



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN  
CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO  
POSTGRADO DE FITOSANIDAD  
FITOPATOLOGÍA**

**DINÁMICA TEMPORAL DE LOS PRINCIPALES HONGOS  
FITOPATÓGENOS ASOCIADOS A LAS RAÍCES DE MAÍZ  
CRIOLLO AZUL (*Zea mays* L. raza Chalco) Y DEL  
ANCESTRO SILVESTRE TEOCINTLE (*Zea mays* subsp.  
*mexicana*)**

**DIANA BELÉN VILLA DELGADO**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO**

2015

La presente tesis titulada: **DINÁMICA TEMPORAL DE LOS PRINCIPALES HONGOS FITOPATÓGENOS ASOCIADOS A LAS RAÍCES DE MAÍZ CRIOLLO AZUL (*Zea mays* L. raza Chalco) Y DEL ANCESTRO SILVESTRE TEOCINTLE (*Zea mays* ssp. *mexicana*)** realizada por la alumna: **DIANA BELÉN VILLA DELGADO** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**FITOSANIDAD  
FITOPATOLOGÍA**

**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERA

  
\_\_\_\_\_  
DRA. MARÍA DEL PILAR RODRÍGUEZ GUZMÁN

ASESORA

  
\_\_\_\_\_  
DRA. MARÍA DE JESÚS YÁÑEZ MORALES

ASESOR

  
\_\_\_\_\_  
DR. FERNANDO CASTILLO GONZÁLEZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México. Febrero, 2015.

## AGRADECIMIENTOS

A los mexicanos que mediante sus impuestos y a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) financiaron e hicieron posible la obtención del presente grado.

Al Colegio de Postgraduados, por darme la oportunidad de continuar con mi formación profesional.

A mi consejo particular integrado por los Doctores: Ma. del Pilar Rodríguez Guzmán, Ma. de Jesús Yáñez Morales y Fernando Castillo González, por todos los conocimientos compartidos, la paciencia otorgada y la amistad brindada. Particularmente a la Dra. Ma. del Pilar Rodríguez Guzmán por dirigir con tenacidad y entrega este trabajo, por su calidad humana y profesionalismo; porque además de ser mi profesora académica, ha sido una gran amiga, en quien confiar. Por esas y muchas más razones le doy las gracias 😊.

A los profesores que fueron parte de mi formación académica.

A la Mc. Judith Alfonsina Hernández, por su disponibilidad en la asesoría de la extracción del material genético.

A la Ing. Carmen Alicia Zúñiga Silvestre por su sencillez y disponibilidad en la asesoría de la extracción y amplificación del material genético.

Al Mc. Jorge Valdés Carrasco, por la disponibilidad y asesoría en la edición de imágenes.

A mis compañer@s y amig@s: Edwin Hdez., Yessí, Yolis, Alma Rosa, Guillermo, Rafael, Alfonso, Isabel, Carlos, Silvia; quienes me brindaron su amistad e hicieron mi estancia muy agradable.

Al sr. Roberto Romero por su amistad y apoyo.

## DEDICATORIAS

### A DIOS:

Por darme la vida, por darme las fuerzas cuando débil me he encontrado, por la sabiduría para concluir una meta más en mi vida, por mi familia que es lo más especial que me has dado; y sobre todo; gracias por permitirme ocupar este espacio, en este tiempo.

### A mis padres:

Alejandrina y Margarito

Por darme la oportunidad de existir, por su ejemplo de superación incansable, por su comprensión y confianza y porque sin su apoyo no hubiera sido posible la culminación de esta tesis. Este logro se los debo a ustedes, quienes con su amor, esfuerzo y dedicación, me han permitido llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy.

### A mis hermanos:

Leonel, Adrián y Nazario

Mis hermanos son fuertes, pero tienen sentimientos, me cuidan, pero tienen una vida, saben mucho, pero han cometido errores, los admiro, pero no son perfectos, nos hemos peleado, pero nunca dejaron de ser mis hermanos, porque soy parte de ellos, no su todo, pero sé que me aman y los amo.

### A mis sobrinos:

Karlita, Max, Janny y Joshua

Quienes con su llegada, han llenado nuestras vidas de amor y alegría.

### A mis familiares:

Prím@s, tí@s, por su apoyo incondicional. Y especial A mi abuelita Juanita por sus constantes oraciones para concluir esta meta.

### A tí:

Eslit Cortes Hernández

Que puedo decirte que no te haya dicho ya. Eres una de las mejores razones por las que soy feliz, y quiero agradecerte por tu apoyo incondicional, por estar conmigo, y por todos los momentos que hemos compartido juntos, es un privilegio tenerte a mi lado, porque en las buenas y en las malas siempre has estado a mi lado. ¡Gracias! 😊

## CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>iii</b>
<b>DEDICATORIAS</b> .....	<b>iv</b>
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	<b>vii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>viii</b>
<b>RESUMEN GENERAL</b> .....	<b>x</b>
<b>GENERAL ABSTRACT</b> .....	<b>xi</b>
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	<b>12</b>
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	<b>13</b>
<b>HIPÓTESIS GENERAL</b> .....	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA GENERAL</b> .....	<b>14</b>
1.1 El cultivo del maíz.....	14
1.1.1 Importancia agronómica mundial y en México .....	14
1.1.2 Diversidad del maíz.....	15
1.2 El teocintle como ancestro del maíz .....	16
1.2.1 Importancia del estudio del teocintle como fuente de recursos genéticos para el maíz .....	16
1.2.2 Diversidad del teocintle.....	17
1.3 Importancia de los organismos fitopatógenos en los sistemas agrícolas y en los sistemas naturales.....	18
1.4 Principales enfermedades del maíz.....	19
1.4.1 Principales enfermedades y fitopatógenos de la parte aérea del maíz. ....	19
1.4.2 Principales enfermedades y fitopatógenos de las raíces.....	20
1.5 Importancia de las enfermedades causadas por hongos del género <i>Fusarium</i> en maíz .	20
1.5.1 Fuentes de inóculo.....	21
1.5.2 Daños en el cultivo .....	22
1.5.3 Producción de toxinas .....	23
1.6 Importancia del estudio de los organismos fitopatógenos y otros microorganismos en los ancestros silvestres de las plantas cultivadas.....	24
1.7 Enfermedades causadas por fitopatógenos en teocintle .....	24
1.8 Importancia del estudio taxonómico y molecular de los organismos fitopatógenos en general .....	25
1.9 Manejo de las enfermedades radicales de cultivos .....	26
1.10 Manejo de las enfermedades de la raíz en maíz .....	27
1.11 Importancia del estudio epidemiológico de las enfermedades de plantas .....	28
1.12 Importancia del análisis del comportamiento temporal de las enfermedades en general. .....	29
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	<b>31</b>

<b>CAPÍTULO II. DINÁMICA TEMPORAL DE LA INCIDENCIA DE <i>Fusarium</i> Y Oomycetes ASOCIADOS A LAS RAÍCES DEL MAÍZ CRIOLLO “AZUL” (<i>Zea mays</i> L. raza Chalco) Y DEL TEOCINTLE (<i>Zea mays</i> subsp. <i>mexicana</i>).</b>	<b>40</b>
RESÚMEN .....	40
INTRODUCCIÓN .....	41
MATERIALES Y MÉTODOS .....	43
RESULTADOS.....	49
DISCUSIÓN .....	64
CONCLUSIONES .....	69
LITERATURA CITADA .....	70
<b>CAPÍTULO III. IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ESPECIES DE <i>Fusarium</i> ASOCIADAS A LAS RAÍCES DEL MAÍZ CRIOLLO “AZUL” (<i>Zea mays</i> raza Chalco) Y DEL TEOCINTLE (<i>Zea mays</i> subsp. <i>mexicana</i>).</b>	<b>75</b>
RESÚMEN .....	75
INTRODUCCIÓN .....	76
MATERIALES Y MÉTODOS .....	77
RESULTADOS.....	83
DISCUSIÓN .....	88
CONCLUSIONES .....	90
LITERATURA CITADA .....	91
<b>CAPÍTULO IV. ESTUDIO PRELIMINAR COMPARATIVO BAJO CONDICIONES NATURALES, DE LA FENOLOGÍA DEL MAÍZ NATIVO “AZUL” (<i>Zea mays</i> raza Chalco) CON EL ANCESTRO SILVESTRE TEOCINTLE (<i>Zea mays</i> subsp. <i>mexicana</i>) EN POBLACIONES AFECTADAS POR <i>FUSARIUM</i>.</b>	<b>94</b>
RESÚMEN .....	94
INTRODUCCIÓN .....	96
MATERIALES Y MÉTODOS .....	98
RESULTADOS.....	101
DISCUSIÓN .....	107
CONCLUSIONES .....	109
LITERATURA CITADA .....	110

## LISTA DE CUADROS

### CAPÍTULO II.

- Cuadro 1.** Definición de las fases fenológicas del teocintle (*Zea mays* subsp. *mexicana*) en una población silvestre ubicada en Cocotitlán, Edo. de México, 2013. ....49
- Cuadro 2.** Estadísticos considerados en el ajuste de la curva epidemiológica de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en maíz nativo azul a los modelos de crecimiento logístico, monomolecular y Gompertz .....52
- Cuadro 3.** Estadísticos considerados en el ajuste de la curva epidemiológica de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en teocintle a los modelos de crecimiento logístico, monomolecular y Gompertz.....52
- Cuadro 4.** Intervalo de Confianza aplicado en la comparación de las tasas promedio de crecimiento de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en raíces de maíz nativo azul y teocintle.....53
- Cuadro 5.** Comparación de las tasas promedio de crecimiento de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en las raíces de maíz nativo azul y de teocintle .....54
- Cuadro 6.** Análisis de correlación entre las variables de crecimiento y la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en raíces de maíz nativo azul.....55
- Cuadro 7.** Análisis de correlación entre las variables de crecimiento y la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en raíces de teocintle .....56
- Cuadro 8.** Especies de *Fusarium* aisladas de semillas de maíz nativo azul y de teocintle, caracterizadas molecularmente utilizando los iniciadores ITS-4 e ITS-5 .....61
- Cuadro 9.** Valores promedio de las variables de producción, utilizados en la estimación de la producción en maíz nativo azul, en una parcela comercial en Juchitepec, Edo. de México. 2013 .....63
- Cuadro 10.** Número de plantas de teocintle (*Zea mays* subsp. *mexicana*) con su respectivo número de hijuelos y mazorcas en las diferentes fases fenológicas halladas en la población silvestre ubicada en Cocotitlán, Edo. de México, 2013. ....63

