

METODOLOGIA PARA EVALUAR *in vitro* GENOTIPOS DE MAIZ EN BASE A SU RESISTENCIA A *Fusarium moniliforme**

Leticia Escobedo Bocardo¹
Gustavo Olivares Salazar²

RESUMEN

Con la finalidad de desarrollar una metodología de evaluación *in vitro* de material germoplásmico de maíz, en base a su resistencia a *Fusarium moniliforme*, se utilizaron las líneas de maíz: AN₁, AN₂, AN₁₂, AN₂₀, SSE-232-1-1-26-6, MLS₄₋₁, Zap Br₂-211-1-1, 255-18,19, 4346 x 2-3-2 y 232-10-11-1, que fueron probadas sembrando los embriones en el medio de cultivo de Murashige and Skoog, adicionado con el filtrado tóxico obtenido del hongo a diferentes concentraciones: 4, 8, 12, 16, 20, 24 y 28%, además del testigo; se encontró que las concentraciones más adecuadas de filtrado tóxico para detectar diferencia entre materiales fueron: 20, 24 y 28%. Por otra parte, las líneas: SSE-232-10-11-1, 255-18-19, 46 x 2-3-2 y Zap Br₂-211-1-1, se comportaron como resistentes; las líneas: SSE-232-1-1-26-6 y MLS₄₋₁, se comportaron como medianamente resistentes y, finalmente, las líneas: AN₁, AN₁₂, AN₂₀ y AN₂, presentaron susceptibilidad en presencia del filtrado tóxico.

Para conocer la eficiencia de este método de evaluación *in vitro*, las mismas líneas fueron probadas con el método de palillo de dientes, el cual, en este caso, reportó resultados muy parecidos, lo que indica que el método de cultivo *in vitro* es efectivo en la evaluación de resistencia a *Fusarium moniliforme*.

* Trabajo presentado en el XI Congreso de la SOMEFI, celebrado en Guadalajara, Jal., 1986.
1 y 2 Ing. M.C. Maestros Investigadores del Depto. de Fitomejoramiento, Div. de Agronomía, UAA AN.

INTRODUCCION

En México, el cultivo del maíz (*Zea mays L.*) dentro del sector agropecuario es sin duda alguna el más importante, pues constituye el alimento básico de la población.

Robles (1979) reporta que en nuestro país la mitad del área bajo cultivo se siembra con maíz, y en forma comparativa se considera aproximadamente 8 veces mayor que la destinada al trigo. En cuanto al rendimiento promedio, en algunos Estados ha alcanzado las 2.6 ton/ha; los Estados de: México, Jalisco, Chiapas, Guanajuato y Tamaulipas, son los principales productores (SARH-DGEA), 1980.

La gran expansión de este cultivo se debe, en su mayor parte, a que es una especie vegetal con una gran área de adaptación bajo diversas condiciones edáficas y ecológicas, pero a nivel nacional su rendimiento por hectárea es bajo; esto obedece a 2 factores principales: uno de ellos es que la mayor parte del área que se siembra con maíz, se realiza bajo condiciones de temporal; el otro factor se refiere a la deficiente tecnificación de las prácticas de cultivo, poco uso de fertilizantes y falta de híbridos o variedades mejoradas para cada zona (Robles, 1979).

En algunas regiones del país, la producción de maíz se ha visto afectada por una enfermedad denominada pudrición del tallo, la cual es causada por el hongo, *Fusarium moniliforme*. Durante los últimos años, esta enfermedad se ha intensificado en dichas regiones, y ha alcanzado altos porcentajes de infección en áreas donde antes apenas se manifestara su presencia.

Los ataques por podredumbres al tallo del maíz, causan considerables pérdidas en su producción. Según Kommedahl *et al.* (1979), la podredumbre del tallo ha sido considerada como una importante y destructiva enfermedad del maíz, por lo menos en 22 Estados de los Estados Unidos de América, así como en otros países productores del grano.

Los daños severos a la raíz y al tallo, ocasionan el doblamiento o caída por completo de la planta, lo que se refleja en una producción pobre y semilla anormal, cuando el ataque es temprano o bien las mazorcas desarrolladas pueden ser contaminadas en su caída por organismos del suelo.

