



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN  
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GENÉTICA

*RESISTENCIA A PUDRICIÓN DE MAZORCA  
EN POBLACIONES DE MAÍZ BAJO  
MEJORAMIENTO PARTICIPATIVO EN EL  
ALTIPLANO DE MÉXICO.*

DOLORES BRIONES REYES

T E S I S  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2007



La presente tesis titulada: **Resistencia a pudrición de mazorca en poblaciones de maíz bajo mejoramiento participativo en el Altiplano de México**, realizada por la alumna: **Dolores Briones Reyes**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GENÉTICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO

---

DR. VÍCTOR HEBER AGUILAR RINCÓN

ASESOR

---

DR. FERNANDO CASTILLO GONZÁLEZ

ASESOR

---

DR. CARLOS DE LEÓN

## ***Agradecimientos***

*A Dios, por prestarme vida para lograr una meta más en mi camino.*

*A mi familia, por ser fuente permanente de inspiración, por apoyarme en mis decisiones.*

*Al CONACYT, por otorgarme una beca para realizar mis estudios.*

*Al Colegio de Postgraduados, por brindarme la oportunidad de superarme.*

*A los miembros de mi Consejo Particular: Dr. V. Heber Aguilar Rincón, Dr. Fernando Castillo González y Dr. Carlos De León, por sus acertadas aportaciones, sugerencias, así como por su disposición para colaborar en este trabajo de investigación.*

*Al Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos (SINAREFI), SNICS, SAGARPA, por el apoyo financiero a esta investigación.*

*Al Ing. Antonio Ramírez por su apoyo en el trabajo de campo.*

*Al Dr. Aquiles Carballo, por proporcionar los materiales híbridos y a la Dra. Hilda V. Silva por su contribución a esta investigación.*

*Al Dr. D. Jeffers, Carlos Muñoz e Ing. Leo, del programa de maíz de CIMMYT por su valiosa asesoría para el trabajo de laboratorio.*

*A todos mis profesores, por sus conocimientos impartidos.*

*A mis compañeros, por la amistad y compañerismo que surgió entre todos, por darme la oportunidad de conocerlos, nunca los olvidaré.*

*A todas aquellas personas que con su apoyo directo o indirecto hicieron que fuera posible finalizar esta investigación y hacer realidad un sueño más.*

*G r a c i a s*

# ***Dedicatoria***

*El presente trabajo lo dedico con cariño*

## ***A mis Padres:***

*Manuel y Ma. Luisa*

*Por darme la vida y por su apoyo incondicional para la realización de mis estudios.*

## ***A mis hermanas y hermano:***

*Sonia, Ana y Juan Manuel*

*Por su cariño y comprensión.*

## ***A mis sobrinos:***

*Iris Yunuhen y Ángel Alejandro*

*Por que con su llegada han llenado mi vida de alegría.*

*A cada una de las personas especiales e importantes en mi vida. Simplemente porque cada persona que pasa en nuestra vida es única. Siempre deja un poco de si y se lleva un poco de nosotros. Habrá los que se llevaran mucho, pero no habrá de los que no nos dejen nada.*

# CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	iii
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	iv
<b>RESUMEN</b> .....	v
<b>SUMMARY</b> .....	vi
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Hipótesis .....	5
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	6
2.1. Origen del maíz y su distribución en México .....	6
2.2. Maíz Chalqueño .....	7
2.3. Pudrición de la mazorca .....	8
2.4. Aspectos generales de <i>Fusarium</i> .....	10
2.4.1. <i>Fusarium verticillioides</i> (sin. <i>F. moniliforme</i> ) .....	12
2.4.2. <i>Fusarium graminearum</i> (sin. <i>F. roseum</i> ) .....	12
2.5. Control de la enfermedad .....	13
2.6. Mejoramiento para resistencia a enfermedades .....	14
2.6.1. Tipos de resistencia .....	16
2.6.2. Mejoramiento mediante resistencia cuantitativa .....	17
2.7. Resistencia a pudrición de mazorca por <i>Fusarium</i> spp en maíz .....	18
2.8. Fuentes de resistencia .....	19
2.9. Evaluación de la resistencia .....	20

<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	22
3.1. Evaluación de la resistencia a la pudrición de la mazorca de diferentes ciclos de selección de tres poblaciones de maíz .....	22
3.1.1. Germoplasma y diseño experimental .....	22
3.1.2. Colecta de muestras del patógeno .....	24
3.1.3. Producción de inóculo .....	25
3.1.4. Inoculación .....	26
3.1.5. Evaluación de la enfermedad .....	26
3.2. Identificación y distribución de especies que ocasionan pudrición de mazorca ..	28
3.2.1. Colecta de muestras .....	28
3.2.2. Identificación morfológica de especies de <i>Fusarium</i> .....	29
3.2.3. Identificación molecular .....	30
3.3. Virulencia de los aislamientos de <i>Fusarium</i> .....	31
3.3.1. Producción de inóculo, inoculación y evaluación de la enfermedad .....	31
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	32
4.1. Resistencia a pudrición de la mazorca en ciclos de selección .....	32
4.1.1. Rendimiento de mazorca en los ciclos de selección .....	44
4.2. Identificación y distribución de especies que ocasionan pudrición de mazorca ..	46
4.3. Virulencia de aislamientos .....	53
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	57
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	58

## ÍNDICE DE CUADROS

No.		Pág.
Cuadro 1	Poblaciones originales de maíz Chalqueño. ....	23
Cuadro 2	Localidades y número de muestras de maíz con síntomas de pudrición, colectadas para el aislamiento de los hongos causantes de la enfermedad en 2005. ....	24
Cuadro 3	Escala de severidad de la enfermedad. ....	27
Cuadro 4	Localidades y número de muestras de maíz con síntomas de pudrición, colectadas para el aislamiento de los hongos causantes de la enfermedad en 2006. ....	28
Cuadro 5	Análisis de varianza para severidad de la enfermedad de tres poblaciones de maíz Chalqueño bajo selección masal participativa evaluadas en dos localidades en 2005 y 2006, con y sin inoculación artificial. ....	34
Cuadro 6	Medias ponderadas (MP) y porcentaje de severidad de la enfermedad en varios ciclos de selección de tres poblaciones (Pob.) de maíz evaluadas, 2005 y 2006, bajo inoculación artificial. ....	36
Cuadro 7	Partición de la variación entre los diferentes ciclos de selección en la componente lineal y no lineal, para cada una de tres poblaciones de maíz chalqueño, bajo inoculación artificial, Ayapango, Méx. 2006. ....	38
Cuadro 8	Análisis de varianza para rendimiento (Peso/mazorca) de tres poblaciones de maíz Chalqueño bajo selección masal participativa. ....	46
Cuadro 9	Especies del género <i>Fusarium</i> que causan la pudrición de la mazorca en la zona Chalco-Juchitepec, Edo. de Méx. ....	48
Cuadro 10	Identificación morfológica de aislamientos de hongos que ocasionan pudrición de mazorca de maíz. ....	49
Cuadro 11	Frecuencia de los aislamientos para cada especie <i>Fusarium</i> en los Estados de México y Tlaxcala. ....	51
Cuadro 12	Comparación de medias de infección de los aislamientos del Edo. de México. ....	55

## ÍNDICE DE FIGURAS

No.		Pág.
Figura 1	Morfología de <i>Fusarium</i> spp (Booth, 1971). .....	13
Figura 2	Línea de regresión y valores observados de: (A) Porcentajes de pudrición de la mazorca causada por <i>Fusarium</i> spp y (B) Rendimiento medido en peso por mazorca sobre los diferentes ciclos de selección de tres poblaciones de maíz Chalqueño, Ayapango, 2005. ....	41
Figura 3	Línea de regresión y valores observados de: (A) Porcentajes de pudrición de la mazorca causada por <i>Fusarium</i> spp y (B) Rendimiento medido en peso por mazorca sobre los diferentes ciclos de selección de tres poblaciones de maíz Chalqueño, Montecillo, 2005. ....	42
Figura 4	Línea de regresión y valores observados de: (A) Porcentajes de pudrición de la mazorca causada por <i>Fusarium</i> spp y (B) Rendimiento medido en peso por mazorca sobre los diferentes ciclos de selección de tres poblaciones de maíz Chalqueño de Ayapango, 2006. ....	43
Figura 5	Especies identificadas morfológicamente: A) <i>F. verticillioides</i> , B) <i>F. graminearum</i> , C) <i>F. subglutinans</i> . ....	40
Figura 6	Virulencia de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp. ....	56

## RESUMEN

Con el objeto de evaluar la resistencia genética a la pudrición de la mazorca de nueve ciclos de selección de cada una de tres poblaciones de maíz Chalqueño (Azul, Palomo y Crema), y de determinar la distribución y virulencia de las especies de hongos causantes de la pudrición, se colectaron 26 muestras de mazorcas con y sin síntomas de pudrición en tres zonas de los Estados de México, Tlaxcala y Puebla. La evaluación de la resistencia se hizo en tres localidades, utilizando la mezcla de 15 aislamientos colectados en la región Chalco-Juchitepec, que fueron inoculados en los jilotes entre 7 y 10 días después de la emisión de los estigmas. La severidad de la enfermedad se evaluó a la cosecha, utilizando la escala 1 a 5 de acuerdo al porcentaje de infección. Los aislamientos fueron identificados morfológicamente y su virulencia fue evaluada utilizando el híbrido HS-2. La resistencia genética de las diferentes poblaciones, no presentó diferencias entre los diferentes ciclos, ni entre poblaciones, y la expresión del daño fue muy dispersa sin reflejar una tendencia clara. Por medio del análisis de regresión de los porcentajes de daño por ciclo, en algunas poblaciones se observó una ligera tendencia a disminuir, mientras que en otras a aumentar en los diferentes ciclos de selección evaluados, los tratamientos testigo (HS-2 y Promesa) presentaron los porcentajes más bajos de daño. En cuanto a la regresión para rendimiento por mazorca, las tres poblaciones en la evaluación de 2006 mostraron una tendencia a aumentar, mientras que en otros casos el peso se mantiene constante o con una ligera tendencia negativa, debido a las condiciones ambientales. Morfológicamente, se identificaron las especies *F. verticillioides* (sin. *F. moniliforme*) y *F. graminearum* en las tres zonas muestreadas, siendo más frecuente la primera al encontrarse en 18 de los aislamientos; adicionalmente 6 fueron de *F. graminearum* y 2 correspondieron a *F. subglutinans*. Respecto a la evaluación de la virulencia, todos los aislamientos causaron daño superior al 35 %, y hubo diferencias significativas entre los aislamientos de acuerdo al grado de severidad de la enfermedad, siendo los más virulentos los aislamientos de las comunidades de San Diego y Poxtla, y el de Zoyatzingo el menor, todos ellos del Edo. de México.

**Palabras clave:** Ciclos de selección, *Fusarium*, resistencia genética, pudrición de mazorca, virulencia.

## SUMMARY

In order to evaluate the genetic resistance to the ear rot of nine cycles of selection in each one of three Chalqueño maize populations (Azul, Palomo y Crema), and to determine the distribution and virulence of fungus species that causes rot, 26 samples of ear with and without rot symptoms were collected in three zones of the States of Mexico, Tlaxcala and Puebla. The evaluation of the resistance was done in three localities, using the mixture of 15 isolations from the Chalco-Juchitepec region. The female inflorescences were inoculated between 7 and 10 days after the emission of stigmae. The disease severity was evaluated at the harvest, with a scale from 1 to 5 according to the percentage of infection. The isolations were morphologically identified and its virulence was evaluated using hybrid HS-2. There were no significant differences for genetic resistance between cycles neither between populations, and the damage expression was very dispersed without display a clear tendency. The regression analysis of the damage percentage by cycle, show a slight tendency towards down in some populations, whereas in others cases tends to rise. The control (HS-2 and Promise) displayed the lowest damage percentage. As for the regression for yield by ear, the three populations of the 2006 evaluation showed a tendency to increase, whereas in other cases the weight was constant or with a slight negative tendency, due to the environmental conditions. The isolations were morphologically identified like *F. verticillioides* (sin. *F. moniliforme*) (18), *F. graminearum* (6), and *F. subglutinans* (2). With respect to the evaluation of the virulence, all the isolations caused a damage upper than 35 % and there were significative differences among the isolations according to disease severity grade. The most pathogenic isolations were those from San Diego and Poxtla communities in Mexico State, and the least pathogenic from Zoyatzingo in Mexico State too.

**Key words:** Selection cycles, *Fusarium*, genetic resistance, ear rot, virulence.

# 1. INTRODUCCIÓN

El maíz representa uno de los aportes más valiosos de México a la seguridad alimentaria mundial; además de ser uno de los alimentos básicos para el pueblo mexicano. En 2004 ocupó el primer lugar en producción a nivel mundial con un estimado de 612.51 millones de toneladas (mt), seguido por el arroz con 390.22 mt, y el trigo con 549.35 mt (Mora, 2004).

En el 2005, México ocupó el cuarto lugar en producción mundial de maíz, al cultivar una superficie de 8.0 millones de hectáreas, con una producción de 20.5 mt de grano y un rendimiento promedio de 2.56 t/ha. Esta producción se destinó al consumo humano y animal (FAO, 2005). La baja productividad se debe principalmente a factores como el cultivo bajo condiciones ambientales no favorables, utilización de variedades con bajo potencial productivo, escaso uso de insumos, manejo, y a la incidencia de plagas y enfermedades entre otros. Debido a lo anterior, anualmente se presentan pérdidas en la producción, por lo que, entre otros aspectos, se han desarrollado diversos programas de mejoramiento de maíz para resolver estos problemas buscando mayor producción.

En el Altiplano de México, una de las enfermedades más importantes del maíz es la pudrición de la mazorca, causada por especies de hongos del género *Fusarium*, que ocasiona pérdidas en el rendimiento, disminución del valor comercial, alimenticio y calidad del grano; además, este hongo produce micotoxinas que afectan la salud humana y animal; esta enfermedad afecta a más del 40% de la superficie sembrada en los países en

desarrollo (Claure, 2001). La pudrición de mazorca puede estar asociada a factores indirectos que pueden favorecer su ataque, como son el daño provocado por insectos, pájaros, roedores y siembras tardías, ocasionando que la incidencia de la enfermedad varíe de un año a otro y de región a región, dependiendo del manejo agronómico y de las condiciones climáticas (White, 2004).

En México existe una alta incidencia de la pudrición de la mazorca en maíces de valles altos, y la situación es similar en otros países de América como Bolivia y Perú. Para controlar esta enfermedad, se ha recomendado el uso de prácticas culturales que ayudan a prevenir el ataque, o bien a reducir la incidencia (SAG, 1999).

