



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GENÉTICA

**DIVERSIDAD GENÉTICA EN EL PATOSISTEMA
MAÍZ - *FUSARIUM*
EN EL ALTIPLANO DE MÉXICO**

DOLORES BRIONES REYES

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2013

La presente tesis titulada: “**DIVERSIDAD GENÉTICA EN EL PATOSISTEMA MAÍZ – FUSARIUM 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:

DOCTORA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GENÉTICA

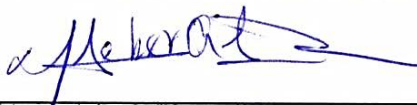
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



DR. FERNANDO CASTILLO GONZÁLEZ

ASESOR



DR. VÍCTOR HÉBER AGUILAR RINCÓN

ASESOR



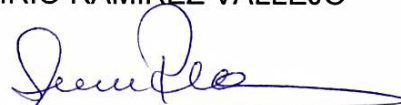
DR. CARLOS DE LEÓN GARCÍA DE ALBA

ASESOR



DR. PORFIRIO RAMÍREZ VALLEJO

ASESOR



DRA. HILDA VICTORIA SILVA ROJAS

Montecillo, Texcoco, Estado de México, noviembre 2013.

Agradecimientos

A mi familia, por apoyarme siempre.

Al CONACYT y al Colegio de Postgraduados, por la oportunidad de realizar mis estudios.

A los miembros de mi Consejo Particular: Dr. Fernando, Dr. Porfirio, Dr. Carlos, Dr. Heber y Dra. Hilda por sus aportaciones y disposición para colaborar en este trabajo de investigación.

Al Dr. José Luis Chávez Servia y las personas que colaboraron en la colecta y evaluación en Huamelulpan, Oaxaca.

Al Ing. Antonio Ramírez y trabajadores de campo por su apoyo en los experimentos.

Al personal del Laboratorio de Marcadores Moleculares y del Laboratorio de Biotecnología de Semillas por permitir realizar parte de la investigación

Al grupo Vicente Guerrero por el apoyo brindado en la fase inicial de la investigación.

A mis profesores, compañeros, amigos y todas aquellas personas que con su apoyo directo o indirecto hicieron posible este logro.

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

G R A C I A S

"Nadie se cruza en tu camino por azar, las personas entran en la vida por una razón, por una estación o por una vida entera"

** Dedicatoria **

Con cariño para:

Mi familia

Profesores, compañeros y amigos...

CONTENIDO GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN GENERAL	vii
GENERAL SUMMARY	viii
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
OBJETIVO GENERAL	10
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
BIBLIOGRAFÍA	11
CAPÍTULO II. DIVERSIDAD DE MAÍZ NATIVO DEL ALTIPLANO MEXICANO Y SU RESPUESTA A PUDRICIÓN DE MAZORCA POR <i>Fusarium</i> spp.....	14
RESUMEN	14
SUMMARY	15
INTRODUCCIÓN	16
MATERIALES Y MÉTODOS	18
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
CONCLUSIONES	34
BIBLIOGRAFÍA	36
CAPÍTULO III. RESISTENCIA/VIRULENCIA A NIVEL DE PLÁNTULA EN EL PATOSISTEMA MAÍZ - <i>Fusarium</i> spp. EN EL ALTIPLANO MEXICANO	38
RESUMEN	38
SUMMARY	39
INTRODUCCIÓN	40
MATERIALES Y MÉTODOS	42
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
CONCLUSIONES	58
BIBLIOGRAFÍA	59

CAPÍTULO IV. DIVERSIDAD ISOENZIMÁTICA EN EL PATOSISTEMA MAÍZ- <i>Fusarium</i> spp. EN EL ALTIPLANO DE MÉXICO	60
RESUMEN	60
SUMMARY	61
INTRODUCCIÓN	62
MATERIALES Y MÉTODOS	64
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	70
CONCLUSIONES	80
BIBLIOGRAFÍA	81
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN GENERAL	83
BIBLIOGRAFÍA	86
CAPITULO VI. CONCLUSIONES GENERALES	87
ANEXO	89

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
CAPÍTULO II	
Cuadro II.1. Tipo de grano y origen geográfico de 55 poblaciones de maíz nativo, colectadas en el Altiplano Mexicano, en 2010.	19
Cuadro II.2. Cuadrados medios de los análisis de varianza para pudrición de mazorca, en la evaluación de 55 poblaciones nativas de maíz de origen geográfico diverso, en Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.	23
Cuadro II.3. Porcentaje promedio de pudrición de mazorca (%) y desviación estándar de poblaciones de maíz agrupadas por procedencia y color de grano. Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.	25
Cuadro II.4. Rendimiento de mazorca por parcela (kg) y desviación estándar de poblaciones de maíz agrupadas por procedencia geográfica y color de grano. Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.	28
Cuadro II.5. Efectos de interacción de procedencia geográfica x localidad, para pudrición de mazorca (%), Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.	30
Cuadro II.6. Efectos de interacción de procedencia geográfica x localidad, para rendimiento de mazorca por parcela (kg). Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011. ..	30
CAPÍTULO III	
Cuadro III.1. Procedencia de las poblaciones de maíz y aislamientos de <i>Fusarium</i> spp.	43
Cuadro III.2. Cuadrados medios de los análisis de varianza de la evaluación en plántula de 57 poblaciones nativas de maíz y seis fuentes de inóculo de <i>Fusarium</i> spp. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.....	48
Cuadro III.3. Comparación de promedios por inóculo de procedencia geográfica distinta, en 57 poblaciones de maíz nativo. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.	50

	Pág.
Cuadro III.4. Cuadrados medios y significancia para respuesta a inóculo de <i>Fusarium</i> de origen geográfico distinto en 57 poblaciones de maíz nativo. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.	52
Cuadro III.5. Significancia de la fuente de variación: origen de inóculo dentro de población de maíz del ANAVA para cada material de maíz ante seis fuentes de origen geográfico de inóculo de <i>Fusarium</i> spp., para cada una de las variables evaluadas. Montecillo, Texcoco, Edo. Méx. 2012.	53
Cuadro III.6. Efectos de interacción de procedencia geográfica de maíz x procedencia geográfica del inóculo para daño por <i>Fusarium</i> spp. en plántula, Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.	56
Cuadro III.7. Efectos de interacción de procedencia geográfica de maíz x procedencia geográfica del inóculo (<i>Fusarium</i> spp.) para la variable peso seco en plántula, Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.	57
CAPÍTULO IV	
Cuadro IV.1. Características morfológicas evaluadas en maíz. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2010 y 2011.	65
Cuadro IV.2. Procedencia geográfica de las poblaciones de maíz sanas y con síntomas de pudrición por <i>Fusarium</i> spp.	66
Cuadro IV.3. Sistemas isoenzimáticos utilizados para 44 poblaciones de maíz nativo y 33 poblaciones de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp. de distinta procedencia geográfica. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2013.	69
Cuadro IV.4. Identificación filogenética de aislamientos de <i>Fusarium</i> de origen geográfico distinto.	72
Cuadro IV.5. Número de alelos y loci polimórficos encontrados por medio del análisis isoenzimático en 44 poblaciones de maíz, 33 de <i>Fusarium</i> spp. y las poblaciones testigo. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2013.	75

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
CAPÍTULO II	
Figura II.1. Promedios de pudrición de mazorca de poblaciones nativas de maíz representativas de resistencia (A) y susceptibilidad (B) en Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.	24
Figura II.2. Pudrición de mazorca de poblaciones de maíz agrupadas por procedencia geográfica (Oaxaca, Guerrero, Puebla, Tlaxcala, Edo de México y Testigo) en Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.	26
Figura II.3. Rendimiento de mazorca por parcela de poblaciones de maíz, agrupadas por procedencia geográfica (Oaxaca, Guerrero, Puebla, Tlaxcala, Edo de México y Testigo) en Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011...	27
Figura II.4. Genotipos representativos del daño promedio por pudrición en el rendimiento de mazorca. Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2011.	31
Figura II.5. Pudrición de mazorca (%) por <i>Fusarium</i> spp. de 56 poblaciones de maíz, agrupadas por su color de grano, en Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011. ...	33
Figura II.6. Rendimiento promedio de poblaciones de maíz (kg), agrupadas por color de grano, evaluadas en Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011. ..	33
CAPÍTULO III	
Figura III.1. Mazorcas de maíz con síntomas de pudrición característicos de <i>Fusarium</i> spp.	44
Figura III.2. Concentraciones de avena inoculada: sustrato estéril, y respuesta de las plántulas en la evaluación preliminar.	45
Figura III.3. Escala de valoración del daño provocado por <i>Fusarium</i> spp. en plántulas de maíz. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.	47

	Pág.
Figura III.4. Efecto del inóculo de <i>Fusarium</i> spp. de distinto origen geográfico en grupos de poblaciones de maíz por procedencia geográfica; A) daño visual 1-5; B) peso fresco; C) longitud y D) peso seco. Montecillo, Texcoco. Edo de Méx. 2012.	50
Figura III.5. Respuesta de plántulas de maíz nativo con diferente nivel de susceptibilidad/tolerancia a inóculos de <i>Fusarium</i> spp. de distinta procedencia geográfica. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.	51
Figura III.6. Interacción poblaciones de maíz x fuente de inóculo de <i>Fusarium</i> spp. de diferente origen geográfico. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.	51
Figura III.7. Evaluación de la susceptibilidad/resistencia a <i>Fusarium</i> spp. en plántulas de maíz de 57 poblaciones de maíz nativas, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 2012.	54
Figura III.8. Efecto del patógeno en la longitud de la raíz y parte aérea de la plántula respecto a las plántulas sin inóculo (longitud sin inóculo - longitud i-ésimo origen geográfico del inóculo). Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.	55
Figura III.9. Efectos de interacción de procedencia geográfica maíz x procedencia geográfica del inóculo (<i>Fusarium</i> spp.) para la variable peso seco en plántula. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.	57
CAPÍTULO IV	
Figura IV.1. Zimograma obtenido de la prueba preliminar de <i>Fusarium</i> spp. aislados de mazorcas de maíz.	67
Figura IV.2. Dispersión de 57 poblaciones de maíz nativo con base en los dos primeros componentes principales del análisis sobre variables morfológicas. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2010-2011.	71
Figura IV.3. Cepas de <i>Fusarium</i> aisladas de mazorcas de maíz con síntomas de pudrición: A) <i>F. verticillioides</i> , B) <i>F. subglutinans</i> y C) <i>F. graminearum</i> , en medio PDA (papa, dextrosa, agar). ..	73
Figura IV.4. Dispersión de 44 poblaciones de maíz nativo con base en los dos primeros componentes principales. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2013..	77
Figura IV.5. Dispersión de 33 poblaciones de <i>Fusarium</i> spp., una de <i>F. verticillioides</i> , una de <i>F. subglutinans</i> y una de <i>F. graminearum</i> , con base en los dos primeros componentes principales. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2013.	79

DIVERSIDAD GENÉTICA EN EL PATOSISTEMA MAÍZ-*Fusarium* EN EL ALTIPLANO DE MÉXICO

RESUMEN GENERAL

Las variantes de maíz (*Zea mays* L.) nativas (criollos) preservadas por los agricultores a través de generaciones, constituyen más de 80% del área sembrada con maíz en México; la pudrición de mazorca por *Fusarium* spp. provoca pérdidas de hasta 30%. El estudio de las poblaciones de maíz y sus patógenos como patosistema tiene sentido, pues en la variación genética del maíz nativo se puede encontrar resistencia/tolerancia a enfermedades; el conocimiento de la estructura de las poblaciones de maíz y del patógeno de manera integral ayudaría a resolver el problema de pudrición, aumentar la producción de grano y conservar la diversidad del maíz. En 2010 se colectaron 56 poblaciones de maíz nativo con y sin síntomas de pudrición de mazorca en cinco estados en México en altitudes entre 1498 y 2520 m. En 2010 y 2011, se evaluó la respuesta de las poblaciones de maíz, en tres localidades (Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx., y Huamelulpan, Oax.) bajo infección natural de *Fusarium* spp. y condiciones de temporal. En 2012 se realizó una evaluación en plántula para valorar la virulencia del patógeno y la susceptibilidad/tolerancia de las poblaciones de maíz ante *Fusarium* spp de distinta procedencia geográfica. En 2013 un análisis isoenzimático para poblaciones de maíz y poblaciones de *Fusarium* fue necesario para valorar la diversidad genética en el patosistema. La respuesta en campo, mostró diferencias significativas entre las poblaciones de maíz, entre localidades y para la interacción localidades x población en cada ciclo agrícola; se observó que los maíces locales al ambiente de evaluación tienden a presentar menor daño por *Fusarium* spp. y mayor rendimiento; por la procedencia geográfica, los maíces de Oaxaca presentaron menor daño que los de los estados de México, Puebla, Tlaxcala y Guerrero. Resultado de la prueba en plántula, se observó variación en virulencia del inóculo, fue más virulento el procedente del estado de México, mientras que el del Edo. de Guerrero provocó menor daño. Las poblaciones de maíz respondieron de manera diferencial, al expresar valores de daño distintos a través de los diferentes inóculos a los que fueron sometidos. Las poblaciones de maíz y las de *Fusarium* spp. mostraron un patrón de agrupación de acuerdo a su procedencia geográfica. La variación observada en el patosistema Maíz-*Fusarium* spp. por medio del análisis isoenzimático, puede estar relacionada con la variación ecológica en la zona de exploración, localizada entre los 1490 y 2720 msnm, la cual provee amplia variación ecológica, generando diversidad en ambos organismos. Se obtuvieron evidencias experimentales de que los patrones de virulencia de *Fusarium* y la respuesta del maíz parecen corresponder a la procedencia geográfica (condiciones ecológicas), lo que sugiere la necesidad de profundizar en el estudio de procesos de coevolución.

Palabras clave: diversidad, patosistema, *Fusarium* spp., maíz nativo, pudrición de mazorca, virulencia.

GENETIC DIVERSITY IN THE MAIZE-*Fusarium* PATHOSYSTEM IN THE HIGHLANDS OF MEXICO

GENERAL SUMMARY

The native (creole) varieties of maize (*Zea mays* L.) preserved by farmers through generations, constitute more than 80% of the area planted with maize in Mexico; the *Fusarium* spp. ear rot could cause yield losses up to 30 %. The study of maize populations and their pathogens as pathosystem makes sense, because in the genetic variation of native maize can be found resistance/tolerance to such disease; the knowledge of the maize and the pathogen structure populations could help to solve the rot problem, increase the grain production and preserve the genetic diversity. In 2010, 56 native maize populations were collected, with and without symptoms of ear rot from five states in Mexico at altitudes between 1498 and 2520 m. In 2010 and 2011, under rainfed conditions and natural infection by *Fusarium*, the response of maize populations was evaluated in three locations (Montecillo and Ayapango, Edo. de Mex., and Huamelulpan, Oax.). In 2012, the virulence of the pathogen and the susceptibility/tolerance of maize populations to *Fusarium* spp. of different geographical origin were assessed in seedling stage. In 2013 an isoenzymatic analysis for maize populations and *Fusarium* populations were required in order to know the genetic diversity in the pathosystem. The field response, showed significant differences between maize populations, between locations and interaction environment x population, was evident that local maize populations in the evaluation environment tend to have less damage by *Fusarium* spp., and higher grain yield; by geographical origin, maize from Oaxaca should less damage than those from the states of Mexico, Puebla, Tlaxcala and Guerrero. The seedling test showed variation in virulence between sources of inoculum; the most virulent was from the state of Mexico, while the one from Guerrero caused minor damages. Maize populations responded differently, expressing different degree of damage through various sources of inoculum. The maize and *Fusarium* spp. populations showed a pattern of grouping according to their geographical origin. The variation observed in the maize-*Fusarium* spp. pathosystem through isoenzyme analysis, may be related to ecological variation in the exploration area, located between 1490 and 2720 m, which provides wide environmental variation, generating diversity in both populations. Experimental evidences were obtained about patterns of *Fusarium* virulence and maize populations responses that seems correspond with geographical origin (ecological conditions) that may suggest the need of research in order to better insight on coevolution processes.

Key words: diversity, pathosystem, *Fusarium* spp., native maize, ear rot, virulence.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

El maíz en México es uno de los cultivos de mayor importancia, su diversidad está ligada íntimamente a la vida y condición de los pueblos indígenas y campesinos. Su clasificación pudiera basarse en una taxonomía autóctona, basada en la forma y en los diversos usos, incluso en usos rituales. Pero también existe en México una clasificación del maíz basada en la convención universal de razas y variedades, presentes en casi todo el territorio nacional (Welhausen *et al.*, 1951; Sánchez *et al.*, 2000; Kato, 2009; Salgado, 2011).

En 2012, el maíz ocupó un área de 7 372 218.19 ha, que es aproximadamente el 34 % de la superficie total dedicada a la agricultura en México (21 millones de hectáreas). La mayor proporción de la superficie cultivada con maíz (82%) se encuentra en zonas de temporal (6 103 020.72 ha), que se siembra mayormente con maíces nativos, y aunque en esta zona se obtienen rendimientos bajos (2.24 t/ha) comparados con el promedio en zonas con riego (7.5 t/ha) aporta el 58 % de la producción nacional que en 2012 fue de 22 069 254.42 t para el ciclo agrícola (P-V + O-I) (SIAP, 2012). No obstante, en 2012 se importaron 9.4 millones de toneladas de las cuales 1.34 millones de toneladas fueron de maíz blanco y 8.15 de maíz amarillo (ASERCA, 2012).

Hongos fitopatógenos

Los hongos patógenos de plantas constituyen un grande y heterogéneo grupo de organismos de gran importancia en la agricultura y en las comunidades naturales de plantas; presentan enorme diversidad en las estrategias de sobrevivencia y las formas en que interactúan con sus hospedantes. Estas interacciones van desde especies que establecen infecciones permanentes y sistémicas, hasta aquellas que pueden llegar a matar a sus hospedantes con una rapidez fulminante, o bien agentes patógenos que forman lesiones discretas cuyos efectos individuales son muy limitados (Burdon, 1993).

Las enfermedades causadas por hongos en muchos casos tienen un impacto negativo en la agricultura ya que infectan las plantas vivas, causando daños y pérdida de los cultivos, además de afectar a los productos vegetales con toxinas (Oliver y Schweizer, 1999).

Enfermedades en el maíz por el género *Fusarium*

Las enfermedades de plantas ocurren porque algunos hongos han desarrollado la capacidad para penetrar y colonizar los tejidos vegetales, han evolucionado junto con sus plantas hospederas por millones de años y han tenido un gran impacto en la producción agrícola desde los primeros intentos de agricultura organizada (Oliver y Schweizer, 1999).

Fusarium es un hongo parásito facultativo capaz de infectar todas las partes de la planta afectando considerablemente el cultivo. Varias especies de *Fusarium* están involucradas como causantes del tizón de plántulas, la pudrición del pie y la

fusariosis de la espiga, tanto en cereales como en pastos, así como pudrición de la mazorca y tallo de maíz. Estos patógenos de plantas son importantes, no sólo porque provocan pérdidas importantes de rendimiento, sino porque también producen metabolitos secundarios altamente tóxicos, perjudiciales a la ganadería y a la salud humana (Snijders, 1990; Bottalico, 1998).

Las principales especies de *Fusarium* que afectan al maíz se encuentran dentro del complejo *Gibberella fujikuroi*, que es altamente controvertido a nivel taxonómico; la identificación de las especies de *Fusarium* se basó usualmente en las diferencias morfológicas que presentan los anamorfos (estado asexual) de los aislamientos a identificar, pero dentro de este complejo, las características morfológicas clásicas pueden ser insuficientes para resolver la identidad de las distintas especies (O'Donnell *et al.*, 2000). Actualmente, los avances en biología molecular han incorporado nuevos criterios de mayor sensibilidad para detectar cambios en el genotipo de los individuos, situación que ha permitido grandes avances en este tipo de estudios.

Pudrición de Mazorca

La pudrición de mazorca del maíz causada por *Fusarium* spp. es una de las enfermedades más importantes del maíz ocasionando pérdidas en el rendimiento de grano que varían de 23 a 30% (González *et al.*, 2007). *Fusarium* spp. presenta distribución cosmopolita y es endémico en las regiones maiceras, puede sobrevivir largos periodos en restos vegetales (Desjardins *et al.*, 1994; Thomas y

Buddenhagen, 1980). Las especies de mayor prevalencia son *F. verticillioides* y *F. graminearum*, seguidas por *F. subglutinans*, que además del deterioro al cultivo, afecta la calidad del grano por la contaminación con toxinas como el deoxinivalenol, zearalenona, zearalenol y fumonisinas, etc., que al ser ingeridas por humanos o animales pueden causar efectos cancerígenos, teratógenos, mutágenos, eméticos y estrogénicos que afectan la salud humana y animal (Ayvar-Serna, 1997; Robledo *et al.*, 2001; Giannitti *et al.*, 2011; Gimeno y Martins, 2011). Algunas cepas de *Fusarium verticillioides* producen infecciones asintomáticas en la semilla o en la plántula, y puede ser transmitido por la semilla a la plántula afectando su emergencia, pudiéndose o no desarrollar una infección sistémica en la planta (Peiretti *et al.*, 2007; Munkvold y Desjardins, 1997).

Plántula

Las semillas de maíz que están en el proceso de germinación pueden ser atacadas por patógenos transportados por las semillas o presentes en el suelo, que pueden causar su pudrición antes de germinar, pudrición de la plántula y tizón de las plántulas, lo cual puede llegar a ser un problema fuerte sobre todo cuando la temperatura al momento de la germinación es baja y/o los suelos están muy húmedos (Paliwal *et al.*, 2001).

En las plántulas, las enfermedades pueden llevar a la muerte, lo cual reduce las densidades de población del cultivo, las plántulas pueden sufrir daños antes de que emerjan del suelo o después de su emergencia y aquellas que sobreviven tienen raíces poco desarrolladas o con síntomas de pudrición, manchas café de

podrición en los brotes y dan origen a plántulas débiles que no se desarrollan bien, pues las enfermedades en la raíz debilitan el sistema radicular y por tanto, reducen su capacidad para abastecer a la planta de humedad adecuada y de nutrientes, haciéndola más susceptible al acame (Pohelman, 1976) el cual se ha encontrado relacionado a la pudrición de mazorca (González *et al.*, 2007). Sin embargo, es posible diferenciar genotipos resistentes de los susceptibles, cultivando las plántulas en el suelo infectado con los agentes causales de la pudrición (Pohelman, 1976).

El patosistema

Los patosistemas vegetales están constituídos por las plantas y sus patógenos. El patosistema es un subsistema de un ecosistema que está definido por el fenómeno de parasitismo; en él, los comportamientos de la población del hospedante y del parásito son tratados ambos como un solo sistema, donde una especie influye en la genética de poblaciones y la evolución de la otra; así, el patosistema influye en y es influido por los procesos que ocurren a nivel del ecosistema en general (Robinson, 1980; Arauz, 1998).

La gran diversidad de estrategias ecológicas, nutricionales y reproductivas de los patógenos junto con su interacción con la población de plantas susceptibles determinan los diferentes ciclos biológicos, por lo que cada patosistema tiene su propio ciclo biológico, el cual es necesario conocer para diseñar estrategias racionales en el control (Robinson, 1980).

El estudio de la estructura genética de las poblaciones permite hacer inferencias sobre los procesos de evolución que afectan a las poblaciones, además

de examinar el flujo de genes y la diversidad genética en el ámbito espacial, dentro y entre poblaciones. Estos análisis coadyuvan al conocimiento de los factores que inciden directamente sobre la composición genética y la evolución potencial de las poblaciones de fitopatógenos (Milgroom, 1995, McDonald, 1997).

La identificación, caracterización y clasificación de los hongos se ha realizado tradicionalmente usando una cantidad relativamente pequeña de caracteres morfológicos y fisiológicos, los cuales han proporcionado información útil pero muchas veces incompleta de estos organismos. En algunos casos se ha carecido de suficientes parámetros distintivos, sobre todo, para aquellos hongos que no poseen estructuras sexuales. Actualmente, la aplicación de diversas técnicas basadas en el polimorfismo del ADN, ha revolucionado el nivel de conocimiento que se tiene de estos importantes organismos, y ha servido de complemento a los métodos tradicionales (Mills *et al.*, 1998). La información generada ha hecho posible, además de caracterizar y distinguir a los hongos, realizar estudios más precisos y complejos en temas como nivel y mecanismos de variación, estructura genética de poblaciones, taxonomía, etc.

Diversidad

La diversidad del maíz se encuentra en manos de los agricultores, a través de las numerosas variantes nativas. Entre las causas determinantes de la gran diversidad de poblaciones locales está la de las condiciones naturales y

agroecológicas bajo las cuales se siembra el maíz y en el que ha evolucionado (Ortega, 2003).

La variabilidad genética en las poblaciones de microorganismos fitopatógenos, está determinada principalmente por la acumulación histórica de: mutaciones, el flujo de genes en las poblaciones (local o a largas distancias) y la recombinación (sexual o asexual) (Burdon y Silk, 1997); puede estar asociada con la evolución histórica de sus hospedantes (Clay, 1995). A pesar de su importancia económica y amplia distribución, la organización demográfica de las poblaciones de estos hongos no está bien entendida y las especies dominantes en cada región dependen del área en estudio.