Conociendo el carácter preventivo que debe tomarse en cuenta para el control de enfermedades de las plantas, el uso de productos químicos resulta a veces incosteable e inútil, pues el patógeno es capaz de invernarse en el suelo o en la semilla, siendo estas fuentes de inóculo bastante difíciles de eliminar. Por tal motivo, el control por resistencia genética del hospedero se ha señalado como el más adecuado.

Para evaluar el grado de resistencia a *Fusarium* se emplean diversas técnicas, la más utilizada es la del palillo de dientes, la cual se practica en el campo cuando las plantas han alcanzado su etapa de madurez; aunque estas técnicas para evaluación de resistencia en campo han sido exitosas, saltan a la vista los altos costos requeridos en su realización. Actualmente se pretende de que se definan nuevas técnicas de evaluación, en donde se maneje el material bajo condiciones más controladas, ya sea en el invernadero o laboratorio, en un tiempo relativamente corto y con el uso de mucha menor mano de obra, lo que resulta lógicamente en menores costos.

Así pues, el presente trabajo pretende desarrollar una posible metodología de evaluación de material germoplásmico de maíz, en base a su resistencia al patógeno *Fusarium moniliforme*, a través del uso del cultivo *in vitro* de embriones en medio nutritivo, adicionado con el filtrado tóxico obtenido del hongo.

REVISION DE LITERATURA

Aspectos Importantes sobre la Puarición del Tallo del Maíz

EI-Meleigi *et al* (1983), reportan que las podredumbres del tallo y raíz son causadas por especies de *Fusarium*, particularmente *Fusarium moniliforme*, y están consideradas dentro de las enfermedades más dañinas del maíz bajo riego.

Walker (1965) reporta que el género *Fusarium* comprende muchas especies, así como variedades dentro de cada una de ellas, y se caracteriza por la presencia de macroconidias, hialinas, fusiformes, a veces pediculadas, uni o pluritabicadas con inserción acrógena. Los conidióforos son ramificados y pueden aparecer salpicados o en ramilletes cubiertos por una masa de conidios, más o menos mucilaginosos, que forman esporodoquios, los cuales pueden presentar una base plana conocida como plectinquima. Las clamidiosporas unicelulares, o unitabicadas, poseen gruesas paredes, y son de in-

serción terminal, o intercalar. Las masas de esporas, los esclerocios, así como el micelio, generalmente son coloreados.

Gilman (1963) y Alexopoulos (1966), sitúan a los miembros del género *Fusarium* dentro de la clase Deuteromyceta y orden Moniliol. Las características elementales para esta clase son: existencia de micelio septado, así como ausencia de una fase de reproducción sexual, y la sola presencia de reproducción asexual por medio de conidios, razón por la cual son llamados hongos imperfectos.

El hongo puede ser encontrado en forma de micelio en tejidos podridos, como masas conoidiales en partes de planta próximas a la tierra, como clamidiosporas en el suelo o desperdicios, o pueden ser transportados por el aire (Snyder y Toussoun, 1965).

Así pues, la infección causada por el *F. moniliforme* se caracteriza por la presencia de granos aislados cubiertos por moho blanco rosáceo en la mazorca, así como por lesiones de la misma coloración en entrenudos y vainas.

Por su parte, Foley (1962) menciona que el ataque por hongos del género *Fusarium*, produce una gradual deteriorización del parénquima, manifestada por un decaimiento visible del tallo. Dependiendo de la severidad del ataque, la planta puede estar desde ligeramente inclinada, hasta rota por completo en el tallo; cuando el daño es por podredumbre de raíz, la planta se cae por completo.

Varios investigadores han concluido, según Christensen y Wilcoxson (1964), que las podredumbres del tallo causadas por *Diplodia zea* y *Gibberella zea*, así como por especies de *Fusarium*, se ven favorecidas en su desarrollo cuando se presentan lluvias por varias semanas, aproximadamente durante la polinización. A su vez, la Sociedad Fitopatológica Americana (1973), indica que condiciones secas y calientes (29 a 30°C) a principios de la estación y tiempo húmedo, 2 o 3 semanas después del sedeñamiento, favorecen el desarrollo de podredumbre del tallo por especies de *Fusarium*, mientras que el desarrollo y distribución de podredumbre de mazorca, por los mismos patógenos, se ve estimulado por tiempo seco y caliente.