No obstante lo anterior, en acuerdo con lo que indica Betanzos (2001), el método más práctico y económico para combatir esta enfermedad es la obtención de variedades con resistencia genética, de aquí que se hayan realizado estudios genéticos en los cuales se ha determinado que la herencia del carácter de resistencia a esta enfermedad es cuantitativa; que tanto los efectos aditivos como los de dominancia son importantes y que tiene una baja heredabilidad que puede ir de 0.24 a 0.55 (Nankam y Pataky, 1996; Chungu *et al.*, 1996). En otro estudio realizado por Pérez *et al.*, (2001), se detectaron nueve loci para la resistencia a *Fusarium moniliforme* en poblaciones de maíz blanco de valles altos de México. Otros países donde se han llevado a cabo investigaciones con el fin de encontrar resistencia duradera para pudrición de mazorca son Ecuador, Bolivia y Perú (Medina *et al.*, 2001).

Por otro lado, tres cuartas partes del área cultivada con maíz en México (seis millones de hectáreas) se siembran con poblaciones nativas (criollos), entre lo que se encuentra lo correspondiente a la raza Chalqueño, cuya denominación se atribuye a su preponderancia en la región de Chalco, Edo. de México y se distribuye de manera amplia en el Altiplano de México. En esta región, los maíces nativos constituyen prácticamente el 100% del maíz cultivado (Romero, 2002), y normalmente se ven afectados por diversos factores adversos como es el caso de la pudrición de mazorca que afecta entre 30 y 50 % de la producción según estimación de los productores de la zona.

Con el propósito de probar que la selección de semilla que se practica de manera tradicional por los productores se puede hacer de manera más eficiente, mediante la aplicación de los mismos criterios de selección que ellos aplican sobre mazorcas en el lugar de almacenaje, pero ahora en el campo al momento de la cosecha. Se ha adaptado la selección masal estratificada a las condiciones de cultivo tradicionales y practicado *in-situ* de manera participativa con el productor desde 1995; la estratificación del área de cultivo en sublotos permite controlar los efectos ambientales y el hacer la selección en campo, permite ampliar los criterios de selección a atributos de la planta. Los criterios de selección se amplían al considerar además de buen tamaño, sanidad de mazorca y grano, a buena sanidad, porte y vigor de la planta.

En cuanto a sanidad de mazorca, en dicho programa de mejoramiento, se eliminan todas las mazorcas que presentan cualquier nivel visible de daño por pudrición, al momento de la selección; de esta forma en los ciclos avanzados de las poblaciones

mejoradas, al momento de la cosecha se aprecia de manera visual una menor frecuencia de mazorcas podridas, resultado atribuido al tipo de selección realizada. Estas observaciones hacen suponer que la manera en que se ha practicado la selección, además de mejorar el rendimiento, pueden generarse ganancias en el nivel de resistencia genética a pudrición de mazorca.

Un aspecto importante en el mejoramiento genético para resistencia a enfermedades es el conocimiento de la variación de la virulencia del patógeno (grado de patogenicidad), ya que esto puede permitir un mejor entendimiento del patosistema y realizar planteamientos más acertados en los programas de mejoramiento. Lo anterior es particularmente importante en el patosistema de la pudrición de la mazorca, ya que siendo México centro de origen del maíz, es posible que haya venido existiendo coevolución entre el cultivo y los patógenos. Por lo anterior, puede entonces existir variación en cuanto a virulencia entre diversos aislamientos de hongos que ocasionan pudrición en la mazorca, y por tanto sería muy importante su determinación.

De acuerdo con lo expuesto, esta investigación tuvo como objetivo determinar la ganancia en resistencia genética a la pudrición de la mazorca de nueve ciclos de selección de cada una de tres poblaciones de maíz Chalqueño, cuyos compuestos de cada ciclo de selección han sido formados por mazorcas que no presentaban pudriciones visibles, entre otros atributos; así como determinar la distribución y la variabilidad en virulencia de las especies de hongos causantes de la enfermedad en el Altiplano central de México.

## Hipótesis

- El mejoramiento por selección para rendimiento que incluya además como criterio de selección la característica de mazorcas sin pudrición es una forma de obtener resistencia a pudrición de mazorca producida por *Fusarium sp.*
- Existe variabilidad en el grado de virulencia de los aislamientos que proceden de diferentes áreas geográficas.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Origen del maíz y su distribución en México

Considerando la gran diversidad genética que tiene el maíz, su origen ha sido discutido por más de 100 años. Durante ese período surgieron varias hipótesis, de las cuales la más aceptada es aquella que plantea que el maíz cultivado provenía del teocintle (Miranda, 2003).

En diferentes regiones maiceras de nuestro país, tal como es el caso de la región de Chalco, Edo. de Méx., se encuentran en forma natural poblaciones de teocintle las cuales antes de la floración son semejantes al maíz, a tal grado que es difícil de diferenciarlos, y es hasta la emisión de los órganos reproductivos cuando se puede observar la ausencia en el teocintle de la típica mazorca del maíz (Reyes, 1990).

No se sabe con precisión cuándo y dónde se originó el maíz en su forma cultivada, sin embargo, de acuerdo con mediciones de desintegración radioactiva de antiguas mazorcas encontradas en excavaciones arqueológicas y geológicas en cuevas, indican que la planta debe haberse domesticado aproximadamente hace 5000 años, aunque granos de polen de *Zea*, *Tripsacum* y *Euchlaena* encontrados en excavaciones en la ciudad de México son mucho más antiguos (Jugenheimer, 1981).

Se considera que México fue centro primario de origen, domesticación y dispersión del maíz, y que las migraciones humanas lo llevaron por un lado a Sudamérica, en donde se desarrolló como centro de origen secundario, y por otro lado también se dispersó hacia el norte del continente y posteriormente hacia Europa y Asia (Reyes, 1990).

Este cultivo se desarrolló primero en el trópico alto, en un clima más suave, que es donde se supone vivía la mayor parte de la población humana; posteriormente se extendió y adaptó al trópico bajo y cálido. De igual manera, se ha extendido y adaptado desde las latitudes tropicales entre los 23.5° lat. N-S y subtropicales, entre 34° lat. N-S, se ha extendido y adaptado a las zonas templadas, a latitudes fuera de los 34° lat. N-S (FAO, 2001).

## **2.2. Maíz Chalqueño**

En diferentes estudios de la diversidad genética del maíz en México, se han clasificado varias decenas de razas; entre ellas, una de las razas importantes es la Chalqueño. Esta raza se cultiva en México en extensas llanuras y valles de clima templado en altitudes sobre los 1800 msnm, predominantemente en el área conocida como Valles Altos. Además, es notable que en estas regiones, más del 95% de la superficie se siembra con variedades nativas bajo condiciones de temporal, humedad residual y punta de riego (Romero, 2002).

Las poblaciones de la raza Chalqueño son tardías, de porte relativamente alto, coloración de grano variable (crema, blanco, amarillo y azul-negro), número mediano de

hojas, relativamente anchas y de mediana longitud, espigas largas con pocas ramificaciones (Wellhausen *et al.*, 1951).

Dentro de la raza Chalqueño existe una amplia diversidad, que si bien se expresa como un continuo al igual que en la raza Cónico, se puede clasificar en grupos, y éstos a su vez subdividirse en tipos, lo cual ha sido resultado de los procesos de selección ocurridos, ligados estrechamente con los patrones culturales (usos del maíz, costumbres, ceremonias y rituales), aspectos tecnológicos y condiciones ambientales locales (Herrera-Cabrera *et al.*, 2004).

En la región Sur-Oriental (Chalco–Juchitepec) del Estado de México, los maíces nativos constituyen prácticamente el 100% del maíz que ahí se cultiva; es decir, continúan creciendo y evolucionando en su centro de origen y diversidad, conservándose así como recursos genéticos *in situ* (Herrera-Cabrera *et al.*, 2004).

### **2.3. Pudrición de la mazorca**

El maíz es afectado por diversas enfermedades ocasionadas por distintos microorganismos, las cuales están distribuídas mundialmente. Entre las enfermedades más importantes se encuentran las pudriciones de mazorca causada por hongos. Estas podredumbres provocan daños considerables en las zonas húmedas, en especial cuando las lluvias son más abundantes a lo normal. La incidencia de la enfermedad aumenta con el daño provocado por los insectos y pájaros, así como por el acame de plantas. De igual forma, las pudriciones de la mazorca también son más frecuente cuando se presentan

condiciones meteorológicas cálidas y húmedas después de la polinización (CIMMYT, 2004). Estas pudriciones pueden reducir significativamente la producción, calidad de los granos y el valor alimenticio, de tal forma que la semilla dañada o enferma debe ser eliminada para obtener semillas de calidad.

Los principales géneros de hongos que causan pudrición de la mazorca de maíz son *Fusarium*, *Gibberella*, *Aspergillus*, *Diplodia*, *Nigrospora* y *Penicillium* (White, 2004). Las especies *Fusarium graminearum* y *Fusarium verticillioides* (sin. *F. moniliforme*) también provocan pudrición de tallo y tizón en las plántulas.

Los síntomas de pudrición varían dependiendo del genotipo, medio ambiente y gravedad de la enfermedad. El daño que causa *F. verticillioides* se manifiesta principalmente en granos individuales o en ciertas áreas de la mazorca. Los granos infectados desarrollan un moho algodonoso o rayas blancas en el pericarpio. En el caso de *F. graminearum*, los primeros signos de la infección son la formación de micelios blancos, los cuales descienden desde la punta a la base de la mazorca y dan una coloración rojiza y rosada a los granos infectados (CIMMYT, 2004; White, 2004).

Otro aspecto de suma importancia de estos hongos, es su capacidad de producir micotoxinas, tales como deoxinivalenol, zearalenona, zearalenol y fumonisinas, etc., que al ser ingeridas por humanos o animales tienen efectos cancerígenos, teratógenos, mutágenos, eméticos y estrogénicos (Ayvar-Serna, 1997; Moreno, 1988).

En la región de Chalco, donde la pudrición de la mazorca se presenta año con año, de acuerdo a información proporcionada por productores de la zona, la disminución del rendimiento por efecto de la enfermedad puede ir de 30 a 50 %.

En los Estados de Tlaxcala, Puebla y México, ésta enfermedad provoca reducciones en la producción que van de 25 a 35 %. En esta región *F. verticillioides*, además de la pudrición, produce la germinación prematura del grano aún en la mazorca (Félix y Romero, 1981; Márquez, 1985). En un estudio realizado por Vigier *et al.* (2001) señala que cuando las condiciones son favorables para la enfermedad ésta provoca reducciones de 48 % en la producción de híbridos susceptibles en Canadá.

#### **2.4. Aspectos generales de *Fusarium***

La especie de hongos *Fusarium*, incluye parásitos facultativos que forman parte de la flora de campo, se desarrolla entre los 6 y 40 °C con un óptimo de 18 a 30 °C; es aeróbico y en general necesita de una humedad relativa para crecer y proliferar. Con anterioridad se mencionó que algunas especies de este hongo producen sustancias tóxicas que producen efectos dañinos en humanos y animales (Ayvar-Serna, 1997). *Fusarium* contamina al maíz en el campo, y posteriormente cuando este cereal es sometido a secado y otros procesos, el hongo puede morir; no obstante, la micotoxina puede permanecer en el grano (Gimeno, 2004).

En condiciones normales de laboratorio las colonias presentan un crecimiento rápido, que en pocos días llega a cubrir toda la placa del medio de cultivo. El color que

desarrollan puede depender de la especie y del medio de cultivo, y éste puede ser blanquecino, crema, anaranjado, rosa, rojizo, púrpura, etc. El micelio aéreo suele ser abundante y de aspecto algodonoso. La velocidad de crecimiento, la morfología y la pigmentación de la colonia son datos importantes para identificación (Nelson *et al.*, 1983).

Estos hongos son parásitos facultativos, ya que pueden sobrevivir como saprófitos en restos vegetales o en estado latente en forma de peritecios y producir conidias asexuales que constituyen el inóculo secundario, el cual es diseminado por el viento durante el cultivo (Niederhauser, 1949).

Desde el punto de vista taxonómico *Fusarium* se clasifica de la siguiente forma (Nelson *et al.*, 1983).

- Reino: *Eumycota*
- Phylum: *Dikariomycota*
- División: *Ascomycota*
- Clase: *Ascomycetes*
- Orden: *Hypocreales*
- Familia: *Hypocreaceae*
- Género: *Fusarium*
- Especies: *F. oxysporum*, *F. graminearum*, *F. verticillioides*, *F. dimerum*, *F. chlamydosporum*, etc.

#### **2.4.1. *Fusarium verticillioides* (sin. *F. moniliforme*) (Teleomorfo: *Gibberella fujikuroi*)**

*F. verticillioides* (antes *F. moniliforme*) es un hongo cosmopolita, con abundantes microconidios ovoides con base truncada, generalmente unicelulares, pero en ocasiones bicelulares. Su tamaño es de 5-12 x 1-3  $\mu\text{m}$ ; en algunos medios forma cadenas que pueden observarse en la placa de cultivo con objetivos de bajo aumento (Figura 1). La presencia de abundantes microconidias condiciona el aspecto polvoriento de la colonia. Los conidióforos nacen lateralmente de la hifa y son escasamente ramificados. Las macroconidias no se forman en todas las cepas y cuando existen son ligeramente fusiformes, casi rectas, con superficies dorsal y ventral casi paralelas, de pared fina y delicada. Las células basal y apical son alargadas y ligeramente curvadas. Pueden tener entre tres y siete tabiques y su tamaño es de 31-58 x 2.7-3.6  $\mu\text{m}$ . No forma clamidosporas (Nelson *et al.*, 1983).

#### **2.4.2. *Fusarium graminearum* (sin. *F. roseum*) (Teleomorfo: *Gibberella zeae*)**

*F. graminearum* no produce microconidios y los macroconidios son septados, de pared delgada, rectos a moderadamente curvos, curvados desigualmente con la superficie ventral casi recta y la superficie dorsal ligeramente arqueada (forma de canoa) (Figura 1). La célula basal en forma de pie, la célula apical presenta forma de cono o constreñida. Los conidioforos son cortos, muy ramificados o no, fialides simples, las clamidosporas generalmente tardan mucho en formarse en medio de cultivo. Los peritecios son negro-azulados, con pared externa rugosa (Nelson *et al.*, 1983). *Fusarium graminearum* necesita

de un mínimo de 15°C para desarrollarse con un óptimo entre 24 y 27°C; produce la micotoxina zearalenona sólo a temperaturas entre 10-12°C (Gimeno, 2004).

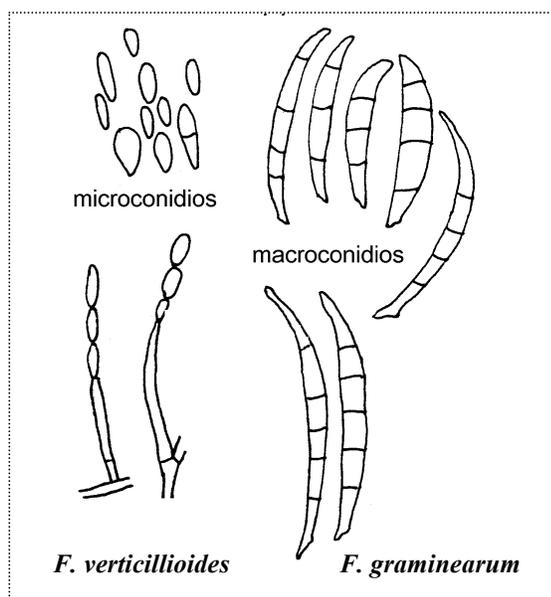


Figura 1: Morfología de *Fusarium spp* (Booth, 1971).