Se considera que el estudio de los mecanismos de patogenicidad y de variación genética de los hongos fitopatógenos será crítica para el manejo de las enfermedades fungosas. En los hongos propagados clonalmente, la determinación del nivel de variación genética existente es una de las preguntas que aún quedan pendientes en fitopatología (Talbot, 1998).

En México no se ha estudiado de manera suficiente la diversidad del *Fusarium*, causante de la pudrición de mazorca del maíz, a pesar de ser esta una de las enfermedades que provoca pérdidas importantes en la producción. En este proceso de investigación poco se ha considerado en forma integral el patosistema formado por el maíz nativo y las especies de *Fusarium* que provocan pudrición de mazorca en el maíz.

Se sabe que las poblaciones nativas de maíz han coexistido con las poblaciones de patógenos como *Fusarium*. Ambos organismos presentan diversidad genética, determinada por interacciones recíprocas entre poblaciones, o bien por presiones de selección que les impone el medio y que ponen en peligro la supervivencia de ambos organismos; proceso que involucra cambios en la composición genética de las especies involucradas, por una parte las plantas desarrollando mecanismos para resistir el ataque de los patógenos, y éstos tratando de evadir esos sistemas de defensa producidos por la planta. Este comportamiento ha sugerido un proceso de coevolución del patosistema (Arauz, 1998; Sánchez, 2005).

Existen evidencias de que en la diversidad de los maíces nativos hay poblaciones con alta capacidad de rendimiento de grano, por sí mismas y, en combinación con otros maíces, también presentan respuesta aceptable a la selección para rendimiento, resistencia a varias enfermedades y plagas. Estas poblaciones que se encuentran en poder de los agricultores continúan evolucionando, elevando su rendimiento y resistencia a factores adversos (Ortega, 2003).

A través del mejoramiento genético de las poblaciones nativas de maíz se podría aumentar el rendimiento promedio y contribuir más a la producción nacional, hasta llegar a ser autosuficientes. Sin embargo, la diversidad nativa está sufriendo una severa erosión genética debido, entre otras causas a el proceso de adopción de

variedades mejoradas, la sustitución del cultivo por otros más remunerativos o el abandono del cultivo por cambio de uso de suelo y la migración de los campesinos.

Tomando en cuenta que la mayor parte del área cultivada con maíz en México se siembra con poblaciones nativas (criollos), y que existe una alta incidencia de la pudrición de la mazorca de maíz, resulta importante enfocarse al estudio conjunto del Maíz y *Fusarium* spp. como patosistema, por lo que es primordial conocer las especies involucradas, y las relaciones entre ellas, para poder aplicar las estrategias que permitan seleccionar los materiales con características favorables, entre ellas resistencia al patógeno y eventualmente iniciar la acumulación de genes favorables en los cultivares.

Basándose en lo anterior y con el fin de clasificar y evaluar en forma más precisa la variabilidad presente en ambas poblaciones se plantearon los siguientes objetivos.

OBJETIVO GENERAL

Conocer la diversidad genética de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de mazorca en algunos estados del Altiplano de México, así como evaluar la respuesta de poblaciones de maíz de origen geográfico distinto a ataque de *Fusarium* spp. en plántula y mazorca.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Colectar poblaciones de maíz nativo con síntomas de pudrición característica del *Fusarium* spp. en algunas regiones del altiplano mexicano.
- Valorar la respuesta de poblaciones nativas de maíz al inóculo natural de *Fusarium* spp. en distintos ambientes.
- Determinar las diferencias en virulencia de cepas de *Fusarium* spp. y la resistencia/tolerancia de las poblaciones de maíz nativo de diferente procedencia geográfica
- Valorar la diversidad genética de maíz y *Fusarium* spp., como patosistema, en varias regiones del altiplano de México.

BIBLIOGRAFÍA

- Arauz C., L. F. 1998. Fitopatología: Un Enfoque Agroecológico. Editorial de la Univ. de Costa Rica. San José, C. R. 467p.
- ASERCA (Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria). 2012. Importaciones maíz. (en línea). Consultado 30 septiembre de 2013. Disponible en: <http://www.aserca.gob.mx>
- 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.
- Bottalico, A. 1998. *Fusarium* diseases of cereals: Species complex and related mycotoxin profiles in Europe. J. Plant Pathol. 80: 85-103.
- Burdon, J. J. 1993. The structure of pathogen populations in natural plant communities. Annu. Rev. Phytopathol. 31:305-323.
- Burdon, J. J. and J. Silk. 1997. Sources and patterns of diversity in plant pathogenic fungi. Phytopathology 87(7):664-669.
- Clay, K. 1995. Correlates of pathogen species richness in the grass family. Can. J. Bot. 73(Suppl. 1):S42-S49.
- Desjardins, A. E., R. D. Plattner, and P.E. Nelson. 1994. Fumonisin production and other traits of *Fusarium moniliforme* strains from maize in northeast Mexico. Appl. Environ. Microbiol. 60: 1695-1697.
- Giannitti, F., S. S. Diab, A. M. Pacin, M. Barranteguy, C. Larrere, J. Ortega, and F. A. Uzal. 2011. Equine leukoencephalomalacia (ELEM) after consumption of fumonisins B1 and B2 in Argentina. Pesq. Vet. Brasileira 31(5): 407-412.
- Gimeno, A. y M. L. Martins. 2011. Micotoxinas y Micotoxicosis en Animales y Humanos. 3ª ed. Special nutrients Inc. Miami, Fl. 128 p.
- González H., A., L. M. Vázquez G., J. Sahagún C., J. E. Rodríguez P. y D. J. Pérez L. 2007. Rendimiento del maíz de temporal y su relación con la pudrición de mazorca. Agric. Téc. en México 33(1): 33-42.
- Kato Y., T. A., C. Mapes S., L. M. Mera O., J. A. Serratos H. y R. A. Bye B. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. UNAM, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 116 p.
- McDonald, B. A. 1997. The population genetics of fungi: tools and techniques. Phytopathology 87:448-453.

- Milgroom, M. G. 1995. Analysis of population structure in fungal plant pathogens. *In* J. F. Leslie, and R. A. Frederiksen (eds.) Disease Analysis Through Genetics and Biotechnology. Iowa State Univ. Press. Pp. 213-229.
- Mills, P. R., S. Sreenivasaprasad, and M. Muthumeenakshi. 1998. Assessing diversity in *Colletotrichum* and *Trichoderma* species using molecular markers. *In*: P. Bridge, Y. Counteaudier and J. Clarkson, eds., Molecular Variability of Fungal Pathogens. Wallingford, CAB International, UK. Pp 105-120.
- Munkvold, G. P. and A. E. Desjardins. 1997. Fumonisin in maize. Can we reduce their occurrence? *Plant Dis.* 81(6):556-563.
- O' Donnell, K., H. I. Nirenberg, T. Aoki, and E. Cigelnik. 2000. A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: Detection of additional phylogenetically distinct species. *Mycoscience* 41:61-78.
- Oliver, R. P. and M. Schweizer. 1999. *Molecular Fungal Biology*. Cambridge Univ. Press, UK. 377p.
- Ortega-Paczka, R. 2003. La diversidad del maíz en México. *In*: C. Esteva y C. Marielle (eds.), *Sin Maíz no hay País*. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, Dirección General de Culturas Populares e Indígenas, México. pp. 123-154.
- Paliwal, L. R., G. Granados, H. R. Lafitte, A. D. Violic, J.P. Marathée. 2001. El Maíz en los trópicos: mejoramiento y producción. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO. Plant Production and Protection Series. No. 28.
- Peiretti-Uzal, D. A., M. C. Nazar-Lovera, C. A. Biasutti-Valenzano, y L. M. Giordal-Lerda. 2007. Susceptibilidad a *Fusarium verticillioides* (sacc.) nirenberg en la población de maíz MPB-FCA 8561. *Agronomía Mesoamericana* 18(2): 171-176
- Pohelman, J. M. 1976. *Mejoramiento Genético de las Cosechas*. Limusa. México. 476 p.
- Robinson, R. A. 1980. New concepts in breeding for disease resistance. *Ann. Rev. of Phytopathol.* 18: 189-210
- Robledo, M. L., S. Marín y J. A. Ramos, 2001. Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México). *Rev. Iberoam. de Micol.* 18: 141-144.
- Salgado, A. 2011. Diversidad, erosión y contaminación genética del maíz nativo en México *En*: M. I. Manzur (ed.) Biodiversidad, erosión y contaminación genética del maíz nativo en América Latina. Santiago de Chile: Heinrich Böll Stiftung. pp.13-48
- Sánchez G., J. J., M. M. Goodman, and C. W. Stuber, 2000. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Econ. Bot.* 54: 43-59.

- Sánchez S., H. 2005. Coevolución genética de la interacción parásito-hospedero. *Ciencia Ergo Sum* 12(2):144-148.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2012. Estadísticas de siembras y cosechas. (en línea). Consultado 30 julio de 2013. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx>
- Snijders, C. H. A. 1990. *Fusarium* head blight and mycotoxin contamination of wheat. *Plant Pathol.* 96: 187-198.
- Talbot, N. J. 1998. Molecular variability of fungal pathogens: using the rice blast fungus as a case study. *In* P. Bridge; Y. Counteaudier and J. Clarkson (eds.) *Molecular Variability of Fungal Pathogens*. CAB International, UK. Pp 1-18.
- Thomas, M. D. and I. W. Buddenhagen. 1980. Incidence and persistence of *Fusarium moniliforme* in symptomless maize kernels and seedlings in Nigeria. *Mycologia* 72: 882-887.
- 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. OEE-SAG. Folleto No.5. México, D. F. 236 p.

CAPÍTULO II

DIVERSIDAD DE MAÍZ NATIVO DEL ALTIPLANO MEXICANO Y SU RESPUESTA A PUDRICIÓN DE MAZORCA POR *Fusarium* spp.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la respuesta a la infección natural por *Fusarium* spp. en las mazorcas de 55 poblaciones nativas de maíz de diferente color y textura de grano, procedentes de cinco estados de México, en tres localidades en 2010 y 2011 bajo condiciones de secano (temporal), y valorar la respuesta diferencial, asociada a origen geográfico, de las poblaciones de maíz a la infección de variantes locales de *Fusarium*, además de poder detectar variantes genéticas resistentes/tolerantes a esta enfermedad con características agronómicas sobresalientes. El porcentaje promedio de pudrición de mazorca fue diferente entre las poblaciones de maíz, entre localidades y entre poblaciones dentro de cada localidad y ciclo agrícola. Las agrupaciones de poblaciones por color de grano también mostraron diferencias, ya que los grupos de color amarillo y rojo mostraron el menor porcentaje de infección. Por la procedencia geográfica, los maíces de Oaxaca presentaron menor daño que los de los estados de México, Puebla, Tlaxcala y Guerrero. En producción de grano hubo diferencias entre localidades, poblaciones y ciclos. Los efectos de la interacción entre grupos de poblaciones por localidad indican que las poblaciones de origen local tienden a presentar menor porcentaje de pudrición y mayor rendimiento de grano, lo que sugiere un proceso de coevolución y coadaptación. El mayor peso de mazorca se obtuvo en 2011, en donde también destacaron las poblaciones de Oaxaca, por lo que se infiere que las poblaciones nativas de maíz de esta entidad son una fuente potencial de resistencia/tolerancia a pudrición de mazorca por *Fusarium* spp.

Palabras clave: *Fusarium* spp., *Zea mays*, diversidad genética, coadaptación, resistencia.

NATIVE MAIZE DIVERSITY OF THE MEXICAN HIGHLANDS AND ITS RESPONSE TO *FUSARIUM* SPP. EAR ROT

SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the response to natural infection by *Fusarium* spp. of 55 native maize populations, with different kernel color and texture collected from five states in Mexico, at three locations in 2010 and 2011, under rainfed conditions, in order to assess the differential response, associated to geographic origin, of the maize populations to the local variants of *Fusarium*, in addition the possibility of detecting resistant / tolerant genetic sources to this disease with agronomic outstanding attributes. Mean ear rot percentage was different among maize populations, among locations and among populations within each location and season. Population grouping by grain color showed that yellow and red groups had lower infection percentages. Based on geographic origin, Oaxaca maizes showed lower damage than those from Mexico, Puebla, Tlaxcala and Guerrero. In grain production, there were differences among locations, populations and seasons. Interaction effects among population groups per location indicate that local populations tend to show lower rotting percentage and higher yield. This suggests a coevolution and coadaptation process. Greatest ear weight was obtained in 2011, and Oaxaca populations were also outstanding. It is possible to infer that native maize populations from Oaxaca are a potential source of resistance or tolerance to ear rot by *Fusarium* spp.

Keywords: *Fusarium* spp., *Zea mays*, genetic diversity, coadaptation, resistance.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de maíz (*Zea mays* L.) ocupa el primer lugar por área cultivada en México, mayormente en condiciones de secano (temporal) (83%), en la que se presenta una media con rendimientos bajos (2. 24 t ha⁻¹) determinados por efectos bióticos y abióticos adversos; no obstante estas áreas aportan 58% de la producción nacional, la que en 2012 ascendió a 22.06 Mtm (SIAP, 2012).

Las poblaciones de maíz nativas, comúnmente denominadas criollas, que han sido preservadas por los productores a través de numerosas generaciones, prevalecen en más del 80% del área sembrada con maíz en México, en donde coexisten con organismos benéficos y patógenos en condiciones microecológicas específicas, factores que han permitido la conservación de la diversidad genética del cultivo (Castillo *et al.*, 2000).

Los maíces nativos son importantes porque hacen posible la subsistencia de los pequeños productores en zonas marginadas y marginales, constituyen la base genética de las semillas mejoradas y presentan adaptación a la condición ecológica de su origen como resultado histórico de la evolución bajo domesticación y de la aplicación del conocimiento de los agricultores pocas veces reconocido (Hernández, 1985).

Entre las enfermedades de importancia económica destaca la pudrición de mazorca causada por *Fusarium* spp., que causa pérdidas de rendimiento de 23 a 30% (González *et al.*, 2007). Las especies de *Fusarium* presentan distribución

cosmopolita, son endémicas en las regiones maiceras, capaces de colonizar todas las partes de la planta y sobrevivir largos períodos en restos vegetales (Thomas y Buddenhagen, 1980; Desjardins *et al.*, 1994).

Las especies de mayor prevalencia son *F. verticillioides*, *F. graminearum* y *F. subglutinans* las que además de deteriorar el grano, producen micotoxinas que afectan la salud humana y animal (Robledo *et al.*, 2001; Desjardins *et al.*, 2006; Gimeno y Martins, 2011). En México (Gallardo *et al.*, 2006), Irán (Farhang *et al.*, 2007), Vietnam (Trung *et al.*, 2008) y Argentina (Presello *et al.*, 2007), esta enfermedad cobra cada vez mayor importancia. La resistencia genética a la pudrición de mazorca por *Fusarium* spp. es de tipo cuantitativa y, por lo tanto, altamente influenciada por el ambiente (Nankam y Pataky, 1996; Ali *et al.*, 2005).

Es de suponer que la variación genotípica del maíz, en la que se sustentan las miles de variantes que se encuentran en México y que han coevolucionado con variantes locales de *Fusarium* spp., ha dado lugar a un proceso de coadaptación. Este fenómeno hace factible el mejoramiento genético de las poblaciones nativas locales, con base en estrategias participativas de selección, desarrolladas para incrementar la capacidad productiva y reducir problemas fitosanitarios de manera efectiva y durable (Castillo *et al.*, 2000; Smith *et al.*, 2001).

En este contexto la exploración, estudio y conservación de las poblaciones nativas de maíz tienen sentido, primeramente para conocer los patrones de variación

conjunta (patosistema), y en seguida poder intervenir usando la variación genética para resolver el problema de pudrición de mazorca, mediante resistencia sin buscar fuentes genéticas externas, al mismo tiempo que se conserva la diversidad del maíz y se continua con su evolución dinámica y progresiva (Castillo *et al.*, 2000).

Para valorar la asociación de la diversidad genética del maíz con la del *Fusarium*, y su posible coadaptación, se colectaron 55 poblaciones nativas de maíz en cinco estados del altiplano mexicano, para ser evaluadas en tres condiciones agroecológicas diferentes con el propósito de cuantificar la pudrición de mazorca que pudiera ser diferencial y estar asociada a origen geográfico del maíz y a las variantes locales de *Fusarium* spp. Además de detectar posibles fuentes de resistencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético

Se evaluaron 55 poblaciones de maíz nativo colectadas directamente de productores de 19 localidades ubicadas entre los 1498 y 2520 m de altitud, en cinco estados: 13 de la región Montaña de Guerrero, 11 del Sureste del Edo. México, 13 de la Mixteca alta de Oaxaca, 6 de Puebla y 12 de Tlaxcala; y el híbrido azul “San Miguel” como testigo. Con base en el color del endospermo/pericarpio, las poblaciones se clasificaron en la forma siguiente: 22 blancos cristalinos (BC), 11

azules (A), 6 amarillos (Am), 4 cremas (C), 6 blancos anchos harinosos (BA) y 6 rojos (R) (Cuadro II.1).

Cuadro II.1. Tipo de grano y origen geográfico de 55 poblaciones de maíz nativo, colectadas en el Altiplano Mexicano, en 2010.

Procedencia geográfica		Rango	Color endospermo/pericarpio *						
Estado	Municipios	Altitud (m)	Am	A	BC	BA	C	R	Total
Tlaxcala	Ixtacuixtla, Españita, Nanacamilpa, Totolac.	2220-2720	1	3	7	0	1	0	12
Guerrero	Chilapa, Cualác, Tixtla, Zitlala.	1498-2222	1	3	2	4	0	3	13
Puebla	Xochitlán y Libres.	1610-2400	2	1	3	0	0	0	6
Oaxaca	Huamelulpan, Tayata, Peñasco, Ticuá, Tataltepec.	2144-2290	2	3	5	0	0	3	13
México	Ayapango, Chalco, Tepetlixpa, Texcoco.	2249-2450	0	1	5	2	3	0	11
Total			6	11	22	6	4	6	55

* BC: Blanco Cristalino; A: Azul; Am: Amarillo; C: Crema; BA: Blanco Ancho; R: Rojo.

Ciclos de cultivo y localidades de evaluación

Los experimentos se establecieron en los ciclos agrícolas de primavera-verano en 2010 y 2011, en condiciones de temporal e infección natural por inóculo local, en tres localidades: Campo Experimental del Colegio de Postgraduados, en Montecillo (Mont), Texcoco, Méx., (19° 29' N y 98° 54' O, 2250 msnm); Ayapango (Aya), Méx., (19° 10' N y 98° 45' O, 2450 msnm); y Huamelulpan (Oax), Oaxaca, (17° 24' N y 97° 36' O, 2172 msnm).

Diseño experimental

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar, con dos repeticiones en 2010 y con tres en 2011. En ambos experimentos la parcela experimental consistió en dos surcos de 5 m de longitud y 0.90 m de ancho, con dos plantas cada 0.50 m, distribución que corresponde a la densidad de 50,000 plantas ha⁻¹. Las semillas fueron desinfestadas superficialmente, mediante inmersión en 10% hipoclorito de sodio/agua (v/v) durante 10 min. y tratadas con el fungicida Captan®50 (75 g/kg semilla), con el fin de reducir la posibilidad de transportar inóculo.

Variables registradas

Se evaluaron las siguientes características: días a floración femenina (DFF) y masculina (DFM), cuando el 50% de las plantas de cada parcela presentaban emisión de estigmas o polen; acame de tallo (ACT) y de raíz (ACR) como el número de plantas que presentaron tallos quebrados o inclinación desde la base de la planta; rendimiento (RMz) con base en el peso total de mazorcas en cada parcela experimental. La severidad de la pudrición (PuMz) por *Fusarium* spp., se determinó visualmente en cada mazorca, con base en la escala modificada de la usada por De León y Pandey (1989), donde: 1 = 0-20; 2 = 21-40; 3 = 41-60; 4 = 61-80; 5 = 81-100% de granos con síntomas y se obtuvo la media ponderada en cada parcela con base en la ecuación siguiente:

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

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 parcela experimental.

Los datos de severidad se transformaron por arco seno de la raíz cuadrada del daño porcentual, para tener una aproximación a la distribución normal (Steel y Torrie, 1980). Se identificaron a las poblaciones de acuerdo con su procedencia geográfica y se obtuvo el ANAVA y comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con el programa de análisis estadístico SAS System 9.0 (SAS, 2002), para cada ciclo de cultivo, se consideró como fuentes de variación a procedencia y poblaciones anidadas en procedencia. La representación gráfica de las poblaciones de maíz se realizó con base en la agrupación por entidad de procedencia y color de grano. En cada caso, se calcularon los promedios y las desviaciones estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efectos de localidad de evaluación

La severidad de la enfermedad entre localidades fluctuó entre 28 y 55% en 2010 y entre 22 y 36% en 2011, por lo que son evidentes las diferencias en el grado de pudrición de mazorca en las poblaciones de maíz nativo, causada por el inóculo natural de *Fusarium* spp. Estos porcentajes fueron mayores que los encontrados por González *et al.* (2007) bajo condiciones de temporal en la región del Valle de Toluca

(6.1 a 8.9%). Las diferencias entre ambos resultados son consecuencia de los fenotipos evaluados, la densidad natural del inóculo local y de las condiciones ambientales prevalecientes durante el desarrollo de cultivo en cada ciclo y en las regiones evaluadas. Las diferencias en la severidad puede atribuirse también a la variación diferencial en virulencia/agresividad entre aislamientos de *Fusarium* spp. de distintas localidades, tal como lo observaron Iglesias *et al.* (2010).

Se encontraron diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$) entre localidades y poblaciones en ambos ciclos de evaluación (Cuadro II.2). En 2010 la mayor severidad se presentó en Oaxaca (53.6%), seguida de Montecillo (35.8%) y Ayapango (27.5%). En 2011 los valores en Montecillo (35.4%) y Oaxaca (34.0%) fueron estadísticamente equivalentes, pero superiores al de Ayapango (22.2%) (Cuadro II. 3).

La menor severidad en la pudrición de mazorca por *Fusarium* spp. observada en Ayapango, puede atribuirse a las diferencias térmicas entre localidades, ya que las temperaturas mínima-máxima promedio anual (5.5-21.6 °C) son menores que en Huamelulpan (10.5-24.4 °C) y que en Montecillo (7.8-25 °C) (SMN, 2000), además de que la temperatura óptima de crecimiento para *Fusarium* spp. es de 22 a 28 °C (Carrillo, 2003), esta última condición explicaría la mayor severidad observada en Montecillo, en ambos ciclos. En Huamelulpan-2010, los efectos de la enfermedad pudieron confundirse con los daños por la helada ocurrida en la etapa de formación de grano, que afectó severamente al cultivo.

Cuadro II.2. Cuadrados medios de los análisis de varianza para pudrición de mazorca, en la evaluación de 55 poblaciones nativas de maíz de origen geográfico diverso, en Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.

FV	GL	2010				2011			
		PuMz	PKg	DFM	DFF	PuMz	PKg	DFM	DFF
Loc	2	5682.0 **	137.7 **	10036.2 **	6702.5 **	2040.1 **	6.1 *	11789.5 **	11992.5 **
Blo/Loc	6	75.0 NS	17.0 **	33.5 NS	43.8 NS	29.1 NS	3.1 *	36.3 **	31.8 *
Proced	5	960.5 **	3.7 **	1700.1 **	1349.6 **	230.9 **	12.6 **	2513.0 **	2553.6 **
Pobn(Proced)	53	77.0 *	1.1 *	325.8 **	324.7 **	42.9 **	2.6 **	530.5 **	559.2 **
Loc*Proced	10	288.1 **	2.7 **	153.7 **	185.2 **	96.3 **	20.0 **	59.7 **	81.4 **
Loc*Pobn/Proced	101	65.0 NS	1.1*	23.2**	29.4*	22.2**	2.5**	22.0**	23.0**
Error	205	52.3	0.7	15.4	20.8	14.2	1.1	10.3	11.8
C.V		19	55	4	5	11	42	3	

Loc: Localidades; Blo: Bloques; Pobn: Población maíz; Proced: Procedencia geográfica; C.V.: Coeficiente de Variación; NS: No Significativo 5 %; *, ** Significativo con $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$, respectivamente. PuMz: Pudrición de mazorca, PKg: Rendimiento de mazorca por parcela (kg), DFM: Días a floración masculina, DFF: Días a floración femenina.