Dood (1980) reporta que altas densidades de siembra provocan mayor podredumbre del tallo a causa de las tensiones fotosintéticas originadas por

la competencia, lo que afecta la producción de carbohidratos, así como el movimiento desbalanceado de carbohidratos dentro de la planta, en detrimento de algunas partes que carecerán de ellos, y las cuales quedarán más susceptibles al daño por el patógeno.

El descubrimiento de productos de secreción por microorganismos, como los causantes de enfermedades, ha originado una fuerte corriente de estudios al respecto.

Agrios (1985) indica que existe una acción directa de las toxinas sobre el protoplasto celular del hospedero; sin embargo, Wood *et al.* (1972), afirman que aún no se ha descrito con claridad la forma de acción de las toxinas, y sólo se puede asegurar que el patógeno puede producir una o más sustancias que, aplicadas a las plantas, reproducen algunos, o muchos, de los síntomas de la enfermedad natural.

Al respecto Mohamed *et al.* (1968), citados por Scott y Futrell (1970), encontraron que plántulas de maíz que se desarrollan en humedad con un filtrado de *F. moniliforme*, mostraron los mismos síntomas que los causados por el hongo. Además, Scott y Futrell (1970), observaron que un material extraído de *F. moniliforme* afectó el desarrollo de raíz, tanto en longitud como en número de raíces por plántula de maíz.

Gaumann (1954) reporta 4 toxinas producidas por *Fusarium lycopersici* desarrollado *in vitro*: la pectasa y la vasinfusearina, como causantes del obscurecimiento y necrosis de vasos conductores, así como la lycomarasmina y ácido fusárico responsables de la decoloración y necrosis del follaje.

En cuanto a las micotoxinas de *F. moniliforme* y *F. graminearum*, fueron aisladas, por Thiel *et al.* (1982), de granos de maíz en Sudáfrica y son: monilimorfina, deoxynivalenol y zearalenone.

La influencia de variados factores, bajo determinadas condiciones en la producción de toxinas por un organismo, ha sido observada por diversos investigadores. Gaumann (1954) considera que la capacidad productiva de toxinas por un organismo, depende de la composición del medio de cultivo en que se desarrolle; además, considera que pueden existir ciertos factores que aportan condiciones óptimas para la producción de toxinas por un patógeno, de tal forma que un hospedero resistente puede

ser aquél capaz de formar un microclima adverso a la producción de toxinas por un patógeno en el área de ataque, y un hospedero susceptible lo contrario.

Métodos de Selección para Evaluación de Resistencia

Christiensen y Wilcoxon (1964), indican que existen una gran cantidad de métodos de inoculación para evaluar la resistencia a pudrición del tallo en el campo, entre ellos se encuentran: el método de la paja infectada, de inyección de esporas, aspersión de esporas, aplicación de residuos infestados a la semilla, el del palillo de dientes, etc.; de ellos, el más utilizado es el del palillo de dientes.

La inoculación con palillos de dientes infestados con *Fusarium* en tallos, debe hacerse durante el período de floración del cultivo, y evaluarse alrededor de 40 días después; para ello se utiliza una escala arbitraria de daños, que va de 1-5 según el grado de intensidad del daño; los resultados en este caso dependerán fuertemente de las condiciones climáticas prevalecientes durante el desarrollo del maíz (FAO, 1976).

En condiciones ambientales más controladas, se han definido metodologías de evaluación de resistencia. Al respecto, Martínez (1978) y Trápaga (1980), llevaron a cabo estudios de evaluación de materiales de tomate y trigo, respectivamente, utilizando el filtrado tóxico producido por hongos del género *Fusarium*, sobre plántulas ubicadas en laboratorio o invernadero; en el laboratorio las raíces de las plántulas fueron sumergidas en frascos de vidrio con filtrado tóxico durante varios días, mientras que en el invernadero se aplicó el filtrado tóxico en forma de riego; al final, ambos autores concluyen que el filtrado tóxico afectó diferencialmente las variedades tratadas, incrementando la respiración y disminuyendo la sobrevivencia de las plántulas, lo que permitió la selección de plántulas resistentes a la enfermedad.