### CAPÍTULO III

- Cuadro 11.** Especies de *Fusarium* aisladas de raíces de maíz criollo azul y teocintle caracterizados molecularmente utilizando los iniciadores ITS-4 e ITS-5. ....83
- Cuadro 12.** Especies de *Trichoderma* aisladas de raíces de teocintle caracterizados molecularmente utilizando los iniciadores ITS-4 e ITS-5. ....83
- Cuadro 13.** Características morfológicas distintivas entre especies del complejo de *Gibberella fujikuroi*.....85

### CAPÍTULO IV

- Cuadro 14.** Definición de las fases fenológicas del teocintle (*Zea mays* subsp. *mexicana*) en una población silvestre ubicada en Cocotitlán, Edo. de México, 2013. ....104
- Cuadro 15.** Comparación de las etapas fenológicas definidas para maíz nativo azul y para el teocintle (*Zea mays* subsp. *mexicana*) .....104

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I.

**Figura 1.** Principales fuentes de inóculo de *F. moniliforme* (Sin: *F. verticillioides*).....22

### CAPÍTULO II.

**Figura 2.** Representación de la parcela de maíz criollo “azul” que muestra la distribución de los puntos de muestreos. ....43

**Figura 3.** Población silvestre de teocintle, ubicada en el municipio de Cocotitlán, Edo. de México, 2013. ....44

**Figura 4a.** Fluctuaciones de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes de raíces de maíz nativo azul a través del ciclo fenológico de esta planta. ....50

**Figura 4b.** Fluctuaciones de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes de raíces de teocintle, a través de diferentes etapas fenológicas de esta especie silvestre. ....50

**Figura 5.** Curvas del progreso de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en raíces de maíz y teocintle.....53

**Figura 6.** Dinámica temporal de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en relación a las variables de crecimiento peso seco total de plantas y peso seco de raíces en maíz nativo en Juchitepec, Edo. de México, 2013. ....55

**Figura 7.** Dinámica temporal de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en relación a las variables de crecimiento peso seco total de plantas, peso seco de raíces y número de hijuelos en teocintle. Cocotitlán, Edo. de México, 2013. ....56

**Figura 8.** Niveles de severidad de daño por pudriciones y necrosamientos radiculares en plantas de maíz nativo azul tomadas en la etapa vegetativa V2. ....57

**Figura 9.** Niveles de severidad de daño por marchiteces y pudriciones radiculares en plantas de maíz nativo azul tomadas en la etapa reproductiva R3. ....57

**Figura 10.** Severidad del daño por pudriciones y necrosamientos en el sistema radicular de plantas de teocintle en diferentes etapas fenológicas.....59

**Figura 11.** Escala de severidad de los niveles de daño causados por *Fusarium* spp., en mazorcas de maíz nativo “azul”, en Juchitepec, Edo. de México, 2013.....60

**Figura 12.** Distribución de la frecuencia del grado de severidad causado por *Fusarium* spp., en las mazorcas de maíz nativo ‘azul’, cosechadas en una parcela comercial de Juchitepec, Edo. de México. 2013.....61

**Figura 13.** Colonias de *Fusarium* asociadas a las semillas asintomáticas y sintomáticas de maíz en Juchitepec, y asintomáticas de teocintle en Cocotitlán, Edo. de México. 2013.....62

**Figura 14.** Especies de *Fusarium* asociadas a las raíces y semillas de maíz y teocintle .....62

### CAPÍTULO III.

**Figura 15.** Características morfológicas de *F. fujikuroi*. ....84

**Figura 16.** Características morfológicas de *F. oxysporum*.....86

**Figura 17.** Características morfológicas de *T. harzianum*. ....87

#### **CAPÍTULO IV.**

<b>Figura 18.</b> Población silvestre de teocintle en Cocotitlán, Edo. de México, 2013 .....	<b>99</b>
<b>Figura 19.</b> Fluctuaciones del peso seco total de plantas durante 8 etapas fenológicas del maíz nativo azul, en la población de Juchitepec, Edo. de México. ....	<b>101</b>
<b>Figura 20.</b> Fluctuaciones del peso seco de raíces durante 8 etapas fenológicas del maíz nativo azul, en la población de Juchitepec, Edo. México. ....	<b>101</b>
<b>Figura 21.</b> Fluctuaciones del peso seco total de plantas en 5 fases fenológicas del teocintle, en la localidad de Cocotitlán, Edo. de México. ....	<b>102</b>
<b>Figura 22.</b> Fluctuaciones del peso seco de raíces en 5 fases fenológicas del teocintle, en la localidad de Cocotitlán, Edo. de México. ....	<b>102</b>
<b>Figura 23.</b> Fluctuaciones del número de hijuelos, en 5 fases fenológicas del teocintle, en la localidad de Cocotitlán, Edo. de México .....	<b>103</b>
<b>Figura 24.</b> Fluctuaciones del número de mazorcas, en 5 fases fenológicas del teocintle, en la localidad de Cocotitlán, Edo. de México. ....	<b>103</b>
<b>Figura 25.</b> Características morfológicas consideradas en la identificación de <i>Zea mays</i> subsp. <i>mexicana</i> . ....	<b>105</b>
<b>Figura 26.</b> Coloraciones en semillas, con diferentes grados de madurez, colectadas en la población silvestre ubicada en Cocotitlán, Edo. México; 2013. ....	<b>105</b>
<b>Figura 27.</b> Germinación de semillas de teocintle, colectadas en la población silvestre ubicada en Cocotitlán, Edo. México, 2013. ....	<b>106</b>
<b>Figura 28.</b> Síntomas y daños comúnmente observados en las plantas de teocintle, causados por diversos organismos fitopatógenos foliares. ....	<b>106</b>