## 2.5. Control de la enfermedad

El control de esta enfermedad se puede hacer mediante la aplicación de productos químicos, uso de variedades resistentes, rotación de cultivos, manejo de suelos, entre otros.

Entre las prácticas culturales para controlar la enfermedad o para reducir su incidencia se recomiendan las siguientes (SAG, 1999).

- Destruir los tallos y mazorcas infectadas por la enfermedad quemándolas o incorporándolas al suelo.
- Proporcionar al cultivo un buen balance de nutrientes.

- Utilizar semilla de variedades con buena cobertura de mazorca.
- Mantener limpio el cultivo para reducir la humedad relativa alrededor de la planta.
- Evitar cosechas demasiado tardías.
- Practicar la dobla para lograr un rápido secamiento, evitando así que los hongos se multipliquen.
- Limpiar bien el sitio de almacenamiento, eliminar los restos de maíz picado o podrido.
- Hacer un almacenaje adecuado, utilizando la caseta secadora de maíz para obtener un 18% de humedad para almacenar mazorca y 15% para grano.

## **2.6. Mejoramiento para resistencia a enfermedades**

La resistencia a las enfermedades, antes de ser reconocida de manera científica por el hombre, debe haber desempeñado un importante papel selectivo en la evolución conjunta del huésped y el patógeno. Dentro de las diferentes formas de combate a las enfermedades, el método más práctico y económico es la obtención de variedades con resistencia genética (Reyes, 1985); de aquí que en la actualidad el mejorador se ha dado a la búsqueda y mantenimiento de fuentes de resistencia (Cornide *et al.*, 1993).

Por lo general, muchos de los programas de mejoramiento de maíz, junto con otros caracteres agronómicos, incluyen la resistencia a enfermedades como uno de los criterios de selección importantes. La principal diferencia entre el proceso para la selección de cualquier carácter y la selección de caracteres para la resistencia a enfermedades, es que

esta última es un sistema de dos variables, hospedante y patógeno, en el cual ambos juegan un papel de igual importancia para resistencia a enfermedades (FAO, 2001).

Para orientar de una mejor manera la investigación y seleccionar fuentes de resistencia, es necesario conocer el manejo del patógeno y su patogenicidad toda vez que estos difieren en virulencia y manifestación de síntomas (Mora y Vásquez, 1999).

La resistencia y la tolerancia son características heredables de la planta que contribuyen a la localización y el aislamiento del patógeno en los puntos de entrada, a la reducción del crecimiento y desarrollo del patógeno, así como a evitar los efectos dañinos de sustancias tóxicas producidas por el patógeno y a la inhibición de la reproducción, y en consecuencia a la posterior distribución del patógeno (Agrios, 1989).

El mejorador y el patólogo deben tener un papel igualmente importante en el mejoramiento y utilización de la resistencia a las enfermedades; deben trabajar en conjunto a fin de llegar al mejor comportamiento de la planta, medido bajo la forma de altos rendimientos y calidad del grano; en esta actividad se deberá incluir: (i) estudio de la variabilidad de los patógenos involucrados; (ii) estudio de la naturaleza de la resistencia, incluyendo la heredabilidad, y (iii) mejoramiento de los métodos de prueba e identificación de modo que la resistencia pueda ser efectivamente seleccionada e integrada con el programa general de mejoramiento del maíz (Poehlman, 2003).

### **2.6.1. Tipos de Resistencia**

La clasificación de la resistencia genética a enfermedades se ha realizado de diversas formas; una de ellas es considerando el número de genes, de tal forma que si la característica es controlada por un gene o pocos genes importantes, recibe el nombre de resistencia cualitativa, monogénica u oligogénica. En otros casos es controlada por múltiples genes en un sistema poligénico, en cuyo caso es llamada resistencia cuantitativa, que confiere diferentes grados de tolerancia. La resistencia puede ser: a) vertical y específica para alguna raza, o b) poligénica, horizontal, no específica, generalizada cuando se extiende a todas las razas (Van der Plank, 1984).

Cuando los genotipos de un cultivo muestran variación en su resistencia, desde no resistente (extremadamente susceptible) hasta resistente (poco susceptible) se está refiriendo a la resistencia cuantitativa. Este tipo de resistencia controlada por muchos genes no es fácilmente vencida (Arcos y Marca, 1998). La resistencia horizontal o cuantitativa confiere una protección incompleta pero permanente porque no se pierde fácilmente; su estabilidad y durabilidad es debida al efecto amortiguador del sistema poligénico. La resistencia cuantitativa se presenta en plantas silvestres y cultivadas, siendo más común en las primeras y menos en las segundas. Opera contra todas las razas de un patógeno, incluyendo a los de mayor patogenicidad, y se puede perder en ausencia del patógeno debido a que no hay presión de selección para la resistencia (Agrios, 1989).

La resistencia horizontal (cuantitativa) no específica ha sido usada en el maíz contra muchas enfermedades; por el contrario, la resistencia monogénica o específica ha sido usada en relativamente pocos casos tales como el tizón por *turcicum* (junto con resistencia poligénica), la roya (*Puccinia sorghi*) y el virus del estriado (MSV). Lo anterior se debe a que la resistencia específica, no obstante de conferir resistencia en la mayoría de las condiciones ambientales, tiene la desventaja de perderse cuando se presenta o produce una nueva raza a causa de mutaciones en el patógeno, y volviéndose por ello patogénica a la variedad antes resistente (Agrios, 1989).

### **2.6.2. Mejoramiento mediante resistencia cuantitativa**

La resistencia a una enfermedad puede o no ser absoluta; esta varía desde una forma parcial de resistencia hasta la casi total inmunidad. Esta variación en la resistencia puede ser debida a: (i) diferencias en la patogenicidad del agente causal; (ii) diferencias en los genes que gobiernan la resistencia de la planta hospedante, y (iii) a los ambientes que afectan la expresión final y la intensidad del desarrollo de la enfermedad. Los genotipos resistentes a una enfermedad en un determinado ambiente pueden no ser eficientes en otro ambiente donde hay una fuerte presión de la enfermedad u otra raza del patógeno (FAO, 2001).

El mejoramiento de los cultivos mediante la resistencia horizontal, según Robinson (1999), es tan fácil que puede realizarse como una actividad que puede llevar a cabo un agricultor, aficionado a la jardinería, activistas ecológicos, ambientalistas o estudiantes

universitarios. Se debe comenzar con una base genética razonablemente amplia de plantas sensibles. No es necesario encontrar una fuente de resistencia, como ocurre con la resistencia vertical. Usando la selección masal recurrente como método de mejoramiento, el proceso se repite hasta que se logra acumular suficiente resistencia horizontal. Generalmente, al cabo de 10 a 15 generaciones como máximo, se producirán altos niveles de resistencia horizontal a todos los parásitos locales importantes (Robinson, 1999).

### **2.7. Resistencia a pudrición de mazorca por *Fusarium* en maíz**

En la generación de variedades con resistencia genética duradera a esta enfermedad, es deseable iniciar con la identificación de la, o las, especies más prevalentes del patógeno. Por otro lado, es necesario que la carga del patógeno sea tal que la enfermedad se manifieste por sí misma a través de la infección natural; muchas veces la pudrición no es significativa por lo que es necesario realizar inoculaciones artificiales, a fin de poder diferenciar las plantas resistentes de las susceptibles (Medina *et al.*, 2001).

La resistencia a pudrición de la mazorca causada por *F. moniliforme* ha sido estudiada por varios autores. King y Scott (1981), en germoplasma con granos de endospermo dentado, estudiaron las diferencias entre granos asintomáticos y aquellos que presentan síntomas. Por otra parte, en germoplasma de maíz dulce, se han identificado fuentes de resistencia a este patógeno en maíz, las que han sido promisorias para el mejoramiento (Headrick y Pataky, 1989; Jeffers *et al.*, 1996).

Después de varias décadas de investigación no se han encontrado genotipos de maíz inmunes a la enfermedad, y su mecanismo de herencia no es bien conocido. Se ha reportado que el tipo de acción génica aditivo y de dominancia son importantes para la resistencia a *Fusarium*; también se ha observado que existe operatividad en tejido maternal y que posee baja heredabilidad en sentido amplio oscilando entre 0.24 y 0.46; asimismo, se ha recomendado la selección recurrente para la acumulación de alelos para la resistencia a *Fusarium moniliforme* (Headrick y Pataky, 1989; Nankam y Pataky, 1996).

La herencia de la resistencia a la pudrición de mazorca es cuantitativa, específica al modo de entrada del hongo (canal de estigmas o heridas en grano), y altamente influenciada por el ambiente. Se han identificado dos tipos de resistencia, la resistencia de estigmas, la cual impide al hongo entrar al grano y la resistencia de grano que funciona en el tejido del grano para prevenir la extensión del hongo en el mismo grano y hacia toda la mazorca (Ali *et al.*, 2005).

## **2.8. Fuentes de resistencia**

Las fuentes de genes para resistencia pueden tener diferente origen; una de ellas es la misma variedad cultivada, siempre y cuando posea los genes para cada una de las características heredables. También pueden ser algunas variedades locales o de otros lugares, variedades viejas abandonadas en algún momento, los parientes silvestres y en ocasiones aquellas obtenidas a través de mutaciones inducidas. Hasta ahora no ha sido

necesario buscar genes de resistencia fuera del genoma del maíz. Del mismo modo, la posibilidad de crear y obtener resistencia por medio de las mutaciones no ha sido utilizada en el maíz (Agrios, 1989; Hayward *et al.*, 1993).

Se han identificado fuentes de resistencia genética para muchas de las enfermedades de importancia económica cuyos genes de resistencia están presentes dentro del genoma del maíz (Wisser *et al.*, 2006). La tolerancia a ciertas enfermedades también se encuentra en algunas especies estrechamente emparentadas con el maíz, como el teocintle y *Tripsacum* que pueden, por lo tanto, ser utilizadas en caso necesario. La incorporación de fuentes de resistencia no específica ha proporcionado los principales recursos para el control de enfermedades (FAO, 2001).

## **2.9. Evaluación de la resistencia**

En la evaluación, cuando se realizan inoculaciones dirigidas, se debe considerar la cantidad de inóculo aplicado, pues es un factor importante que hay que tomar en cuenta, ya que la resistencia se puede sobreestimar con dosis bajas de inóculo al incrementar la frecuencia de escapes que pueden ser calificados como altamente resistentes; por el contrario, cuando las plantas son inoculadas con dosis demasiado altas, puede haber una subestimación, pues las pequeñas diferencias en resistencia o susceptibilidad desaparecen (Hayward *et al.*, 1993). En consecuencia, la cantidad óptima de inóculo debe ser aquella que reduce los posibles escapes y permite que sean fuertemente infectados solamente los genotipos más susceptibles.

En la evaluación de la resistencia cuantitativa, se debe estimar a nivel de población el porcentaje del tejido infectado, que viene a constituir la intensidad o severidad de la infección del patógeno. En las evaluaciones de resistencia cuantitativa o duradera, además de la incidencia y severidad de infección del patógeno se debe tener en cuenta la interferencia entre parcelas, diferencias en la maduración de los genotipos (precocidad), cantidad o dosis de inóculo, época de evaluación y hábito de crecimiento de las plantas (Arcos y Marca, 1998).

Respecto a la pudrición de la mazorca, uno de los parámetros constantemente evaluados es la sanidad de mazorca como característica genética, aunque no se realiza mejoramiento genético específico para esta característica. La pudrición de mazorca se evalúa mediante el parámetro “pudrición de mazorca”, el cual se califica con la incidencia de la pudrición en mazorcas y granos, con una escala de 0 a 100 como porcentaje de granos infectados (Téliz, 1989).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Evaluación de la resistencia a la pudrición de la mazorca de diferentes ciclos de selección de tres poblaciones de maíz**

##### **3.1.1. Germoplasma y diseño experimental**

El material evaluado en este trabajo estuvo integrado por los compuestos de nueve diferentes ciclos de selección masal de cada una de tres poblaciones de maíz Chalqueño (Cuadro 1). La selección se inició en 1995 de manera participativa con los productores correspondientes. Dado que el proceso se practicó en lotes sembrados y manejados de manera tradicional y en su lugar de origen, para tener cierto grado de aislamiento se ha seleccionado ignorando la franja periférica de 4 a 5 m de ancho, de manera que gran parte del polen de los lotes vecinos queda atrapado en esos primeros metros de la siembra (Ortiz, 1993).

Los lotes han sido de al menos 0.25 ha con sublotificación promedio de 60 m<sup>2</sup> y presión de selección de 3 a 5 %. Se ha tratado de que el agricultor realice la selección, cosechando en primera instancia, en cada sublote las mazorcas de plantas de porte moderado que no tengan tendencia al acame, de buena sanidad y vigor, posteriormente de esas mazorcas se ha seleccionado de acuerdo con los criterios tradicionales de buena apariencia, tamaño y sanidad de mazorca y grano; se ha tratado de ser estricto en no seleccionar mazorcas con pudrición.

Cuadro 1. Poblaciones originales de maíz Chalqueño

<b>Población original</b>	<b>Comunidad</b>	<b>Tipo de material</b>	<b>Agricultor</b>
Col- 6542*	Juchitepec, Méx.	Chalqueño Crema	Pedro Cruz Linares
Col- 6524	Poxtla, Ayapango, Méx.	Chalqueño Azul	Manuel Montes de Oca
Col- 6538	Cocotitlán, Méx.	Chalqueño Palomo	Santos Altamirano García

\* Identificación de la población por número secuencial.

Se establecieron experimentos en el Campo Experimental del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Méx. (19° 29' LN y 98° 54' LO, a altitud de 2250 msnm), y en la localidad de Ayapango, Méx. (19° 10' LN y 98° 45' LO, a altitud de 2450 msnm) en el 2005. En esta última localidad se realizó una segunda evaluación durante el ciclo primavera-verano 2006.

Se establecieron dos experimentos contiguos en un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones cada uno, con arreglo en parcelas divididas. Un experimento se inoculó con un compuesto de aislamientos de *Fusarium* spp. y el otro experimento se mantuvo bajo condiciones naturales. En las parcelas mayores se distribuyeron las poblaciones y en las parcelas menores los tratamientos correspondientes a los diferentes ciclos de selección dentro de cada una de las tres poblaciones de maíz Chalqueño, así como los híbridos testigos HS-2 y Promesa, proporcionados por el Dr. Aquiles Carballo del Programa de Semillas del Colegio de Postgraduados.

La unidad experimental consistió de dos surcos de 5 m de largo y 0.9 m de ancho. La siembra se realizó depositando tres semillas por golpe a una distancia entre matas de 0.5 m, para después aclarar a dos plantas por mata, con densidad de población de

aproximadamente 45,000 ptas/ha. El experimento se condujo bajo condiciones de temporal en ambas localidades, y únicamente en Montecillo se dió un riego después de la siembra.