Actualmente se realizan grandes esfuerzos para desarrollar una nueva metodología de evaluación de resistencia, mediante el uso de técnicas de cultivo de tejidos, cuya ventaja, según Haissing (1962), es lograr el desarrollo de la secuencia fenológica o parte de ella en el interior de un recipiente de vidrio, en el que son proporcionadas a las células, tejidos y órganos, los nutrientes, vitaminas y hormonas, así como las condiciones ambientales requeridas para su desarrollo.

Al utilizar la técnica del cultivo de embriones, Raghavan (1977) reporta que la incorporación dentro del medio de cultivo de la toxina ácido fusárico producido por un hongo del género *Fusarium*, interfiere con la toma de agua por embriones de *Phaseolus vulgaris*, propiciando un marchitamiento en sus hojas. Posteriormente, Pérez (1985), empleando la técnica del cultivo de embriones, utiliza el filtrado tóxico de *Fusarium* spp para evaluar varias líneas de maíz, y encontró que esta metodología permite diferenciar en forma clara los materiales de maíz, en cuanto a resistencia a pudrición del tallo.

MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Mexicano del Maíz, perteneciente a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, y en campo, en la región de Celaya, Gto.

Para llevar a cabo la evaluación a pudrición del tallo, se utilizaron las líneas de maíz: AN₁, AN₂, AN₁₂, AN₂₀, 4346 x 2-3-2, 255-18-19, Zap Br₂-211-1-1, 232-10-11-1, SSE-232-1-1-26-6 y MLS₄₋₁.

Dicha evaluación se llevó a cabo por el método de selección *in vitro* y por el de inoculación con palillo de dientes.

Metodología para evaluación *in vitro* de materiales de maíz a pudrición del tallo

La evaluación por el método de selección *in vitro* se llevó a cabo de la siguiente manera:

Los embriones de las líneas de maíz, antes mencionadas, se colocan en medio nutritivo adicionado con filtrado tóxico a diferentes concentraciones: 0, 4, 8, 12, 16, 24 y 28%o; para ello se utilizó un diseño completamente al azar con 5 repeticiones para cada línea, en donde los tratamientos correspondieron a las concentraciones de filtrado tóxico.

Con la finalidad de detectar diferencias entre tratamientos, se realizó la prueba de rango múltiple de Duncan, al 5%o.

Antes de llevar a cabo la evaluación, fue necesario colectar, aislar y multiplicar el hongo en estudio, para obtener el filtrado tóxico producido por él.

Colecta Aislamiento y Multiplicación del Hongo

Plantas de maíz con síntomas aparentes de daño por *Fusarium* fueron colectadas en el campo y llevadas luego al laboratorio, en donde se procedió a realizar pequeños cortes de tejido de nudos y entrenudos; estos trozos se lavaron con alcohol al 70%, y posteriormente se enjuagaron con agua destilada para su esterilización. Se sembraron 5 trozos por caja petri con medio nutritivo-Papa-Dextrosa-Agar (PDA), más 2 partes por millón de estreptomicina, y se colocaron en inoculación durante 15 días; posteriormente se llevaron a cabo varias resiembras del hongo, con la finalidad de alcanzar su aislamiento total. Logrado lo anterior, se procedió a multiplicarlo en cajas de petri y tubos de ensaye con PDA; finalmente el hongo se mantuvo a 5°C para su posterior utilización.

Fue necesario, también, preparar el filtrado tóxico producido por el hongo, el que se obtiene de la siguiente manera: se prepara el medio nutritivo Papa-Dextrosa-Sacarosa (PDS), con 550 g de papa, 40 g de dextrosa y 30 g de sacarosa. La papa es partida en pequeños trozos que son colocados en un recipiente, al que se adiciona un litro de agua destilada; se procede a hervir durante 60 minutos, y se repone entre tanto el agua evaporada. El material hervido se filtra por 2 ocasiones a través de manta de cielo; se le agrega la dextrosa y sacarosa, y se afora a 3 litros con agua destilada. Posteriormente el medio es esterilizado en la autoclave durante 20 minutos y se inocula con trozos de micelio del hongo. El matraz que contiene el medio inoculado, se mantiene en agitación a una temperatura de 25 a 27°C, bajo condiciones de obscuridad, por 15 días.