**DINÁMICA TEMPORAL DE LOS PRINCIPALES HONGOS FITOPATÓGENOS  
ASOCIADOS A LAS RAÍCES DE MAÍZ CRIOLLO AZUL (*Zea mays* L. raza Chalco)  
Y DEL ANCESTRO SILVESTRE TEOCINTLE (*Zea mays* subsp. *mexicana*).**

Diana Belén Villa Delgado, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2015

**RESUMEN GENERAL**

El maíz (*Zea mays* L.) es un cultivo de suma importancia en la alimentación de las sociedades humanas, en especial para México, considerado como su centro de origen y diversidad. El ancestro silvestre del maíz es el teocintle; de manera natural existe flujo genético entre ambas especies y se reconoce el uso potencial del teocintle en el mejoramiento del maíz. Sin embargo, existen pocos trabajos sobre las interacciones planta-patógeno en teocintle, y menos sobre hongos patógenos de raíces tanto de teocintle como de maíz. El objetivo fue determinar de manera comparativa a los hongos fitopatógenos más comunes que afectan el sistema radicular del teocintle y del maíz, así como el comportamiento temporal de su incidencia y daño durante la fenología de ambas especies. Este estudio se efectuó en una parcela comercial de maíz nativo en Juchitepec y en una población silvestre de teocintle en Cocotitlán, estado de México, en 2013. De ambas especies se seleccionaron en cada muestreo, raíces con daño; se sembraron en medios de cultivo e incubaron a 27°C en oscuridad. Se seleccionaron y aislaron 78 colonias; eligiendo sólo 17 por su frecuente presencia en raíces, para la extracción y purificación de ADN, amplificación por PCR, secuenciación genética e identificación taxonómica. En maíz y teocintle, *Fusarium* estuvo presente durante todo su desarrollo fenológico, causando ennegrecimiento y pudriciones en las raíces; su incidencia en ambas plantas fue similar, pero las fluctuaciones temporales fueron drásticas en maíz. *Fusarium oxysporum* y *F. fujikuroi* se identificaron en raíces de maíz y teocintle. *Fusarium* presentó elevada incidencia y severidad en mazorcas de maíz, pero no en teocintle. Se reporta por primera vez a *F. fujikuroi* en raíces de maíz, a *F. oxysporum* y *F. fujikuroi* en raíces de teocintle, y la presencia de *Fusarium* en raíces durante toda la fenología de ambas plantas. Se desconoce el papel de *Fusarium* en las poblaciones silvestres de teocintle, y el del inóculo del suelo en las infecciones y fuerte daño en la parte aérea del maíz.

**Palabras clave:** hongos patógenos de raíces, dinámica de la enfermedad, maíz nativo, teocintle.

**TEMPORAL DYNAMICS OF ROOT PATHOGENIC FUNGI ASSOCIATED TO  
NATIVE BLUE MAIZE (*Zea mays* L. raza Chalco) AND THE WILD ANCESTOR  
TEOSINTE (*Zea mays* subsp. *mexicana*).**

Diana Belén Villa Delgado, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2015

**GENERAL ABSTRACT**

Maize (*Zea mays* L.) is a very important crop in the world human societies, mainly in Mexico, which is considered its center of origin and diversity. Teosinte is accepted as the wild ancestor of maize; there is genetic flux between both species under natural conditions, and teosinte potential use for the improvement of maize genetic breeding is acknowledged. However, there are few research on the plant-pathogen relationship in teosinte, and even less on comparative studies of root pathogens between teosinte and maize. The objective of this study was to determine and compare the presence of most common root pathogenic fungi in teosinte and maize, and their disease incidence and severity progress during plant phenology. Research was carried out in a commercial plot of native maize in Juchitepec, and in a wild population of teosinte (*Zea mays* subsp. *mexicana*) in Cocotitlán, state of Mexico, in 2013. Maize and teosinte roots with soilborne disease damage were sampled in each sampling date, and placed in selective culture media at 27°C under darkness. 78 *Fusarium* colonies from roots were isolated but only 17 isolates were chosen because of higher frequency, in order to perform DNA extraction and purification, amplification by PCR, and genetic and taxonomic characterization. *Fusarium* was present in maize and teosinte roots during their whole phenological development causing root rots. Average disease incidence by *Fusarium* was similar in maize and teosinte, however the temporal dynamics was more drastic in maize than teosinte. *Fusarium oxysporum* and *F. fujikuroi* were identified in maize and teosinte roots. High incidence and severe damage was caused by *Fusarium* in maize ears but not in teosinte ears. This study identifies for the first time the presence of *F. fujikuroi* in roots of maize, of *F. oxysporum* and *F. fujikuroi* in teosinte roots, and their root incidence during the whole phenological development of both plant species. The role of *Fusarium* species in wild populations of teosinte is unknown, and neither is the role of *Fusarium* soil inoculum in the disease incidence of maize ear rots.