### 3.1.2. Colecta de muestras del patógeno

Con el fin de contar con una fuente de inóculo adecuado para realizar las evaluaciones de la resistencia, en Enero de 2005 fueron colectadas directamente con productores de la región Chalco- Juchitepec, Méx., diversas muestras de mazorcas con síntomas de pudrición (Cuadro 2).

Cuadro 2. Localidades y número de muestras de maíz con síntomas de pudrición, colectadas para el aislamiento de los hongos causantes de la enfermedad en 2005.

Localidad	Municipio	Estado	No. de muestras	Altitud (msnm)	Long W	Lat. N
San Cristóbal Poxtla	Ayapango	Méx.	2	2466	98°47'30"	19°7'60"
Juchitepec	Juchitepec	Méx.	2	2570	98°52'70"	19°6'0"
La Candelaria Tlapala	Chalco	Méx.	2	2289	98°50'30"	19°13'60"
Ayapango	Ayapango	Méx.	2	2492	98°47'60"	19°7'0"
San Matías Cuijingo	Juchitepec	Méx.	3	2471	98°50'60"	19°4'60"
San Diego	Amecameca	Méx.	2	2675	98°43'60"	19°4'60"
Ozumba	Ozumba	Méx.	1	2352	98°47'60"	19°3'0"
San Antonio Zoyatzingo	Amecameca	Méx.	1	2478	98°46'60"	19°4'60"

### **3.1.3. Producción de inóculo**

De cada una de las muestras de mazorcas con síntomas de pudrición se desinfectaron ocho granos remojándolos durante un minuto en una solución al 3% de hipoclorito de sodio; se enjuagaron tres veces con agua destilada y se colocaron sobre dos capas de papel secante húmedo dentro de una caja Petri; y se incubaron durante 10 días a temperatura ambiente. Después de este tiempo y una vez que se habían desarrollado los hongos de las semillas, se aisló en PDA (papa, dextrosa, agar) el hongo visualmente más representativo de cada muestra.

Los aislamientos de *Fusarium* obtenidos a partir de las quince muestras de maíz se incrementaron por separado en cajas Petri con medio PDA. Posteriormente, se realizó un nuevo incremento, utilizando como sustrato glumas secas de avena. Dichas glumas se remojaron 2 h en agua caliente y posteriormente se colocaron en frascos de vidrio y se esterilizaron en dos ocasiones en autoclave, durante 45 min. Una vez que el sustrato se había enfriado, de cada aislamiento desarrollado en las cajas Petri se tomaron trocitos de PDA colonizados, los cuales se depositaron en los frascos con avena de tal forma que se obtuvo en cada frasco una mezcla de los 15 aislamientos de *Fusarium* esporulando. Los frascos se incubaron a temperatura ambiente y luz normal por tres semanas hasta que el sustrato de glumas estuviera completamente colonizado.

El inóculo se preparó a partir de las colonias de la mezcla de aislamientos en los frascos con glumas de avena, poco antes de realizarse las inoculaciones de los jilotes en campo. Se extrajeron las glumas de los frascos y se lavaron en agua estéril para coleccionar

las esporas. Posteriormente, se filtró la mezcla utilizando una gasa doble. Finalmente, la concentración de conidias de cada suspensión fue determinada utilizando un hematocitómetro. El inóculo se diluyó en agua sin cloro para obtener una concentración de  $1 \times 10^6$  esporas por mL.

#### **3.1.4. Inoculación**

Los jilotes se inocularon cuando presentaban estigmas con 7 a 10 días de haber sido emitidos; aproximadamente el 90% de las mazorcas primarias en cada parcela fueron inoculadas. Para la inoculación se utilizó la técnica del pica hielo, que consiste de un clavo de 1.5 cm de largo, fijado en la punta de un cabo de madera en cuya base se colocó una esponja (Drepper y Renfro, 1990); para la inoculación de cada jilote, el clavo con la esponja se sumergió en la suspensión conidial para luego introducirlo a través de las brácteas aproximadamente a la mitad del jilote con la finalidad de poner en contacto el patógeno con el tejido del grano. En el caso de la evaluación de 2006 en la localidad de Ayapango, la inoculación se realizó con una jeringa hipodérmica de recarga automática, usando una modificación de la técnica descrita por De León y Pandey (1989). En este caso, y siguiendo el mismo procedimiento antes descrito, en cada jilote se inyectó 1 mL de la solución conidial.

#### **3.1.5. Evaluación de la enfermedad**

Al momento de la cosecha (después de la madurez fisiológica y una vez seca la mazorca), se realizó la evaluación de la severidad de la enfermedad en las mazorcas

individuales de cada parcela; se midió con base en la estimación del porcentaje de área afectada por el hongo con respecto al área total de la mazorca. Para lo anterior se utilizó una escala de 1 a 5 (De León, 2005, Comunicación personal) Cuadro 3.

Dado que en una parcela se presentan mazorcas con diferente grado de daño, para la evaluación de la resistencia, de cada parcela se registró el número de mazorcas total y el número de mazorcas clasificadas dentro de cada grado de la escala. Con estos valores se calculó la media ponderada de daño por parcela; es decir se multiplicó el número de mazorcas dentro de cada clase de la escala por el valor de la escala, se realizó la suma, y este último valor se dividió por el número total de mazorcas de la parcela.

$$\text{Media ponderada} = (X_1 \cdot Y_1 + X_2 \cdot Y_2 + \dots + X_5 \cdot Y_5) / T$$

Donde:  $X_i$  = número de mazorcas en cada categoría de la escala

$Y_j$  = valor de la escala

$T = (X_1 + X_2 + \dots + X_5)$  número total de mazorcas en cada unidad experimental

Cuadro 3. Escala de severidad de la enfermedad

Grado	% de infección (daño)
1	0 - 20
2	21 - 40
3	41 - 60
4	61 - 80
5	81 - 100

El rendimiento se avaluó en base al peso/mazorca promedio, el cual se obtuvo dividiendo el peso total entre el número de mazorcas de cada una de las parcelas.

Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza y la comparación de medias DMS (Diferencia Mínima Significativa,  $\alpha=0.05$ ); asimismo se realizaron análisis de regresión del daño y del peso/mazorca sobre los ciclos de selección en cada población, utilizando el programa de análisis estadístico SAS (SAS, 2006), para apreciar la posible tendencia de la resistencia y rendimiento a través de los ciclos de selección dentro de cada una de las poblaciones de maíz.

## **3.2. Identificación y distribución de especies que ocasionan pudrición de mazorca**

### **3.2.1. Colecta de muestras**

Para la determinación de la distribución de las especies de *Fusarium* en el Altiplano de México, se consideraron las 15 muestras de mazorcas con síntomas de pudrición que se colectaron en la región de Chalco-Juchitepec, Méx. en 2005 (Cuadro 2). Además, en 2006 se colectaron 11 muestras adicionales de semilla de maíz, cinco de la zona centro del Edo. de Méx. en los alrededores de Toluca, cinco de Tlaxcala y una de San Martín Texmelucan, Pue. (Cuadro 4), conjuntándose en total 26 muestras.

Cuadro 4. Localidades y número de muestras de maíz con síntomas de pudrición colectadas para el aislamiento de los hongos causantes de la enfermedad en 2006.

Localidad	Municipio	Estado	No. de muestras	Altitud (msnm)	Long W	Lat N
Calimaya	Calimaya	Méx.	2	2689	19°9'36"	99°37'15"
C. Temoaya	Temoaya	Méx.	1	2266	19°28'15"	99°35'28"
Toluca	Toluca	Méx.	1	2680	19°17'18"	99°40'2"
La Cruz	Toluca	Méx.	1	2223	19°49'31"	99°25'14"
San Diego	Ixtacuixtla de	Tlax.	3	2238	19°18'30"	98°22'20"
Xocoyucan	M. M.					
Tlaxcala	Tlaxcala	Tlax.	2	2249	19°18'50"	98°14'30"
San Martín Tex.	Texmelucan	Pue.	1	2236	19°16'60"	98°25'60"

### 3.2.2. Identificación morfológica de especies de *Fusarium*

Para identificar las especies de *Fusarium* causantes de la pudrición de mazorca, de cada muestra de maíz se tomaron ocho semillas con síntomas de pudrición, las cuales se desinfectaron remojándolas durante un minuto en una solución al 3 % de hipoclorito de sodio; posteriormente se enjuagaron dos veces con agua destilada, se colocaron sobre dos capas de papel filtro húmedo en una caja Petri estéril y se incubaron a temperatura ambiente durante 10 días. Una vez que los granos estuvieron completamente colonizados, la identificación de las especies de los hongos se realizó con base en la morfología de sus conidias y macroconidias siguiendo las descripciones de Booth (1971), utilizando para ello la técnica del cintazo para observarlas al microscopio a un aumento de 40x.

### **3.2.3. Identificación molecular**

Con el fin de realizar la identificación molecular de las especies de *Fusarium* de la región Chalco-Juchitepec, en 2006 se reaislaron en PDA los hongos de los 15 aislamientos inoculados en el híbrido HS-2 de mazorcas producidas en las parcelas de evaluación de la patogenicidad (apartado 3.3). A partir de micelio desarrollado en las semillas, se obtuvieron cultivos monospóricos de cada aislamiento, utilizando para ello una campana de flujo laminar, donde se realizó una dilución de esporas, tomando con una aguja de disección una pequeña cantidad de micelio de cada uno de los 15 aislamientos, la cual se colocó en 5 mL de agua destilada estéril. Esta dilución se dispersó en placas de agua–agar eliminando el excedente. Las cajas con la dilución se mantuvieron en oscuridad durante 15 horas para inducir la germinación de las esporas. Posteriormente, con ayuda del microscopio y una aguja de disección, se tomaron esporas individuales germinadas que se colocaron en cajas Petri con medio PDA dejándolas crecer a temperatura ambiente.

Una vez obtenido un cultivo monospórico puro de cada muestra se procedió a extraer el ADN, empleando el protocolo de Bainbridge *et al.* (1990), modificado por Cámara (2001).

La cuantificación, selección de iniciadores, así como la amplificación de la región ITS (Internal Transcribed Spacer) del gen 28S rARN Nuclear Large Subunit (NLSU), fue llevado a cabo por la Dra. Hilda V. Silva Rojas, en el laboratorio de Biotecnología y Bioquímica de semillas del Colegio de Postgraduados. La secuenciación la realizó la empresa Macrogen Inc., Korea.

Para la determinación de la especie se compararon las secuencias obtenidas con las depositadas en el GenBank utilizando el programa GenBank-Blast del NCBI (National Center for Biotechnology Information).

### **3.3. Virulencia de los aislamientos de *Fusarium***

La evaluación de la virulencia únicamente se realizó con los 15 aislamientos de *Fusarium* de la zona Chalco-Juchitepec colectados en 2005, la cual se efectuó bajo condiciones de campo en el ciclo primavera-verano de 2005 en el Campo Experimental del Colegio de Postgraduados en Montecillo, Edo. de Méx. Para ello se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. La unidad experimental consistió de dos surcos de 5 m de largo y 0.9 m de ancho, donde se depositaron 3 semillas cada 0.50 m del maíz híbrido HS-2. El experimento se condujo bajo condiciones de temporal con un riego inicial después de la siembra.

#### **3.3.1. Producción de inóculo, inoculación y evaluación de la enfermedad**

A diferencia de la preparación de inóculo realizado en el trabajo de evaluación de la resistencia de los ciclos de selección (apartado 3.1.3), en este caso, se mantuvieron por separado cada uno de los 15 aislamientos originales de 2005, tanto en el incremento en placas de PDA como en los frascos con glumas de avena estéril. La extracción y preparación del inóculo, así como la inoculación, valoración y análisis de la información se realizó siguiendo el mismo procedimiento de la sección antes mencionada.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Resistencia a pudrición de la mazorca en los ciclos de selección

Con respecto a la valoración de la resistencia, las inoculaciones artificiales permitieron asegurar la presencia del patógeno en el cultivo, obteniéndose altos porcentajes de infección y facilitando con ello la discriminación entre materiales con diferente grado de resistencia. En las parcelas no inoculadas, el porcentaje de infección producido por el inóculo natural fluctuó entre 30 y 60 %, confirmando con ello que esta enfermedad es un serio problema en la producción de maíz.

Al comparar la condición inoculada vs. la no inoculada, en los experimentos de Ayapango 2006 y Montecillo 2005, el análisis de varianza (ANAVA) y la comparación de medias indicó que la severidad de la pudrición de mazorca fue significativamente mayor en aquellas parcelas inoculadas con la mezcla de aislamientos, al producir un porcentaje de daño de 39 – 91%, en las tres poblaciones de maíz; en la localidad de Ayapango 2005 no se observaron diferencias en esta variable (Cuadro 5; Figura 2, 3 y 4). En el experimento de Ayapango 2006, las diferencias en porcentaje de daño entre las parcelas inoculadas y no inoculadas fueron más notorias en las tres poblaciones de maíz (Figura 4A).

En lo referente a la resistencia genética de las diferentes poblaciones evaluadas en los tres experimentos descritos, el ANAVA para severidad de la enfermedad (Cuadro 5) de las poblaciones de maíz evaluadas indicó que no existe diferencia significativa entre

ciclos, las tres poblaciones de maíz Chalqueño fueron estadísticamente iguales, pero diferentes a los híbridos usados como testigos. Es importante mencionar que las condiciones de los experimentos en las localidades de Ayapango 2005 y de Montecillo 2005, no fueron las adecuadas, ya que, la distribución de las lluvias fue irregular en la primera, ocasionando con ello una fuerte disminución en la densidad de población y en el amarre de mazorcas, mientras que en la segunda se puede considerar una localidad con condiciones algo diferentes al área de adaptación original de los materiales; dada la irregularidad de la información, se eliminó a aquellas parcelas con menos de siete plantas y se analizó información de sólo 45 parcelas en Ayapango 2005 y 54 de Montecillo 2005, de las 84 establecidas con inoculación, por lo que, habría que considerar posible imprecisión en los resultados obtenidos, pues no permitieron distinguir diferencias entre ciclos y poblaciones de maíz.

En la evaluación realizada en la localidad de Ayapango 2006, las condiciones en que se desarrolló el experimento fueron mejores, aunque no óptimas; las densidades de población fueron de alrededor de 18 plantas/parcela, en este caso el coeficiente de variación fue de 14.06 % y se detectó significancia entre condiciones de inoculación, entre poblaciones, entre ciclos de selección en poblaciones y para la interacción inoculación x poblaciones. También se observó un menor porcentaje de infección en las mazorcas inoculadas con respecto al 2005 (Cuadro 6) que varió entre 25 y 59%, y en el caso del producido por el inóculo natural fue de 20-33%, también menor respecto al 2005 en la misma localidad. Esto indica nuevamente que la enfermedad depende de diversos factores y por lo tanto varía de un año a otro, en la misma región.