Transcurrido este tiempo, el contenido del matraz se filtra a través de una manta de cielo, y después por un filtro Wathman No. 1, para separar y eliminar el micelio del hongo. El filtrado tóxico se pausteriza a 60°C durante 30 minutos, y finalmente es mantenido en refrigeración a 5°C, hasta el momento de su utilización.

Una vez preparado el filtrado tóxico, se lleva a cabo la evaluación *in vitro* de materiales de maíz, la cual consiste en sembrar embriones en un medio de cultivo adecuado para la diferenciación de plántulas y a este medio se le agrega dicho filtrado; este procedimiento se lleva a cabo de la siguiente manera:

Se extraen los embriones con la ayuda de un bisturí; se esterilizan con hipoclorito de sodio al 4% durante 3 minutos, y se enjuagan con agua destilada y esterilizada 3 o 4 veces.

La siembra de los embriones se efectúa bajo condiciones de asepsia absoluta; para ello se utiliza una campana de flujo laminar; el medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) y la fitotoxina se mezclan, de tal forma que el medio contenga un determinado porcentaje de fitotoxina. A cada tubo de vidrio de base plana se le agregan 12 ml de la mezcla anterior, y quedan listos para que el embrión sea sembrado.

Después de la siembra el material se coloca en el cuarto de inoculación, donde permanecerá, durante 10 días; transcurrido este tiempo se evaluarán los materiales en base a su comportamiento, que será medido por longitud del tallo, longitud de la raíz, peso fresco y peso seco.

Metodología para Evaluación en Campo de Materiales de Maíz a Pudrición del Tallo

Para determinar el grado de ataque del hongo sobre las 10 líneas de maíz, antes mencionadas, se utilizó el método de palillo de dientes, que consiste en insertar el palillo cubierto con micelio del hongo en el interior del tallo de la planta; la preparación de los palillos se lleva a cabo de la siguientes manera:

Se hierven los palillos de dientes en agua destilada durante 3 horas; se prepara el medio nutritivo PDA semilíquido, y se vacía en frascos de vidrio (gerver) hasta la mitad; luego se colocan en su interior 25 palillos, se sellan los frascos, y se esterilizan en la autoclave a 120°C por 20 minutos. Los frascos se inoculan con el hongo, y se mantienen en incubación durante 15 días, para lograr que el hongo cubra los palillos.

La inoculación con el palillo de dientes se lleva a cabo durante el período de floración del maíz, y consiste en hacer una perforación, con un taladro manual, en el segundo entrenudo del tallo de abajo hacia arriba, en donde se introduce el palillo inoculado; a los 40 días de haber insertado los palillos, se evalúan los materiales de acuerdo con una escala de daños, que va del 1 al 5, según el grado de avance de la infección en el interior del entrenudo.

1. 0-25% de tejido dañado en el entrenudo inoculado
2. 26-50
3. 51-75
4. 76-100
5. > 100 daño se extiende a otros entrenudos

RESULTADOS

Evaluación *in vitro* de Materiales a Pudrición del Tallo

La evaluación *in vitro* de las líneas de maíz a pudrición del tallo por *Fusarium moniliforme*, se realizó en base a longitud de la raíz, longitud del tallo, peso fresco y peso seco.

El resumen de los resultados de los análisis de varianza de cada uno de los parámetros antes mencionados, por la línea SSE-232-1-1-26-6, Cuadro 1, indican que no hubo significancia estadística entre los tratamientos: testigo, 4, 8, 12, 16, 20, 24 y 28% de filtrado tóxico, considerándose esta línea como resistente, ya que no se observó daño alguno al agregar la toxina.

Los valores de F obtenidos para las líneas: 255-18-19, 4346 x 2-3-2 y Zap Br₂-211-1-1, (Cuadro 1), muestran que no existió diferencia significativa para 3 de los 4 parámetros evaluados; en el caso de las 2 primeras líneas, la diferencia correspondió a longitud de tallo, mientras que para Zap Br₂-211-1-1, correspondió el peso fresco; las pruebas de Duncan efectuadas para detectar las diferencias entre tratamientos, marca que en todos los casos las concentraciones más altas de filtrado tóxico causaron algo de daño sobre los parámetros evaluados. Estas 3 líneas son consideradas también como resistentes, pues las pocas diferencias encontradas fueron pequeñas.

