investigación, lo que nos indica que el presente trabajo y la toma de datos se efectuaron de forma adecuada, por lo tanto existe confiabilidad en los resultados obtenidos en este trabajo.

Enseguida en el Cuadro 8 se presentan las medias de los materiales evaluados para la longitud de raíz, utilizando la prueba de DUNCAN al nivel de $\alpha = 0.05$.

Cuadro 8. Concentración de medias para la variable longitud de raíz bajo déficit hídrico con manitol, de acuerdo a la prueba de DUNCAN con $\alpha = 0.05$.

Genotipos.	Medias (cm)	Grupos.
2406	13.806	A
2405	13.101	AB
2412	12.004	ABC
2413	11.933	ABCD
Maíz negro	11.174	BCDE
Pozolero rojo	10.723	BCDEF
Canelo	10.421	CDEFG
1313	9.996	CDEFGH

2414	9.915	CDEFGHI
1222	9.867	CDEFGHI
2420	9.856	CDEFGHI
2419	9.595	CDEFGHIJ
1219	9.484	CDEFGHIJ
2422	9.387	DEFGHIJ
2424	9.317	EFGHIJ
2415	9.223	EFGHIJ
1310	8.297	FGHIJ
Forrajero amarillo.	8.103	FGHIJ
Dulce amarillo	7.853	GHIJ
2423	7.701	HIJ
1220	7.568	HIJ
1306	7.284	IJ
Maíz Bco. Pozolero	7.121	J
Zanahoria	3.913	K

Genotipos con la misma letra son estadísticamente iguales.

De acuerdo con la prueba de medias los materiales mas sobresalientes para desarrollo radicular evaluados bajo estrés hídrico fue el 2406 aunque fue estadísticamente igual al 2405, 2412 y 2413.

Sin embargo los genotipos maíz negro y pozolero rojo son estadísticamente iguales a 2405, 2412, 2413.

A su vez los materiales canelo, 1313, 2414, 1222, 2420, 2419 y 1219 son también estadísticamente iguales a 2412, 2413, maíz negro y pozolero rojo.

El criollo 2412 es estadísticamente igual a 2413, maíz negro, pozolero rojo, canelo, 1313, 2414, 1222, 2420, 2419 y 1219.

Los genotipos 2424 y 2415 son estadísticamente iguales a maíz negro, pozolero rojo, canelo, 1313, 2414, 1222, 2420, 2419, 1219 y 2422.

Los criollos 1310 y forrajero amarillo son no significantes estadísticamente con pozolero rojo, canelo, 1313, 2414, 1222, 2420, 2419, 1219, 2422, 2424 y 2415.

El criollo dulce amarillo es no significativo estadísticamente con los criollos canelo, 1313, 2414, 1222, 2420, 2419, 1219, 2422, 2424, 2415, 1310, y forrajero amarillo.

A su vez los genotipos 2423 y 1220 son no significativos estadísticamente con los genotipos 1313, 2414, 1222, 2420, 2419, 1219, 2422, 2424, 2415, 1310, forrajero amarillo y dulce amarillo.

El genotipo 1306 es no significativo estadísticamente con los genotipos 2414, 1222, 2420, 2419, 1219, 2422, 2424, 2415, 1210, forrajero amarillo, dulce amarillo, 2423 y 1220.

El criollo maíz blanco pozolero es no significativo estadísticamente con los criollos 2419, 1219, 2422, 2424, 2415, 1310, forrajero amarillo, dulce amarillo, 2423, 1220 y 1306.

Finalmente los más pobres en el desarrollo de este carácter fueron el zanahoria y el maíz blanco pozolero.

En el Cuadro 9. se presenta el análisis de varianza de sequía para la variable longitud de plúmula, para esta variable se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$), ésto nos dice que los materiales criollos que fueron utilizados en esta investigación, mostraron comportamiento diferente ya que alguno o algunos mostraron un mayor desarrollo de este carácter en tiempo y forma con respecto de otros, esta resistencia al estrés hídrico es probablemente debida al contenido genético que cada material contiene.