Efecto de poblaciones de maíz y procedencia geográfica

Las poblaciones de maíz en cada localidad respondieron diferencialmente a *Fusarium* spp. bajo condiciones naturales por lo que la interacción población x localidad en ambos ciclos fue significativa. En la Figura II.1, se puede observar la variación del daño entre las poblaciones de maíz, ya que las poblaciones 53, 39, 52, 44 y 21 muestran susceptibilidad, en contraste con las poblaciones 35, 31, 2, 17 y 30 que se pueden considerar resistentes/tolerantes; el resto de poblaciones se encuentran entre los valores de 20 y 60 % de daño. Sin embargo, para confirmar la resistencia o tolerancia a la enfermedad observada en campo, es necesaria la evaluación con inoculación artificial para descartar el escape a la enfermedad.

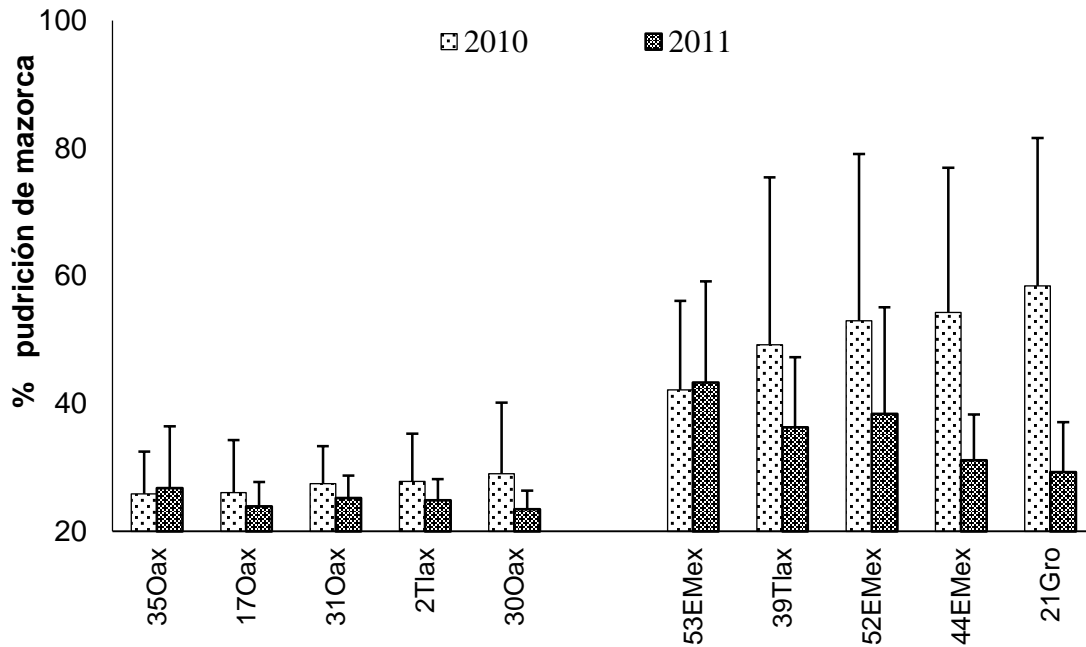


Figura II.1. Promedios de pudrición de mazorca de poblaciones nativas de maíz representativas de resistencia (A) y susceptibilidad (B) en Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.

Las poblaciones procedentes de los estados de México y Puebla mostraron en promedio mayor porcentaje de daño, mientras que las de Oaxaca presentaron menor daño en todos los ambientes (Figura II.2, Cuadro II.3). El peso de mazorca por parcela (rendimiento) fue disminuído tanto por la severidad de la enfermedad, como por los daños por helada, fenómeno que fue más notorio en Oaxaca-2010. No obstante, en ambos ciclos de cultivo las poblaciones agrupadas por procedencia mostraron rendimientos diferenciales.

Cuadro II.3. Porcentaje promedio de pudrición de mazorca (%) y desviación estándar de poblaciones de maíz agrupadas por procedencia y color de grano. Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.

	Mont-10	Oax-10	Aya-10	Mont-11	Oax-11	Aya-11	2010	2011
Origen/Color (n)	$\bar{x} \pm S_x$	$\bar{x} \pm S_x$	$\bar{x} \pm S_x$	$\bar{x} \pm S_x$	$\bar{x} \pm S_x$	$\bar{x} \pm S_x$	$\bar{x} \pm S_x$	$\bar{x} \pm S_x$
Edo. de Méx. (11)	39.8±8.6	60.0±19.5	30.9±10.8	39.5±11.9	38.7±8.4	24.0±2.5	41.5±17.7	34.1±11.1
Guerrero (13)	37.4±6.5	55.5±17.5	38.5±16.3	37.3±10.5	29.7±5.0	23.1±2.6	43.2±16.5	30.0±9.0
Oaxaca (13)	27.4±4.4	37.2±10.1	25.8±5.3	32.9±10.0	26.0±3.8	21.3±1.5	29.6±8.4	26.7±7.8
Puebla (6)	51.5±19.3	58.3±21.5	26.1±6.9	37.7±6.8	42.2±12.4	22.4±2.5	42.2±21.0	32.9±11.7
Tlaxcala (11)	32.9±10.0	50.6±15.0	24.0±6.1	32.3±6.8	36.5±10.2	21.9±2.1	34.2±15.1	30.3±9.4
Testigo (1)	25.6±3.3	69.6±16.2	20.0±1.9	32.6±11	30.9±7.2	20.5±0.5	35.8±24.2	28.0±8.4
Promedio (56)	35.8	55.2	27.5	35.4	34.0	22.2	37.8	30.3
Amarillo (6)	38.1±20.2	46.0±11.3	24.3±8.9	30.8±8.0	31.7±11.4	22.0±2.2	34.8±16.4	27.9±9.0
Azul (12)	34.9±10.4	49.2±20.6	27.7±9.0	38.8±12.2	31.8±7.9	22.5±2.8	36.0±16.2	31.0±10.8
Blanco C (22)	37.1±11.6	49.9±18.1	27.9±8.1	33.9±9.2	34.7±10.2	22.2±2.2	36.0±15.4	30.2±9.9
Blanco A (6)	36.6±6.7	63.2±13.0	43.3±18.5	37.8±8.5	32.6±5.9	23.6±2.5	47.2±17.7	31.3±8.4
Crema (4)	39.8±10.0	68.9±18.9	29.3±14.5	39.5±4.4	42.9±9.4	23.6±2.5	42.4±21.4	35.3±10.4
Rojo (6)	29.9±6.0	54.8±15.2	29.3±11.1	33.9±11.1	26.7±2.8	22.4±2.2	34.3±13.4	27.7±8.2

n= número de poblaciones de maíz en cada agrupación; número de observaciones en cada localidad en 2010 = n x 2; 2011= n x 3; total de observaciones 2010 = n x 6; 2011= n x 9.

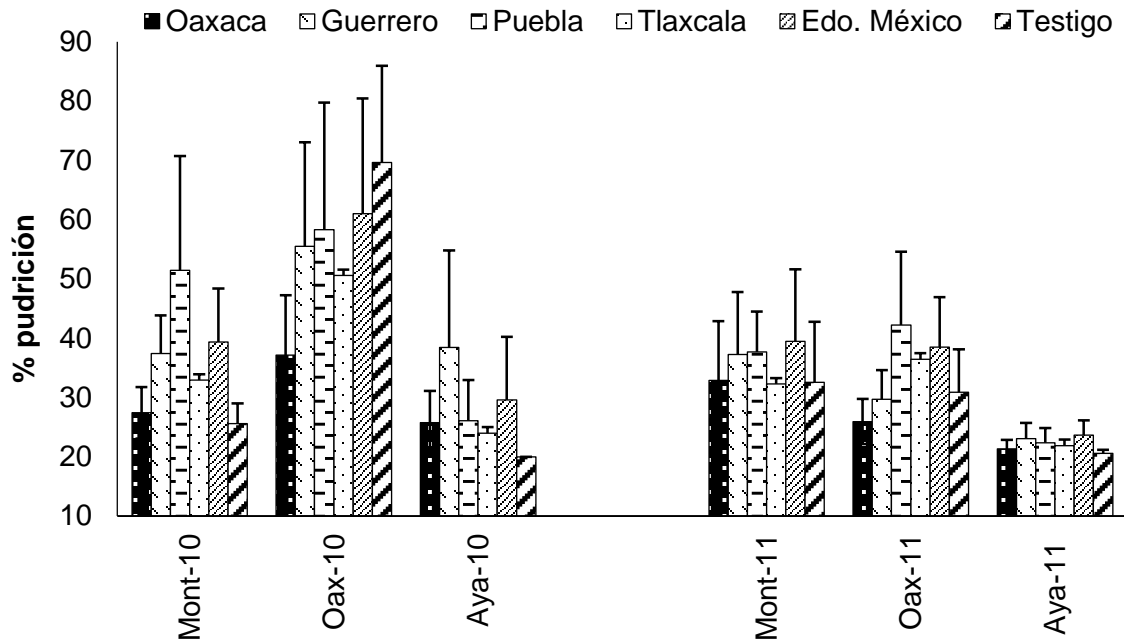


Figura II.2. Pudrición de mazorca de poblaciones de maíz agrupadas por procedencia geográfica (Oaxaca, Guerrero, Puebla, Tlaxcala, Edo de México y Testigo) en Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.

En la localidad de Montecillo destacaron con mayor rendimiento las procedentes de Oaxaca y el testigo, mientras que en Oaxaca las de mayor rendimiento fueron las poblaciones locales y las de Guerrero, y en Ayapango fueron las procedentes de Oaxaca, Estado de México y Tlaxcala (Figura II.3, Cuadro II.4).

La relación entre rendimiento y severidad de la enfermedad es inversa ($r = -0.35493$; $p = <0.0001$ $n=373$ en 2010 y $r = -0.3339$; $p = <0.0001$ $n=501$ en 2011). Las poblaciones 52 y 16 muestran como la severidad de la enfermedad afectó al rendimiento, contrario a la 10 y 26 con menor daño y mayor peso de mazorca por

parcela; mientras que las poblaciones 50, 2 y 1 pueden ser muestra de tolerancia al obtener rendimientos aceptables a pesar del daño (Figura II.4).

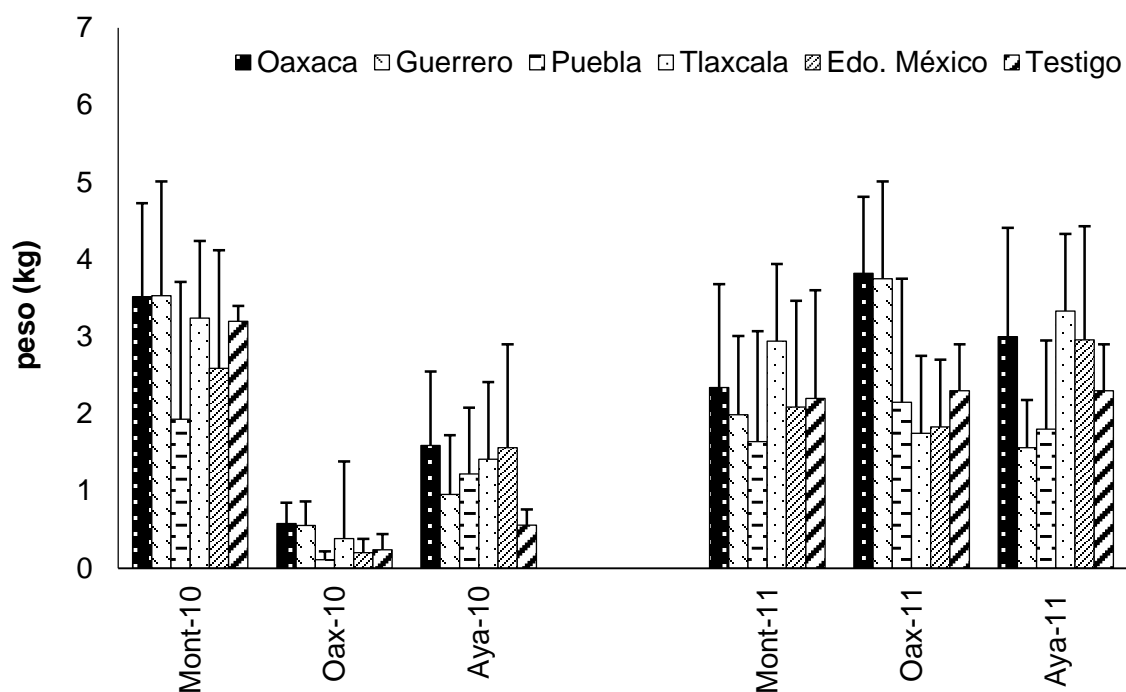


Figura II.3. Rendimiento de mazorca por parcela de poblaciones de maíz, agrupadas por procedencia geográfica (Oaxaca, Guerrero, Puebla, Tlaxcala, Edo de México y Testigo) en Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.

Cuadro II.4. Rendimiento de mazorca por parcela (kg) y desviación estándar de poblaciones de maíz agrupadas por procedencia geográfica y color de grano. Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.

	Mont-10	Oax-10	Aya-10	Mont-11	Oax-11	Aya-11	2010	2011
Origen/Color (n)	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$
Edo. de Méx (12)	2.6±1.5	0.2±0.2	1.6±1.3	2.0±1.3	1.8±0.9	3.0±1.4	1.5±1.5	2.3±1.3
Guerrero (13)	3.5±1.5	0.6±0.3	1.0±0.8	2.0±1.0	3.8±1.3	1.6±0.6	1.6±1.6	2.4±1.4
Oaxaca (13)	3.5±1.2	0.6±0.3	1.6±1.0	2.3±1.3	3.8±1.0	3.0±1.4	1.9±1.5	3.1±1.4
Puebla (6)	1.9±1.8	0.1±0.1	1.2±0.9	1.6±1.4	2.2±1.6	1.8±1.2	1.2±1.4	1.9±1.4
Tlaxcala (12)	3.2±1.4	0.4±0.3	1.4±1.1	2.9±1.0	1.8±1.6	3.3±1.8	1.6±1.5	2.7±1.6
Testigo (1)	3.2±0.2	0.2±0.2	0.6±0.2	2.20±1.3	2.3±0.5	3.1±0.5	1.2±1.3	2.5±0.9
Promedio (56)	3.0	0.3	1.2	2.2	2.6	2.5	1.5	2.5
Amarillo (6)	2.3±1.2	0.5±0.4	1.0±0.7	1.9±1.3	2.2±1.3	2.1±1.1	1.3±1.1	2.1±1.2
Azul (12)	3.1±1.3	0.4±0.3	1.1±0.9	2.2±1.2	2.6±1.5	2.7±1.5	1.5±1.4	2.6±1.4
Blanco C (22)	2.9±1.7	0.4±0.3	1.6±1.2	2.3±1.4	2.6±1.7	2.8±1.6	1.7±1.6	2.6±1.5
Blanco A (6)	4.3±1.6	0.5±0.3	1.0±0.8	2.2±0.9	3.7±1.3	2.1±0.7	1.8±1.9	2.7±1.2
Crema (4)	2.3±0.6	0.1±0.1	1.5±1.1	2.2±0.7	1.4±0.7	2.6±1.6	1.4±1.1	2.1±1.1
Rojo (6)	3.6±1.3	0.6±0.3	1.4±0.9	2.5±1.7	3.6±1.2	2.7±2.0	1.8±1.5	2.9±1.7

n= número de poblaciones de maíz en cada agrupación; número de observaciones en cada localidad en 2010 = n x 2; 2011= n x 3; total de observaciones 2010 = n x 6; 2011= n x 9.

Interacción procedencia geográfica por localidad

Los valores de la interacción procedencia por localidad (Cuadros II.5 y II.6), fueron diferentes tanto en magnitud como en sentido, lo cual evidencia claramente la respuesta diferencial de los genotipos al ambiente. Así mismo, se relaciona con la naturaleza poligénica de la resistencia a la pudrición de mazorca por *Fusarium* spp. en maíz (Ali *et al.*, 2005). La respuesta diferencial percibida en los agrupamientos por procedencia geográfica, puede relacionarse con la capacidad de adaptación propia de los maíces nativos, ya sea a un determinado ambiente o a varios, como lo

mostraron las poblaciones provenientes de Oaxaca, que prosperaron bien en los tres ambientes de evaluación.

Ehrlich y Raven (1964) mencionan que entre poblaciones de organismos estrechamente relacionados cada una ejerce una fuerza selectiva sobre la otra, originando respuestas adaptativas recíprocas como consecuencia de la interacción ecológica conocida como coevolución, la cual podría impulsar la diversificación de la vida de forma sistemática. Lo anterior hace suponer que las poblaciones de maíz nativo y las especies de *Fusarium* de una región-ambiente determinado coevolucionan, y han logrado coadaptarse, pues en este estudio se observó como las poblaciones de origen cercano al lugar de evaluación, se enfermaron menos y su rendimiento fue mejor.

Por otro lado, al introducir poblaciones de otras condiciones ecológicas, éstas pueden presentar mayor daño-susceptibilidad a las poblaciones de patógenos locales, un ejemplo de esta situación se observó con las poblaciones procedentes de la región Chalco-Amecameca en ambos ciclos de evaluación y en las dos localidades distantes a su origen; al respecto, Ortega (2003) ya había observado este fenómeno con poblaciones de esa misma región llevadas a Montecillo, aun cuando ambas regiones son similares en ubicación y clima; otro ejemplo pasado fue la susceptibilidad al carbón de la espiga (*Sporisorium reilianum*) del híbrido H-353 liberado para el Bajío con 50% de germoplasma tropical.

Cuadro II.5. Efectos de interacción de procedencia geográfica x localidad, para pudrición de mazorca (%), Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.

Origen (n)	Promedio	Interacción			Promedio	Interacción		
	2010	Mont-10	Oax-10	Aya-10	2011	Mont-11	Oax-11	Aya-11
Puebla (6)	45.3	9.903	-2.730	-7.280	34.1	-1.283	4.600	-3.400
Edo. de Méx. (12)	43.6	0.173	0.940	-0.510	34.1	0.717	1.300	-1.600
Guerrero (13)	43.8	-2.697	-4.030	6.620	30.0	2.387	-3.830	1.370
Tlaxcala (11)	35.8	0.773	-0.960	0.090	30.2	-2.813	2.770	-0.030
Testigo (1)	38.4	-9.097	15.470	-6.480	28.0	-0.283	-0.600	0.800
Oaxaca (13)	30.1	0.973	-8.660	7.590	26.7	1.287	-4.230	2.870
Promedio (56)	39.5				30.5			

Mont: Montecillo Texcoco, Edo. de Méx.; Aya: Ayapango, Edo. de Mex.; Oax: Huamelulpan, Oax.

Cuadro II.6. Efectos de interacción de procedencia geográfica x localidad, para rendimiento de mazorca por parcela (kg). Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.

Origen (n)	Promedio	Interacción			Promedio	Interacción		
	2010	Mont-10	Oax-10	Aya-10	2011	Mont-11	Oax-11	Aya-11
Edo. de Méx. (12)	1.5	-0.272	-0.039	0.478	2.3	0.105	-0.592	0.533
Guerrero (13)	1.7	0.328	0.061	-0.422	2.5	-0.181	1.178	-1.027
Oaxaca (13)	1.9	0.128	-0.139	-0.022	3.0	-0.381	0.678	-0.127
Puebla (6)	1.1	-0.639	0.194	0.411	1.9	0.019	0.178	-0.227
Tlaxcala (12)	1.7	0.061	-0.106	0.011	2.7	0.519	-1.022	0.473
Testigo (1)	1.3	0.395	0.028	-0.455	2.5	0.019	-0.322	0.473
Promedio (56)	1.5				2.5			

Mont: Montecillo Texcoco, Edo. de Méx.; Aya: Ayapango, Edo. de Mex.; Oax: Huamelulpan, Oax.

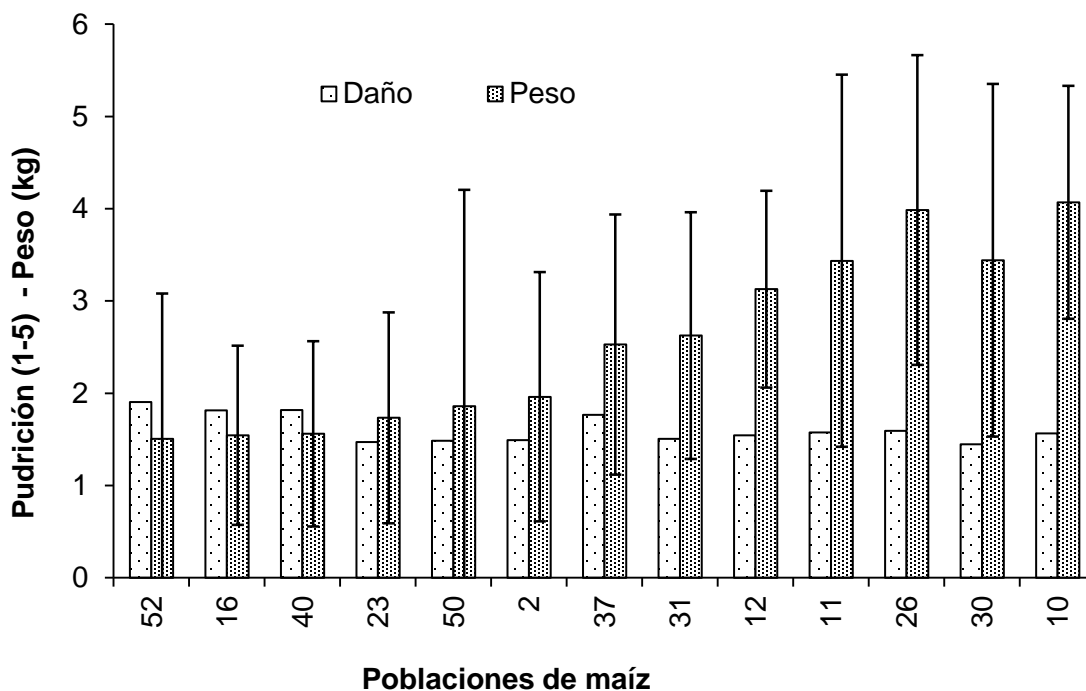


Figura II.4. Genotipos representativos del daño promedio por pudrición en el rendimiento de mazorca. Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2011.

Influencia de color de grano

Los materiales de endospermo amarillo o pericarpio rojo presentaron menor pudrición de mazorca de manera consistente en todas las localidades (Figura II.5). Esta respuesta probablemente está relacionada con la textura del grano, ya que como lo señalan Antonio *et al.* (2004) la susceptibilidad a las pudriciones de mazorca en las variedades de maíz de pericarpio azul está asociada a la textura harinosa del grano.

La respuesta de las poblaciones de maíz agrupadas por su origen geográfico, al inoculo de *Fusarium* spp. presente en las localidades de evaluación fue diferencial, ya que los maíces locales tienden a presentar menor pudrición de

mazorca y mayor rendimiento (Figuras II.5 y II.6). La tendencia observada en los efectos de interacción respalda la propuesta de resolver los problemas del cultivo con un enfoque endógeno con investigación y mejoramiento participativo a partir del patrimonio genético local del maíz. La base de partida del proceso de mejoramiento en términos de sanidad de la mazorca representa una ventaja inicial, acompañada de otras respuestas de coadaptación y productividad. Además, de esta manera se promovería la continuidad de la evolución bajo domesticación, sujeta a los factores selectivos del medio específico que difiere entre microrregiones ecológicas.

Los análisis de varianza para rendimiento de mazorca por parcela y días a floración masculina y femenina, mostraron diferencias significativas entre localidades y entre poblaciones, como resultado de la diversidad fenotípica y genética en estas características en las variantes del maíz nativo. Esto se manifiesta por la significancia entre procedencias geográficas de las poblaciones de maíz, así como la significancia entre poblaciones de maíz dentro de procedencias geográficas (Cuadro II.2).

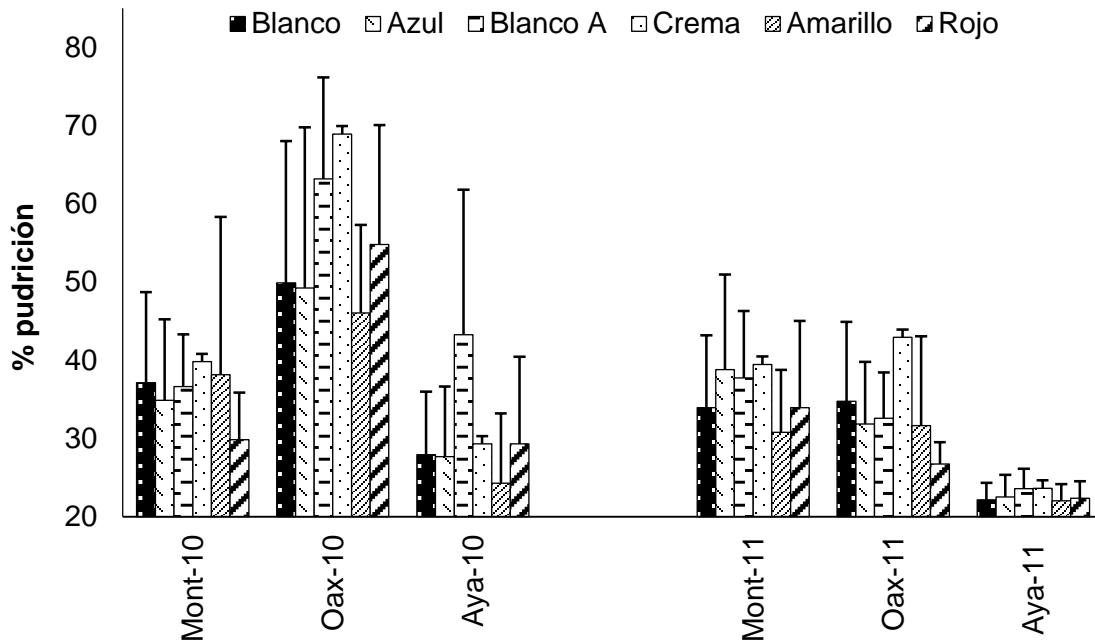


Figura II.5. Pudrición de mazorca (%) por *Fusarium* spp. de 56 poblaciones de maíz, agrupadas por su color de grano, en Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.