Los valores de F obtenidos para las líneas: SSE-232-1-1-26-6 y MLS_{4.1} (Cuadro 1), indican que no hubo significancia para longitud del tallo y longitud de la raíz; en cambio, si la hubo para peso fresco y peso seco, aunque no se presentó una clara diferenciación entre los tratamientos. Cabe mencionar que las concentraciones mayores del filtrado tóxico, obtuvieron los peores o más pequeños pesos, esto según la prueba de Duncan. Estas líneas son también consideradas como medianamente resistentes.

Cuadro 1. Resumen de los resultados reportados por los análisis de varianza, correspondientes a cada línea de maíz evaluada para los parámetros de longitud de la raíz, longitud del tallo, peso fresco y peso seco.

Líneas	Valores de F calculada				F tablas	
	Longitud raíz	Longitud tallos	Peso fresco	Peso seco	.05	.01
232-10-11-1	1.0	0.8	0.77	0.9	2.17	2.95
255-18-19	1.5	2.2*	1.1	1.4		
43-46 x -2-3-2	0.7	1.4	1.3	2.2*		
Zap Brz-211-1-1	1.8	2.5*	1.7	0.68		
SSE-232-1-1-26-6	1.5	1.9	2.2*	2.7*		
ML S4-1	1.0	2.0	2.3*	2.7*		
AN ₁	2.2*	1.1	2.9*	3.6**		
AN ₁₂	2.9*	2.5*	2.5*	1.6		
AN ₂₀	2.5*	2.3*	1.44	2.6*		
AN ₂	2.9*	3.4**	3.0**	5.3**		

* Diferencia significativa al 0,05 de probabilidad

** Diferencia altamente significativa al 0,01 de probabilidad

Los valores de F para las líneas: AN₁, AN₁₂ y AN₂₀ (Cuadro 1), muestran que hubo significancia estadística para 3 de los 4 parámetros evaluados; según las pruebas de Duncan, en todos los casos el mejor tratamiento correspondió al testigo, y los peores a las concentraciones mayores del filtrado tóxico.

Para la línea AN₂, los valores de F (Cuadro 1), reportan que hubo diferencia altamente significativa entre tratamientos para los 4 parámetros evaluados, y la prueba de Duncan separó, en este caso, claramente a los tratamientos de la siguiente manera: Testigo, 0, 4 y 8% de filtrado tóxico, fueron los mejores tratamientos; mientras que 20, 24 y 28%, fueron los peores.

De acuerdo a los resultados encontrados, se puede decir que las líneas: AN₁, AN₁₂, AN₂₀ y AN₂, tienen diferentes grados de susceptibilidad al ataque de *Fusarium moniliforme*.

De los análisis anteriores se puede afirmar que, de los niveles de filtrado tóxico, los de 20, 24 y 28% fueron los más eficientes para diferenciar las líneas en cuanto a su resistencia a *Fusarium moniliforme*.

Evaluación en Campo de Líneas de Maíz a Pudrición del Tallo

Los datos correspondientes a porcentaje de daño al tallo, tomados una vez que transcurrieron los 40 días después de la inoculación con palillo de dientes, se transformaron a valores de arcoseno con la finalidad de realizar su análisis correspondiente.

Con la finalidad de apreciar claramente las diferencias entre las líneas de maíz inoculadas, se obtuvo el promedio de los valores de daño al tallo, mediante la siguiente fórmula:

$$\bar{x} = \frac{(n \times 1) + (n \times 2) + \dots + (n \times 5)}{\text{número de plantas}}$$

Donde "n" es igual al número de plantas, que luego es multiplicado por el grado de pudrición del tallo (1 - 5).

La comparación entre promedios (Cuadro 2), reporta que las líneas: SSE-232-1-1-26-6, 232-10-11-1, 255-18-19, Zap Br₂-211-1-1, MLS_{4.1} y 4346 x 2-3-2, presentaron valores entre 1 y 1.9, considerándose, por lo tanto, como materiales con diversos grados de resistencia.

Las líneas restantes: AN₂, AN₁₂, AN₂₀ y AN₁, por presentar valores mayores de 2, son considerados como materiales con diversos grados de susceptibilidad.

Cuadro 2. Promedios obtenidos para cada una de las 10 líneas evaluadas de acuerdo al grado de daño producido por *Fusarium moniliforme* al inocular con palillo de dientes.