Cuadro 5. Análisis de varianza para severidad de la enfermedad de tres poblaciones de maíz Chalqueño bajo selección masal participativa evaluados en dos localidades en 2005 y 2006 con y sin inoculación artificial.

FV	Ayapango 2006			Ayapango 2005			Montecillo 2005		
	GL	CM	Pr > F	GL	CM	Pr > F	GL	CM	Pr > F
Inoc	1	10343.9775	< .0001	1	1883.5911	0.1191	1	13251.7004	0.0004
Rep (Inoc) (ErrorA)	4	27.5851		4	481.4895		4	109.6066	
Pobn	4	1679.5544	< .0001	4	812.4818	0.0101	4	2175.6368	< .0001
Inoc*Pobn	4	606.7389	0.0004	4	400.4223	0.0924	4	162.1297	0.162
Rep*Pobn(Inoc) (ErrorB)	16	63.7352		14	100.6419		16	85.9479	
Ciclo(Pobn)	19	111.1519	< .0001	19	100.6419	0.1484	20	176.1296	0.2899
Inoc*Ciclo(Pobn)	18	4.9661	0.9998	15	200.4071	0.0052	19	166.3391	0.3474
Error	60	24.8660		28	65.6224		58	147.1418	
Total	126			89			126		
CV (%)		14.06			16.06			21.67	

FV= Fuente de variación; Inoc= inoculación; Rep= repetición; Pobn= población (3 maíz Chalqueño y 2 híbridos); GL= grados de libertad; CM = cuadrado medio

En el Cuadro 6, se presentan las medias ponderadas de infección, así como su equivalente en porcentaje de daño por ciclo de selección de cada una de las tres poblaciones de maíz evaluadas en 2005 y 2006. No obstante que entre las tres poblaciones no hubo diferencias significativas según la comparación de promedios, las tendencias fueron las siguientes: en Ayapango 2006, que se puede considerar el experimento más preciso, se observó que la población de maíz Azul fue la más susceptible, mientras que en Montecillo 2005 fue la de maíz Palomo. En general, se observó mayor daño (13% en promedio) en esta segunda localidad, resultado que pudo estar relacionado con una interacción con el medio ambiente, ya que Montecillo presenta condiciones diferentes a aquellas de la localidad de origen de los materiales evaluados.

Respecto a los ciclos de selección dentro de cada población solo hubo significancia en el experimento de Ayapango 2006, en las dos localidades de 2005 los porcentajes de infección fueron muy dispersos; por ejemplo, al comparar las parcelas inoculadas del ciclo 2 con las del ciclo 10 de la población Azul en Ayapango 2005, el daño disminuyó 10.6 unidades porcentuales, mientras que en Montecillo 2005, se aprecia un aumento 8.6 unidades en la misma población, al comparar el ciclo 1 con el ciclo 10. Visualmente, los ciclos dentro de cada población no muestran una tendencia clara (Cuadro 6), por lo que, aplicando el análisis de regresión, las poblaciones azul y crema muestran una ligera tendencia a disminuir la cantidad de daño conforme se avanza en el número de ciclos en las localidades de Ayapango 2005 (Figura 2A), y 2006 (Figura 4A), y en Montecillo-2005 (Figura 3A) y en Ayapango -2006 (Figura 4A) respectivamente.

En otros casos, como es en las poblaciones Crema y Palomo en Ayapango 2005 (Figura 2A) y Palomo en Montecillo 2005 (Figura 3A), la situación es contraria a lo que se esperaría, es decir, a mayor número de ciclos el daño refleja una tendencia a aumentar la incidencia de la enfermedad.

En el caso de Ayapango 2006, en que la información parece ser mas consistente, en la población Azul, al comparar el ciclo 3 con el ciclo 10, se presenta una disminución en la incidencia, pero sólo es de 3.4 unidades porcentuales (Cuadro 6). Aplicando la regresión del daño sobre ciclos de selección, las población de maíz Azul y Crema, mostraron una ligera tendencia a disminuir y el maíz Palomo no mostró esa tendencia (Figura 4A).

Cuadro 6. Medias ponderadas (MP) y porcentaje de severidad de la enfermedad en varios ciclos de selección de tres poblaciones (Pob.) de maíz evaluadas 2005, 2006, bajo inoculación artificial.

Pob.-Ciclo	Ayapango 2005		Montecillo 2005		Ayapango 2006	
	MP	% daño	MP	% daño	MP	% daño
Azul-1	-	-	2.97	59.4	-	-
Azul-2	3.28	65.6	3.3	66	-	-
Azul-3	2.89	57.8	2.76	55.2	2.8	56
Azul-4	2.85	57	2.88	57.6	2.83	56.6
Azul-5	2.71	54.2	3.17	63.4	2.57	51.4
Azul-6	2.1	42	3.54	70.8	2.95	59.0
Azul-7	3.44	68.8	3.13	62.6	2.57	51.4
Azul-8					2.5	50
Azul-9	2.72	54.4	3.7	74	2.47	49.4
Azul-10	2.75	55	3.4	68	2.58	51.6
<b>Promedio</b>	<b>2.84</b>	<b>56.85</b>	<b>3.20</b>	<b>64.11</b>	<b>2.65</b>	<b>53.17</b>
Crema-1	-	-	-	-	-	-
Crema-2	-	-	3	60	-	-
Crema-3	2.6	52	3.07	61.4	2.21	44.2
Crema-4	2.25	45	4.55	91	2.74	54.8
Crema-5	2.8	56		0	1.97	39.4
Crema-6	2.32	46.4	3.33	66.6	2.3	46
Crema-7	3.2	64	3.33	66.6	2.13	42.6
Crema-9	2.57	51.4	2.84	56.8	-	-
<b>Promedio</b>	<b>2.62</b>	<b>52.47</b>	<b>3.35</b>	<b>57.48</b>	<b>2.27</b>	<b>45.4</b>
Palomo-1	-	-	-	-	-	-
Palomo-2	2.33	46.6	3.75	75	2.67	53.4
Palomo-3	3.06	61.2	3.46	69.2	2.43	48.6
Palomo-4	1.85	37	2.8	56	1.26	25.2
Palomo-5	3.63	72.6	3.53	70.6	2.33	46.6
Palomo-6	1.93	38.6	3.62	72.4	2.98	59.6
Palomo-7	-	-	-	-	2.42	48.4
Palomo-8	2.92	58.4	4.39	87.8	2.39	47.8
Palomo-9	2.86	57.2	3.87	77.4	2.58	51.6
<b>Promedio</b>	<b>2.65</b>	<b>53.09</b>	<b>3.63</b>	<b>72.63</b>	<b>2.38</b>	<b>47.65</b>

Al realizar una partición de la variación de los diferentes ciclos en la componente lineal y no lineal, en el caso del experimento de 2006 (Cuadro 7), tanto en la población de maíz Azul como en la de maíz Crema, sin llegar a ser significativa la regresión al 5%, se observó mayor consistencia en grado de probabilidad de la prueba de F de 11 y 13 % respectivamente, con respecto a la regresión realizada sin esa partición ; observándose una disminución del daño de un aceptable 1% por ciclo, lo cual resulta importante considerando que la selección de estas poblaciones se ha aplicado mediante la elección de mazorcas sin daño aparente de pudrición y no ha sido directamente para resistencia a la pudrición de mazorca, y que el método de selección utilizado es el más sencillo.

También se debe considerar que no se observó una mayor ganancia en resistencia, ya que en el proceso de selección de estas poblaciones no se realizan inoculaciones artificiales y que una mazorca seleccionada sin síntomas no necesariamente indica que haya sido resistente, pues su sanidad pudiera ser debida al escape a la enfermedad, de aquí se explicaría la irregularidad en severidad de los diferentes ciclos de selección, ya que el aumento de resistencia por ciclo tendría un componente aleatorio.

Otro factor importante es la escala de medición, que puede confundir pequeñas variaciones de severidad, ya que de un nivel de calificación al nivel siguiente de la escala, representan en la misma magnitud, diferencias que pueden ir desde 5 % hasta 30 %. Es posible que dicha escala pueda ser más eficiente en materiales más uniformes como las líneas, pero en la evaluación de poblaciones, como en el presente trabajo, donde las diferencias dentro de cada parcela son mayores, se podría subestimar la resistencia.

Cuadro 7. Partición de la variación entre los diferentes ciclos de selección en la componente lineal y no lineal, para cada una de las tres poblaciones de maíz Chalqueño, bajo inoculación artificial, Ayapango, Méx. 2006.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Población Azul</b>				
Rep	2	0.3869	4.25	0.0553
Ciclos	7	0.0749	0.82	0.5952
Ciclo Lineal	1	0.2872	3.1519	0.1138
Falta Ajuste	6	0.0396	0.4344	0.8373
Error	8	0.0911		
Total	17			
<b>Población Crema</b>				
Rep	2	0.3686	9.53	0.0076
Ciclos	4	0.251	6.49	0.0125
Ciclo Lineal	1	0.108	2.7909	0.1333
Falta Ajuste	3	0.2986	7.7194	0.0095
Error	8	0.0387		
Total	14			
<b>Población Palomo</b>				
Rep	2	0.3012	2.88	0.1078
Ciclos	7	0.3471	3.32	0.0488
Ciclo Lineal	1	0.0238	0.2278	0.6445
Falta Ajuste	6	0.4009	3.8369	0.0352
Error	9	0.1045		
Total	18			

Por otro lado, el objetivo del mejoramiento de poblaciones nativas no espera crear plantas con resistencia total contra pudrición de mazorca por *Fusarium*, pues no se han encontrado genotipos de maíz inmunes; no obstante, algunos investigadores como Medina *et al.* (2001), han señalado genotipos con alto grado de resistencia. También De León y Pandey (1989) siguiendo un esquema de selección recurrente mazorca por surco modificado mejoraron el rendimiento en 2.5% y la pudrición de mazorca disminuyó en 0.9 % por ciclo. Así mismo, Mendoza-Elos *et al.* (2003) indican que la selección recíproca recurrente es un método apropiado que permite romper bloques de ligamiento, así como explotar la varianza aditiva, dominante y epistática. Lo importante es alcanzar un nivel de resistencia que logre mantener las enfermedades a un nivel que no cause pérdidas económicas significativas por un periodo adecuado de tiempo.

Además, Nankam y Pataky (1996) indican que la herencia de la resistencia a la pudrición de la mazorca es de tipo cuantitativo, sugiriendo que un alto nivel de resistencia (cero daño) sería difícil de encontrar, pues este tipo de resistencia está controlada por muchos genes, por lo que no existe inmunidad ni susceptibilidad total, sino que los genotipos de un cultivo muestran una gama de variación en su resistencia (Robinson, 2000); entonces, una mazorca completamente sana no necesariamente es resistente, lo que hace que la identificación, evaluación y selección de este tipo de resistencia frecuentemente no sea una tarea fácil.

Respecto a los testigos (Híbrido H-S2 y Promesa) utilizados en esta evaluación, éstos mostraron los más bajos porcentajes de daño (31 - 34 %); la diferencia de estos con cada una de las tres poblaciones de maíz Chalqueño fue estadísticamente significativa, por lo que se pueden considerar moderadamente resistentes comparado con aquellos ciclos de selección con porcentajes similares de daño.

Ali *et al.* (2005) y Reid *et al.* (1994) mencionan la existencia de dos tipos de resistencia, uno en los estigmas y otro en los granos, por lo que, en el presente trabajo sólo sería factible la detección de la segunda forma de resistencia y la posibilidad de que los materiales evaluados en el presente trabajo realmente tengan un mayor nivel de resistencia al detectado aquí, asumiendo que estos materiales también cuenten con la resistencia conferida por los estigmas.

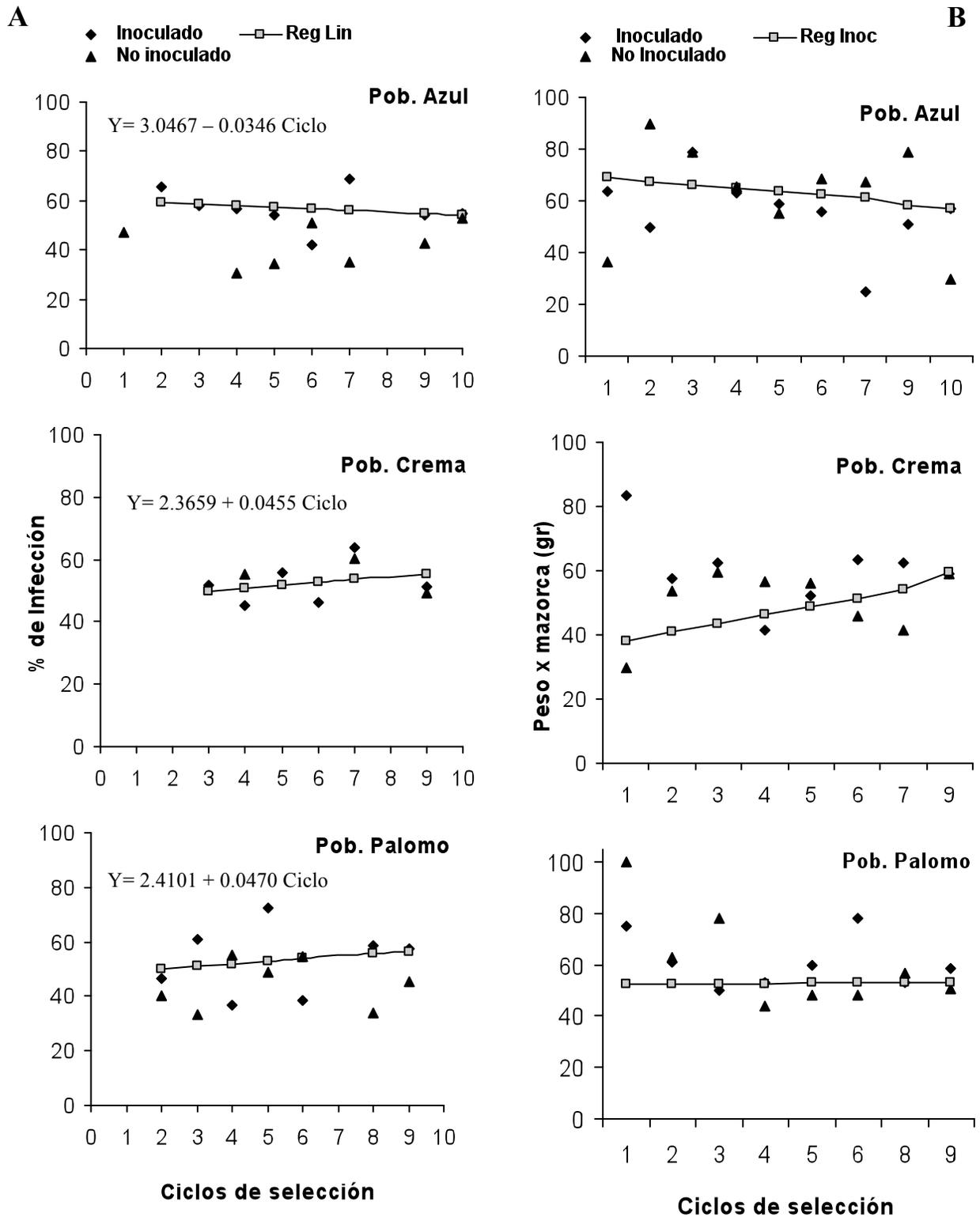


Figura 2. Línea de regresión y valores observados de (A) Porcentajes de pudrición de la mazorca causada por *Fusarium sp.* y (B) Rendimiento medido en peso por mazorca sobre los diferentes ciclos de selección de tres poblaciones de maíz Chalqueño. Ayapango, Edo. Méx. 2005.