**Key words:** root pathogenic fungi, disease progress of incidence, native maize, teosinte.

## INTRODUCCIÓN GENERAL

El maíz (*Zea mays* L.) es un cultivo de gran relevancia para los pueblos latinoamericanos y en especial para México; región que es reconocida como el centro de origen y diversidad de este cultivo (Bedoya y Chávez, 2010). El maíz como lo conocemos hoy, es el resultado de la evolución durante miles de años, a partir de la domesticación del ancestro silvestre conocido como “teocintle” (Miranda-Colín, 2003). Por ello, las poblaciones nativas (criollas) de maíz y sus parientes silvestres, representan un importante reservorio genético para el país (Massieu y Lechuga, 2002); tanto por ser base en la alimentación humana (100kg/año per cápita) en México, como por la garantía que la diversidad genética significa para enfrentar la problemática del cultivo y la seguridad alimentaria en el futuro.

Por otra parte, desde hace miles de años, el sustento y la supervivencia de la humanidad se ha basado en unos cuantos cultivos, entre ellos el trigo, arroz, maíz y otros cereales (Agrios, 2005). En México, desde el punto de vista alimentario, político, económico y social, el maíz es el cultivo más importante del país (SIAP, 2007), siendo el segundo cultivo más producido a nivel nacional (SIAP, 2014) después de la caña de azúcar (FAOSTAT, 2014).

La producción de maíz es afectada por diversos factores bióticos y abióticos, causando en algunos casos grandes pérdidas (Figuroa-Rivera *et al.*, 2010). El maíz como cualquier otra planta cultivada, no escapa del ataque de organismos patógenos que reducen su producción (Eubanks, 2001). Entre los patógenos del maíz más estudiados están los hongos *Claviceps*, *Fusarium*, *Phyllacora* (De León, 1984). Sin embargo, las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos de las raíces en maíz han sido poco estudiadas a nivel mundial (White, 1999). En el caso de especies silvestres como el “teocintle” (*Zea mays ssp. mexicana*) se tiene un gran desconocimiento sobre la presencia y el efecto de los hongos fitopatógenos de las raíces. Es importante señalar que el teocintle tiene una gran relevancia como fuente de mejoramiento genético (Rincón, 2001, Sánchez y Ruiz, 1997 y Casas *et al.*, 2003) y resistencia a enfermedades para el maíz (Nault *et al.*, 1982). A pesar de lo anterior, se desconoce la relación e importancia que pueden tener los hongos fitopatógenos del sistema radical que infectan al maíz y que quizá también comparta con el teocintle.

En el caso de otros cultivos y sus ancestros silvestres como son el frijol (García, 1997; García *et al.*, 2003) y el jitomate (Álvarez-Hernández *et al.*, 2009), se ha observado que los patógenos causan un menor daño debido probablemente a que el patógeno y la planta hospedante silvestre han permanecido en convivencia por un largo tiempo y bajo condiciones naturales del suelo en mayor equilibrio.

## **OBJETIVO GENERAL**

Identificar y determinar el nivel de incidencia de los principales hongos fitopatógenos de las raíces que se presentan a lo largo del ciclo de desarrollo del maíz nativo azul y de su ancestro silvestre teocintle.

## **HIPÓTESIS GENERAL**

La incidencia y nivel de daño radicular causado por los organismos fitopatógenos de las raíces *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium* y *Rhizoctonia* será menor en el ancestro silvestre teocintle en comparación con el maíz nativo.

# CAPÍTULO I.

## REVISIÓN DE LITERATURA GENERAL

### 1.1 El cultivo del maíz

#### 1.1.1 Importancia agronómica mundial y en México

El maíz (*Zea mays L.*) es un cultivo de suma importancia para los pueblos latinoamericanos y en especial para México, que es reconocido como el centro de origen y diversidad del maíz. Este cultivo ha estado prácticamente en toda la historia y desarrollo de los pueblos de México (Bedoya y Chávez, 2010), siendo junto con el arroz y el trigo, uno de los tres cultivos de cereales más importantes del mundo (White, 1999). La hipótesis de mayor aceptación plantea que el maíz se originó a partir de la domesticación del teocintle y posterior evolución bajo domesticación durante miles de años conducida por el hombre en México, hasta obtener la amplia diversidad actual del maíz cultivado (Miranda-Colín, 2003). De acuerdo con la clasificación más reciente basada en características morfológicas e isoenzimáticas en México existen 59 razas (Sánchez *et al.*, 2000); de ellas las más utilizadas en el mejoramiento genético son: Celaya, Chalqueño, Cónico y Tuxpeño (Márquez-Sánchez, 1994). Por otra parte, las poblaciones nativas del maíz fueron desarrolladas a lo largo de miles de años por los campesinos indígenas; y sus parientes silvestres representan una de las reservas más valiosas de material genético para el mejoramiento de este cultivo, de fundamental trascendencia en la seguridad alimentaria mundial (Greenpeace, 2003).