Materiales	\bar{x}	
SSE-232-1-1-26-6	1.54	
232-10-11-1	1.60	
255-18-19	1.64	Resistentes
Zap Br ₂ -211-1-1	1.66	
MLS _{4.1}	1.84	
4346 x 2-3-2	1.84	
AN ₂	2.02	
AN ₁₂	2.06	
AN ₂₀	2.20	Susceptibles
AN ₁	2.34	

DISCUSION

Los resultados obtenidos en laboratorio, al emplear la metodología de evaluación *in vitro*, hacen suponer que es adecuada para determinar el grado de resistencia de materiales de maíz a *Fusarium moniliforme*, ya que hubo mucha coincidencia al compararlos con los obtenidos por medio de la evaluación de materiales, con el método del palillo de dientes. En ambos casos, las líneas: SSE-232-1-1-26-6, 255-18-19, Zap Br₂-211-1-1, 232-10-11-1 y MLS4-1, presentaron diversos grados de resistencia, mientras que las líneas: AN₁, AN₂, AN₁₂ y AN₂₀, fueron susceptibles.

La efectividad del método de evaluación *in vitro* se explica por reportes como el de Rojas (1974), donde evidencia una notable correlación entre los daños provocados por un patógeno, y aquéllos ocasionados por toxinas por ellos producidas en medio de cultivo. Así también, y en forma bastante clara, Trapaga (1980), al trabajar en invernadero con 12 variedades de trigo, observó que las plántulas regadas con una suspensión de esporas, así como aquéllas regadas con el filtrado tóxico producido por el patógeno, afectaron de igual forma la longitud de raíz y porcentaje de clorosis.

En cuanto al método del palillo de dientes, su uso permitió observar diferencias entre las líneas de maíz en cuanto a resistencia al ataque de *F. moniliforme*; dichos resultados concuerdan con lo afirmado por Draganic (1982), quien indica que en la actualidad este método es utilizado en forma extensiva, pues permite detectar las diferentes respuestas de las plantas inoculadas, además de ser rápido y sencillo.

Por otro lado, el poco o ningún daño, presentado por algunos materiales, se debe a los diferentes mecanismos de resistencia que las plantas poseen para defenderse del ataque de los patógenos. Al respecto Magee (1948), citado por Christensen y Wilcoxson (1964), menciona que la dureza de los tallos constituye una barrera física que evita el avance del patógeno; esto se relaciona con el contenido de celulosa y lignina que presentan los tallos, además de que altos niveles de carbohidratos en la planta le proporcionan mayor resistencia.

Craig (1960) considera que la forma de reaccionar de una planta a las toxinas producidas por el patógeno, determina el que una planta pueda ser estimulada o inhibida en su desarrollo, e indica que una planta resistente, es aquella que presenta la capacidad para alterar la estructura química de una toxina, y la cual muy probablemente conduce a su detoxificación.

CONCLUSIONES

1. El uso del método de evaluación *in vitro*, al parecer, es adecuado para determinar el grado de resistencia de materiales de maíz a *Fusarium moniliforme*.
2. Las líneas: SSE-232-1-1-26-6, 255-18-19, 4346 x 2-3-2 y Zap Br₂-211-1-1, se comportaron como resistentes a la acción del filtrado tóxico.
3. Las líneas SSE-232-1-1-26-6 y MLS₄₋₁, se comportaron como medianamente resistentes a la acción del filtrado tóxico.
4. Las líneas: AN₁, AN₁₂, AN₂₀ y AN₂, se comportaron como susceptibles a la acción del filtrado tóxico.
5. Las concentraciones óptimas del filtrado tóxico para diferenciar materiales de maíz *in vitro* son: 20, 24 y 28%.
6. Los parámetros medidos, longitud de raíz, longitud de tallo, peso fresco y peso seco, son eficientes en conjunto para la evaluación de los materiales.

BIBLIOGRAFIA

- Agrios, G.N. 1985. Fitopatología. México. LIMUSA, 756 p.
- Alexopoulos, C.J. 1966. Introducción a la micología. Buenos Aires, Argentina. EUDEBA. 624 p.
- American Phytopathological Society. 1973. A compendium of corn diseases St. 2 Paul Minnesota. 64 p.
- Christiensen, J.J. and R.D. Wilcoxson. 1964. Stalk root of corn. Monograph 3. The American Phytopathological Society. 59 p.
- Craig, J. 1960. Physiological, chemical and morphological plant factors in *Zea mays* L. associated with *Diplodia* stalk root reaction. Ph.D. Thesis. University of Illinois, Urbana.