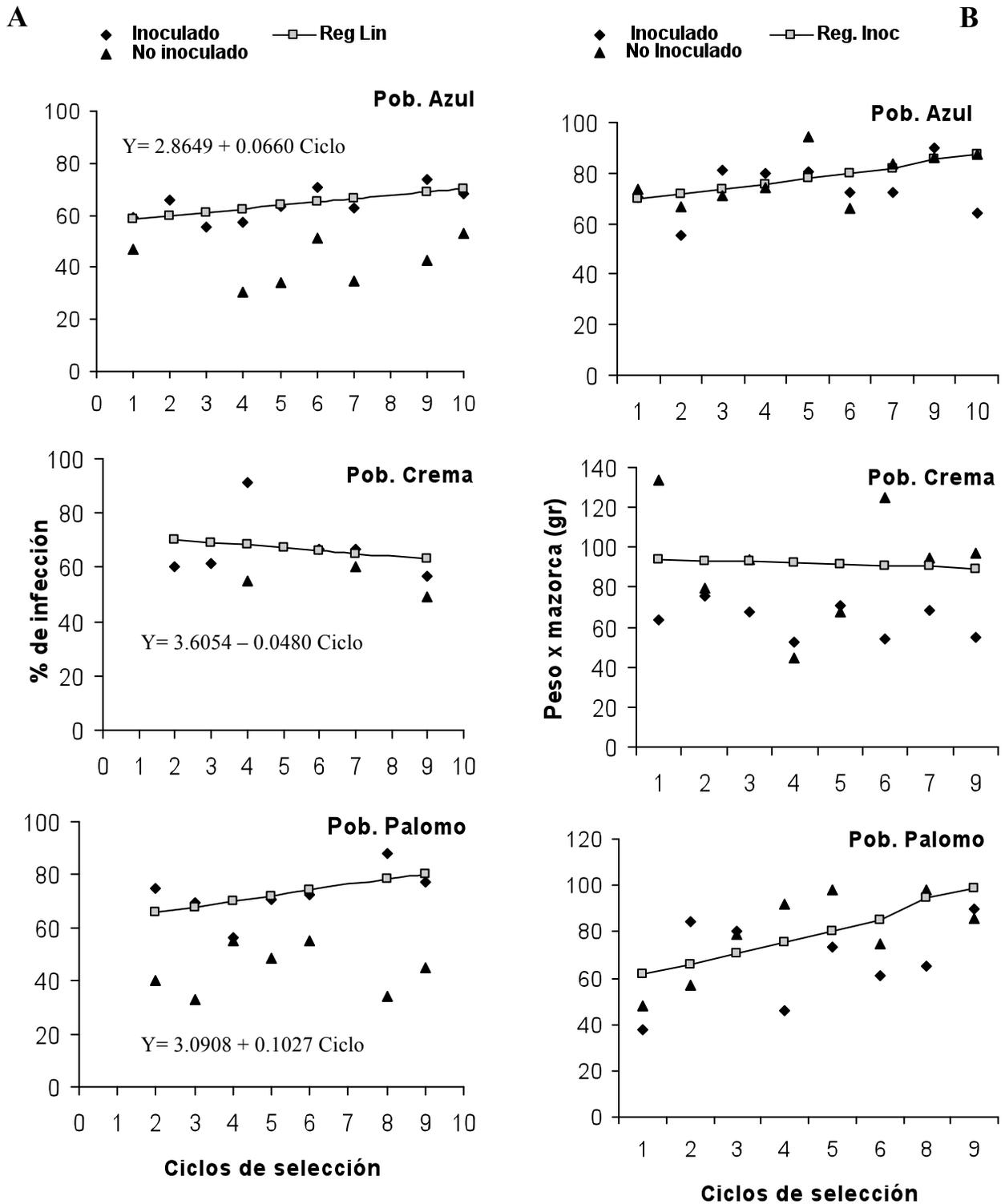


Figura 3. Línea de regresión y valores observados de (A) Porcentajes de pudrición de la mazorca causada por *Fusarium sp.* y (B) Rendimiento medido en peso por mazorca sobre los diferentes ciclos de selección de tres poblaciones de maíz Chalqueño. Montecillo, Edo. Méx. 2005.

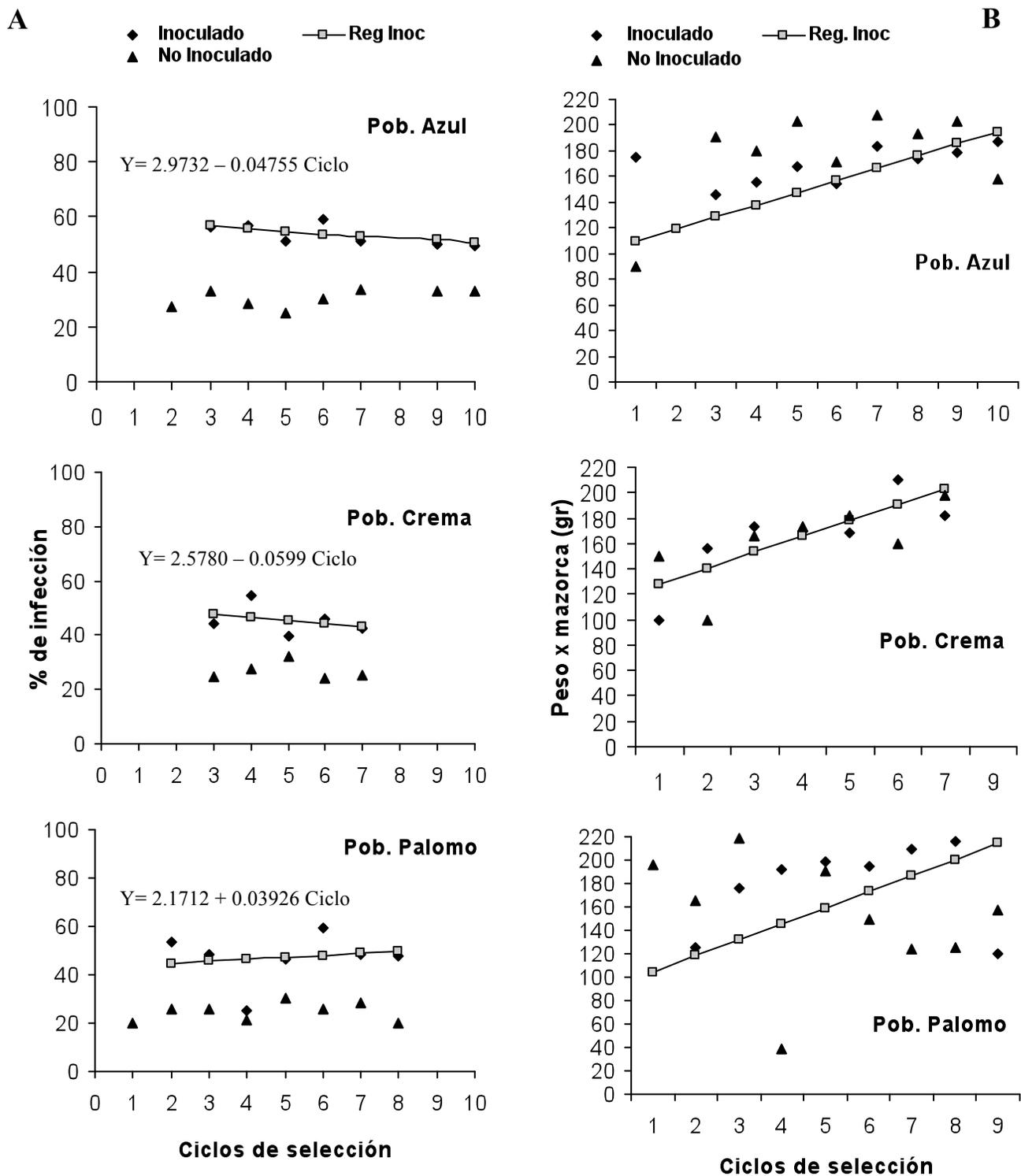


Figura 4. Línea de regresión y valores observados de (A) Porcentajes de pudrición de la mazorca causada por *Fusarium sp.* y (B) Rendimiento medido en peso por mazorca sobre los diferentes ciclos de selección de tres poblaciones de maíz Chalqueño. Ayapango, Edo. Méx. 2006.

#### 4.1.1. Rendimiento de mazorca en los ciclos de selección

Respecto al rendimiento promedio por mazorca, en la mayoría de las parcelas no inoculadas se observó un mayor peso de mazorcas respecto al de las parcelas inoculadas, en las que el peso fue menor por efecto de la severidad de la enfermedad. El análisis de varianza indicó que la diferencia en peso entre lo inoculado vs. no inoculado, fue estadísticamente significativa al 5% solamente para la localidad de Montecillo 2005 (Cuadro 8), lo que confirma la pérdida de rendimiento por esta enfermedad. En países en desarrollo esta enfermedad afecta 40% o más de la superficie sembrada, provocando pérdidas en rendimiento, además de producir micotoxinas que afectan la salud humana y animal (CIMMYT, 1988).

La tendencia del rendimiento a través de los ciclos de selección, se mantuvo en cada población en los tres experimentos (Figura 2B, 3B y 4B); en aquellos casos en que la pérdida de peso fue menor a pesar de que el porcentaje de daño fue alto, se debió al tipo de daño presentado, pues un mismo porcentaje de daño en dos mazorcas diferentes puede presentar dos tipos de daño, uno donde el grano se pudre y presenta un aspecto algodonoso, y otro cuando muestra únicamente rayas blancas en el pericarpio, propio de *Fusarium* (CIMMYT, 2004). En el primer caso, las pérdidas en rendimiento son mayores que aquellas en el segundo caso. Cabe la posibilidad que en algunos de los materiales evaluados exista tolerancia a la enfermedad, y por ello el rendimiento no se vió afectado, a pesar de los altos porcentajes de infección.

Por otra parte, al analizar los efectos de la selección masal respecto al rendimiento a través de los ciclos, en la Figura 2B, presentando a la población Crema, y en la Figura 3B con las poblaciones Azul y Palomo, de la evaluación de 2005, así como en la Figura 4B de 2006, por medio del análisis de regresión, se muestra el efecto directamente proporcional de la selección para rendimiento, en donde a mayor número de ciclos es mayor el rendimiento. En la Figura 2B y 3B mostrando la población Azul y Crema respectivamente, la tendencia fue negativa, lo cual se pudo deber principalmente a deficiencias experimentales y a la diferencia de ambientes, pues las condiciones tanto ambientales como de cultivo no fueron las mismas en las dos localidades, ni en los dos ciclos de evaluación donde se establecieron los experimentos. Lo anterior está reflejado en los coeficientes de variación, en donde al ser el rendimiento de carácter cuantitativo, y por tanto altamente influenciado por el ambiente los resultados de cada población de maíz, no tuvieron la misma tendencia. Sin embargo, considerando sólo la localidad de Ayapango 2006, lugar de origen de las poblaciones, y además, coincidiendo con mejores condiciones experimentales que en 2005, la tendencia en las tres poblaciones mostró una relación directa con mayores rendimientos con ciclos más avanzados de selección (Figura 4B).

Cuadro 8. Análisis de varianza para rendimiento (Peso/mazorca) de tres poblaciones de maíz Chalqueño bajo selección masal participativa.

FV	Ayapango 2006			Ayapango 2005			Montecillo 2005		
	GL	CM	Pr > F	GL	CM	Pr > F	GL	CM	Pr > F
Inoc	1	3.7995	0.9686	1	21.3272	0.7103	1	3243.0713	0.0344
Rep (Inoc) (ErrorA)	4	2169.6346		4	133.9648		4	326.0797	
Pobn	4	4425.1561	0.0959	4	653.8538	0.1639	4	5145.6123	0.0004
Inoc*Pobn	4	2383.6338	0.3166	4	187.7422	0.7121	4	254.2969	0.7539
Rep*Pobn(Inoc) (ErrorB)	15	1842.3247		15	350.8272		16	535.9970	
Ciclo(Pobn)	19	1833.8356	0.314	20	850.7826	0.0336	20	553.6931	0.0292
Inoc*Ciclo(Pobn)	18	858.6189	0.9171	16	479.7217	0.3410	19	639.0695	0.0112
Error	50	1559.1613		30	408.6081		58	290.0851	
Total	115			94			126		
CV (%)		23.2			32.51			21.33	

#### 4.2. Identificación y distribución de especies que ocasionan pudrición de mazorca.

En cuanto a la identificación morfológica de los hongos causantes de la pudrición, aislados de las diferentes muestras de maíz colectadas en los Estados de México, Tlaxcala y Puebla, tanto de aquellas con síntomas de pudrición como de las que no presentaban, se identificaron tres especies de *Fusarium*: *F. verticillioides*, *F. graminearum* y *F. subglutinans*. Las dos primeras especies han sido reportadas desde hace varios años por Niederhauser (1949) y De León (1984) como agentes causales de la pudrición de mazorca en México.

La tercera especie ha sido recientemente reportada por Morales-Rodríguez *et al.* (2007) quienes encontraron esta especie en muestras de Montecillo, Texcoco, Méx.

La distribución de las especies del hongo en las diferentes zonas muestreadas indicó que, de las 15 muestras de mazorcas de la región Chalco-Juchitepec, Edo. Méx. 11 pertenecieron a *F. verticillioides* (sin. *F. moniliforme*) y 4 a *F. graminearum* (sin. *F. roseum*) (Cuadro 9). Mientras que, de las 5 muestras del área centro del Estado de México, 2 correspondieron a *F. verticillioides* (Figura 5A), 1 a *F. graminearum* (Figura 5 B) y 2 muestras de la localidad de Calimaya morfológicamente correspondieron a *Fusarium subglutinans* (Figura 5C). Finalmente de las 5 muestras de Tlaxcala, 4 fueron de *F. verticillioides* y 1 de *F. graminearum* y la muestra de Puebla también fue de *F. verticillioides* (Cuadro 10).

Cuadro 9. Especies del genero *Fusarium* que causan la pudrición de la mazorca en la zona Chalco- Juchitepec, Edo. de Méx.