Cuadro 9. Análisis de varianza para la variable longitud de plúmula, bajo estrés hídrico con manitol.

F. v.	Gl.	Sc.	Cm.	Fc.	Ft α	
					(0.05 0.01)	
Tratamientos.	23	24.78886336	1.07777667	7.63**	1.76	2.26
Error.	456	64.44153504	0.14131916			
Total.	479	89.23039845				

C.V. = 16 %.

El coeficiente de variación que se obtuvo fue de 16 por ciento y se considera dentro del límite permitido, y nos indica que los datos fueron tomados de forma adecuada, entonces los datos obtenidos se consideran confiables.

Por lo tanto debido a que se encontró alta significancia, se aplicó la prueba de medias para clasificar los mejores genotipos, siendo la prueba de rango múltiple DUNCAN con $\alpha = 0.05$.

Cuadro 10 Concentración de medias para la variable longitud de plúmula bajo estrés hídrico con manitol, de acuerdo a la prueba de DUNCAN con $\alpha = 0.05$.

Genotipos.	Medias (cm)	Grupos.
2405	7.7860	A
2406	7.0190	AB
2412.	6.2680	BC
Maíz negro,	6.1910	BC
2413	6.0510	BC
2415	5.4510	CD
Canelo	5.3845	CDE
Forrajero amarillo.	5.3535	CDE
1310	5.2590	CDE

2419	4.7735	DEF
Pozolero rojo	4.6910	DEFG
1313	4.6055	DEFG
1219	4.5640	DEFG
2414	4.4910	DEFG
2422	4.4800	DEFG
1220	4.3880	DEFG
2424	4.1810	DEFGH
2420	4.1200	DEFGH
Maíz Bco. pozolero.	4.0900	EFGH
1222	4.0820	EFGH
1306	3.9140	FGH
2423	3.6325	FGH
Dulce amarillo,	3.3735	GH
Zanahoria,	3.0030	H

Genotipos con la misma letra son estadísticamente iguales.

De acuerdo a la prueba de medias los genotipos con medias estadísticamente superiores para la variable longitud de plúmula son el 2405 y 2406.

Sin embargo los genotipos 2412, maíz negro y 2413 son estadísticamente igual a 2406.

Los genotipos 2415, canelo, forrajero amarillo y 1310 son estadísticamente iguales a 2412, maíz negro y 2413.

A su vez los criollos 2419, pozolero rojo, 1313, 1219, 2414, 2422, 1220, 2424 y 2420 son iguales estadísticamente con 2415, canelo, forrajero amarillo y 1310.

Los criollos maíz blanco pozolero y 1222 son estadísticamente iguales a canelo, forrajero amarillo, 1310, 2419, pozolero rojo, 1313, 1219, 2414, 2422, 1220, 2424 y 2420.

Los materiales 1306 y 2423 son no significativos estadísticamente con 2419, pozolero rojo, 1313, 1219, 2414, 2422, 1220, 2424, 2420, maíz blanco pozolero y 1222.

El criollo dulce amarillo es no significativo estadísticamente con los criollo pozolero rojo, 1313, 1219, 2414, 2422, 1220, 2424, 2420, maíz blanco pozolero, 1222, 1306 y 2423.

A su vez el criollo zanahoria es no significativo estadísticamente con 2424, 2420, maíz blanco pozolero, 1222, 1306, 2423 y dulce amarillo.

Para los dos análisis se encontró que en la variable longitud de raíz y plúmula los criollos más altos estadísticamente fueron iguales y son en ambas el 2406 y 2405, sin embargo en la variable longitud de raíz el 2405, 2412 y 2413 son estadísticamente iguales al 2406 y estos presentan mayor resistencia al déficit hídrico, la cual se puede observar en el mayor desarrollo radicular que presentaron estos materiales criollos.

Por lo tanto los genotipos criollos que presentan un deficiente desarrollo en longitud aérea son el dulce amarillo y el zanahoria.