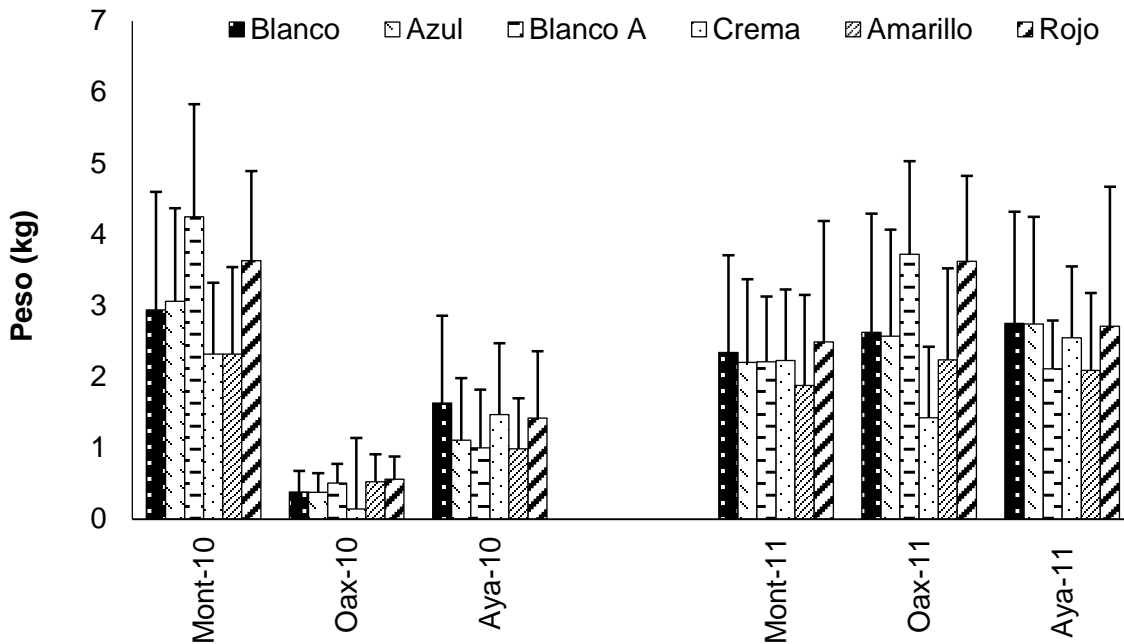


Figura II.6. Rendimiento promedio de poblaciones de maíz (kg), agrupadas por color de grano, evaluadas en Montecillo y Ayapango, Edo. de Méx. y Huamelulpan, Oax. 2010 y 2011.

Respecto al acame, González *et al.* (2007) encontraron que el incremento en la pudrición de mazorca está asociado con el incremento en el acame, y que ambas características afectan al rendimiento. Aunque en este estudio el acame no fue importante, en el mejoramiento de poblaciones de maíz nativos no se debe olvidar la resistencia al acame y de esta manera contribuir indirectamente a resolver el problema de pudrición de mazorca.

Dado que las poblaciones no han sido sometidas a procesos controlados de mejoramiento, los resultados muestran el alto potencial de las poblaciones nativas para su utilización como fuentes de resistencia a *Fusarium* spp. y de rendimiento, en programas de mejoramiento genético convencionales y moleculares.

Es necesario estudiar con mayor detalle y profundidad los patosistemas para entender la relación planta-patógeno en términos de diversidad genética y mecanismos de coevolución y coadaptación entre especies, y poder dar alternativas de manejo al problema de las enfermedades en cultivos de interés económico.

CONCLUSIONES

Las poblaciones de maíz nativo, expresaron respuestas diferenciales a la pudrición de mazorca por *Fusarium* spp., tanto de manera individual como agrupadas por origen geográfico y por color.

Los maíces con endospermo/pericarpio amarillo y rojo, y los procedentes del estado de Oaxaca mostraron los más bajos porcentajes de infección/daño por *Fusarium* spp.

Los efectos de interacción procedencia geográfica del maíz por localidad de evaluación, mostraron que los maíces locales tienden a presentar menor daño por *Fusarium* spp. así como mayor rendimiento en cada ambiente de evaluación.

La diversidad de respuestas de interacción sustentan la naturaleza poligénica de la resistencia a la pudrición de mazorca por *Fusarium* spp en poblaciones de maíz nativo y manifiesta que existe potencial de resistencia y/o tolerancia a la pudrición de mazorca.

BIBLIOGRAFÍA

- Ali, M. L., J. H. Taylor, L. Jie, G. Sun, M. William, K. J. Kash, 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.
- Antonio, M. M., J. L. Arellano V., G. García de los S., S. Miranda C., J. A. Mejía C., y F. V. González C. 2004. Variedades criollas de maíz azul raza Chalqueño. Características agronómicas y calidad de semilla. *Rev. Fitot. Mex.* 27(1): 9-15.
- Carrillo, L. 2003. Los hongos de los alimentos y forrajes. Univ. Nal. de Salta. Rep. Argentina. 128 p.
- Castillo, F., E. Herrera, J. Romero, R. Ortega, M., Goodman, y M. Smith. 2000. Diversidad genética del maíz y su aprovechamiento *in situ* a nivel regional. *In: CIAT (Ed.). Fitomejoramiento Participativo en América Latina y el Caribe. Mem. Simp. Internacional. Quito, Ecuador. Agosto 31-Septiembre 3, 1999. CIAT – Programa PRGA del CGIAR. Cali, Colombia. 7 p.*
- De León, C., S. Pandey. 1989. Improvement of resistance to ear and stalk rots and agronomic traits in tropical maize gene pools. *Crop Sci.* 29: 12-17.
- Desjardins, A. E., C. M. Maragos, and R. H. Proctor. 2006. Maize ear rot and moniliformin contamination by cryptic species of *Fusarium subglutinans*. *J. Agric. Food Chem.* 54 (19):7383-90.
- Desjardins, A. E., R. D. Plattner, and P. E. Nelson. 1994. Fumonisin production and other traits of *Fusarium moniliforme* strains from maize in northeast Mexico. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 1695-1697.
- Ehrlich, P. R., and P. H. Raven. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution.* 18: 586-608.
- Farhang, A., M. Mansooreh, E. Masoud, F. M. Seyedeh, and R. Karami-O, 2007. Natural occurrence of *Fusarium* species in maize kernels at Gholestan province in northern Iran. *Asian J. of Plant Sci.* 6(8): 1276-1281.
- Gallardo-Reyes, E. D., G. M. Ibarra-Moreno, R. I. Sánchez-Mariñez, G. Cuamea-Cruz, D. Molina-Gil, N. V. Parra-Vergara, E. C. Rosas-Burgos y M. O. Cortez-Rocha. 2006. Micobiota de maíz (*Zea mays* L.) recién cosechado y producción de fumonisina B1 por cepas de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb. *Rev. Mex. Fitopat.* 24: 27-34.
- Gimeno, A., and M. L. Martins. 2011. Micotoxinas y Micotoxicosis en Animales y Humanos. 3ª ed. Special nutrients Inc. Miami, FL. 128 p.

- González-Huerta, A., L. M. Vázquez-García, J. Sahagún-Castellanos, J. E. Rodríguez-Pérez y D. de J. Pérez López. 2007. Rendimiento del maíz de temporal y su relación con la pudrición de mazorca. *Agric. Téc. en Méx.* 33(1): 33-42.
- Hernández X, E. 1985. *Biología agrícola. Los conocimientos biológicos y su aplicación a la agricultura.* CECOSA. México DF. pp. 31-36.
- Iglesias, J., D. Presello, G. Botta, G. Lori, and C. Fauguel. 2010. Aggressiveness of *Fusarium* Section *Liseola* isolates causing maize ear rot in Argentina. *J. Plant Pathol.* 92(1): 205-211.
- Nankam, C., and J. K. Pataky. 1996. Resistance to kernel infection by *Fusarium moniliforme* in the sweet corn inbred IL125b. *Plant Dis.* 80: 593-598.
- Ortega P., R. 2003. La diversidad del maíz en México. *In: G. Esteva y C. Marielle (Coord.) Sin Maíz no Hay País. Culturas Populares, CONACULTA, Museo Nal. de Culturas Populares.* México, D. F. pp: 123-154.
- Presello, D., J. Iglesias, G. Botta, and G. H. Eyherabide. 2007. Severity of *Fusarium* ear rot and concentration of fumonisins in Argentinian maize hybrids. *Crop Protec.* 26: 852-855.
- Robledo, M. L., S. Marín, y A. J. Ramos. 2001. Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México). *Rev. Iberoam. de Micol.* 18: 141-144.
- SAS (System Analysis Statistical) Institute. Inc. 2002. Version 9.0 SAS Institute Inc., Cary. NC. USA.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2012. Estadísticas de siembras y cosechas. (en línea). Consultado 30 julio de 2013. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx>
- Smith, M., F. Castillo and F. Gómez. 2001. Participatory plant breeding with maize in Mexico and Honduras. *Euphytica* 122:551-565.
- SMN (Servicio Meteorológico Nacional). 2000. Normales climatológicas. (en línea). Consultado 30 junio de 2013. Disponible en: <http://smn.cna.gob.mx>
- Steel, R. G. and J. H. Torrie. 1980. *Principle and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach.* McGraw Hill Kogakusha, Ltd. Tokyo, Japan. 633p.
- Thomas, M. D., and I. W. Buddenhagen. 1980. Incidence and persistence of *Fusarium moniliforme* in symptomless maize kernels and seedlings in Nigeria. *Mycologia.* 72: 882-887.
- Trung, T. S., C. Tabuc, S. Bailly, A. Querin, P. Guerre, and J. D. Bailly. 2008. Fungal mycoflora and contamination of maize from Vietnam with aflatoxin B1 and fumonisin B1. *World Mycotoxin J.* 1(1): 87-94.

CAPÍTULO III

RESISTENCIA/VIRULENCIA A NIVEL DE PLÁNTULA EN EL PATOSISTEMA MAÍZ - *Fusarium* spp. EN EL ALTIPLANO MEXICANO

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar las diferencias en virulencia de cepas de *Fusarium* spp. de diferente procedencia geográfica aplicadas al sustrato en la germinación de semillas de poblaciones de maíz también de origen geográfico diverso y valorar su respuesta de susceptibilidad y/o tolerancia. Se utilizaron 57 poblaciones (muestras de mazorcas) de maíz nativo, colectadas en diferentes localidades con altitud arriba de 2000 m principalmente, en los estados de Oaxaca, Puebla, Tlaxcala, Guerrero y Edo. de México, valoradas en arreglo factorial contra cinco fuentes de inóculo de *Fusarium* spp. formados por la mezcla de siete aislamientos procedentes de localidades distintas dentro de cada estado en los que se realizó la colecta de maíz. Se observó variación en virulencia de los aislamientos procedentes de cada región geográfica. El inóculo formado con aislamientos procedentes del estado de México resultó ser el más virulento, mientras que el procedente del estado de Guerrero provocó menor daño en las plántulas de maíz. La longitud de raíz y de la parte aérea de la plántula mostraron una reducción por efecto del patógeno con respecto a las plántulas que emergieron en el sustrato sin inóculo. Las poblaciones de maíz respondieron de manera diferencial ante el patógeno de acuerdo a su procedencia geográfica, al expresar valores de daño distintos a través de los diferentes inóculos a los que fueron sometidos. No se observó una relación directa entre la virulencia del inóculo y la resistencia/tolerancia de las poblaciones a la enfermedad dentro de un mismo origen; en algunos casos como el de Tlaxcala, pareciera ser que los patógenos del mismo origen le causan mayor daño.

Palabras clave: maíz, *Fusarium* spp., virulencia, resistencia, patosistema.

RESISTANCE / VIRULENCE AT SEEDLING STAGE IN THE MAIZE - *Fusarium* spp. PATHOSYSTEM IN THE MEXICAN HIGHLANDS

SUMMARY

The objective of this study was to determine the differences of virulence between sources *Fusarium* spp inoculum from different geographical origin applied to the substrate for the germination of maize populations seeds also diverse geographical origin, in order to assess their susceptible/tolerance response. 57 populations (samples ears) of native maize collected in different locations above 2000 m altitude mainly, the states of Oaxaca, Puebla, Tlaxcala, Guerrero and Edo. of Mexico were used, evaluated under a factorial arrangement against five sources of *Fusarium* spp., integrated by mixed seven isolates from different locations within each state in which the maize collection was performed. Variation in virulence between geographical sources of *Fusarium* was observed. The inoculum integrated by isolates from the state of Mexico resulted the most virulent, while the one from Guerrero caused minor damages in the maize seedlings. The length of roots and aerial part of the seedling showed clear reduction due to the effect of the pathogen, with respect to the seedlings emerged in the uninoculated substrate. The maize populations responded differentially to the pathogen according to their geographical origin, expressing different degree of damage through geographical sources of *Fusarium*. No direct relationship between the virulence of the inoculum and resistance/tolerance to disease populations within the same origin was found; in some cases such as Tlaxcala, apparently pathogens of the same origin cause more damage.

Keywords: maize, *Fusarium* spp., virulence, resistance, pathosystem.

INTRODUCCIÓN

En México el maíz (*Zea mays* L) es uno de los cultivos económica y socialmente más importantes, tanto por el área que se cultiva, como por el alto consumo de grano para la alimentación humana. Más del 80% de los ocho millones de hectáreas destinadas a este cultivo se siembran con variedades nativas de maíz (Luna *et al.*, 2012), localmente adaptadas a distintas regiones. Sin embargo, la incidencia de enfermedades causadas por distintos patógenos, entre ellos los hongos, es uno de los problemas persistentes en el cultivo.

Los hongos fitopatógenos constituyen un grupo grande y heterogéneo de organismos de importancia agrícola, que presentan amplia diversidad en sus estrategias de sobrevivencia y formas de interacción con sus hospedantes al establecer infecciones permanentes y sistemáticas (Burdon, 1993). Estos hongos fitopatógenos han evolucionado junto con sus plantas hospederas por millones de años y han causado grandes pérdidas en la producción agrícola, lo que ha llevado a una intensa investigación para obtener plantas resistentes a la infección (Oliver and Schweizer, 1999).

El hongo *Fusarium* spp. produce pudrición de raíz y tallo, en plántula y planta adulta de maíz; puede causar la muerte prematura de las plantas, y pudrición de la mazorca (CIMMYT, 2004; Reyes, 1990), además contamina el grano con micotoxinas perjudiciales a la salud humana y animal (Bottalico, 1998; Peraica *et al.*,

1999), presenta distribución cosmopolita y es endémico en regiones maiceras; es capaz de colonizar todas las partes de la planta (Desjardins *et al.*, 1994).

En el maíz, *Gibberella* el estado teleomorfo de *Fusarium*, es uno de los hongos que causan tizón de las plántulas; las semillas y plántulas son invadidas por el hongo que se encuentra adherido al pericarpio, o que se encuentra dentro de la semilla, o bien son invadidas por el hongo en el suelo. En cualquiera de estos casos puede afectar la germinación de la semilla y provocar la muerte antes que la plántula emerja o después de la emergencia, por lo que las plántulas pueden morir o quedar enanas y cloróticas muriendo posteriormente. *Gibberella zeae* (*F. graminearum* anamorfo) y *G. fujikuroi* (*F. verticillioides* anamorfo) son los principales responsables de los síntomas observados en maíz (Agrios, 2005; Reyes, 1990).

Las enfermedades causadas por estos hongos se ven favorecidas por el clima seco, que estresa a las plantas jóvenes en la fase temprana del cultivo y también se ven favorecidas por el clima húmedo antes o después de la floración femenina, condición que puede acentuarse por la alta densidad de plantas, alta concentración de nitrógeno y baja de potasio en la planta (Agrios, 2005).

Además de las condiciones ambientales favorables a la incidencia de las enfermedades, su expresión está determinada por la patogenicidad y virulencia de las cepas; ya que hay variación genética entre cepas del hongo en su capacidad para penetrar y colonizar los tejidos de plantas; y también en la susceptibilidad de

las variantes de maíz. Los factores genético y ambiental se integran con el manejo agronómico y las condiciones ambientales a las que se exponen las plantas durante su desarrollo (Oliver y Schweizer, 1999).

En las condiciones de México, centro de origen y diversificación de especies, las poblaciones de maíz se distribuyen en el mosaico ecológico, en los que prevalecen variantes de maíz adaptadas a nichos ecológicos específicos, en donde coevolucionan con las poblaciones de otros organismos, entre ellos los hongos patógenos. Conocer las características de ambos organismos (planta- patógeno) resulta importante en el desarrollo de estrategias de control de enfermedades, por lo que, los objetivos fueron determinar las diferencias en virulencia de cepas de *Fusarium* spp. y determinar la resistencia/tolerancia de las poblaciones de maíz nativo de diferente procedencia geográfica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se utilizaron 57 poblaciones (muestras de mazorcas) de maíz nativo, colectadas en distintas localidades de los estados de Oaxaca, Puebla, Tlaxcala, Guerrero y Edo. de México (Cuadro III.1), en 33 de las cuales se colectó una muestra adicional de mazorcas con síntomas de pudrición característica de *Fusarium* spp. (estrías en el pericarpio, micelio algodonoso color salmón-rosado-rojizo) (Figura III.1) de las que se obtuvieron aislamientos monoconidiales de varias

mazorcas en cada una de las muestras. Para agrupar los aislamientos por procedencia geográfica (estado donde se colectaron), se eligieron al azar siete aislamientos de distintas localidades en cada estado en los que se realizó la colecta de maíz.

Cuadro III.1. Procedencia de las poblaciones de maíz y aislamientos de *Fusarium* spp.

Población	Localidad, Municipio, Estado	Endospermo	Altitud	Latitud	Longitud
1, 6, 7, 20	El Nuevo Paraíso, Cualác, Gro.	Am, A, R	2222	17° 41' 30"	99° 44' 50"
2, 3, 4, 11, 12, 14	Ixtacuixtla, Tlax.	Am, BC, C, A	2220	19° 18' 28"	98° 21' 30"
5	Los Reyes Q, Tlax.	BC	2300	19° 20' 6"	98° 14' 57"
8	Tepetlixpa, Edo. Méx.	B A	2270	19° 00' 50"	98° 50' 36"
9	Sta. M. Tataltepec, Oax.	Azul	1600	17° 08' 27"	93° 23' 33"
10	Sta. Cruz Tayata, Oax.	BC	2144	17° 21' 17"	93° 34' 12"
15, 16, 36, 38	Libres, Pue.	BC, Am, A	2400	19° 27' 52"	97° 41' 06"
17, 26, 32, 33, 34	Huamelulpan, Oax.	Am, R, BC	2200	17° 32' 47"	97° 36' 27"
18	Almolonga, Gro.	B A	1720	17° 64' 02"	99° 29' 36"
19, 24	Las Trancas, Zitlala, Gro.	A, BA	1564	17° 42' 15"	99° 13' 26"
21, 22	Ojitos de Agua, Tixtla, Gro.	BA	1593	17° 35' 56"	99° 20' 35"
23	El Refugio, Chilapa, Gro.	B C	1680	17° 55' 97"	99° 21' 05"
25	El Ahuejote, Tixtla, Gro.	B C	1872	17° 57' 83"	92° 27' 69"
27, 35	Cuesta Blanca, Oax.	BC, A	2143	17° 14' 32"	97° 34' 21"
28, 29, 31	El Chamizal, Ticuá, Oax.	BC, A	2285	17° 0.4' 17"	97° 32' 59"
30	Fortín de Juárez, Ticuá, Oax.	Rojo	2287	17° 0.3' 13"	97° 31' 39"
37	Nanacamilpa, Tlax.	BC	2720	19° 29' 31"	98° 32' 09"
39, 40	Vicente Guerrero, Españita, Tlax.	A, BC,	2520	19° 42' 25"	98° 48' 97"
41, 42, 43, 47	Tlapala, Chalco, Edo. Méx.	C, BC, A	2264	19° 14' 21"	98° 50' 52"
44, 46, 52, 53	Ayapango, Edo. Méx.	C, BC	2452	19° 08' 11"	98° 47' 55"
45, 51	Montecillo, Texcoco, Edo. Méx.	BC, BA	2250	19° 28' 06"	98° 54' 54"
48	ITSO EH, Hgo.	Azul	2003	20° 13' 51"	99° 12' 46"
49, 50	Zoateopan, Xochitlán, Pue.	Am, BC	1610	19° 56' 06"	97° 37' 10"
54	Plan de Gro, Tixtla, Gro.	Rojo	1498	17° 35' 27"	99° 21' 20"
55	Chilacachapa, Tixtla, Gro.	Azul	1990	17° 55' 83"	99° 27' 69"
56	Híbrido "San Miguel"	Azul	2250	19° 28' 06"	98° 54' 54"

De acuerdo al color del endospermo: BC: blanco cristalino; A: azul; Am: amarillo; C: crema; BA: blanco harinoso Ancho y R: rojos.



Figura III.1. Mazorcas de maíz con síntomas de pudrición característicos de *Fusarium* spp.

Preparación del sustrato

Los aislamientos monoconidiales de *Fusarium* spp. se incrementaron por separado en cajas Petri con medio PDA (papa- dextrosa-agar). Para usarlos como fuente de inóculo se hizo un incremento masivo sobre granos de avena entera, previamente remojada por cuatro horas y esterilizada con vapor de agua por dos horas a 20 lbs de presión, en bolsas de polipapel con un volumen de dos litros de sustrato. De manera separada se colocaron trocitos de PDA colonizados con cada una de las mezclas de aislamientos de distinta procedencia geográfica, se incubó a temperatura ambiente y luz normal por tres semanas hasta que el sustrato de avena en grano estuvo completamente colonizado.

Evaluación preliminar

Se realizó una prueba preliminar con tres poblaciones de maíz y una mezcla de aislamientos procedentes del Edo. de México. Con base en el protocolo descrito por De León (2012, comunicación personal), que consistió en colocar en charolas de

unicel de 15x15x5 cm el sustrato de avena entera colonizada con el hongo, en la proporción 100, 80, 60, 40, 20 y 0 % de avena con el inóculo y el resto de tierra negra estéril, en las que se sembraron 15 semillas de maíz, las que germinaron en condiciones de invernadero (Figura III.2).

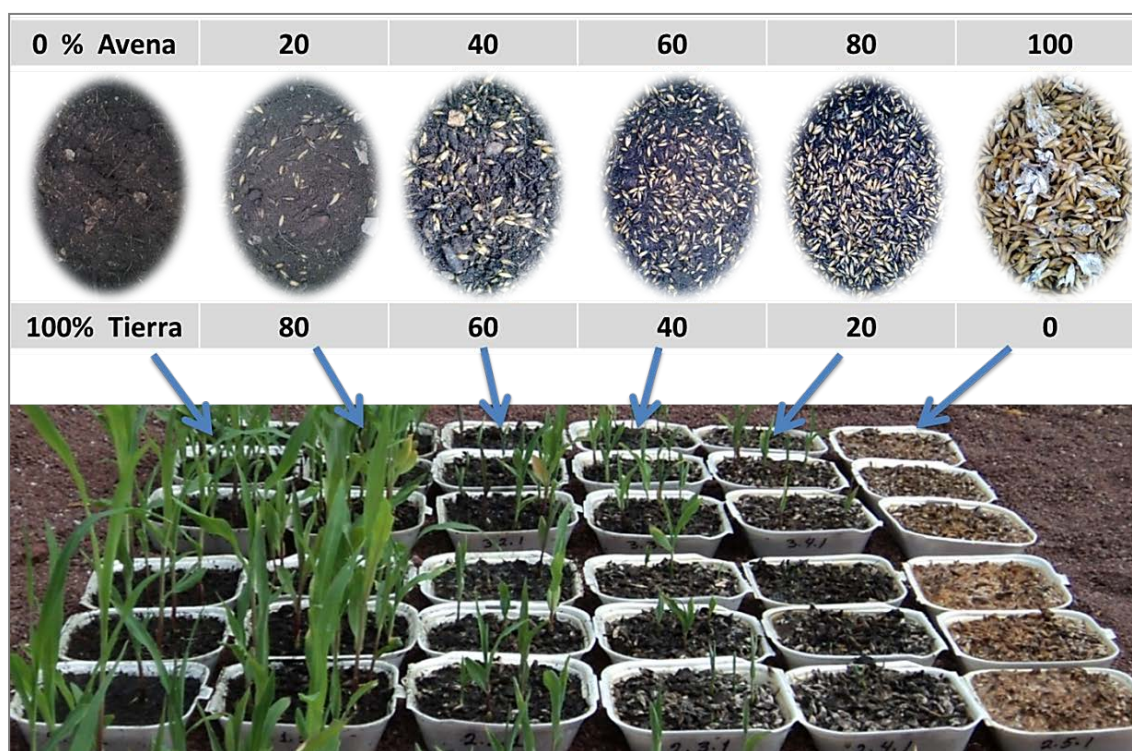


Figura III.2. Concentraciones de avena inoculada: sustrato estéril, y respuesta de las plántulas en la evaluación preliminar.