No.	Localidad	Identificación	
		Morfológica	NB <sup>†</sup>
		Identificación molecular NCBI <sup>¶</sup>	
		<i>F.</i>	
1	Poxtla-01	<i>verticillioides</i>	603 99% AF160301.1 <i>Fusarium sp.</i> NRRL 25622
		<i>F.</i>	
2	Poxtla-02	<i>verticillioides</i>	576 99% AF160301.1 <i>Fusarium sp.</i> NRRL 25622
		<i>F.</i>	
3	Juchitepec-01	<i>verticillioides</i>	622 99% AF160301.1 <i>Fusarium sp.</i> NRRL 25622
		<i>F.</i>	
4	Juchitepec-02	<i>graminearum</i>	633 99% AF160301.1 <i>Fusarium sp.</i> NRRL 25622
		<i>F.</i>	
5	Tlapala-01	<i>verticillioides</i>	607 99% AF160301.1 <i>Fusarium sp.</i> NRRL 25622
		<i>F.</i>	
6	Tlapala-02	<i>verticillioides</i>	615 99% AF160301.1 <i>Fusarium sp.</i> NRRL 25622
		<i>F.</i>	
7	Ayapango-01	<i>graminearum</i>	608 99% AF160301.1 <i>Fusarium sp.</i> NRRL 25622
		<i>F.</i>	
8	Ayapango-02	<i>graminearum</i>	-----
		<i>F.</i>	
9	Cuijingo-01	<i>verticillioides</i>	715 99% AF160301.1 <i>Fusarium sp.</i> NRRL 25622
		<i>F.</i>	
10	Cuijingo-02	<i>verticillioides</i>	-----
		<i>F.</i>	
11	Cuijingo-03	<i>verticillioides</i>	725 99% AF160301.1 <i>Fusarium sp.</i> NRRL 25622
	San Diego -	<i>F.</i>	
12	01	<i>verticillioides</i>	-----

San Diego -	<i>F.</i>		
13 02	<i>verticillioides</i>	295	99% AF160301.1 <i>Fusarium sp.</i> NRRL 25622 99% AY337443.1 <i>F. subglutinans</i> strain FRC M1351
	<i>F.</i>		99% AF160301.1 <i>Fusarium sp.</i> NRRL
14 Ozumba -01	<i>verticillioides</i>		25622
Zoyatzingo-	<i>F.</i>		
15 01	<i>graminearum</i>	230	97% AY337443.1 <i>F. subglutinans</i> strain FRC M1351 99% AF160301.1 <i>Fusarium sp.</i> NRRL 25622

† Número de bases

¶ Nacional Center for Biotechnology Information (banco de datos de genes; [www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/))

Cuadro 10. Identificación morfológica de aislamientos de hongos que ocasionan pudrición de mazorca de maíz.

No.	Localidad	Identificación morfológica
<b>Toluca</b>		
16	Calimaya-01	<i>F. subglutinans</i>
17	Calimaya-02	<i>F. subglutinans</i>
18	Temoaya-01	<i>F. graminearum</i>
19	Toluca-01	<i>F. verticillioides</i>
20	La cruz-01	<i>F. verticillioides</i>
<b>Tlaxcala</b>		
21	Tlaxcala-01	<i>F. verticillioides</i>

22	Xocoyucan-01	<i>F. graminearum</i>
23	Xocoyucan-02	<i>F. verticillioides</i>
24	Tlaxcala-02	<i>F. verticillioides</i>
25	Xocoyucan-03	<i>F. verticillioides</i>
<b>Puebla</b>		
26	Texmelucan-01	<i>F. verticillioides</i>

---

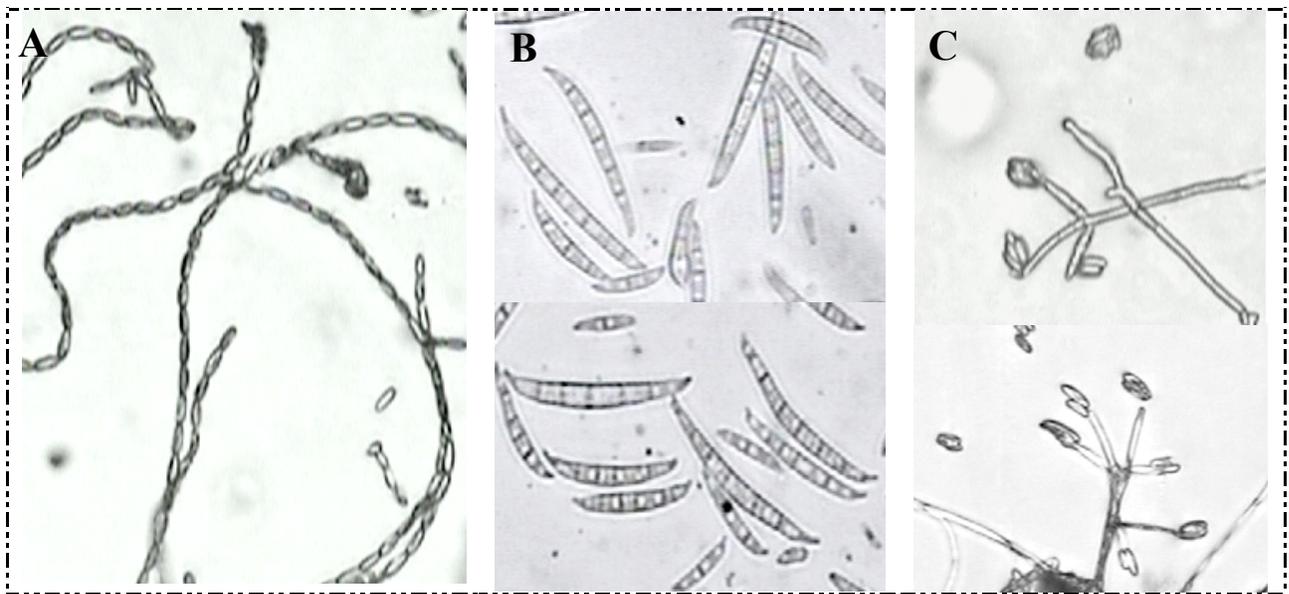


Figura 5. Especies identificadas morfológicamente: A) *F. verticillioides*, B) *F. graminearum*, C) *F. subglutinans*.

La identificación mostró que la presencia de estas especies fue independiente de la región geográfica, ya que *Fusarium* es un patógeno de distribución cosmopolita, que se puede encontrar en casi todos los ambientes, tal como lo menciona De León (1984). Sin embargo, *Fusarium verticillioides* fue la más frecuente al encontrarse en 69% del total de las muestras, *F. graminearum* también se encontró en las tres zonas muestreadas aunque solamente en un 23 % de las muestras, y en 2 de las muestras de la localidad de Calimaya, Toluca, Méx. se identificó a *F. subglutinans* (Cuadro 11), el cual debe tener una mayor distribución en México, como se mencionó anteriormente, éste fue encontrado en muestras de Texcoco, por tanto pudiera ser necesario hacer muestreos más intensivos para tener mayor nivel de representatividad.

Cuadro 11. Frecuencia de los aislamientos para cada especie de *Fusarium* en los Estados de México y Tlaxcala.

Localidad	No. Muestras	<i>F. verticillioides</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. subglutinans</i>
<b>Sureste (SE)- Estado de México</b>		<b>73 %</b>	<b>27 %</b>	<b>0 %</b>
Poxtla	2	2	0	0
Juchitepec	2	1	1	0
Ayapango	2	0	2	0
Tlapala	2	2	0	0
Cuijingo	3	3	0	0
Sn. Diego	2	2	0	0
Ozumba	1	1	0	0
Zoyatzingo	1	0	1	0
<b>Centro-Estado de México</b>		<b>40 %</b>	<b>20 %</b>	<b>20%</b>
Calimaya	2	0	0	2
Temoaya	1	0	1	0

Toluca	1	1	0	0
La cruz	1	1	0	0
<b>Tlaxcala.</b>		<b>83 %</b>	<b>17%</b>	<b>0%</b>
Tlaxcala	2	2	0	0
Xocoyucan	3	2	1	0
Texmelucan, Pue.	1	1	0	0
<b>Total (número)</b>	<b>26</b>	<b>18</b>	<b>6</b>	<b>2</b>
<b>Total (%)</b>	<b>100 %</b>	<b>69 %</b>	<b>23 %</b>	<b>8 %</b>

En cada zona, la relación *F. verticillioides*:*F. graminearum* fue de aproximadamente 2:1, probando que *F. verticillioides* es probablemente el patógeno de la mazorca más común en todo el mundo (CIMMYT, 2004). Las observaciones muestran que no hubo diferencias en cuanto a la distribución de las especies en los Estados de México y Tlaxcala, dado que climáticamente las condiciones de temperatura y nivel de precipitación media anual son semejantes (SMN, 2006).

Con respecto a la identificación molecular de las especies de los hongos aislados de las muestras de la zona Chalco -Juchitepec, en el SE del Edo Méx., al comparar las secuencias de 230 – 720 pares de bases obtenidas, los 15 aislamientos identificados morfológicamente como *Fusarium verticillioides* y *F. graminearum*, al ser comparados con las secuencias en el banco de información no tuvieron correspondencia absoluta con la secuencia correspondiente a la misma especie; en cambio todos los aislamientos tuvieron de 97 – 99 % de similitud con la cepa correspondiente a *Fusarium sp.* NRRL 25622 registrada en el banco de genes del NCBI (National Center for Biotechnology

Information) por O' Donnell K (2000) (Cuadro 10). Cuando se consideraron entre 295 y 230 pares de bases, los aislamientos 13 y 15 también presentaron similitud con *Fusarium subglutinans* strain FRC M1351, especie que ha sido encontrada en muestras de maíz de México, y que en otras partes de mundo también es causante de pudrición de mazorca (Morales-Rodríguez *et al.*, 2007).

Resulta complejo que todos los aislamientos, independientemente de la zona y especie identificada, y aun cuando morfológicamente eran distintos, éstos se hayan alineado con la misma cepa. Estos resultados indican la posibilidad de una identificación taxonómica incorrecta. Sin embargo, se debe considerar que los cultivos monospóricos secuenciados fueron reaislados de los materiales después de la prueba de patogenicidad, por lo que es posible que en el reaislamiento del hongo colectado en el ambiente donde se realizó el experimento, se encontrara mezclada otra especie con la especie inoculada, que como indica Reid *et al.*, (2002) en esta enfermedad existe una interacción entre especies de *Fusarium*, donde la especie predominante en algunos ambientes está dada por la ruta de entrada del patógeno.

Por último, es probable que se necesite una secuenciación con mayor número de bases, que permita diferenciar las especies, o bien que genéticamente compartan el mismo gen secuenciado.

Un caso similar en el que las especies identificadas morfológicamente se alinearan con otra especie en la identificación molecular ocurrió también en la investigación de Riveros *et al.* (2001), quienes mencionan que existe una clara inconsistencia entre la identificación taxonómica basada en la morfología y la genética, basada en los análisis de ADN. Este tipo de discrepancias ha sido reportada para otros géneros fungosos y especialmente para especies del género *Fusarium*, fenómeno que se ha atribuido a la variabilidad fenotípica que presenta *Fusarium* en medios de cultivo.

#### **4.3. Virulencia de aislamientos**

En cuanto a la evaluación de la virulencia de los aislamientos, los resultados sugieren que todos los aislamientos fueron más virulentos que el inóculo natural, detectándose diferencias estadísticas en esta característica entre los diferentes aislamientos. Respecto a la comparación de medias (Cuadro 12), aun cuando las diferencias no eran muy marcadas entre tratamientos, puede apreciarse que éstas determinaron dos grupos importantes; uno formado por los aislamientos 12 y 2 pertenecientes a las localidades de San Diego Huehuecalco y Poxtla, Méx., numéricamente los más virulentos con porcentajes de daño de 47.4 % y 47.35 % respectivamente, y que fueron identificados como *F. verticillioides*. El segundo grupo compuesto por los menos virulentos, entre los que se encuentran los aislamientos 14 y 15 de las localidades de Ozumba y Zoyatzingo, Méx., los que correspondieron a *F. graminearum* y *F. verticillioides* respectivamente, con porcentajes de daño 36.4% y 38% respectivamente. Estos aislamientos también presentaron diferencias significativas con los seis aislamientos con mayor virulencia.

Entre los aislamientos correspondientes a *F. graminearum* no hubo diferencias de virulencia, y los aislamientos correspondientes a esa especie fueron estadísticamente iguales; en cambio, entre los aislamientos de *F. verticillioides* sí hubo diferencias en virulencia, lo cual puede ser debido a que al ser *F. verticillioides* el patógeno más común y puede tener mayor posibilidad de presentar mayor diversidad en este carácter.

Finalmente, el valor más bajo de daño se encontró en el tratamiento testigo con un promedio de 27.1 %, que indica que la inoculación artificial fue eficiente.

Cuadro 12. Comparación de medias de infección de los aislamientos del Edo. de México.

<b>Tratamientos</b>				
<b>No</b>	<b>Localidad</b>	<b>Especie</b>	<b>Media (escala)</b>	<b>Porcentajes medios</b>
12	San Diego	<i>F. verticillioides</i>	2.3700	47.4
2	Poxtla	<i>F. verticillioides</i>	2.3675	47.35
9	Cuijingo	<i>F. verticillioides</i>	2.3000	46
6	Tlapala	<i>F. verticillioides</i>	2.3000	46
4	Juchitepec	<b><i>F. graminearum</i></b>	2.1150	42.3
13	San Diego	<i>F. verticillioides</i>	2.1050	42.1
1	Poxtla	<i>F. verticillioides</i>	2.1050	42.1
8	Ayapango	<b><i>F. graminearum</i></b>	2.0625	41.25

11	Cuijingo	<i>F. verticillioides</i>	2.0425	40.85
10	Cuijingo	<i>F. verticillioides</i>	2.0075	40.15
3	Juchitepec	<i>F. verticillioides</i>	1.9825	39.65
7	Ayapango	<b><i>F. graminearum</i></b>	1.9425	38.85
5	Tlapala	<i>F. verticillioides</i>	1.9375	38.75
14	Ozumba	<i>F. verticillioides</i>	1.9325	38.65
15	Zoyatzingo	<b><i>F. graminearum</i></b>	1.8200	36.4
16	<b>Testigo</b> (infección natural)		1.3700	27.4

DMS (0.05) = 7.122 %

CV = 12.21 %

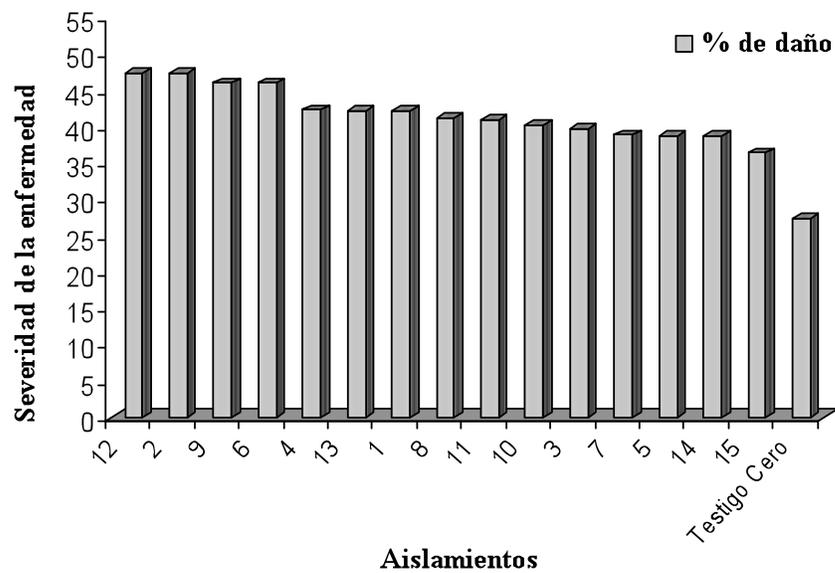


Figura 6. Virulencia de aislamientos de *Fusarium sp.*

## 5. CONCLUSIONES

No se detectaron diferencias significativas para respuesta a la pudrición de mazorca entre las tres poblaciones de maíz Chalqueño. Sin embargo, considerando la posible resistencia a nivel de estigmas (no evaluada en este trabajo), así como la posible impresión por el tipo de escala utilizada, cabe la posibilidad de que existan diferencias en resistencia que no fueron detectadas entre las poblaciones.