V. CONCLUSIONES.

Tomando en cuenta los resultados arrojados en los análisis de daño por *Fusarium* y de efectos de sequía se acepta la primera hipótesis.

De acuerdo a la prueba de medias, se observa que dentro de los maíces criollos pigmentados existen algunos que toleran la incidencia de *Fusarium* y sequía, por lo tanto la hipótesis dos es aceptable.

De acuerdo a los análisis de varianza practicados para cada material, se encontró que existe gran variabilidad en la respuesta de cada uno de ellos, lo que ayudará a seleccionar aquellos criollos que tengan mejor o mayor desarrollo para cada variable, esto se pudo observar en la prueba de medias para la resistencia al filtrado tóxico del hongo *Fusarium moniliforme*, así como en la prueba para tolerancia a sequía con manitol como agente osmótico.

Con esto se pudo corroborar que ambas técnicas usadas en laboratorio son buenas herramientas que se usan para seleccionar genotipos que toleren las condiciones adversas de sequía y la incidencia del hongo *Fusarium moniliforme* (Sheld).

Con respecto a la resistencia de los materiales criollos pigmentados se encontró que aquellos seleccionados como resistentes a la incidencia de *Fusarium moniliforme* fueron 1310 y el 1219, y los seleccionados como tolerantes a la sequía son el 2406 y el 2405.

Por lo tanto, según la prueba de medias los mejores genotipos que son resistentes al hongo *Fusarium moniliforme* en la variable longitud de raíz son el 1313, canelo y el 2405.

A su vez los criollos 1310 y 1219 son los que presentaron mayor desarrollo aéreo, de acuerdo a la variable longitud de plúmula.

De acuerdo a la prueba de medias practicados en las variables arriba señalados para tolerancia a sequía, se encontró que los criollos 2406 y 2405 son los mismos seleccionados para ambas variables.

En el presente trabajo no se encontraron materiales que puedan seleccionarse como resistentes tanto para *Fusarium* como para sequía, por lo tanto se deduce que en ambas condiciones la resistencia probablemente esté dado por diferentes genes.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo, se contribuye a la selección de aquellos maíces criollos pigmentados que puedan ofrecer mejores alternativas para la biodiversidad de maíces en nuestro país, y con esto contribuir tanto para la alimentación humana como para fines industriales, a su vez estos materiales pueden ser usados en próximas investigaciones que se desarrollen tanto en invernadero como en campo de acuerdo a los requerimientos

de clima, precipitación y nutrientes que cada material criollo requiera para una buena producción.

VI. LITERATURA CITADA

- Agrios, N.G. 1985. Fitopatología . Ed. Limusa. México. 756 p.
- Agrios, N.G. 1991. Manual de las enfermedades de las plantas. Ed. Limusa. México. P. 528
- Agrios, N.G. 1996. Fitopatología. Ed. Limusa. México.
- Alexopoulos, C. J. and C. W. Mims. 1979. Introductory mycology. Third Edition. John Wiley and Sons. New York, USA. 632 p.
- Álvarez N., G. 1988. Fases y etapas fonológicas del cacahuete (*Arachis hipogaea* L.) cultivado bajo riego en la región de Delicias, Chih. Tesis de licenciatura UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Álvarez, B., J. R. 1991. Implementación de la metodología de los cultivos "In Vitro" de embriones como una alternativa para seleccionar genotipos de maíz (*Zea mays* .) tolerantes a sequía. Tesis de licenciatura AAAN. Buenavista Saltillo, Coahuila, México.
- Álvarez G. 1985. Estimación de parámetros genéticos en un sintético de maíz del trópico Seco Mexicano. Tesis de Maestría. Especialidad Fitomejoramiento. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Beltrán E. D. 1983. Estudio de la heterosis en algunas características relacionadas con la resistencia a sequía en el sorgo para grano (*Sorghum bicolor* L. Moench). Tesis de Maestría en Ciencias. UAAAN. Colegio de Graduados. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