La prueba preliminar mostró una relación directamente proporcional entre la concentración del inóculo y la severidad de la enfermedad en las plantas jóvenes. Con la información anterior, se determinó que la concentración de sustrato adecuada para la evaluación de las 57 poblaciones y grupos de aislamientos fuera 40% avena con el hongo (inóculo) y 60% tierra estéril, ya que el daño observado en esa proporción de inóculo permite diferenciar la respuesta de los fenotipos de maíz susceptibles y/o resistentes.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, y un arreglo de tratamientos factorial, donde el primer factor fue origen del inóculo de *Fusarium* spp. y el segundo factor las poblaciones de maíz, ambos agrupadas por procedencia geográfica. La prueba se realizó en condiciones de invernadero durante el ciclo otoño-invierno 2012. El sustrato estuvo compuesto de una mezcla de 60% tierra negra estéril y 40 % avena entera con el patógeno en una concentración aproximada de $\pm 1.6 \times 10^6$ conidios/g⁻¹ de avena entera inoculada, en donde se sembraron 10 semillas de maíz por unidad experimental.

Evaluación

La severidad del daño al área foliar (DaFus) de las plántulas de maíz (Figura III.3), fue evaluada 20 días después de la siembra (dds) de acuerdo con la escala visual 1 a 5 utilizada por Solano *et al.* (2011) donde: 1= plántula sana; 2= plántula de tamaño reducido; 3= plántula clorótica y/o atizonamiento; 4= plántula con enrollamiento foliar; 5= plántula muerta.

Después de remover el sustrato de la plántulas, se registró la longitud de raíz (LRaíz), peso de raíz (PRaíz), longitud de plántula (LPlan), peso de plántula (PPlan), pesos fresco total (PFres) y peso seco total de la plántula (PSeco), y se obtuvo el promedio por plántula. Los datos obtenidos se analizaron con el programa estadístico SAS® System for Windows 9.0; para ello se realizó un análisis de varianza considerando el arreglo factorial de las poblaciones de maíz e inóculo

individuales, y otro considerando grupos de poblaciones de maíz clasificadas por origen geográfico; además se obtuvieron los efectos de interacción de poblaciones de maíz x inóculo de *Fusarium* spp.

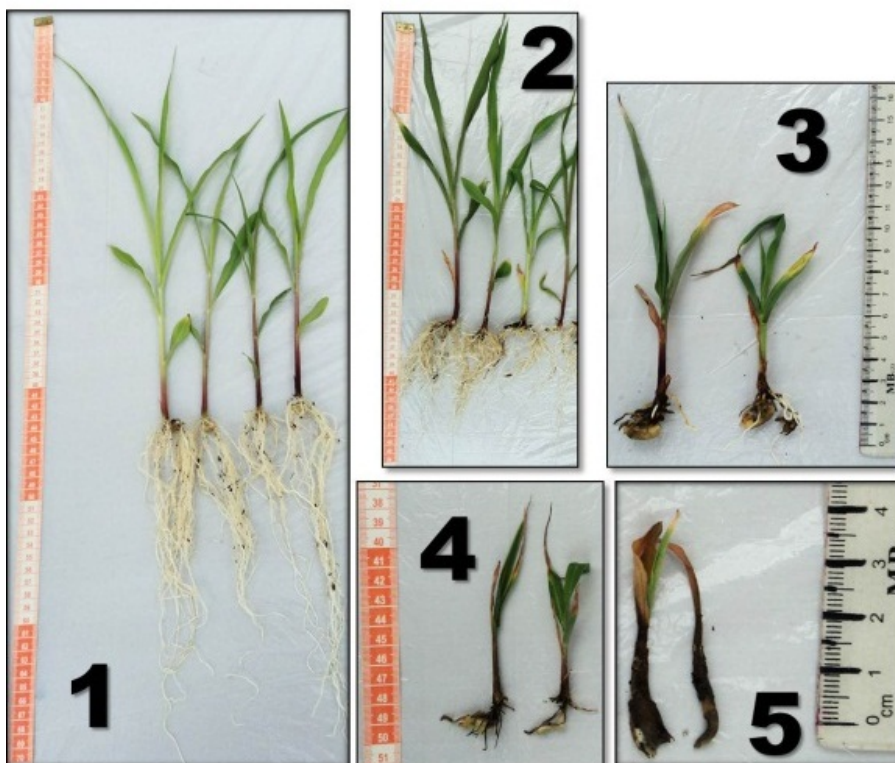


Figura III.3. Escala de valoración del daño provocado por *Fusarium* spp. en plántulas de maíz. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Valoración de 57 poblaciones de maíz y seis fuentes de inóculo de *Fusarium*

En el suelo inoculado artificialmente con aislamientos de *Fusarium* spp., las plántulas mostraron síntomas cuya intensidad varió desde retraso en el crecimiento, amarillamiento de las hojas y reducción en la longitud de las raíces, hasta semillas que no lograron germinar, lo cual muestra que la patogenicidad y virulencia de los

aislamientos del hongo; ya que en el suelo sin inóculo las plantas mostraron un crecimiento normal y sin daño de acuerdo con la escala de valoración visual utilizada.

El análisis de varianza factorial Maíz – *Fusarium* spp. mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre poblaciones de maíz y entre fuentes de inóculo de *Fusarium* spp. en todas las variables medidas. No hubo significancia para la interacción fuente de inóculo x maíz para las longitudes y peso fresco de las estructuras de la plántula, lo que sugiere un comportamiento sistemático para los pares fuente de inóculo-maíz. Se presentó una gama de respuestas diferenciales de las distintas poblaciones de maíz ante el inóculo al que fueron sometidos, ya sea de su misma región geográfica o de distinta procedencia (Cuadro III.2). En el caso del peso seco de la plántula completa, sí hubo interacción significativa ($p \leq 0.05$) para población de maíz x inóculo

Cuadro III.2. Cuadrados medios de los análisis de varianza de la evaluación en plántula, de 57 poblaciones nativas de maíz y seis fuentes de inóculo de *Fusarium* spp. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.

Fuente	GL	DaFus	PRaíz	PPlan	PFres	LRaíz	LPlan	PSeco
Bloque	3	21.90	5.46	9.51	12.71	6122.47	10357.58	0.87
Maíz(M)	56	0.24 **	1.61 **	3.46 **	8.70 **	174.33 **	251.17 **	0.21 **
Inóculo (F)	5	23.77 **	12.03 **	8.63 **	39.45 **	1142.36 **	671.18 **	0.21 **
M*F	280	0.14 NS	0.23 NS	0.23 NS	0.71 NS	48.67 NS	18.64 NS	0.03 *
Error	1024	0.17	0.30	0.27	0.91	62.40	24.08	0.03
CV (%)		24	38	30	30	33	22	41

DaFus: Daño *por Fusarium* en escala 1-5; PRaíz: Peso de raíz; PPlan: Peso de parte aérea plántula; PFres: Peso total en fresco; LRaíz: Longitud de raíz; LPlan: Longitud de parte aérea plántula; PSeco: Peso de materia Seca; C.V.: Coeficiente de variación; NS: No significativo 5 %; *, ** Significativo con $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$, respectivamente.

Virulencia de los aislamientos por origen geográfico

Todos los aislamientos de distinta procedencia geográfica, provocaron daños a las plántulas. La comparación de promedios (Tukey $p \leq 0.05$), mostró diferencias significativas para el daño valorado con la escala visual (1 a 5). Los promedios de daño causados por cada uno de los inóculos de distinta procedencia geográfica muestran la variación en virulencia.

El mayor daño fue provocado por los aislamientos de *Fusarium* spp. procedentes de localidades del sureste del Estado de México, tanto visual como en afectación del crecimiento de raíz y parte aérea, en comparación con el crecimiento en el suelo sin inóculo y con los inóculos procedentes de otras regiones geográficas. Por el contrario, el inóculo que causó menores daños y, por lo tanto el menos virulento fue el procedente de Guerrero (Cuadro III.3, Figuras III.4 y III.5).

En la Figura III.4 se presenta el efecto del patógeno en diferentes partes de la plántula, el daño visual (A) repercute en reducciones en peso fresco (B), que se acentúa para raíz, el mayor efecto es provocado por el inóculo procedente del Edo de México; por otra parte en el caso de la longitud de raíz (C), en los casos en que el inóculo fue menos agresivo (guerrero y Oaxaca) aparentemente hay un estímulo a mayor longitud, esto último podría explicarse como un mecanismo de tolerancia al patógeno. Con respecto al peso seco de la plántula completa (D), se mantiene la tendencia, de acuerdo a la virulencia del inóculo, la pérdida en materia seca se hace más fuerte con el patógeno procedente de los Estados de México, seguido de los de Tlaxcala y Puebla.

Cuadro III.3. Comparación de promedios por inóculo de procedencia geográfica distinta, en 57 poblaciones de maíz nativo. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012

Fuente de Inóculo	DaFus (1-5)	PRaíz (g)	PPlan (g)	PFres (g)	LRaíz (cm)	LPlan (cm)	PSeco (g)
1 Sin Inóc	1.0 d	1.8 a	2.1 a	3.9 a	23.4 b	25.0 a	0.43 a
3 Gro. (Montaña)	1.7 c	1.5 b	1.7 b	3.2 b	26.8 a	22.7 b	0.43 a
4 Oax. (Mixteca)	1.7 bc	1.4 bc	1.6 bc	3.1 b	25.7 a	22.4 b	0.39 ab
5 Pue. (SN)	1.8 bc	1.4 bc	1.7 b	3.0 b	23.2 b	22.2 b	0.37 b
6 Tlax.	1.8 b	1.3 c	1.6 bc	2.9 b	22.5 bc	21.4 b	0.37 b
2 Méx. (SE)	2.0 a	1.1 d	1.5 c	2.6 c	20.4 c	19.5 c	0.36 b
Promedio	1.7	1.4	1.7	3.1	23.7	22.2	0.39
DSH (p≤ 0.05)	0.11	0.148	0.141	0.26	2.158	1.34	0.043

DaFus: Daño por *Fusarium* en escala 1=sano-5=muerta; PRaíz: Peso de raíz (g); PPlan: Peso de plántula (g); PFres: Peso total en fresco (g); LRaíz: Longitud de raíz (cm); LPlan: Longitud de plántula (cm); PSeco: Peso de materia Seca (g).

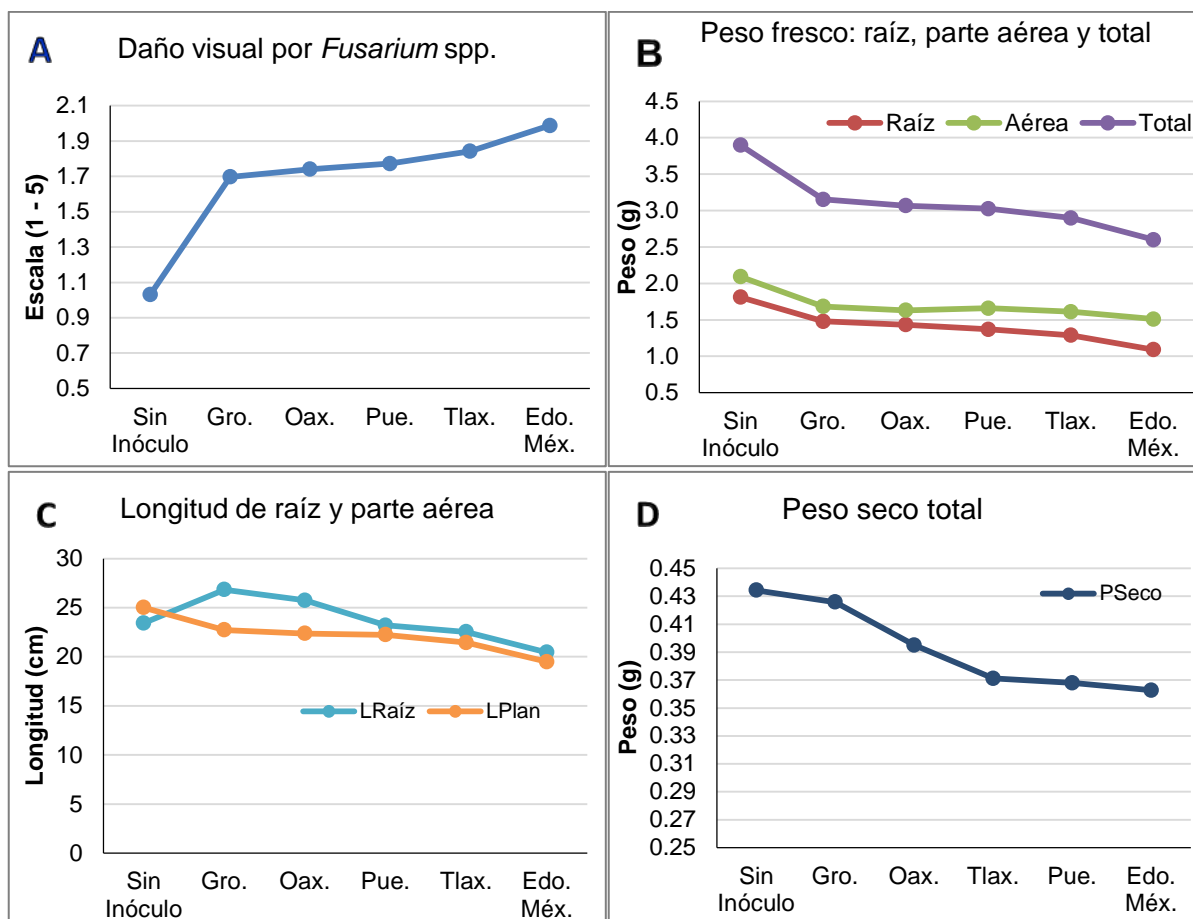


Figura III.4. Efecto del inóculo de *Fusarium* spp. de distinto origen geográfico en grupos de poblaciones de maíz por procedencia geográfica; A) daño visual 1-5 ; B) peso fresco; C) longitud y D) peso seco. Montecillo, Texcoco. Edo de Méx. 2012.

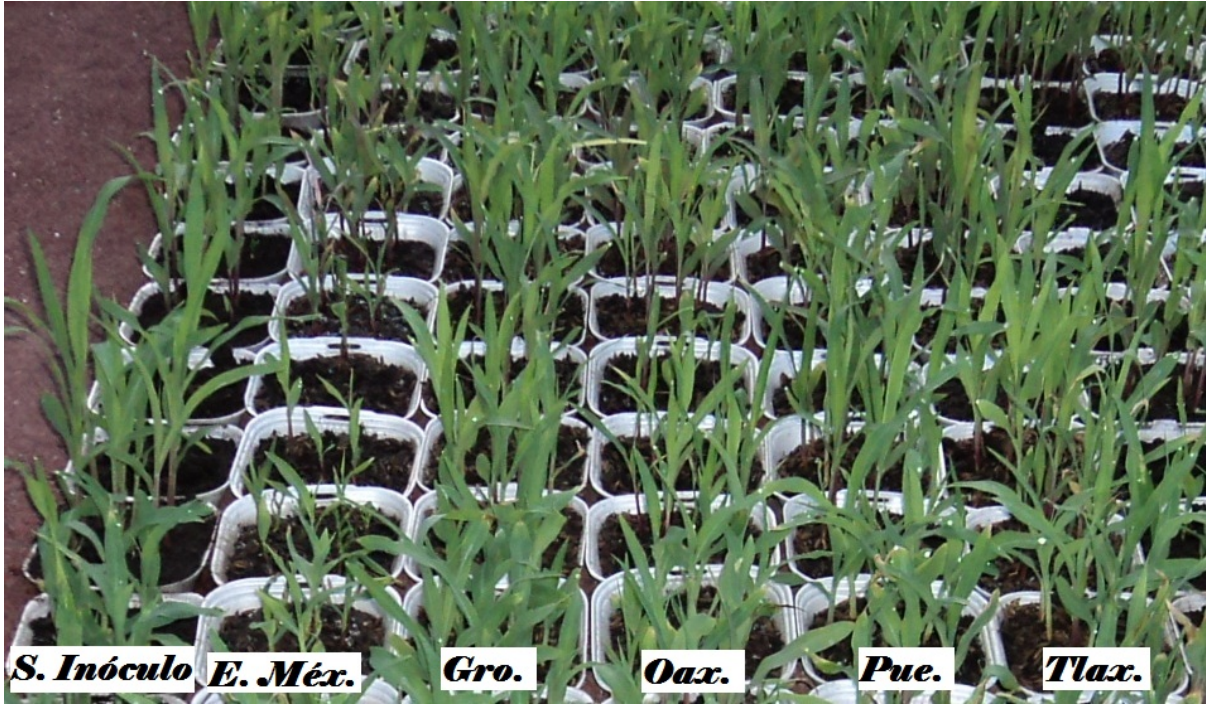


Figura III.5. Respuesta de plántulas de maíz nativo con diferente nivel de susceptibilidad/tolerancia a inóculos de *Fusarium* spp. de distinta procedencia geográfica. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.

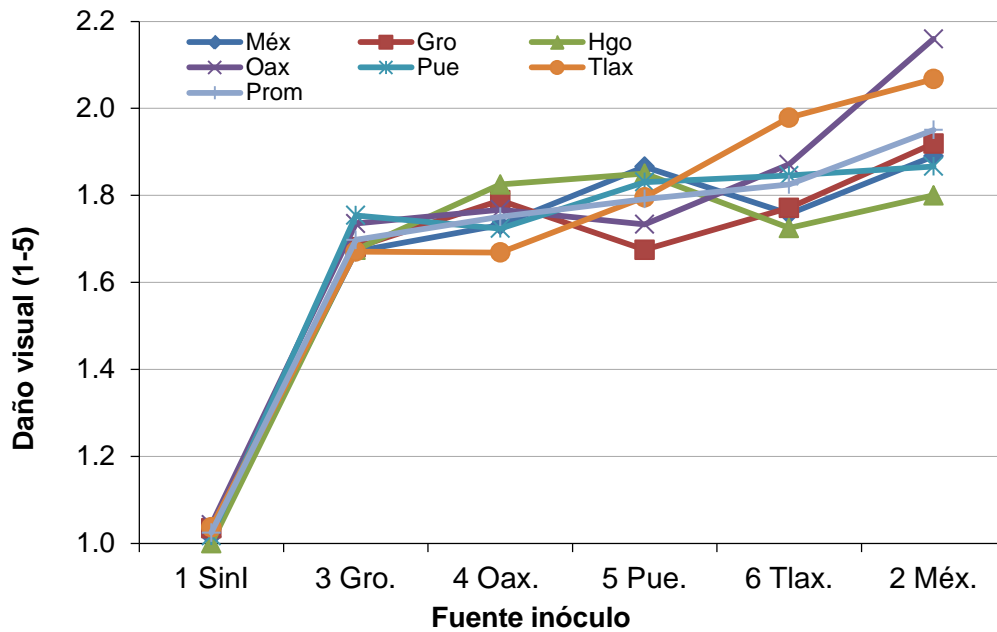


Figura III.6. Interacción poblaciones de maíz x fuente de inóculo de *Fusarium* spp. de diferente origen geográfico. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.

Resistencia/susceptibilidad de las poblaciones de maíz nativo

El considerar aislamientos de *Fusarium* spp. de distinta procedencia geográfica, se aplicó con el propósito de probar la respuesta de las poblaciones de maíz ante patógenos cercanos a su región de origen, así como con aquellos de origen geográfico distinto. El análisis de varianza mostro diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) entre las poblaciones de maíz en respuesta al inóculo de *Fusarium*; ya que, las variantes de maíz respondieron de manera diferencial a los patógenos con diferente origen geográfico (Cuadro III.3), por lo que se procedió a descomponer la variación por inóculo dentro de población de maíz, mediante el análisis de varianza por cada una de las poblaciones (Cuadro III.4).

Cuadro III.4. Cuadrados medios y significancia para respuesta a inóculo de *Fusarium* de origen geográfico distinto en 57 poblaciones de maíz nativo. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.

FV	DF	DaFus	PRaíz	PPlan	PFres	LRaíz	LPlan	PSeco
Bloque	3	21.80	5.43	9.30	12.80	6125.47	10357.65	0.65
Maíz	56	0.24 *	1.62 **	3.45 **	8.73 **	174.33 **	251.18 **	0.20 **
Inóculo (Maíz)	285	0.55 **	0.44 **	0.38 **	1.39 **	67.88 NS	30.09 **	0.02 NS
Error	965	0.17	0.30	0.27	0.91	62.40	24.08	0.02
CV		24	39	30	31	33	22	34

DaFus: Daño por *Fusarium* en escala 1-5; PRaíz: Peso de raíz; PPlan: Peso de plántula; PFres: Peso total en fresco; LRaíz: Longitud de raíz; LPlan: Longitud de plántula; PSeco: Peso de materia Seca. NS: No Significativo ($p \leq 0.05$); *, ** Significativo con $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$, respectivamente.

El daño provocado por las diferentes fuentes de inóculo fue estadísticamente diferente ($p \leq 0.05$) en algunas poblaciones de maíz, mientras que en el resto de poblaciones los diferentes inóculos causaron daños que no fueron estadísticamente diferentes dentro de esa misma población de maíz. En el Cuadro III.5 se presentan

únicamente las poblaciones que presentaron diferencias con significancia ($p \leq 0.05$) en alguna o todas las variables evaluadas. Estos resultados muestran las diferencias en la virulencia del patógeno, que han sido observadas por Iglesias *et al.* (2010); así como las diferencias en resistencia/susceptibilidad de las poblaciones de maíz ante aislamientos de *Fusarium* spp. en relación con su procedencia geográfica.

En longitud de raíz y de plántula, no se observa significancia en la mayoría de las poblaciones (Cuadro III.5, Figura III.5).

Cuadro III.5. Significancia de la fuente de variación: origen de inóculo dentro de población de maíz del ANAVA para cada material de maíz ante seis fuentes de origen geográfico de inóculo de *Fusarium* spp., para cada una de las variables evaluadas. Montecillo, Texcoco, Edo. Méx. 2012.

	Pob. Maíz	DaFus	LRaíz	LPlan	PRaíz	PPlan	PFres	PSeco
1	1Gro	**	ns	*	**	*	**	**
2	2Tlx	*	*	ns	*	*	*	ns
6	6Gro	**	ns	ns	**	*	**	ns
7	7Gro	*	ns	*	ns	ns	ns	ns
8	8EMx	*	ns	*	ns	ns	ns	ns
11	11Tlx	*	ns	ns	ns	*	*	ns
12	12Tlx	*	ns	ns	ns	**	*	ns
13	13Tlx	*	ns	*	**	*	**	ns
19	19Gro	**	*	ns	ns	ns	ns	*
20	20Gro	**	ns	*	ns	*	*	ns
25	25Gro	*	*	*	ns	ns	ns	ns
26	26Oax	**	*	ns	ns	*	*	ns
27	27Oax	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
28	28Oax	**	ns	**	ns	*	*	ns
29	29Oax	**	ns	ns	**	ns	**	ns
31	31Oax	*	ns	*	ns	ns	ns	ns
37	37Tlx	**	**	ns	**	**	**	ns
43	43EMx	*	*	ns	ns	**	*	ns
54	54Gro	*	ns	ns	**	**	**	ns
55	55Gro	*	ns	*	*	*	*	ns
56	56EMx	*	ns	ns	*	**	*	ns

DaFus: Daño por *Fusarium* en escala 1-5; PRaíz: Peso de raíz (g); PPlan: Peso de plántula (g); PFres: Peso total en fresco (g); LRaíz: Longitud de raíz (cm); LPlan: Longitud de plántula (cm); PSeco: Peso de materia Seca (g). ns: No significativo ($p \leq 0.05$); *, ** Significativo con $p \leq 0.05$ y $p \leq 0.01$, respectivamente.



Figura III.7. Evaluación de la susceptibilidad/resistencia a *Fusarium* spp. en plántulas de maíz de 57 poblaciones de maíz nativas, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 2012.

La correlación entre daño por *Fusarium* spp. en plántula y la pudrición de mazorca¹ en campo bajo condiciones de infección natural local, mostró una correlación inversa (-0.17855) ya que la respuesta al daño causado por patógenos presentes en el suelo en las raíces de las plántulas, no parece estar necesariamente relacionado con el daño que presente en planta adulta, particularmente con la pudrición de mazorca.