En términos de recepción de ingresos, es el tercer cultivo más importante en el mundo; se siembran 129 millones de hectáreas, con rendimientos de grano de 6.7 t/ha promedio de países desarrollados y 2.4 t/ha en países en desarrollo (Khalily *et al.* 2010; citado por Sánchez *et al.*, 2011). México cultiva un promedio de 7 millones de ha, con una producción de 22.66 millones de toneladas y un rendimiento de 3.19 toneladas (FAOSTAT, 2014). Los estados con mayor producción de maíz en México son: Sinaloa, Jalisco, México y Chiapas (Figueroa-Rivera *et al.*, 2010). En el 2012, el maíz ocupó aproximadamente un 34% de la superficie total dedicada a la agricultura en México (SIAP, 2012). De la superficie nacional cultivada con maíz, el 82% se encuentra en zonas de temporal, sembrada mayormente con maíces criollos, pero se obtienen rendimientos bajos, en promedio de 2.26 t/ha; mientras que el promedio en zonas con riego es de 7.5 t/ha, aportando sólo el 18% de la producción nacional (SIAP, 2014). De acuerdo a las estadísticas del SIAP (2014); la superficie sembrada en el estado de Chiapas fue de 703 118.00 ha, superior a lo sembrado en los estados de Jalisco con una superficie de 581 804.32 ha y para el estado de México 542 527. 68 ha.

Uno de los factores que limitan la expresión del potencial de rendimiento en el maíz, son las enfermedades causadas por diversos factores bióticos y abióticos (Figuroa-Rivera *et al.*, 2010). La superficie siniestrada a nivel nacional en el cultivo de maíz, es del 4% de la superficie sembrada en zonas de temporal y el 1.2% de la superficie sembrada de riego (SIAP, 2014). En el 2013, la superficie siniestrada para el estado de México fue de 5 225 ha, seguido de Jalisco con una superficie de 4 124.5 ha y Chiapas con 1 922.25 ha (SIAP, 2014). Una de las causas de estas pérdidas en maíz, se debe a enfermedades ocasionadas por organismos fitopatógenos, entre las que destacan las producidas por el género *Fusarium*, cuyas poblaciones se encuentra de manera natural en el suelo y pueden estar asociado a las pudriciones de raíz, tallo y mazorca (Hernández-Delgado *et al.*, 2007).

### **1.1.2 Diversidad del maíz**

Mesoamérica se reconoce como el centro de origen y domesticación de plantas de mayor relevancia, siendo el más importante el maíz, alrededor del cual crecieron las diferentes sociedades que han ocupado esta región a lo largo de la historia (Carrillo, 2009). El maíz es considerado como originario de México por los siguientes aspectos: a) los restos arqueológicos más antiguos han sido encontrados en este país; b) la mayor diversidad genética está representada en los maíces criollos desarrollados en México, y c) el pariente más cercano y posible ancestro (el teocintle anual) solamente crece en forma silvestre en México y norte de Centroamérica (Martínez-Soriano y Leal-Klevezas, 2001). En forma empírica, el mejoramiento genético del maíz lo iniciaron las etnias mexicanas, quienes del teocintle (*Zea mays* subsp. *mexicana*) comenzaron a seleccionar plantas que ofrecían algunas características del grano para ser aprovechadas en la alimentación (Márquez, 2008). En México, el proceso de evolución bajo domesticación y mejoramiento del maíz continúa en el presente; los agricultores indígenas y mestizos del país cultivan, seleccionan, guardan y usan su propia semilla de maíz año con año (CONABIO, 2012); estos agricultores que cultivan variedades criollas de maíz en forma tradicional, siguen contribuyendo en la actualidad, a la conservación y a la generación de la diversidad genética *in situ* del cultivo (Bommer, 1991, citado por Herrera *et al.*, 2004; Warman, 1988, citado por Muñoz *et al.*, 2001). De acuerdo con la clasificación más reciente basada en características morfológicas e isoenzimáticas, en México existen 59 razas (Sánchez *et al.*, 2000) de las cuales las más utilizadas en el mejoramiento genético son: Celaya, Chalqueño, Cónico y Tuxpeño (Márquez-Sánchez, 1994). Los estudios e investigaciones realizados durante años, desde diversas disciplinas científicas y humanísticas, comprueban que el papel del campesino es fundamental para la conservación y diversificación del maíz (Serratos, 2009).

Por otra parte, para promover la conservación *in situ* de variedades criollas, también es necesario conocer la diversidad del maíz criollo en las condiciones de la agricultura tradicional (Herrera *et al.*, 2004).