- Bolaños, J. y G. O. Edmeades. 1993. La fenología del maíz en síntesis de los resultados experimentales del PRM 1992. Vol. 4 CIMMyT. Guatemala. P. 251 – 261.
- Bolaños. J. A. y G. O. Edmeades. 1988. 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, 1988. programa de maíz. CIMMyT, México. 14 p.
- Bolaños, J.A. y G.O. Edmeades. 1989. Selección para tolerancia a sequía en maíz tropical. En : Tolerancia a factores ambientales adversos en el cultivo del maíz. III seminario. IIC-BID-PROCIANDINO. Quito, Ecuador. PROCIANDINO. Programa del Maíz. CIMMyT. México. Pp. 125-139.
- Brauer, H. O. 1983. Fitogenética Aplicada. Los conocimientos de la herencia vegetal al servicio de la humanidad. Limusa, México. P. 155 – 161.
- Brawer. H. D. 1985. Fitogenética Aplicada. Séptima reimpresión. Editorial Limusa, México, D. F. PP. 364 – 479.
- Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMyT) 1978. Enfermedades del maíz. Segunda Edición. El batan. México.
- Cepeda, V. M. A. 1991. Métodos de inoculación de *Fusarium moniliforme* en tallo de maíz. Memorias del XVIII Congreso Nacional de Fitopatología. Puebla, Puebla. Del 24 – 26 de julio de 1991.
- Damarys, M. Medina, C. y Zenteno, Z. 1976. Micoflora de mazorcas de maíz en México. II Boletín de la Sociedad Mexicana de Micología. 10 : 71 – 77.

- Daniels, B. A. 1983. Elimination of *Fusarium moniliforme* from corn seed. Plant Disease. USA. 67: 609 – 611.
- Daubenmire, R. F. 1982. Ecología Vegetal. 3ª Ed. Limusa México. Pp. 128, 145 – 146, 163 –165.
- Douglas, Z. y M. Contreras. 2005. Industria Avícola. La revista para empresarios y profesionales en la avicultura Latinoamericana . Grupo de Agronegocios. Fabulare – México.
- Escobedo, B., L. y Olivares, S., G. 1987. Metodología para evaluar “*In Vitro*” genotipos de maíz basándose en su resistencia a *Fusarium moniliforme*. Revista Agraria. UAAAN. 3 (2): 171 – 186.
- Espinoza, P., N. Rodríguez O. J. L. Cardenes S., E y Muñoz O. A. 1994. Efecto del déficit hídrico en el crecimiento del tallo de dos variedades de maíz (*Zea mays* L.) Memorias del XV Congreso Nacional de Fitogenética. Monterrey N. L. México del 25 al 30 de septiembre. Pp. 354.
- Fischer K. S., E. C. Johnson y G. O. Edmeades. 1984. Mejoramiento y selección de maíz tropical para incrementar su resistencia a sequía. CIMMYT. El Batán, México. p. 20
- Flores, O., A. y Delgado, L. E. 1991. Evaluación de la técnica de inoculación “*In Vitro*” e invernadero de progenitores de maíz *Zea mays* L. Para determinar tolerancia a *Fusarium moniliforme* . Memoria del XVIII Congreso Nacional de Fitopatología. Puebla, Puebla del 24 al 26 de julio de 1991.
- Fuentes D., V. O. 1960. Elementos de Fitopatología. Ediciones. Universidad de Coahuila.