En Ayapango 2006, en dos de tres poblaciones se observó tendencia a reducir daño por *Fusarium* en 1% por ciclo con niveles de significancia del 12 %.

Es necesario considerar además de la incidencia y severidad, el tipo de daño para determinar la influencia en el rendimiento.

Las especies de *Fusarium* identificadas morfológicamente en las dos zonas de estudio fueron *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum* y *Fusarium subglutinans*, siendo la primera la de mayor frecuencia y la última la menos frecuente.

Todos los aislamientos fueron patogénicos, aun cuando la diferencia en porcentaje de daño producido por los diferentes aislamientos no fue muy amplia (36 a 47%), el análisis de varianza detectó diferencias significativas entre aislamientos, destacándose aquellos pertenecientes a *F. verticillioides* como los más patogénicos.

## 6. BIBLIOGRAFIA

Agrios G., N. 1989. Fitopatología. Ed. Limusa. México. 756 p.

Ali, M.L., J. H. Taylor, L. Jie, G. Sun, M. William, K. J. Kasha, L. M. Reid, and K.P. Pauls. 2005. Molecular mapping of QTLs for resistance to *Gibberella* ear rot, in corn, caused by *Fusarium graminearum*. Genome 48: 521- 533.

Arcos P., J. y S. Marca V. 1998. Componentes y evaluación de la resistencia cuantitativa. Disponible en: <http://www.dpw.wageningen-ur.nl/pv/projects/preduza/>consultado: septiembre 2006.

Ayvar-Serna, S. 1997. Aislamiento e identificación de las micotoxinas producidas por el hongo *Fusarium moniliforme* Sheld., en maíz y su relación con las enfermedades denominadas pudrición de la mazorca y germinación prematura. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F. 106p.

- Bainbridge, B. W., C. L. Spreadbury, F. G. Scalise, and J. Cohen. 1990. Improved methods for the preparation of high molecular weight DNA from large and small scale cultures of filamentous fungi. *Microbiology Letter* 66:113-118.
- Betanzos M., E. 2001. Variedades de maíz resistentes, una opción para reducir la pudrición de mazorca en Chiapas, México. *Agricultura Técnica en México* 27 (1): 57 – 67.
- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological. Institute. Kew Surrey. England. 273p.
- Camara M., A. 2001. Diferenciación de aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* por RAPDs. Tesis de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal. Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 54 p.
- Chungu, C., D. E. Mather, L. M. Reid, and R. I. Hamilton. 1996. Inheritance of kernel resistance to *Fusarium graminearum* in maize. *J. Heredity*. 87: 382-385.
- CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo). 1988. Maize production regions in developing countries. CIMMYT Maize Program, El Batán, México, 173 p.
- CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo). 2004. Programa de maíz. Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en el campo. 4a Edición. México, D.F.: CIMMYT. 118p.

Claure I., T. 2001. Comparación de ciclos para ver ganancia de selección a pudrición en maíz en Bolivia. *In*: Mem. Conf. Internal: Futuras Estrategias para implementar Mejoramiento participativo en los cultivos de las Zonas Altas en la Región Andina. [http://www.dpw.wageningenur.nl/pv/projects/preduza/Conferencia2001/Contenidos/Cont\\_por\\_cultivo.htm](http://www.dpw.wageningenur.nl/pv/projects/preduza/Conferencia2001/Contenidos/Cont_por_cultivo.htm)

Cornide M., T., L. Hiraldo, y J. Surlí. 1993. La Resistencia Genética de las Plantas Cultivadas. Ed. Científico-Técnica. Habana, Cuba. 195 p.

De León, C. 1984. Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en el campo. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). 3a edición. 114p.

De León, C., and Pandey, S. 1989. Improvement of resistance to ear and stalk rots and agronomic traits in tropical maize gene pools. *Crop Science*. 29: 12-17.

Drepper, W. J., and B. L. Renfro. 1990. Comparison of methods for inoculation of ears and stalks of maize with *Fusarium moniliforme*. *Plant Disease*. 74: 952-956.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación). 2001. El maíz en los trópicos; mejoramiento y producción. Colección FAO: Producción y protección vegetal-28-2001. ISBN: 9253044578 X7650/S (consultado Abril 2005): [http://www.fao.org/documents/show\\_cdr.asp?url\\_file=/DOCREP/003/X7650S/x7650s10.htm](http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/DOCREP/003/X7650S/x7650s10.htm)

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación). 2005. Cifras referidas a la producción de maíz. (Consultado Abril 2005): <http://faostat.fao.org/faostat/form?collection=Production.Crops.Primary&Domain=Production&servlet=1&hasbulk=0&version=ext&language=ES>

Félix G., R y S. Romero C. 1981. Etiología de la germinación prematura del maíz en Huamantla, Tlaxcala. *Agrociencia*. 43: 81-87.

Gimeno, A. 2004. Micotoxinas. (Consultado abril 2005). [www.engormix.com](http://www.engormix.com)

Hayward, M.D., O. Bosemark and I. Romagosa. 1993. *Plant breeding. Principles and prospects*. Chapman & Hall. London. 550 p.

Headrick, J. M., and J. K. Pataky. 1989. Resistance to kernel infection by *Fusarium moniliforme* in inbred lines of sweet corn and the effect of infection on emergence. *Plant Disease* 73:887-892.

Herrera-Cabrera B. E., F. Castillo-González, J. J. Sánchez-González, J. M. Hernández-Casillas, R. A. Ortega-Pazkca, y M. Major-Goodman. 2004. Diversidad del maíz Chalqueño. *Agrociencia* 38 (2):191-206.

Jeffers, D., J. Gómez, y J. Lothrop. 1996. Evaluación de líneas endogámicas precoces de grano blanco semidentado de maíz de valles altos para resistencia a la pudrición de mazorca por *Fusarium moniliforme*. In: Memoria 3ra Reunión Latinoamericana y 16a Reunión de la Zona Andina de Investigadores en Maíz. Cochabamba, Santa Cruz, Bolivia. L. G. Avila y P. L. M. Céspedes (eds.). Fundación Simón I. Patiño. pp: 417-428.

Jugenheimer, W. R. 1981. *Maíz: Variedades Mejoradas, Métodos de Cultivo y Producción de Semillas*. Edit. Limusa. México. 841p.

King, S. B., and G. E. Scott. 1981. Genotypic differences in maize to kernel infection by *Fusarium moniliforme*. *Phytopathology* 71: 1245-1247.

- Márquez O., J. 1985. Germinación prematura del maíz (*Zea mays* L.) en la zona centro de Puebla. Tesis de Licenciatura. Depto de Parasitología Agrícola. Univ. Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 61p.
- Medina H. A., T. Claire, y C. Yañez. 2001. Mejoramiento genético y participativo para obtener variedades resistentes contra pudrición en Perú, Bolivia y Ecuador. *In*: Mem. Conf. Intnal: Futuras estrategias para implementar Mejoramiento participativo en los cultivos de las Zonas Altas en la Región Andina. [http://www.dpw.wageningenur.nl/pv/projects/preduza/Conferencia2001/Contenido\\_s/Cont\\_por\\_cultivo.htm](http://www.dpw.wageningenur.nl/pv/projects/preduza/Conferencia2001/Contenido_s/Cont_por_cultivo.htm)
- Mendoza-Elos, M., A. López-Benítez, A. Oyervides-García, G. Martínez-Zambrano, C. De León, y E. Moreno-Martínez. 2003. Herencia genética y citoplásmica de la resistencia a la pudrición de mazorca del maíz (*Zea mays* L.) causada por *Fusarium moniliforme* Sheld. *Rev. Mexicana de Fitopatol.* 21: 267-271.
- Miranda C. S. 2003. El origen genético y geográfico del maíz (*Zea mays* L.). *In* Centli Maíz. A. Muñoz Orozco (Dir.). Colegio de Postgraduados, Montecillo. Edo. De Méx. 210 p.
- Mora F., F. M. 2004. Información mundial de producción en granos básicos. Subgerencia de Desarrollo Agropecuario. Dirección de Mercadeo y Agroindustria. Servicio de Información de Mercados. Boletín semanal No. 14. Granos básicos. 21 de Abril de 2004. [http://www.mercanet.cnp.go.cr/SIM/Granos\\_Basicos/Historicos\\_GB/2004/GB\\_21-04-2004.pdf](http://www.mercanet.cnp.go.cr/SIM/Granos_Basicos/Historicos_GB/2004/GB_21-04-2004.pdf)
- Mora E., A. y J. Vásquez. 1999. Patogenicidad de aislamientos de *Fusarium spp* en maíz en Ecuador. *In*: Tercer taller de preduza en resistencia duradera en cultivos altos en

la zona andina. Disponible en: <http://www.dpw.wageningen-ur.nl/pv/projects/preduza/tercertallerpreduzaenresistenciaduraderaencultivosaltosenlazonaandina,1999.htm>

Morales-Rodríguez, I., M. de J. Yañez-Morales, H. V. Silva-Rojas, G. García-de-los-Santos, y D. A. Guzmán de Peña. 2007. Biodiversity of *Fusarium* species associated to ear rot in maize and their phylogenetic approach using ribosomal genes in Mexico. *Mycopathologia* 163 (1): 31-39.

Moreno M., E. 1988. Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados. Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F. 109p.

Nankam, C., and J. K. Pataky. 1996. Resistance to kernel infection by *Fusarium moniliforme* in the sweet corn inbred IL125b. *Plant Disease* 80:593-598.

Nelson, P.E., T. A. Toussoun, and W.F.O. Marasas. 1983. *Fusarium Species*. An Ilustred manual for identification. The Pennsylvania State University Press. University Park. USA. 193 p.

Niederhauser, S. J. 1949. Enfermedades del maíz en México. Folleto de divulgación No. 9. Secretaría de Agricultura y Ganadería. México, D. F. 39p.

O' Donnell, K. 2000. A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycoscience* 41, 61-78.

Ortiz, T. E. 1993. Aislamiento y dispersión de polen en la producción de semilla de maíz, Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Méx. 81 p.

- Pérez B. D., D. Jeffers, y D. González. 2001. Cartografía de QTL de la resistencia a la pudrición de la mazorca (*Fusarium moniliforme*) en maíz de valles altos de México. *Agrociencia* 35: 181-196.
- Poehlman, J. M. 2003. Mejoramiento Genético de las Cosechas. Limusa. México. 511p.
- Reid L.M, D. E. Mather, A. T. Bolton, and R. I. Hamilton. 1994. Evidence for a Gene for Silk Resistance to *Fusarium graminearum* Schw. ear rot of maize. *J. Heredity*. 85: 118-121.
- Reid, L. M., T. Woldemariam, X. Zhu, D.W. Stewart, and. A.W. Schaafsma. 2002. Effect of inoculation time and point of entry on disease severity in *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticillioides*, or *Fusarium subglutinans* inoculated maize ears. *Can. J. Plant Pathol.* 24: 162–167.
- Reyes C., P. 1985. Fitogenotecnia Básica y Aplicada. A.G.T. Ed. S. A. México. 460 p.
- Reyes C., P. 1990. El Maíz y su Cultivo. A.G.T. Ed. S.A. México DF. 460 p.
- Riveros, F., G. Muñoz, L. González, L. Rojas, M. Álvarez, y P. Hinrichsen. 2001. Comparación entre análisis morfológicos y de ADN para la identificación de especies de *Fusarium* aislados de melón (*Cucumis melo* L.). *Agricultura Técnica (Chile)* 61(3): 281-293.
- Robinson R., A. 1999. La aceptación de la resistencia horizontal en los cultivos. *Monitor de Biotecnología y Desarrollo*. Compendio 1995-1997, p. 54-56.

- Robinson, R. A. 2000. Retorno a la Resistencia. Fitomejoramiento para Depender menos de los Plaguicidas. F. Romero (Trad.). IFIT, Colegio de Postgraduados. Montecillo México. 292 p.
- Romero, P. J. 2002. Diversidad genética y heterosis en cruzas de poblaciones nativas de maíz de la raza Chalqueño en los Valles Altos de México. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco., Méx. 224p.
- SAG (Secretaría de Agricultura y Ganadería). 1999. El cultivo del maíz. Guía para uso de empresas privadas, consultores individuales, y productores. [http://www.sag.gob.hn/dicta/Paginas/guia\\_cultivo\\_maiz.htm](http://www.sag.gob.hn/dicta/Paginas/guia_cultivo_maiz.htm)
- SAS (Statistical Analysis System) Institute. 2006. SAS Online Doc. Version Eight. <http://vdoc.sas.com/sashtml>. Consultado: enero, 2006.
- SMN (Servicio Meteorológico Nacional). 2005. Temperatura y precipitación anuales medias. <http://smn.cna.gob.mx/productos/map-lluv/precipit.gif> (consultado noviembre 2006).
- Téliz, O. D. (Edit). 1989. Enfermedades del Maíz, Frijol, Trigo y Papa. Colegio de Postgraduados. Centro de Fitopatología, México. 84 p.
- Van der Plank, J. E. 1984. Disease Resistance in Plants. Academic Press, N. Y. 2a ed. USA. 194p.
- Vigier B., L. M. Reid, L. M. Dwyer, D. W. Stewart, R. C. Sinha, J. T. Arnason, and G. Butler. 2001. Maize resistance to *gibberella* ear rot: symptoms deoxynivalenol, and yield. Can. J. Plant. Pathol. 23: 99-105.

Wellhausen, E. J., L. M. Roberts, y E. Hernández X., en colaboración con P. C. Mangelsdorf. 1951. Razas de Maíz en México: Su Origen, Características y Distribución. Folleto Técnico No. 5, Oficina de Estudios Especiales, Secretaria de Agricultura y Ganadería. México, D. F. 273 p.

White, G. D. 2004. Plagas y enfermedades del maíz. The American Phytopathological Society. Mundi-Prensa. México. 78 p.

Wisser, R. J., P. J. Balint-Kurti, and R. J. Nelson. 2006. The genetic architecture of disease resistance in maize: A synthesis of published studies. *Phytopathology* 96:120-129.