- Dodd, J.L. 1980. The role of plant stress in development of corn stalk rot. *Plant disease* 64(6):533-537.
- Draganic, M. 1982. Inheritance of resistance of maize to stalk rot *Gibberella zeae* and screening for sources of resistance. *Journal of Scientific Agricultural Research*, 43(150):232-250.
- El-Meleigi, M.A.; L.E. Claflin and R.J. Raney. 1983. Effect of seedborne *Fusarium moniliforme* and irrigation scheduling on colonization of root stalk tissue, stalk rot incidence and grain yields. *Science* 23(6): 1025-1028.
- FAO. 1976. Reporte de Europa para estudios de resistencia a *Fusarium* spp. Trabajo inédito.
- Foley, D.C. 1962. Systemic infection of corn by *Fusarium moniliforme*. *Phytopathology* 52:870-872.
- Gaumann, E. 1954. Toxins and plant diseases endeavour. 13:198-204.
- Gilman, C.J. 1963. Manual de los hongos del suelo. 2a. ed. México. Ed. Continental. 572 p.
- Haissing, B.E. 1962. The impact of plant tissue culture on agriculture. In: *Frontiers of plant tissue culture*. Editores Trevor and Thorpe. pp. 15-26.
- Kommedahl, T., C.E. Windels and R.E. Stucker. 1979. Occurrence of *Fusarium* species in roots and stalks of symptomless corn plants during the growing season. *Phytopathology* 69:961-966.
- Martínez, G.P.G. 1978. Estudio preliminar de un método de selección de material germoplásmico de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) usando el filtrado de *Fusarium oxysporum* (Schl), *F. lycopersici* (Sacc). S.H. Tesis profesional. Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey, Monterrey, Nuevo León, México.
- Pérez, R.A. 1985. Efecto de varios niveles de filtrado tóxico de *Fusarium* spp en el comportamiento *in vitro* de varias líneas de maíz. Tesis profesional. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

- Raghavan, V. 1977. Applied aspects of embryo culture. In: Applied and fundamental aspects of plant cell tissue and organ culture. Edited by J. Reinert and Y.P.S. Bajaj. Springer Verlang, Berlín-Heidelberg, N.Y. pp. 375-379.
- Robles, S.R. 1979. Producción de granos y forrajes. 2a. ed. México. LIMUSA. 592 p.
- Rojas, A.M. 1974. Prueba de un método de selección de variedades de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) resistentes a *Alternaria carthami* Corda, empleando la patotoxina del hongo. Tesis profesional. Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey. Monterrey, Nuevo León, México.
- SARH-DGEA. 1980. Anuario estadístico de la producción agrícola en los Estados Unidos Mexicanos. México. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Dirección General de Economía Agrícola. 287 p.
- Scott, G.E. and M.C. Futrell. 1970. Response of maize seedlings to *Fusarium moniliforme* and a toxic material extracted from this fungus. Plant disease reporter 54:483-486.
- Snyder, W.C. and T.A. Toussoun. 1965. Current status of taxonomy in *Fusarium* species and their perfect stages. Phytopathology. 55:833-837.
- Thiel, P.G., C.J. Meyer and W.F.O. Marasas. 1982. Natural occurrence of moniliformin together with deoxymivalenol and zearalenone in transkeian (South Africa) Corn. J. Agric. Food Chem. 30(2):308-312.
- Trapaga, A.J.A. 1980. Selección de material germoplásmico de trigo *Triticum aestivum* L. mediante el uso de la fitotoxina del agente causal *Fusarium californicum* Sacc. bajo condiciones de laboratorio e invernadero. Tesis profesional. Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey. Monterrey, Nuevo León, México.
- Walker, J.C. 1965. Patología vegetal. Barcelona, España. Ed. Omega, S.A. 818 p.
- Wood, R.K.S., A. Ballio and A. Graniti. 1972. Phytotoxins in plant diseases. London. Academic Press. 530 p.