- Fulbrighth, T. E. 1988. Effect of temperature, water potential, and sodium chloride on Indiangrass germination. *Journal of Range management*. 41 (3): 207 – 201.
- García, A. M. 1979. Enfermedades de las plantas de la Republica Mexicana. Edit. LIMUSA, 1ª EDIC. México. Pp. 93
- García, A. M. 1984. Patología Vegetal Práctica. 2ª. Edición . Limusa. México. p. 256
- Gayla, T. J.; C. A. Martinson and P. J. Loesgh Jr. 1980. Evaluation of inoculation techniques an rating dates for *Fusarium* ears rot of opaque 2 maize Phytopathology.
- González G., S. G. Leyva M., G. Y Villaseñor, M. M. 1988. Evaluación de técnicas de inoculación de *Fusarium moniliforme* (Sheld) causante de la pudrición de la mazorca y el germinado prematuro del maíz. *Rev. México. Fitopatología*. 6: 237 – 243.
- Graniti, A. 1972. The evolution of toxin concept in plant disease. Woo RK. AB. Ballio and Graniti (Eds) Academic Press. USA. Pp. 15 – 16.
- Griffiths, J. F. 1985. Climatología Aplicada . Publicaciones culturales. México. P. 70.
- Jugenheimer, R. W. 1981 Variedades mejoradas. Métodos de cultivo y producción de semillas. Edit. Limusa. México , P. 274 – 284.
- Kimura H. 1981. Simultaneus detection of several *Fusarium* micotoxina in cereal, grains, and food tuffs. *J. Assoc of Anal. Chim*. 64 (5): 1067 – 1073.

- Kramer, P, M. 1980. Drought stress and the origin of plant to water, and high temperature stress. (Ed) M. C. Tuner and P. J. Kramer. Wiley. New York, USA.
- Kucharek , T. A. and T. Kommedohl. 1966. Kernel infection and corn stalk rot caused by *Fusarium moniliforme* . Phytopathology.
- Kuruvadi. 1980. Genetic studies on dryland wheat. Postdoctoral research investigation. Agricultura, Canada research station Swift Current.
- Ley, W, B. 1985. Mycotoxins in stored corn linked to fatal equine disease. Feeds tuff 57 (4): 7 (Abst..).
- Lisker, N. and Lillehoj, E. B. 1991. Prevention of mycotoxins contamination (Principally aflatoxin and *Fusarium* toxins) at the preharvest stage in micotoxins and animal food. (Ed) Smith, J. E., Henderson. R. S Boca Raton. USA. Cec 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 Maize ear rot in Taulabe Comoyohua, Honduras Ceiba. 31 (1): 14.
- Marín, J. P. Segarra, J. And almacellas, J. 1992. Cereal diseases in Cataluña Durin 1988 – 90. Investigación Agraria, producción y protección vegetal. 7 (2): 261 – 275.
- 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.

Maximov, N. A. 1954. Fisiología Vegetal. 2ª Ed. CECSA. México. Pp.336 – 339.

Mc. Gee, C. D. 1988. Maize disease. An references source for seeds technologist. APS PRESS, the American Phytopathological Society. St. Paul Minnesota. Pp. 13 16, USA.

Molina, G., J. D. 1980. Selección masal para la resistencia a sequía en maíz. Agronegocios (42): 69 – 76.

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

Muñoz, O., A. 1975. Relación Agua-Planta bajo sequía en varios sintéticos de maíz resistentes a sequía y heladas. Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.

Nour, M. And Weibel, D. E. 1978. Agronomy Journal. Evaluation of Root characteristics in Grain Sorghum an American Society of Agronomy publication. 70 (1-3): 217 - 218. Madison Wisconsin, USA.

Núñez, B. A. 1984. El agua en el Sistema Suelo – Planta – Atmósfera. CAEVAGCIANOC INIA. SARH. Tema didáctico No. 17 Durango. Dgo. México.

Parmar, M. T. And Moore. 1966. effects of simulated drought by polyethyleneglycols solutions on corn plants (*Zea mays* L.). Germination and seedling develoment. Agron. J. 58: 381 – 392.