La longitud de raíz y de la parte aérea de la plántula muestran una reducción por efecto del patógeno con respecto a las plántulas que emergieron en el sustrato sin inóculo (Figura III.8); aunque el daño por *Fusarium* spp. en raíz, no es fácilmente observado en el campo durante el desarrollo del cultivo. La transmisión sistémica de semilla a plántula (tallo) fue observada por Wilke *et al.* (2007) en *F. verticillioides* en maíz, por lo que, semillas infestadas y/o infectadas por *Fusarium* spp. producirán

¹ Datos obtenidos en campo durante los ciclos p-v 2011 y 2012. Capítulo I

plántulas seriamente afectadas durante el establecimiento del cultivo, que no se desarrollan adecuadamente e incluso pueden morir.

En general, se observa que las reducciones de longitud fueron mayores con la presencia del inóculo del sureste del Edo. de México, seguido por los de Tlaxcala y Puebla. En el caso del inóculo de Guerrero y Oaxaca pareciera darse un estímulo a la elongación de las raíces debido a la baja virulencia.

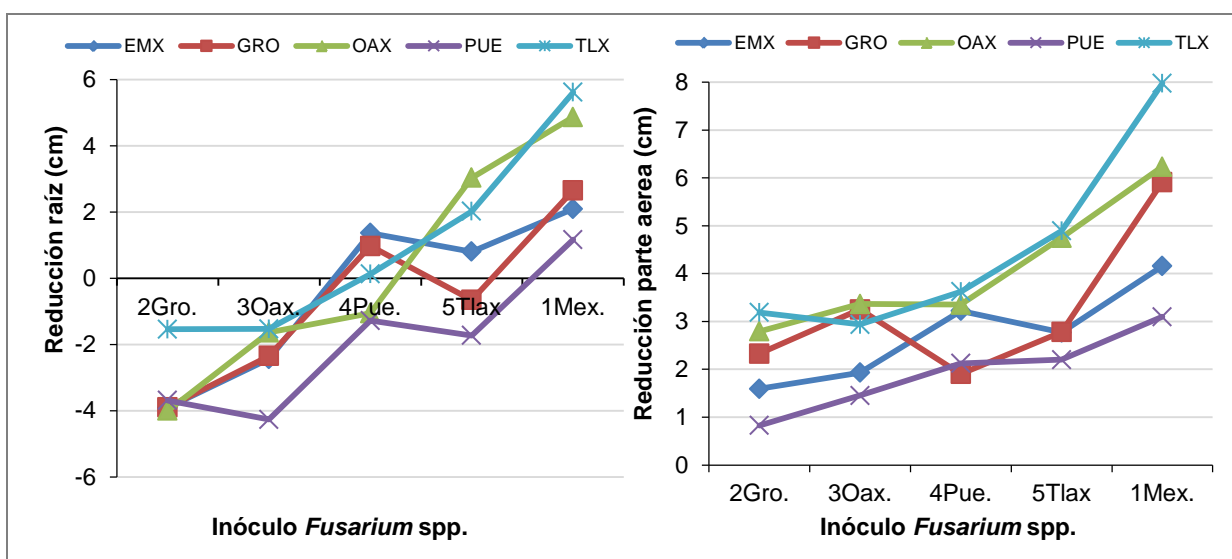


Figura III.8. Efecto del patógeno en la longitud de la raíz y parte aérea de la plántula respecto a las plántulas sin inóculo (longitud sin inóculo – longitud idéntico origen geográfico del inóculo). Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.

Interacción procedencia geográfica: maíz x *Fusarium* spp.

Además del efecto de daño en el crecimiento y desarrollo de las plántulas calificado de manera visual, la acumulación de materia seca en peso total también se vio afectada. Los valores de los efectos de interacción fueron bajos; sin embargo, se observa el efecto de las diferentes fuentes geográficas de los inóculos sobre los

grupos de poblaciones de maíz, aunque en esta evaluación no se observa una relación definida que sugiera la posible coadaptación entre los maíces procedentes de un cierto estado y sus patógenos, como se observó para el caso de pudrición de mazorca y rendimiento en las evaluaciones en campo de estas mismas poblaciones (Capítulo I), aunque en algunos casos como el de Tlaxcala, parece ser que los patógenos del mismo origen le causan mayor daño (Cuadro III.6 y III.7; Figura III.9); posiblemente por efectos confundidos debidos a la mezcla de cepas utilizada para cada origen geográfico y a que en estas poblaciones difícilmente se le presta atención a los problemas en raíz, por lo que la presión entre ambos tipos de poblaciones (patógeno y hospedante) aún no es tan fuerte y específica a una determinada región geográfica.

Cuadro III.6. Efectos de interacción de procedencia geográfica de maíz x procedencia geográfica del inóculo para daño por *Fusarium* spp. en plántula, Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.

Maíz \ Inóculo	Inóculo					
	Cero	Edo. de Méx.	Gro.	Oax.	Pue.	Tlax.
Edo. Méx.	0.003	-0.017	-0.009	-0.001	0.078	-0.056
Guerrero	0.039	-0.004	0.009	0.063	-0.084	-0.025
Oaxaca	-0.027	0.162	-0.008	-0.032	-0.098	0.001
Puebla	-0.003	-0.110	0.059	-0.014	0.039	0.026
Tlaxcala	-0.017	0.094	-0.058	-0.115	-0.027	0.122

Valores negativos indican mayor daño.

Cuadro III.7. Efectos de interacción de procedencia geográfica de maíz x procedencia geográfica del inóculo (*Fusarium* spp.) para la variable peso seco en plántula, Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.

Maíz \ Inóculo	Inóculo					
	Cero	Edo. de Méx.	Gro.	Oax.	Pue.	Tlax.
Edo. Méx.	0.052	-0.023	0.041	-0.013	-0.038	-0.022
Guerrero	0.002	0.051	-0.022	-0.039	0.018	-0.012
Oaxaca	-0.037	-0.044	0.037	0.029	0.017	-0.004
Puebla	-0.017	0.007	-0.008	-0.001	-0.001	0.018
Tlaxcala	-0.005	-0.008	-0.013	0.017	0.019	-0.014

Valores negativos indican mayor daño.

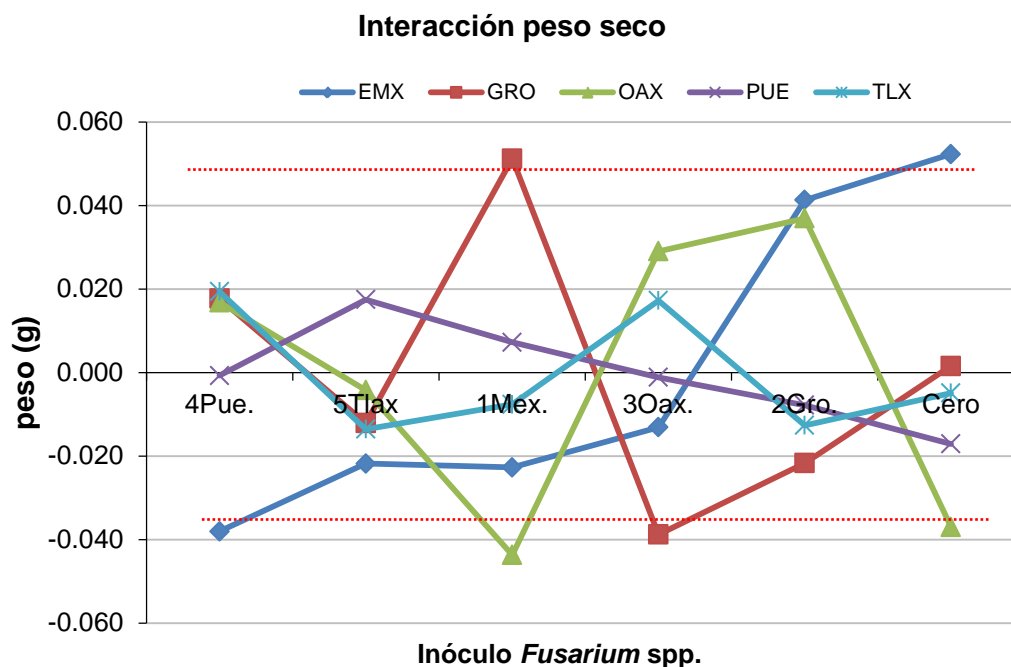


Figura III.9. Efectos de interacción de procedencia geográfica maíz x procedencia geográfica del inóculo (*Fusarium* spp.) para la variable peso seco en plántula. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2012.

Los resultados anteriores muestran el importante efecto del hongo *Fusarium* spp. como patógeno en las plántulas de maíz, así como la intensidad de daño que este patógeno puede llegar a provocar. Bacon (1994) indica que una prueba en

plántulas se puede utilizar para cribar un gran número de cultivares; proporcionar alguna diferenciación en la expresión de la enfermedad dentro de un corto período de tiempo; y predecir el comportamiento, germinación y sobrevivencia de los individuos en el campo.

CONCLUSIONES

Existe variación en el grado de virulencia de aislamientos con distinto origen geográfico.

El inóculo integrado por aislamientos procedentes del estado de México resultó de mayor virulencia; mientras que, el del Edo. de Guerrero provocó menor daño en las poblaciones de maíz.

En plántula, las poblaciones de maíz responden de manera diferencial ante el patógeno de acuerdo a su procedencia geográfica, al expresar valores de daño distintos a través de los diferentes inóculos a los que fueron sometidos.

No se observó una relación directa entre la virulencia del inóculo y la resistencia/tolerancia de las poblaciones a la enfermedad dentro de un mismo origen.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. Elsevier Academic Press. New York. 922 p.
- Bacon, C. W., D. M. Hinton, and M. D. Richardson. 1994. A corn seedling test for resistance to *Fusarium moniliforme*. Plant Disease 78:302-305.
- Bottalico, A. 1998. *Fusarium* diseases of cereals: Species complex and related mycotoxin profiles in Europe. J. Plant Pathol. 80: 85-103.
- Burdon, J. J. 1993. The structure of pathogen populations in natural plant communities. Annu. Rev. Phytopathol. 31:305-323.
- CIMMYT. 2004. Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en el campo. Programa de Maíz del CIMMYT. 4ª ed. México, D.F.
- Desjardins, A. E., R. D. Plattner and P. E. Nelson, 1994. Fumonisin production and other traits of *Fusarium moniliforme* strains from maize in northeast Mexico. App. and Environ. Microbiol. 60:1695-1697.
- Iglesias, J., D. Presello, G. Botta, G. Lori, and C. Fauguel. 2010. Aggressiveness of *Fusarium* Section Liseola isolates causing maize ear rot in Argentina. J. Plant Pathol. 92(1): 205-211.
- Luna M, B. M., R. Ma. Hinojosa A., O. J. Ayala G., F. Castillo G. y J. A. Mejía, C. 2012. Perspectivas de desarrollo de la industria semillera de maíz en México. Rev. Fitotec. Mex. 35(1):1-7.
- Oliver, R. P. and M. Schweizer. 1999. Molecular Fungal Biology. Cambridge Univ. Press, UK. 377p.
- Peraica, M., B. Radić, A. Lucić and M. Pavlović, 1999. Toxic effects of mycotoxins in humans. Bull. World Health Organization 77 (9):654-766.
- Reyes C., P. 1990. El Maíz y su Cultivo. AGT-EDITOR S.A. México, D.F. 460p.
- Solano-Báez, A. R., C. De León, G. Valdovinos P., H. V. Silva R. y L. Soto R. 2011. La pigmentación de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) como factor de virulencia en plántulas de maíz. Agron. Mesoam. 22(2): 297-307.
- Wilke, A. L., R. C. Bronson, A. Tomas and G. P. Munkvold. 2007. Seed transmission of *Fusarium verticillioides* in maize plants grown under three different temperature regimes. Plant Dis. 91:1109-1115.

CAPÍTULO IV

DIVERSIDAD ISOENZIMÁTICA EN EL PATOSISTEMA MAÍZ-*Fusarium* spp. EN EL ALTIPLANO DE MÉXICO

RESUMEN

Con el objetivo de conocer la variación genética de 44 poblaciones de maíz nativo de diferente origen geográfico y de sus poblaciones de *Fusarium* spp., aisladas de mazorcas con síntomas de pudrición, se realizó un análisis de polimorfismo para 23 loci enzimáticos en maíz, mientras que para *Fusarium* fueron 10 loci. Las frecuencias se determinaron en base a 14 plantas por población en maíz y 14 aislamientos por población para *Fusarium*. En el caso de maíz, además se realizó una caracterización morfológica utilizando 25 caracteres de planta, mazorca, espiga y grano. Por medio del análisis de componentes principales, se determinó una gran variación morfológica entre poblaciones de maíz, además de una dispersión de poblaciones con tendencia a agruparse por región geográfica. En cuanto al análisis de isoenzimas los parámetros de diversidad genética indicaron 70 % de loci polimórficos y un promedio de tres alelos por locus para el caso de maíz y 60% de loci polimórficos y un promedio de seis alelos por locus en las poblaciones de *Fusarium* spp. Para ambos organismos, sobre el plano determinado por los dos primeros componentes principales, se observó una dispersión de poblaciones de acuerdo a la procedencia geográfica, lo cual está relacionado con la variación ecológica entre áreas exploradas, por lo que se concluye que en el patosistema Maíz – *Fusarium* spp. existe variación genética correspondiente entre poblaciones, de distinta procedencia geográfica.

Palabras clave: diversidad genética, isoenzimas, patosistema, *Fusarium* spp., maíz nativo.

ISOENZYME DIVERSITY IN THE MAIZE- *Fusarium* spp. PATHOSYSTEM IN THE HIGHLANDS OF MEXICO

SUMMARY

With the objective of know the genetic variation of 44 native maize populations from different geographical origin and their associate populations of *Fusarium* spp. isolated from ears with symptoms of rot, isoenzyme analysis was carried out. Polimorfism on 23 isozyme loci was determined for maize, meanwhile 10 loci were considered for *Fusarium*. Allele frequencies were obtained on the base of 14 plants per populations in the case of maize and 14 isolates for *Fusarium* populations. In the case of maize, morphological characterization was also performed using 25 traits of plant, ear, spike and kernel. Through principal component analysis, great morphological variation among populations of maize was detected; in addition dispersion of populations on the area of the the two first principal components follows pattern according with geographic origin. For the analysis of isoenzymes, genetic diversity parameters indicated 70% of polymorphic loci and an average of three alleles per locus for maize, and 60% of polymorphic loci and an average of six alleles per locus for *Fusarium* spp. Populations, it was observed a dispersion of maize populations according to for both organisms, and considering the two first principal components showed a dispersion of populations according to their geographical origin, which it is related to ecological variation between the explored areas; therefore seems to be that in the pathosystem maize - *Fusarium* spp. there is corresponding genetic variation between populations from different geographical origin.

Keywords: genetic diversity, isozymes, pathosystem, *Fusarium* spp, native maize.

INTRODUCCIÓN

El interés en México por el maíz y su diversidad genética viene desde los tiempos prehispánicos, como se refleja en las leyendas sobre el origen de la planta y su mención en los códices. Diversos factores estimularon el interés en el estudio, conservación, mejoramiento y uso de la diversidad nativa del maíz en México, así como del conocimiento relacionado con esa diversidad en manos de los campesinos tradicionales, sobre todo en comunidades indígenas (Ortega, 2003).

Los hongos patógenos de plantas han tenido una importancia económica e impacto social persistente en la evolución de las sociedades agrícolas. Patólogos de plantas se han centrado en gran medida de la genética y la fisiología de las interacciones patógeno-planta. Sin embargo, los patógenos de plantas también ofrecen una oportunidad para estudiar los procesos de población y la biología evolutiva (McDonald and McDermonntt, 1993).

Como es común con la mayoría de los organismos, la variación genética en las poblaciones de microorganismos fitopatógenos, está determinada por procesos de selección, mutación, deriva, recombinación (sexual o asexual) y el flujo de genes en las poblaciones (local o a largas distancias) (Burdon y Silk, 1997).

El género *Fusarium* comprende un grupo amplio y heterogéneo de especies de hongos de importancia agrícola como agentes patogénicos y como contaminantes

de alimentos. Las especies *F. graminearum* (*Gibberella zeae*), *F. verticillioides* (*Gibberella fujikuroi*) tienen formas sexuales conocidas las que reflejan una mayor posibilidad de variación (Booth, 1971).

En los patosistemas agrícolas se considera al hombre como un elemento externo al tradicional triángulo de la enfermedad; sin embargo, la influencia del hombre en las enfermedades depende del manejo que éste haga del agrosistema en su conjunto (Arauz-Cavallini, 1998).

El análisis de polimorfismo de isoenzimas es una poderosa técnica para analizar la variación genética dentro y entre poblaciones. En comparación con otras tecnologías, la aplicación de las isoenzimas en el estudio de poblaciones es barato, rápido, y fácil de interpretar, por lo que han sido utilizadas en bacterias, hongos, plantas y la mayoría de los principales grupos de animales, de los insectos y otros invertebrados, peces y mamíferos (Goodwin, 2004; Micales y Bonde, 1995).

En el maíz, las relaciones y la diversidad genética se han estudiado mediante caracteres morfológicos y la frecuencia de alelos isoenzimáticos (Doebley *et al.*, 1985, Sánchez *et al.*, 2000).

En los hongos, las variantes isoenzimáticas, al igual que otras proteínas, juegan roles importantes para la adquisición de nutrientes, colonización del sustrato e interacciones ecológicas, por lo que han resultado ser una herramienta eficiente para determinar la identidad de patógenos fúngicos (Bonde *et al.*, 1993).

El conocimiento de la estructura genética de las poblaciones del patógeno tiene aplicaciones directas a los ecosistemas agrícolas. Por ejemplo, la variación genética que se mantiene dentro de una población está relacionada con la rapidez con la que un patógeno puede evolucionar. Poblaciones de hongos con altos niveles de variación genética es probable que logren adaptarse más rápidamente a los fungicidas u hospedantes resistentes, que aquellos con poca variación genética (McDonald and McDermontt, 1993).

La diversidad de maíz en México presenta variantes asociadas a regiones con condiciones ecológicas específicas (wellhausen *et al.*, 1951; Herrera *et al.*, 2004). Se ha determinado también diversidad genética dentro de especies de patógenos (O' Donnell *et al.*, 1998). Con el fin de valorar la posible asociación de la diversidad genética del maíz y de *Fusarium* spp. de forma paralela y con posible coevolución, se colectaron variantes de ambos organismos en cinco regiones de altitud sobre los 2000 m, principalmente para valorar la diversidad genética de ambas poblaciones mediante el polimorfismo isoenzimático.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se usaron 44 poblaciones de maíz colectadas en los estados de México, Oaxaca, Tlaxcala, Puebla y Guerrero durante 2010 y como testigo el híbrido R12xR35; y de manera conjunta 33 poblaciones de *Fusarium* spp, cada una con 14

individuos, los aislamientos monospóricos del hongo fueron obtenidos de mazorcas con síntomas de pudrición; además de tres poblaciones testigo de *Fusarium* conformadas por aislamientos identificados morfológica y molecularmente como *F. graminearum*, *F. verticillioides* y *F. subglutinans*, crecidos en medio de cultivo PDA (papa-dextrosa-agar) a temperatura ambiente durante 10 días.

Caracterización morfológica de maíz

Se efectuó en el ciclo primavera-verano de 2010-2011, en el Campo Experimental del Colegio de Postgraduados, ubicado en Montecillo, Texcoco, Méx. (19° 29' N y 98° 54' O, 2250 msnm).

Se midieron caracteres correspondientes a la mazorca y grano, usando 5 mazorcas por parcela y 10 granos de c/u (Cuadro IV.1).

Cuadro IV.1. Características morfológicas evaluadas en maíz. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2010 y 2011.

Característica	Acrónimo	Característica	Acrónimo
<u>Mazorca</u>		<u>Espiga</u>	
Longitud de la mazorca (cm)	LMz	Número ramas	NRa
Diámetro de la mazorca (cm)	DMz	Longitud del pedúnculo	LP
Número de hileras	NH	Longitud de sección ramificada	LR
Granos por hilera	NGH	Longitud espiga principal	LE
Peso de Grano	PGr	Longitud total	LT
Diámetro del olote (cm)	DOI	Núm. espiguillas en 10 cm	NE
Peso del olote	POI		
<u>Grano</u>		<u>Planta</u>	
Longitud de grano (mm)	LGr	Días a floración	DF
Ancho de grano (mm)	AGr	Altura de planta	AP
Grosor de grano (mm)	GGr	Altura de mazorca	AMz

Identificación molecular de aislamientos de *Fusarium* spp.

La Identificación molecular de los aislamientos se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de Semillas del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. La extracción del ADN de los cultivos monoconidiales se realizó con base en el protocolo de Doyle y Doyle (1990), la calidad se verificó por electroforesis en gel de agarosa al 1%, y la concentración de ADN se cuantificó en un espectrofotómetro (Nanodrop, USA). Se amplificaron las regiones internas ITS de los genes rRNA 18S-5.8S y 5.8S-28S con los iniciadores ITS5 e ITS4 y NL4. Los productos de PCR se secuenciaron en ambas direcciones en un 3130 DNA analyzer (Applied Biosystems, USA). Las secuencias se editaron y compararon con las secuencias depositadas en el Banco de genes (NCBI-National Center for Biotechnology Information; Bethesda, Maryland, USA. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Cuadro IV.2. Procedencia geográfica de las poblaciones de maíz sanas y con síntomas de pudrición por *Fusarium* spp.

Procedencia	Sanas - Enfermas	Localidad o Municipio
Edo. México (sureste)	8 – 5	Ayapango, Chalco, Tepetlixpa, Texcoco (2270 – 2450 msnm).
Oaxaca (mixteca)	9 – 8	Huamelulpan, Ticuá, Peñasco, Tataltepec, Tayata (1600 – 2290 msnm).
Tlaxcala (suroeste)	10 – 7	Ixtacuixtla, Españita, Nanacamilpa, Totolac (2220 – 2720 msnm).
Puebla (sierra norte)	6 – 5	Libres, Xochitlán (1610- 2400 msnm).
Guerrero (montaña)	11 - 8	Chilapa, Cualác, Tixtla, Zitlala (1498 – 2222 msnm).

Análisis bioquímico preliminar para *Fusarium* spp.

Se realizó un análisis exploratorio preliminar para el caso de *Fusarium* spp. con 15 aislamientos de distinta procedencia geográfica en tres tipos de geles con 15 isoenzimas, con base en el protocolo modificado de Stuber *et al.* (1988) en el Laboratorio de Marcadores Genéticos del Colegio de Postgraduados. También se probaron opciones de la extracción: 1) con agua destilada y 2) con buffer de extracción, del cual se observó una mejor resolución o tinción en la preparación de extracción usando únicamente agua destilada para la maceración del micelio. Se observaron bandeos claros únicamente en únicamente 10 sistemas, los que se usaron en el análisis posterior completo.

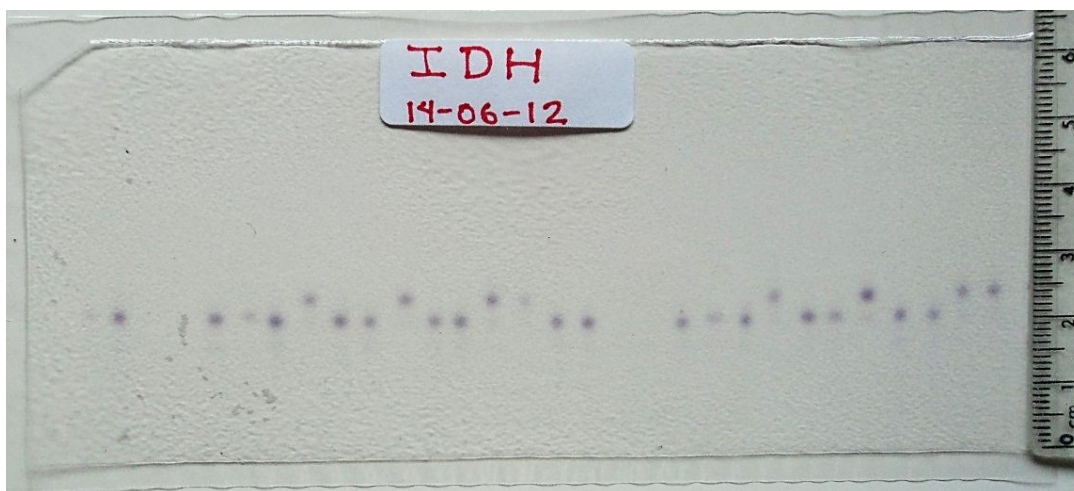


Figura IV.1. Zimograma obtenido de la prueba preliminar de aislamientos de *Fusarium* spp. aislados de mazorcas de maíz.