## **1.2 El teocintle como ancestro del maíz**

El maíz es considerado como la planta más domesticada y evolucionada del reino vegetal. El origen y la evolución del maíz es un misterio; por qué ha llegado a nosotros altamente evolucionado (Asturias, 2004). Por recientes descubrimientos arqueológicos y paleobotánicos, se ha logrado determinar que el maíz procede de un antepasado de tipo silvestre, un cereal de grano duro, contenido en una vaina, en el que cada semilla estaba protegida por una cubierta formada por dos valvas y es llamado “teocintle” (Asturias, 2004), aunque también se menciona que otro antecesor podría ser el género *Tripsacum*, otro pariente silvestre del maíz (Tunuary y Chávez, 2008).

El maíz se originó de la domesticación y la evolución bajo domesticación a partir del teocintle hasta llegar a la amplia diversidad actual del maíz cultivado (Miranda-Colín, 2003). El teocintle es una planta silvestre y es conocido como el ancestro del maíz (Matsuoka *et al.*, 2002; Doebley, 2004), pero debido a la poca información y conocimiento que se tiene sobre su naturaleza botánica, potencial agrícola y ganadero, y que en muchos casos se considera como una “mala hierba”, existen algunas especies que están en peligro de extinción (Bedoya y Chávez, 2010). En la Norma Oficial Mexicana SEMARNAT 2001, NOM-059-ECOL-1994 aun cuando no se mencionan a los teocintles anuales, sí aparece *Zea perennis* como especie en peligro de extinción y *Zea diploperennis* como amenazada (Kato *et al.*, 2009); los factores que parecen estar alterando rápida y significativamente las poblaciones de estas especies, causando la fragmentación y reducción en su tamaño, son los cambios en el uso del suelo, entre ellos el abandono de la siembra del maíz y el establecimiento de praderas con pastos (Bedoya y Chávez, 2010).

### **1.2.1 Importancia del estudio del teocintle como fuente de recursos genéticos para el maíz**

El teocintle no se parece físicamente mucho al maíz, pero a nivel de patrimonio genético, los dos tienen el mismo número de cromosomas y una disposición muy similar de los genes; la relación genética es tan cercana que ambas plantas se cruzan entre sí y es considerada como un ejemplo de flujo genético (Martínez-Soriano y Leal-Klevezas, 2001) y puedan reproducirse de forma natural (Genetic Science Center Learning, 2014). El uso potencial del teocintle en el mejoramiento del maíz se ha evaluado desde la década de 1950; varios

investigadores concluyeron que el teocintle puede ser un germoplasma valioso para el mejoramiento del maíz, ofreciendo cierta resistencia a aspectos tales como las enfermedades y otros factores adversos (Rincón, 2001). Los parientes silvestres de las plantas cultivadas, pueden ser importantes fuentes de genes en el mejoramiento genético con fines agrícolas. En el caso del maíz (*Zea mays* L.), el teocintle puede ser un recurso genético importante para generar variabilidad genética en los programas de mejoramiento genético (Sánchez y Ruiz, 1997). Ejemplo de ello, es el trabajo realizado por Casas *et al.* (2003) quienes aplicaron la transferencia de germoplasma de teocintle en plantas de maíz, y observaron un incremento en el rendimiento, vigor de las plantas y la precocidad de las líneas de maíz.

### 1.2.2 Diversidad del teocintle

Teocintle significa "semilla de los dioses" en náhuatl (Martínez, 1999). Es llamado colectivamente como teocintle (Sánchez y Ruíz, 1997) y está representado por especies anuales y perennes diploides ( $2n = 20$ ) y por una especie tetraploide ( $2n = 40$ ); se encuentran dentro de las áreas tropicales y subtropicales de Guatemala, Honduras, México y Nicaragua como poblaciones aisladas de tamaños variables (Sánchez y Ruiz, 1997).

Los teocintles son plantas rústicas y silvestres que aún se encuentran en varias localidades de México, y que en general se le considera como maleza, pero es también una fuente alterna de alimento para el ganado cuando escasean otros forrajes (Bedoya y Chávez, 2010).

Existen dos clasificaciones para el teocintle: una propuesta por Wilkes (1967, citado por CONABIO, 2008), basada en la distribución geográfica y condiciones ecológicas de las áreas de distribución ; describe cuatro razas de teocintle para México (Balsas, Chalco, Mesa Central y Nobogame) y dos para Guatemala (Guatemala y Huehuetenango); por otra parte, la clasificación de Iltis y Doebley (1980) y Doebley (1990) basada en principios taxonómicos dividió *Zea* en dos secciones; (1) sección *Luxuriantes* incluye a *Zea perennis* (Hitch.) Reeves & Mangelsdorf, *Zea diploperennis* Iltis, Doebley & Guzmán, *Zea luxurians* (Durieu & Ascherson) Bird; en esta sección se agregó *Zea nicaraguensis* Iltis & Benz (descrita recientemente por Iltis y Benz, 2000) y (2) sección *Zea* incluye *Zea mays* L. dividida en: *Zea mays* ssp. *mexicana* (Schrader) Iltis para las razas Chalco, Mesa Central y Nobogame; *Zea mays* ssp. *parviglumis* Iltis & Doebley que incluye a la raza de teocintle Balsas, *Zea mays* ssp. *huehuetenangensis* (Iltis & Doebley) Doebley para la raza de teocintle Huehuetenango y *Zea mays* L. ssp. *mays* para el maíz cultivado.