- Pérez, R. A. 1985. Efectos de varios niveles de filtrado tóxico de *Fusarium* spp. En el comportamiento in Vitro de varias líneas de maíz. Tesis de licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Qualls y Fischer, 1983. Mejoramiento y selección de maíz tropical para incrementar su resistencia a sequía CYMMYT, El Batán, México. 20 p.
- 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.
- Quizemberry., J. E. 1987. Mejoramiento de plantas para la resistencia a la sequía y aprovechamiento del agua. En: Christiansen, M. N. Y Ch. F. Lewis (Eds.) Mejoramiento de plantas en ambientes poco favorables. Limusa. México. P. 233 – 256.
- Qureshi, M. A. and Hagler, W. M. Jr. 1992. Effect of Fumonisin B1 exposure on Chicken macrophage functions “ In vitro “. Poult. Sci.
- Rajaram, S. 1989. Mejoramiento de trigo para obtener tolerancia a la sequía. Perspectivas y opiniones. En: Mejoramiento de la sequía en trigo. Memoria del taller. Marcos, Juárez, Argentina, del 28 al 30 de agosto de 1989. CIMMYT. México.
- Río, L. E. Del. 1990. The effect of potassium fertilizer on the incidence of maize rot. Ceiba. Rev. Agraria 11 (15) 105 – 121.
- Rivera, G. M. 1988. Evaluación de metodología para seleccionar genotipos de maíz tolerantes a sequía. Tesis Maestría en Ciencias. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 105 p.

- Robledo, T., V. 1989. Comportamiento de características cuantitativas y patrones de crecimiento radical en relación. Rev. Agraria 10 (8): 98 – 102.
- Robledo, T. V. Kuruvadi, S, Oyervides G. A. 1993. Relación entre rendimientos 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, Coahuila, México.
- Rojas G. M. 1978. Fisiología Vegetal Aplicada. Mc Graw Hill. Mexico. 252 p.
- Romero, C. S. 1993. Hongos Fitopatógenos. 2ª Ed. Edit. Chapingo, México. 225 Pp.
- Scott G. E. and M. C. Futrell. 1970. Seeding reaction of in bredes and single crosses of maize to *Fusarium moniliforme*. Plant Disease reporter Vol. 54 (4): 483.
- Slatyer, R. D. 1969. Physiological significance of internal water relations to crop yield. Easting et al, (Eds.) Amer. Soc. Madison, Wis. Pp. 53 – 88.
- Sociedad Americana de Fitopatología. 1980. compendio de enfermedades de maíz del Hemisferio Sur. Buenos Aires, P. 102 – 106.
- Stayer, R. C. and D. J. Cantliffe. 1987. Infection of endosperm mutants of sweet corn by *Fusarium* Spp and effects an seed vigor. Phytopathology. 74 (2): 189 – 194.

- Stebbins, T. C. 1981. Pathogenecity and toxin production "*in vitro*" by *Fusarium* from corn. *Phytopathology*. 71 (2): 258.
- Till, D. C., R. D. Schirman y A. P. Appley. 1979. Osmotic stability of mannitol and polyethyleneglycol. 20, 000. Solutions used as seed germination media. *Agron. J.* 71: 105 – 109.
- Vasonder, R. F. 1986. Toxigenic *Fusarium* Spp. From equin feed. *Phytopathology*. 76: 1147 (Abst.).
- Viñas I. 1984. Investigation of micotoxins and mycoflora of maize from silos. *Phytopathology Mediterranea* 22 (1): 2327 (Abst.).
- Villalpando. J. F. I. 1990. Metodología de investigación en Agroclimatología. SARH – INIFAP. Guadalajara, Jal.
- Villalpando, J. F. I. Del Real L. I. Y Ruiz, C. J. A. 1971. Temperatura y tecnología Agrícola. Apuntes de curso, Guadalajara, Jal.
- Wheeler, H. 1975. Plant patogénesis Spring Verlang. Berlin. P. 28 – 30.
- Williams, T. V., Snell, and J. F. Elis. 1967. Methods of measuring drought tolerance en corn. *Crop. Sci.* 7: 1979 – 1982.
- Zwatz, B. 1984. Maize disease and fungal poison (Mycotoxins). *Pflanzenarzt* 37 (7): 115 – 117. (Abst.).