Análisis isoenzimático

Maíz: Las semillas de maíz se remojaron y trataron con fungicida para su germinación; la muestra se obtuvo siguiendo el protocolo de Stuber *et al.* (1988) tomando una sección de 1.5 cm de longitud de coleoptilo y se colocó en tubos

Eppendorf® de 1.5 ml, al que se le agregó 100 µl de solución extractora. Posteriormente, se maceró con un taladro que tenía una barreta de plástico, se le agregaron 50 µL más de solución extractora y se procedió a centrifugar por 20 min a 14000 rpm y 4°C. Para obtener la muestra se tomó el sobrenadante y se depositó en tubos Eppendorf® de 0.5 mL y que se mantuvieron en congelación (-28°C) hasta antes de su utilización. Se utilizaron 14 individuos de maíz por cada población o colecta.

Fusarium: En el caso de los aislamientos/cepas del hongo *Fusarium* spp. se tomó una pequeña porción de micelio de cada uno de los 14 individuos en cada muestra y un día antes de su análisis se maceró en un tubo Eppendorf® con 100 µL de agua destilada; para esto se utilizó un taladro con una barreta de plástico, y se le agregaron 100µL más de agua destilada. Las muestras se mantuvieron en refrigeración a 4°C y se homogeneizaron antes de ser sometidas a electroforesis.

La preparación de los geles de almidón y de las soluciones buffer y buffer gel para cada uno de los sistemas (B, C y D), así como las soluciones de tinción y electrodos para el análisis por electroforesis, tinción, revelado y empaquetado, se realizó de acuerdo al protocolo de laboratorio descrito por Stuber *et al.* (1988). Las enzimas utilizadas se muestran en el Cuadro IV.3.

La lectura de los zimogramas se realizó a través de una lámpara luminosa para observar el desplazamiento de las bandas de cada enzima, para el caso de

Fusarium se partió de los alelos más frecuentes asignándoles el valor de 100 y valores mayores (arriba) o menores (abajo) según la ubicación de las otras bandas. Posteriormente, los valores numéricos se remplazaron por las primeras letras del abecedario.

Cuadro IV.3. Sistemas isoenzimáticos utilizados para 44 poblaciones de maíz nativo y 33 poblaciones de aislamientos de *Fusarium* spp. de distinta procedencia geográfica. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2013.

Clave	Enzima	Sistema		Loci	
		Gel	Maíz		<i>Fusarium</i>
CAT	Catalasa	C	CAT		CAT
EST	Esterasa	C	EST-1, EST-2		EST-1, EST-2
GOT	Glutamato oxalato transaminasa	C	GOT-A, GOT-B, GOT-M		
IDH	Isocitrato deshidrogenasa	D	IDH-A, IDH-B		IDH
MDH	Malato deshidrogenasa	B	MDH-A, MDH-B, MDH-C, MDH-D, MDH-E		MDH
PGD	6- Fosfogluconato deshidrogenasa	D	PGD-A, PGD-B		PGD
PGM	Fosfoglucomutasa	D	PGM-A, PGM-B		PGM
PHI	Fosfato isomerasa	B	PHI		PHI
GLU	β Glucosidasa	B	ACP-1, ACP-4		ACP
ACP	Fosfatasa ácida	B	GLU		GLU
ME	Enzima málica	B	ME		
SAD	Shikimato deshidrogenasa	D	SAD		

Análisis de los datos

Las frecuencias alélicas y las distancias genéticas de los grupos poblacionales y de las poblaciones individuales se analizaron en los programas POPGENE 3.2 (Yeh y Yang, 1999) y NTSYSpc (Rohlf, 1988) respectivamente.

Como indicadores de la variabilidad genética de las poblaciones se usó el porcentaje de polimorfismo y el número de alelos por locus. Con los datos

morfológicos de maíz y las frecuencias alélicas calculadas para cada población se realizó en análisis de conglomerados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variación morfológica de poblaciones de maíz

Por medio de un análisis de componentes principales se pudo apreciar una dispersión de poblaciones de maíz de acuerdo a la procedencia geográfica (Figura IV.2) en el plano determinado por los dos primeros componentes.

El primer componente explicó el 31% de la varianza total, estuvo determinado de manera importante por las variables Y20 (Días a floración masculina), Y21 (Días a floración femenina), Y1 (Número de ramas espiga) y Y4 (Longitud de rama principal). El segundo componente explicó el 22.5% de la varianza total, dominado por variables como: Y7 (Peso de mazorca), Y15 (Diámetro de la base del olote), Y16 (diámetro punta olote), Y8 (peso de grano). El tercer componente explicó el 13.14% de la varianza total, está relacionado con Y13 (número de hileras de granos por mazorca) y Y6 (Núm. Espiguillas en 10 cm) principalmente, además de Y22 (altura de planta) y Y23 (altura de mazorca).

Lo anterior indica que las diferencias fenotípicas entre las poblaciones están definidas por características morfológicas asociadas a fenología y principalmente por características de planta, mazorca y espiga.

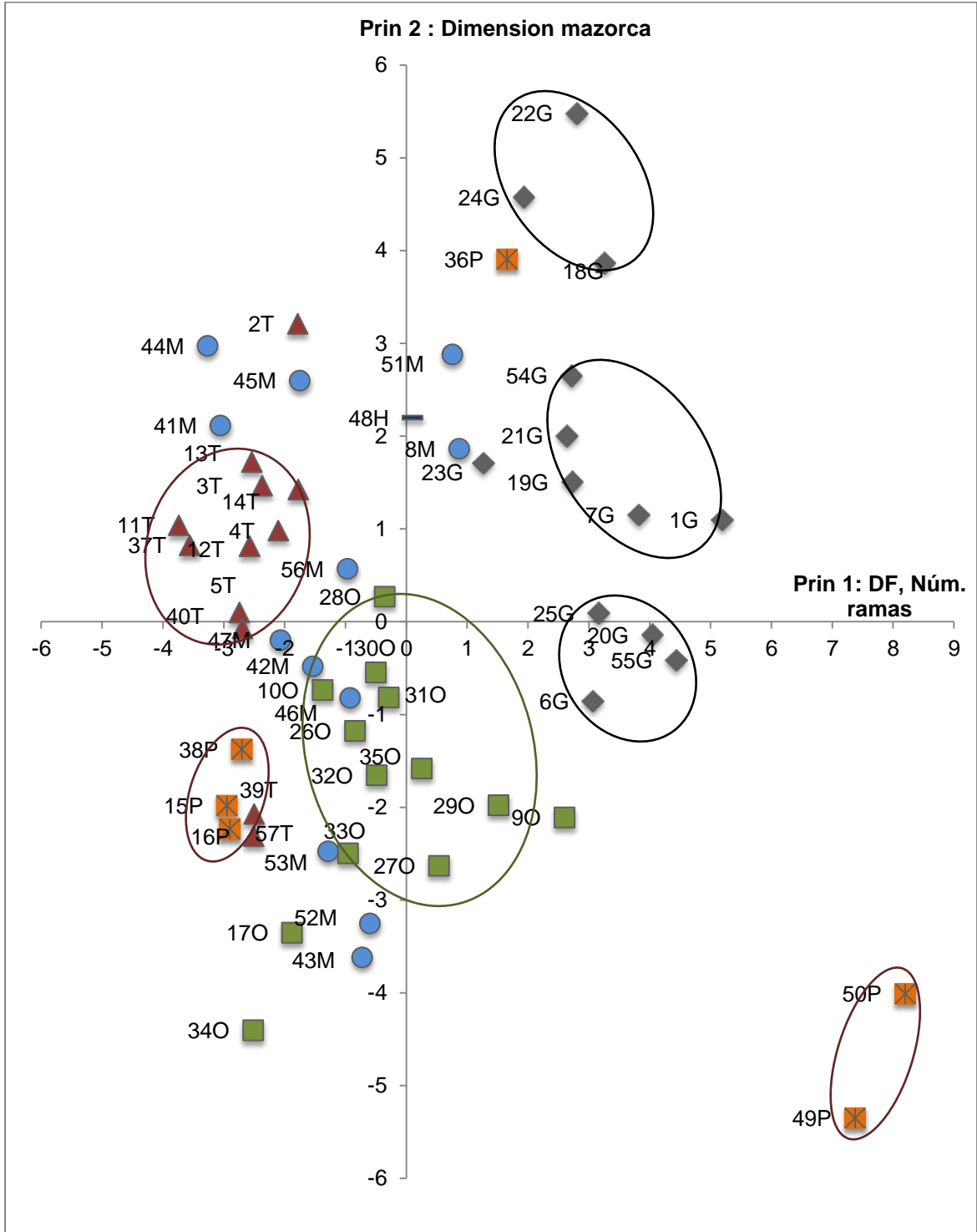


Figura IV.2. Dispersión de 57 poblaciones de maíz nativo con base en los dos primeros componentes principales del análisis sobre variables morfológicas. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2010-2011.

◆ Guerrero ■ Oaxaca ▲ Tlaxcala ● México ■ Puebla - Hgo

Identificación molecular de *Fusarium* spp.

Dada la cantidad de aislamientos utilizados (462) en el análisis isoenzimático, sólo se logró identificar una parte, en el cuadro IV.4, se muestran los resultados de 67 aislamientos. El análisis filogenético mostró que las especies más prevalentes fueron *F. subglutinans*, *F. verticillioides*, además de la presencia de *F. graminearum*, *F. proliferatum*, *F. culmorum*, *F. poae* y *F. sacchari*.

Cuadro IV.4. Identificación filogenética de aislamientos de *Fusarium* spp. de origen geográfico distinto.

Pobn.	Localidad	Edo.	No.	<i>F. v</i>	<i>F. g</i>	<i>F. s</i>	<i>F. p</i>	<i>F. c</i>	<i>F. po</i>	<i>F. sa</i>
7	Nvo. Paraíso	Gro.	2	1		1				
8	El Pueblito	Edo. de Méx.	8	4		4				
17	Huamelulpan	Oax.	2			2				
27	Cuesta Blanca	Oax.	9	5		4				
28	El Chamizal	Oax.	12	3		9				
31	El Chamizal	Oax.	3			2	1			
37	Nanacamilpa	Tlax.	2			2				
43	Ayapango	Edo. de Méx.	3	1		2				
46	Ayapango	Edo. de Méx.	6	4		2				
47	Ayapango	Edo. de Méx.	1			1				
54	Tixtla	Gro.	1	1						
6	Nvo. Paraíso	Gro.	1	1						
55	Chilacachapa	Gro.	1					1		
51	Montecillo	Edo. de Méx.	1			1				
49	Zoateopan	Pue.	1	1						
39	V. Gro	Tlax.	1	1						
38	Libres	Pue.	3	1		1			1	
36	Libres	Pue.	1	1						
32	Huamelulpan	Oax.	1			1				
30	Fortin De Ticuá	Oax.	2	1		1				
24	Zitlala	Gro.	1		1					
22	Tixtla	Gro.	2	2						
20	Nvo. Paraíso	Gro.	1	1						
19	Zitlala	Gro.	1				1			
17	Almolonga	Gro.	1							1
Total			67	28	1	33	2	1	1	1
				43 %	2 %	51 %	3 %	2 %	2 %	2 %

F. subglutinans (*F. s*), *F. verticillioides* (*F. v*), *F. graminearum* (*F. g*), *F. proliferatum* (*F. p*), *F. culmorum* (*F. c*), *F. poae* (*F. po*) y *F. sacchari* (*F. sa*).

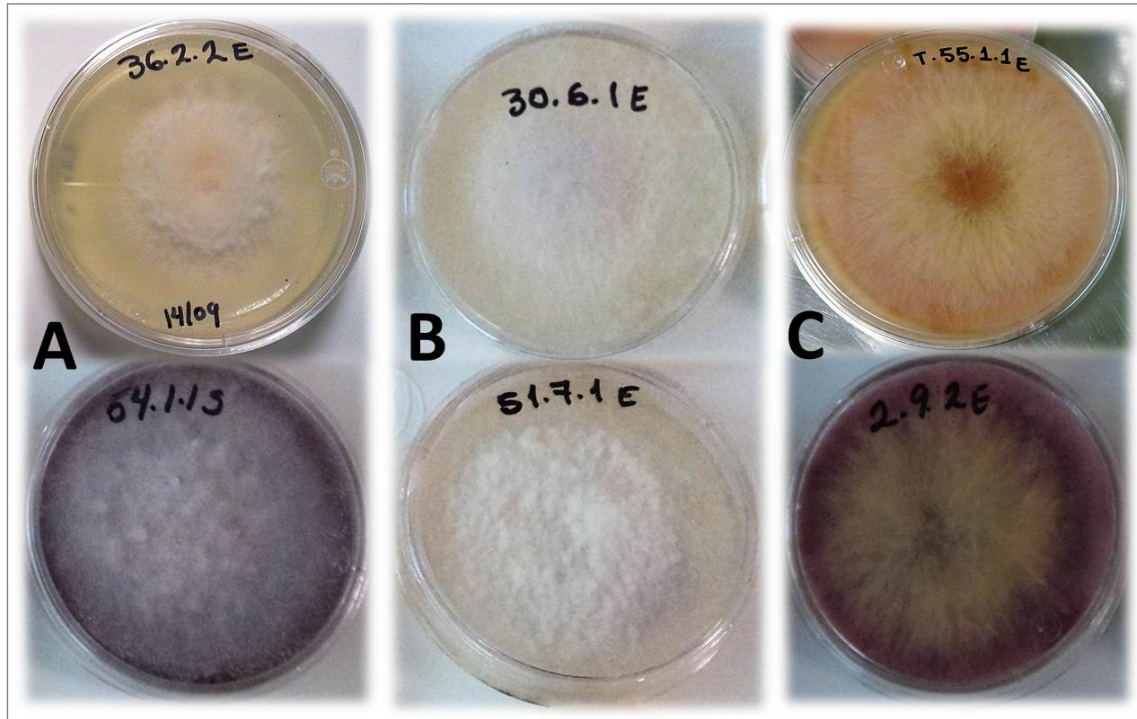


Figura IV.3. Cepas de *Fusarium* aisladas de mazorcas de maíz con síntomas de pudrición: A) *F. verticillioides*, B) *F. subglutinans* y C) *F. graminearum*, en medio PDA (papa, dextrosa, agar).

Análisis isoenzimático

Número de alelos

Se encontraron 67 alelos en 23 loci distribuidos en las 44 poblaciones de maíz analizadas, con un promedio de 3 alelos por locus, y 59 alelos en 10 loci para las 36 poblaciones de *Fusarium* spp. con un promedio de 6 alelos por locus.

Porcentaje de loci polimórficos

Las 44 poblaciones de maíz nativo de origen geográfico diverso presentaron en promedio 17 loci polimórficos lo cual muestra la diversidad genética en estas

poblaciones de maíz nativo. En conjunto, las poblaciones nativas presentaron un promedio de 70 % de loci polimórficos, resultados semejantes al 76.5 % encontrados por Hortelano (2006) en poblaciones nativas de maíz del valle de Puebla. Por otra parte, las poblaciones del patógeno alcanzaron un promedio de seis loci polimórficos que representa un 60 % (Cuadro IV.5).

Crossa *et al.* (1993) han argumentado que el polimorfismo es un factor primordial para explicar la evolución, ya que la presencia de variantes alternativas permite que las especies puedan responder mejor a los retos del medio en que viven; en consecuencia, poblaciones con mayor polimorfismo tendrán mayor diversidad genética y, por tanto, mayor capacidad de adaptación al ambiente y en consecuentemente mayor posibilidad de evolución.

Cuadro IV.5. Número de alelos y loci polimórficos encontrados por medio del análisis isoenzimático en 44 poblaciones de maíz, 33 de *Fusarium* spp. y las poblaciones testigo. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2013.

Ponb/Origen	Maíz nativo		<i>Fusarium</i> spp.		Locus	Número alelos	
	Núm. LP*	% LP*	Núm. LP*	% LP*		Maíz	<i>Fusarium</i> spp.
Test	7	30.43			ACP-1	3	7
17Oax	15	65.22	6	60	ACP-4	4	-
27Oax	17	73.91	8	80	CAT	6	5
28Oax	15	65.22	6	60	EST-1	3	8
30Oax	18	78.26	8	80	EST-2	3	8
31Oax	19	82.61	8	80	GLU	6	8
32Oax	14	60.87	5	50	IDH-A	2	5
33Oax	13	56.52	6	60	IDH-B	2	-
34Oax	16	69.57	6	60	PGD-A	3	5
9Oax	15	65.22			PGD-B	3	-
10Oax	18	78.26			PGM-A	2	6
2Tlax	16	69.57	6	60	PGM-B	2	-
4Tlax	18	78.26	4	40	PHI	4	6
5Tlax	16	69.57	4	40	MDH-A	2	1
13Tlax	14	60.87	7	70	MDH-B	2	-
39Tlax	19	82.61	6	60	MDH-C	1	-
40Tlax	18	78.26	2	20	MDH-D	1	-
37Tlax	17	73.91	5	50	MDH-E	2	-
57Tlax	18	78.26			ME	3	-
3Tlax	16	69.57			GOT-A	4	-
15Pue	16	69.57	5	50	GOT-M	3	-
16Pue	18	78.26	6	60	GOT-B	3	-
36Pue	13	56.52	5	50	SAD	3	-
38Pue	16	69.57	7	70			
49Pue	19	81.61	3	30			
50Pue	15	65.22					
6Gro	15	65.22	6	60			
7Gro	13	56.52	4	40			
19Gro	12	52.17	5	50			
20Gro	14	60.87	6	60			
22Gro	15	65.22	7	70			
24Gro	18	78.26	6	60			
54Gro	17	73.91	5	50			
55Gro	19	73.91	8	80			
18Gro	17	73.91					
25Gro	18	78.26					
23Gro	14	60.87					
8EMex	16	69.57	7	70			
43EMex	18	78.26	2	20			
46EMex	16	69.57	9	90			
47EMex	17	73.91	7	70			
51EMex	17	73.91	8	80			
44EMex	16	69.57					
45EMex	37	73.91					
48Hgo	19	82.61					
Id. <i>F. graminearum</i>			7	70			
Id. <i>F. subglutinans</i>			6	60			
Id. <i>F. verticillioides</i>			8	80			
Promedio	17	70	6	59		3	6

* LP: Loci polimórficos

El análisis de componentes principales realizado con las frecuencias génicas, para el caso de maíz, mostró que los alelos que más aportaron en la determinación de los primeros componentes fueron GLU_a, GLU_e, GOT-M_a, GOT-M_b para el primer componente; MDH-B_a, MDH-B_b, GOT-A_d para el segundo y EST-2_c, EST-2_a, ACP-4_c para el tercero, los cuales explicaron el 27% de la varianza total.

El plano determinado por los componentes principales 1 y 2 muestra una dispersión de las poblaciones de maíz de acuerdo a su origen y tipo de maíz (Figura IV.4).

Para las poblaciones de *Fusarium* spp. los tres primeros componentes principales explicaron el 38 % de la varianza total y los alelos que más aportaron en la determinación de los primeros componentes fueron GLU_g, EST-2_c, GLU_i y ACP_f para el primer componente; EST-2_d, EST-1_d, GLU_e y CAT_d para el segundo componente y EST-1_a, EST-1_e, CAT_b para el tercer.

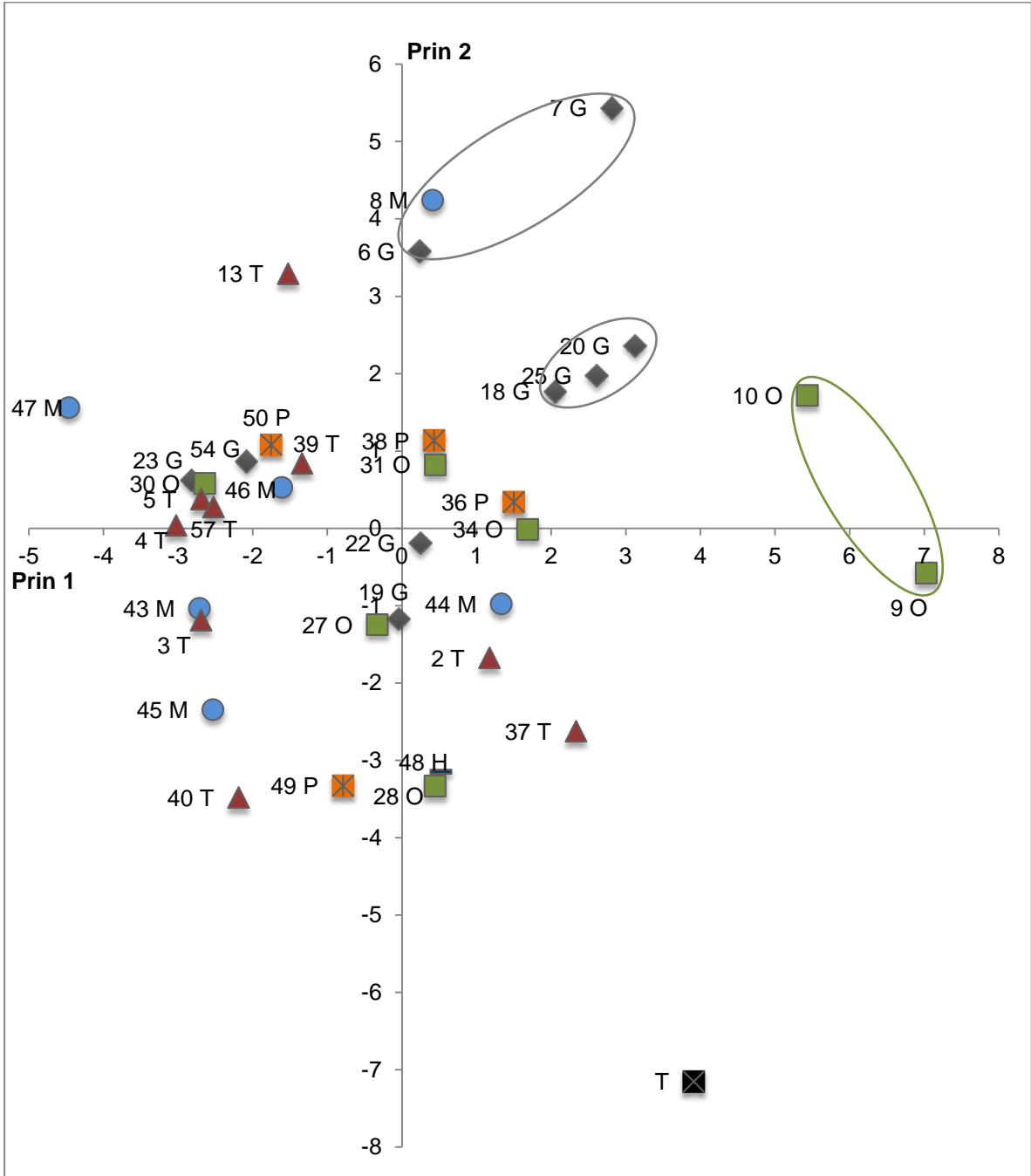


Figura IV.4. Dispersión de 44 poblaciones de maíz nativo con base en los dos primeros componentes principales, Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2013.

◆ Guerrero ■ Oaxaca ▲ Tlaxcala ● México ■ Puebla – Hgo ■ Testigo

Las isoenzimas esterasas han resultado de gran utilidad para distinguir diferentes aislamientos de especies relativamente cercanas de *Fusarium* (Adame-García *et al.*, 2011) por otra parte el polimorfismo de la enzima Catalasa se ha asociado a factores de virulencia en hongos fitopatógenos (Beltrán *et al.*, 2006).

La dispersión de las 33 poblaciones de *Fusarium* spp. en el plano de los componentes principales 1 y 2 mostró una tendencia a agruparse de acuerdo al origen geográfico de las colectas. En cuanto a las poblaciones testigo, las poblaciones identificadas como *F. verticillioides* y *Fusarium subglutinans* se colocaron muy cerca una de otra, lo que muestra la similitud entre esas dos especies (Figura IV.5), razón por la cual su identificación morfológica es difícil; por su parte, la población de *Fusarium graminearum* se separa claramente de ambas, lo anterior muestra la capacidad de las isoenzimas para mostrar diferencias entre especies.

El que las 33 poblaciones conformadas por 14 aislamientos de *Fusarium* no identificados claramente se coloquen alrededor de *F. verticillioides* y *F. subglutinans* indicaría que dentro de esas poblaciones prevalecen las especies del complejo *Gibberella fujikuroi*; además, esto pudiera indicar en general que estas especies son las principales causantes de la pudrición de mazorca del maíz en la región explorada.

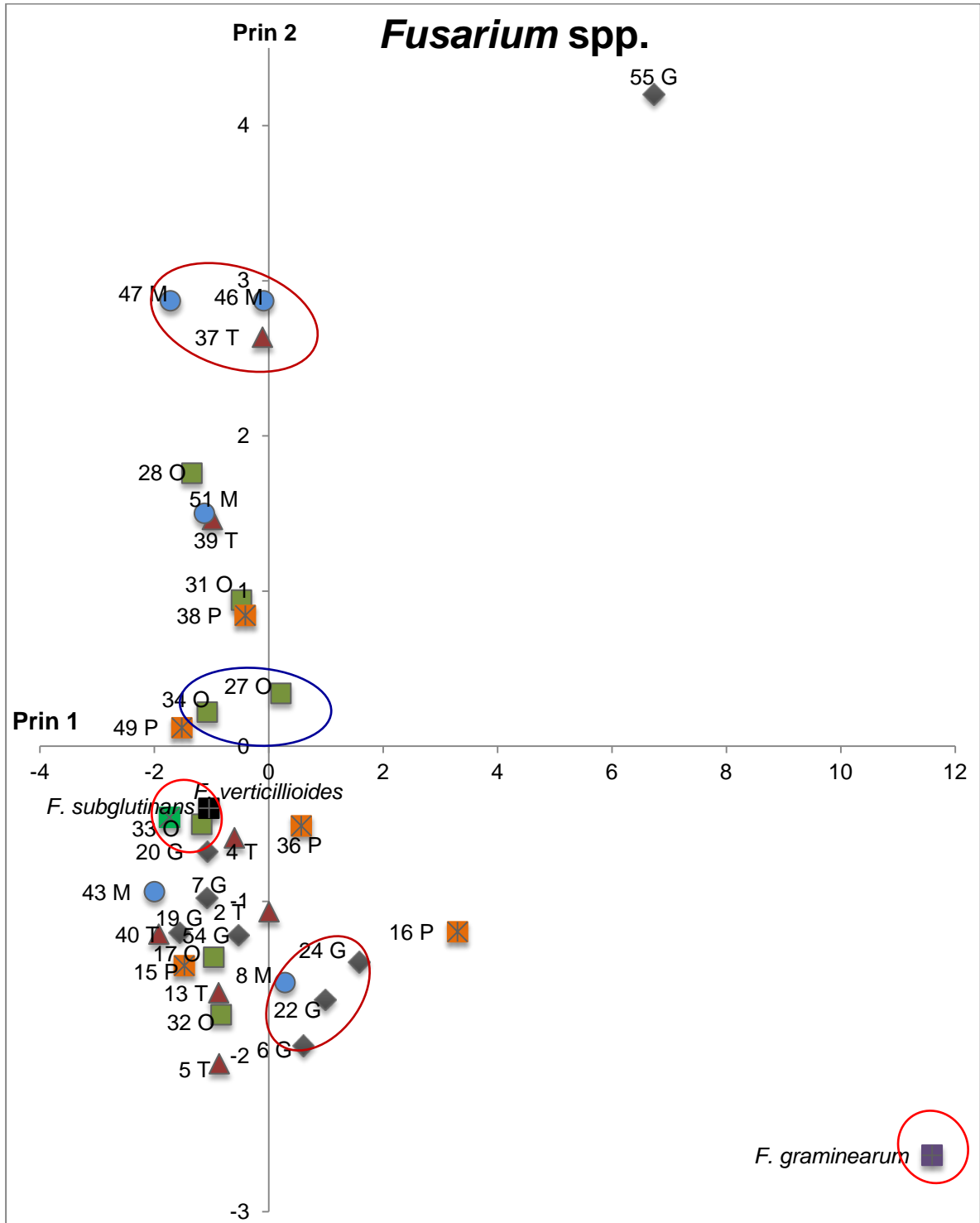


Figura IV.5. Dispersión de 33 poblaciones de *Fusarium* spp., una de *F. verticillioides*, una de *F. subglutinans* y una de *F. graminearum*, con base en los dos primeros componentes principales, Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx. 2013.

La interacción de la selección, deriva genética, migración, y mutación tiene un efecto importante sobre la estructura genética y diversidad de las poblaciones de patógenos. Los papeles relativos de estos factores pueden cambiar notablemente entre ecosistemas agrícolas y naturales, dando lugar a la diversidad genotípica de hongos patógenos dentro y entre diferentes poblaciones. Un factor de especial importancia en este proceso interactivo es el tamaño de las poblaciones de patógenos (Burdon y Silk, 1997).

O'Donnell *et al.* (1998) han propuesto diferentes orígenes geográficos para las distintas poblaciones de apareamiento de *G. fujikuroi*. A pesar de su importancia económica y amplia distribución, la organización demográfica de las poblaciones de estos hongos no está bien entendida y las especies dominantes en cada región dependen del área en estudio.

CONCLUSIONES

Las poblaciones de maíz y de *Fusarium* spp. mostraron un patrón de agrupación de acuerdo a su procedencia geográfica.

La variación observada en el patosistema Maíz- *Fusarium* spp. está relacionada con la variación ecológica existente en la zona de exploración localizada entre los 1490 y 2720 msnm, la cual involucra amplia variación ecológica, generando diversidad en ambos organismos.

Hay pocos estudios de la diversidad genética a nivel de patosistema, estos resultados preliminares indican que es necesario estudiar con mayor detalle la variación genética en los patosistemas vegetales, para determinar patrones de variación conjunta de fitopatógenos y sus hospedantes.

BIBLIOGRAFÍA

- Adame-García, J., Á. R. Trigos-Landa, L. G. Iglesias-Andreu, N. Flores-Estevez, y M. Luna-Rodríguez. 2011. Variaciones isoenzimática y patogénica de *Fusarium* spp. asociadas con la pudrición de tallo y raíz de vainilla. *Trop. and Subtrop. Agroecosyst.* 13(3): 299-306.
- Arauz-Cavallini, L. F. 1998. *Fitopatología: un Enfoque Agroecológico* San José, Editorial de la Universidad de Costa Rica, C. R., disponible en: <http://www.biblioteca-pdf.info/2012/09/fitopatologia-un-enfoque-agroecologico.html?m=0>
- Beltrán-García, M. J., T. Ogura-Fujii, G. Manzo-Sánchez, C. Arias-Castro. 2006. Catalasas de hongos fitopatógenos: ¿Factores de virulencia y resistencia a los fungicidas?. *Rev. Méx. Fitopatol.* 24:50-58.
- Bonde, M. R., J. A. Micales, and G. L. Peterson. 1993. The use of isozyme analysis for identification of plant-pathogenic fungi. *Plant Disease* 77: 961-968.
- Booth, C. 1971. *The genus Fusarium*. Kew. Commonwealth Mycological Institute. 237p.
- Burdon, J. J. and J. Silk. 1997. Sources and patterns of diversity in plant pathogenic fungi. *Phytopathology* 87(7):664-669.
- Crossa, J., C. M. Hernández, P. Bretting, S. A. Eberhart and S. Taba. 1993. Statistical genetic considerations for maintaining germplasm collections. *Theor. Appl. Genet.* 86:673-678.
- Doebley, J. F., M. M. Goodman, and C. W. Stuber. 1986. Exceptional genetic divergence of Northern flint corn. *Amer. J. Bot.* 73:64-69.
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus* 12:13-15.
- Goodwin, S. B. 2004. Isozyme analysis in fungal taxonomy, genetics, and population biology. *Fungal biotechnology in agricultural, food, and environmental applications*: 37-47.

- Herrera C., B. E., F. Castillo G., J. J. Sánchez G., J. M. Hernández C. R. A. Ortega P. y M. M. Goodman. 2004. Diversidad del maíz Chalqueño. *Agrociencia* 38 (2):191-206.
- Hortelano S., R. R. 2006. Diversidad morfológica y genética de maíces nativos del Valle de Puebla. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 177p.
- McDonald, B. A., and J. M. McDermott. 1993. Population genetics of plant pathogenic fungi. *Bioscience* 43:311-319.
- Micales, J. A., and M. R. Bonde. 1995. Isozymes: Methods and Applications. *In*: R. P. Singh and U. S. Singh (ed) *Molecular Methods in Plant Pathology*, CRC/Lewis Pub. Boca Ratón. London-Tokio- USA. 544p
- O'Donnell, K., E. Cigelnikand, and H. I. Nirenberg, 1998. Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia* 90: 465-493.
- Ortega P., R. 2003. La diversidad del maíz en México. *En*: G. Esteva y C. Marielle (eds.). *Sin Maíz no hay País*. CONACULTA. México D. F. pp.123-154.
- Rohlf, F. J. 1988: NTSYS-pc: Numerical taxonomy system for the IBM PC microcomputer (and compatibles), version 1.40 Manual. Setauket, New York, U.S.A.: Biostatistics Inc.
- Sánchez G., J. J., M. M. Goodman, and C. W. Stuber. 2000. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Econ. Bot.* 54:43–59.
- Stuber, C. W., J. F. Wendel, M. M. Goodman, and J. S. C. Smith. 1988. Techniques and scoring procedures for starch gel electrophoresis of enzymes from maize (*Zea mays* L.). Technical Bulletin No. 285. North Carolina State Univ. Raleigh, North Carolina. 87p.
- 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. OEE-SAG. Folleto No.5. México, D. F. 236 p.
- Yeh, F. C., and R. Yang. 1999. POPGENE, version 1.31. University of Alberta, Edmonton.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN GENERAL

Aunque desde tiempos muy remotos existía el conocimiento de que las variedades diferían en su aptitud para soportar las enfermedades, esto no fue utilizado hasta el siglo XIX, en que se diseñaron los primeros programas para la producción de variedades (Allard, 1970).

La resistencia a las plagas y enfermedades es un aspecto especial del mejoramiento genético y juega un papel importante en la producción desde el punto de vista económico; sin embargo, el estudio de enfermedades en plantas se ha enfocado a contabilizar la diversidad de manera separada, muchas veces sin tomar en cuenta el origen geográfico de las poblaciones, por lo que existen pocos trabajos que involucran al hospedante y al patógeno en un rango más amplio tratando de entender el patosistema en un ambiente geográfico.

Resultado de una primera evaluación como parte de esta investigación, se pudo observar el efecto del ambiente en la severidad de la enfermedad a través de las tres localidades de evaluación y de un ciclo a otro; así como también la respuesta diferencial en cuanto a resistencia/tolerancia de las poblaciones de maíz ante el inóculo de *Fusarium spp.* local en el sitio de evaluación.

Así, los resultados mostraron que en algunos casos el mover material (semillas) de un lugar a otro puede dar lugar a un mayor grado de susceptibilidad a las enfermedades, lo anterior hace recordar el caso de la susceptibilidad de híbridos

de maíz como el H-353 ante el carbón de la espiga, situación que se repite ahora con híbridos de maíz en el estado de Hidalgo, Méx..

Probablemente en ese movimiento de poblaciones de maíz esté la razón del por qué las diferencias en severidad de las enfermedades en plantas.

La variación en respuestas de las poblaciones de maíz ante el inóculo de *Fusarium* spp. local en los tres ambientes de evaluación en campo, se atribuye a las diferencias en ambiente, resistencia /tolerancia en las poblaciones de maíz, así como la variación en virulencia de *Fusarium* spp. que ya ha sido observada por Bacon *et al.* (1994) e Iglesias *et al.* (2010) y que además se corroboró con la evaluación realizada en plántula, donde los aislamientos procedentes del sureste del estado de México resultaron ser los más virulentos.

La baja correlación entre la respuesta de las poblaciones a nivel de plántula y planta adulta (mazorca) resultó baja y negativa; un caso similar fue observado en el patosistema frijol-roya por Ochoa *et al.* (2007) quienes no encontraron asociación entre la evaluación en la etapa de plántula y la resistencia cuantitativa o parcial en la etapa de planta adulta en el campo. Por lo tanto, en la evaluación de la resistencia y virulencia en un patosistema puede requerir pruebas tanto en plántula, como en planta adulta, para tener un mejor control y resolver de manera efectiva el problema de enfermedades.

Cabe mencionar que en la evaluación realizada en Montecillo, Edo Méx., es difícil definir claramente si algunos tipos o poblaciones de maíz responden de manera diferencial dada la posible mezcla de patógenos en el campo experimental

por la introducción de materiales y por consecuencia sus patógenos de transmisión por semilla. Aunque por otra parte al tener un mejor control del cultivo, se puede observar el potencial que tienen las poblaciones de maíz en cuanto a rendimiento.

Respecto a la diversidad genética en el patosistema, ambas poblaciones (maíz y *Fusarium* spp) obedecieron a un patrón principal determinado por el origen geográfico, además de características propias del tipo de maíz y especie en el caso del hongo.

Las fuerzas evolutivas que operan en y entre los patosistemas no son bien conocidas. Los resultados de este trabajo y las investigaciones futuras sobre la genética de poblaciones del huésped y los patógenos (patosistemas) permitirán un mejor planteamiento de que aspectos debieran estudiarse en la relación planta - patógeno, y diseñar estrategias de mejoramiento que garanticen resolver el problema de enfermedades.

Los estudios empíricos de las interacciones huésped-patógeno naturales han demostrado que, si bien en algunos casos los patógenos parecen ser adaptados localmente para sus anfitriones, en otros no existe una correspondencia local entre la resistencia y los genes de virulencia (Thrall y Burdon, 1997).

Es necesario estudiar más a fondo esta interacción patógeno – hospedero a nivel de su expresión en campo, ampliando la exploración geográfica del patógeno en al menos dos ambientes contrastados.

BIBLIOGRAFÍA

- Allard, R. W. 1970. Principios de la Mejora Genética de las Plantas. La Habana: Edición revolucionaria, 498 p.
- Bacon, C. W., D. M. Hinton, and M. D. Richardson. 1994. A corn seedling assay for resistance to *Fusarium moniliforme*. Plant Dis. 78:302-305.
- Iglesias, J., D. Presello, G. Botta, G. Lori, and C. Fauguel. 2010. Aggressiveness of *Fusarium* Section *Liseola* isolates causing maize ear rot in Argentina. J. Plant Pathol. 92(1): 205-211.
- Ochoa, J., E. Cruz, A. Murillo, and L. D. Danial. 2007. Variation in virulence and resistance in the bean- bean rust pathosystem in Ecuador. Euphytica 153:313-319.
- Thrall, P. H., and J. J. Burdon. 1997. Host-pathogen dynamics in a metapopulation context: the ecological and evolutionary consequences of being spatial. Journal of Ecology 85:743–753.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES GENERALES

Las poblaciones de maíz nativo de sitios, principalmente sobre los 2000 m de altitud en varios estados de México, expresaron respuestas diferenciales a la pudrición de mazorca por *Fusarium* spp., tanto de manera individual como agrupadas por origen geográfico y por color. Los maíces con endospermo/pericarpio amarillo y rojo, y los procedentes del estado de Oaxaca mostraron los más bajos porcentajes de infección/daño por *Fusarium* spp.

Los efectos de interacción procedencia geográfica del maíz por localidad de evaluación, mostraron que los maíces locales tienden a presentar menor daño por *Fusarium* spp. así como mayor rendimiento en cada ambiente de evaluación.

Todos los aislamientos utilizados en la evaluación en plántula fueron capaces de infectar las raíces de las plántulas de maíz, con diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la medición de daño visual, por lo que se puede afirmar que existe variación en virulencia entre fuente de inóculo procedentes de distintas regiones geográficas.

El inóculo formado con aislamientos procedentes del estado de México resultó ser el más virulento, mientras que el del Edo de Guerrero el que causó menor daño en plántulas de las poblaciones de maíz. La severidad de la infección afectó negativamente el peso de materia seca de la plántula completa.

El análisis isoenzimático permitió determinar la variación existente entre poblaciones de maíz nativo y poblaciones de *Fusarium* spp. La variación genética encontrada estuvo relacionada con la diversidad morfológica observada. La dispersión de las poblaciones en el trazado de los dos primeros componentes principales muestra la variación genética existente en ambos grupos de poblaciones (maíz y *Fusarium* spp.) a pesar de las similitudes de planta y mazorca en el caso de maíz y coloraciones del micelio para el caso de aislamientos de *Fusarium*.

La agrupación de ambas poblaciones (maíz – *Fusarium*) siguió un patrón de acuerdo a las localidades o regiones de origen.

Los agricultores han aplicado selección a través de los años, logrando obtener materiales adaptados a las condiciones ambientales regionales, lo cual indirectamente ha tenido un impacto en la resistencia a tolerancia a enfermedades, manteniendo el equilibrio de los patógenos.

La cuantificación de la diversidad en el patosistema resulta importante para diseñar programas de mejoramiento genético de poblaciones nativas de maíz con enfoque a resistencia/ tolerancia a enfermedades como es la pudrición de mazorca por *Fusarium* spp.

ANEXO

Muestras de maíz nativo colectadas en 2010.

Pobn	Localidad	Municipio	Edo.	msnm	N (°, ', ")	w (°, ', ")	Agricultor	Color
1	El Nuevo Paraíso	Cualác	Gro.	2222	17, 41, 30.1	99, 44, 50.9	Martha Reyes M.	Rojo
2	Sta. Justina	Ixtacuixtla	Tlax.	2220	19, 18, 28.77	98, 21, 30.46	Manuel Briones	Amarillo
3	Sta. Justina	Ixtacuixtla	Tlax.	2220	19, 18, 28.77	98, 21, 30.46	Inés Méndez	Blanco
4	Sta. Justina	Ixtacuixtla	Tlax.	2220	19, 18, 28.77	98, 21, 30.46	Lola	Blanco
5	Los reyes Q.	Totolac	Tlax.	2300	19, 20, 6.3	98, 14, 57.4	Cristina Vázquez P.	Blanco
6	El Nuevo Paraíso	Cualác	Gro.	2222	17, 41, 30.1	99, 44, 50.9	Martha Reyes M.	Amarillo
7	El Nuevo Paraíso	Cualác	Gro.	2222	17, 41, 30.1	99, 44, 50.9	Martha Reyes Máximo	Azul
8	El pueblito	Tepetlixpa	Méx.	2270	19, 00, 50.94	98, 50, 36.31		BlancoAn
9	Sta. María Tataltepec	Tataltepec	Oax.	1614	17, 08, 27.66	97, 23, 33,71	Elid Lonaciano Cruz H.	Azul
10	Sta. María Tayata	Tayata	Oax	2113	17, 20, 48.56	97, 33, 30 27	Gustavo Aguilar Sánchez	Blanco
11	Sta. Justina	Ixtacuixtla	Tlax.	2220	19, 18, 28.77	98, 21, 30.46	Manuel Briones	Azul
12	Sta. Justina	Ixtacuixtla	Tlax.	2220	19, 18, 28.77	98, 21, 30.46	Lola	Blanco
13	Sta. Justina	Ixtacuixtla	Tlax.	2220	19, 18, 28.77	98, 21, 30.46	Luisa Reyes J.	Azul
14	Sta. Justina	Ixtacuixtla	Tlax	2220	19, 18, 28.77	98, 21, 30.46	Luisa	Blanco
15	2)San J. Morelos	Libres	Pue.	2400	19, 27, 52.46	97, 41, 06.27	Miguel Flores Simón	Blanco
16	3) S. J. Morelos	Libres	Pue	2400	19, 27, 52.46	97, 41, 06.27	Francisco Flores simón	Amarillo
17	Huamelulpan	Huamelulpan	Oax.	2290	17, 32, 59.93	97, 25, 0.0	Guadalupe Bernabé	Amarillo
18	Almolonga	Tixtla	Gro.	1698	17, 38, 12.6	99, 17, 42.8	Santiago Godines F.	BlancoAn
19	Las Trancas	Zitlala	Gro.	1564	17, 42, 15.8	99, 13, 26.5	Juana Santos Córdova	Azul
20	El Nuevo Paraíso	Cualác	Gro.	2222	17, 41, 30.1	99, 44, 50.9	Ma. Nieves Merced	Rojo
21	Ojitos de agua	Tixtla	Gro.	1593	17, 35, 56.5	99, 20, 35.4	Josefina Tolentino V.	BlancoAn
22	Ojitos de agua	Tixtla	Gro.	1593	17, 35, 56.5	99, 20, 35.4	Hermenegilda Bartolo	BlancoAn
23	El refugio	Chilapa	Gro.	1536	17, 33, 27.5	99, 12, 32.6	Evaristo Sánchez G.	Blanco
24	Las Trancas	Zitlala	Gro.	1564	17, 42, 15.8	99, 13, 26.5	Juana Santos Córdova	BlancoAn
25	El Ahuejote	Tixtla	Gro.	1838	17, 34, 41.5	99, 16, 48.2	Silverio Vázquez G.	Blanco
26	Sn. M. Huamelulpan	Huamelulpan	Oax.	2290	17, 32, 59.93	97, 25, 0.0	Guadalupe Bernabé	Rojo
27	Cuesta Blanca	Magdalena Peñasco	Oax.	2143	17, 14, 32.3	97, 34, 21.9	Martin Mendoza Maldonado	Blanco
28	El Chamizal	Sta. Catarina Ticuá	Oax	2285	17, 0.4, 17.2	97, 32, 59.6	Benito Cruz Vázquez	Blanco
29	El Chamizal	Sta. Catarina Ticuá	Oax.	2285	17, 0.4, 17.2	97, 32, 59.6	Benito Cruz Vázquez	Azul
30	Fortín de Juárez	Sta. Catarina Ticuá	Oax.	2287	17, 0.3, 13.2	97, 31, 39.4	Agente: Federico	Rojo
31	El Chamizal	Sta. Catarina Ticuá	Oax.	2285	17, 0.4, 17.2	97, 32, 59.6	Benito Cruz Vázquez	Blanco

Pobn	Localidad	Municipio	Edo.	msnm	N (° , ' , ")	w (° , ' , ")	Agricultor	Color
32	De la unión	Huamelulpan	Oax	2228	17, 20, 15.09	97, 37, 13.2	Noé López Cruz	Blanco
33	De la unión	Huamelulpan	Oax	2228	17, 20, 15.09	97, 37, 13.2	Noé López Cruz	Rojo
34	De la unión	Huamelulpan	Oax.	2228	17, 20, 15.09	97, 37, 13.2	Noé López Cruz	Amarillo
35	Cuesta Blanca	Magdalena Peñasco	Oax.	2143	17, 14, 32.3	97, 34, 21.9	Delfino Cruz Ortiz	Azul
36	1) S. J. Morelos	Libres	Pue	2400	19, 27, 52.46	97, 41, 06.27	Fausto Flores Simón	Blanco
37	Nanacamilpa	Nanacamilpa	Tlax.	2720	19,29, 31.41	98,32, 09.58	Emigdio Taboada	Blanco
38	4) S. J. Morelos	Libres	Pue.	2400	19, 27, 52.46	97, 41, 06.27	Miguel Flores Simón	Azul
39	Vicente Guerrero	Españita	Tlax	2521	19, 25,22.	98, 29, 22	Clara Sánchez	Azul
40	Vicente Guerrero	Españita	Tlax.	2521	19, 25,22.	98, 29, 22	Clara Sánchez	Blanco
41	Tlapala 2008 Sel. Masal	Chalco	Méx.	2264	19, 14, 21.98	98, 50, 52.11	Eufrasio Ramírez M.	Crema
42	Tlapala 2008 Sel. Masal	Chalco	Méx.	2264	19, 14, 21.98	98, 50, 52.11	Enrique Hernández G.	Blanco
43	Sel-2009 Sel. Masal	Chalco	Méx.	2264	19, 14, 21.98	98, 50, 52.11	Pedro Cruz Linares	Blanco
44	Ay-09 Sel. Masal	Ayapango	Méx.	2440	19, 07, 53.04	98, 98, 19.97	Marcelino Cadena	Crema
45	♂ Desespigam-09 FMH	Montecillo	Méx.	2249	19, 28, 06.62	98, 53, 54.96		Blanco
46	Poxtla -09 Sel. Masal	Ayapango	Méx.	2452	19, 08, 11.97	98, 47, 55.16	Manuel Montes de Oca	Azul
47	Tlapala 2009 Sel. Masal	Chalco	Méx.	2264	19, 14, 21.98	98, 50, 52.11	Pedro Hernández G.	Crema
48	iTS0 EH Sel. Masal	Hidalgo	Hgo.	2003	20, 13, 52.02	99, 12, 47.00		Azul
49	Zoatecpán	Xochitlán	Pue	1610	19,56,06.98	97, 37,10.62	Isabel Zabaleta	Amarillo
50	Zoatecpán	Xochitlán	Pue	1610	19,56,06.98	97, 37,10.62	Carmelo Tamaniz	Blanco
51	FMH 4A Ancho	Montecillo	Méx.	2249	19, 28, 06.62	98, 53, 54.96	Palemón	BlancoAn
52	Col 21-010 Ayap	Ayapango	Méx.	2440	19, 07, 53.04	98, 98, 19.97	Antonio Sánchez Díaz	Blanco
53	Col 24-010 Ayap	Ayapango	Méx.	2440	19, 07, 53.04	98, 98, 19.97	Juan D. Márquez Padilla	Blanco
54	Plan de Guerrero	Tixtla	Gro.	1498	17, 35, 27.2	99, 21, 20.9	Eulalia Juárez Barrera	Rojo
55	Chilacachapa	Tixtla	Gro.	1969	17, 33, 30.5	99, 16, 42.9	Adrián de Jesús	Azul
56	Hibrido Azul	Texcoco	Méx.				Dr. Moisés M.	Azul
57	"Cañuela" Vicente Gro	Españita	Tlax.	2527	19, 25, 24.71	98, 29, 20.62	Pánfilo Hdez.	Crema