En el estado de México, México, se encuentra el teocintle anual (*Zea mays* ssp. *mexicana*) que es conocido comúnmente como acece, asise, casco de burro, diente de burro, maíz cimarrón, maíz forrajero, maíz zapato, pezuña de burro, etc., nombres que generalmente están asociados a la forma de la semilla y a la semejanza de dicha planta con el maíz (Sánchez y Ruíz, 1997; Espinosa y Sarukhán, 1997).

### **1.3 Importancia de los organismos fitopatógenos en los sistemas agrícolas y en los sistemas naturales**

La diversidad biológica es importante en relación con la condición estable de un agroecosistema específico (Moonen y Bárberi, 2008); en el suelo la diversidad constituye un escudo de protección contra enfermedades transmitidas por patógenos presentes en éste; pero el papel de la biodiversidad en las interacciones multitróficas merece mayor estudio (Brussaard *et al.*, 2007) las cuales mantienen una estrecha asociación con los organismos que viven en el suelo (Berendsen *et al.*, 2012). En los agroecosistemas, la biodiversidad desempeña una variedad de funciones ecológicas más allá de la producción de alimentos, incluyendo: el reciclaje de nutrientes, la regulación del microclima y los procesos hidrológicos locales, mantienen un equilibrio entre los patógenos y sus antagonistas, permiten la desintoxicación de productos químicos nocivos (Altieri, 1999., Pfening y Magalhães, 2012), mejoran la estructura del suelo, permiten el crecimiento de las plantas, son parte importante en los ciclos del carbono y del nitrógeno (De Felipe, 2004) y promueven la salud de las plantas (Kirk *et al.*, 2004).

El suelo es el hábitat de las raíces de las plantas y de una gran diversidad de organismos, bacterias, hongos, protozoos y animales invertebrados que contribuyen al mantenimiento y productividad de los agroecosistemas (Giller *et al.*, 1997; De Felipe, 2004).

Los hongos representan un componente esencial de la biodiversidad, no sólo por la gran cantidad de especies, sino también por su importancia ecológica, evolutiva y socio-económica (Desprez *et al.*, 2007). Las comunidades microbianas del suelo representan la mayor reserva de la diversidad biológica conocida en el mundo, hasta el momento (Berendsen *et al.*, 2012).

Las actividades agrícolas, como la labranza, drenaje, cultivos intercalados, rotación, el pastoreo y el uso extensivo de pesticidas y fertilizantes tienen implicaciones significativas para las especies silvestres de flora y fauna (McLaughlin y Mineau, 1995). La intensificación y la expansión de la agricultura moderna es una de las mayores amenazas actuales para la biodiversidad en todo el mundo (Hole *et al.*, 2005). A pesar de esto, los ecosistemas agrícolas seguirán seleccionando a nuevos microorganismos, a menos que sean rediseñados con el

objetivo que sean menos propicios para la aparición de patógenos (Stukenbrock y McDonald, 2008).

#### 1.4 Principales enfermedades del maíz.

Todas las partes de la planta de maíz son susceptibles a diversas enfermedades que reducen la capacidad de la planta para crecer de una forma normal, y pueden originar la pérdida de la cosecha de grano (White, 1999).

##### 1.4.1 Principales enfermedades y fitopatógenos de la parte aérea del maíz.

Desde hace miles de años, el sustento y la supervivencia de la humanidad se ha basado en unos cuantos cultivos: trigo, arroz, maíz, otros cereales, las papas y algunas leguminosas han proporcionado el alimento básico del hombre en las diferentes partes del mundo (Agrios, 2005). El maíz, al ser una planta cultivada, no escapa del ataque de patógenos que reducen su producción (Eubanks, 2001).

White (1999) describe a las enfermedades que comúnmente atacan al maíz en la parte aérea, dentro de las cuales se encuentran las producidas por **bacterias** como: marchitamiento bacteriano de Stewart (*Erwinia stewartii*), marchitamiento y mancha bacteriana de Goss (*Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis*), mancha de Holcus (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*), marchitez foliar bacteriana (*Pseudomonas avenae*), podredumbre bacteriana del tallo (*Erwinia chrysanthemi* pv. *zea*), rayado foliar bacteriano (*Xanthomonas campestris* pv. *zea*), rayado bacteriano y mancha foliar (*Pseudomonas andropogoni*), mancha de chocolate (*Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens*). **Mollicutes**: raquitismo del maíz (*Spiroplasma kunkelli*), raquitismo tipo mata del maíz (aún sin cultivar y asignar nombre científico). **Hongos**: manchas y marchiteces foliares por *Exserohilum*, marchitez foliar del maíz del sur [*Cochliobolus heterosporus* (Sinónimo: *Helminthosporium maydis*)], marchitez foliar del maíz del norte (*Setosphaeria turcica*), mancha foliar del maíz del norte (*Cochliobolus carbonum*), mancha foliar por Rostratum (*Setosphaeria rostrata*), mancha parda por *Physoderma* (*Physoderma maydis*), mancha de ojo (*Kabatiella zae*), marchitez foliar por antracnosis (*Colletotrichum graminicola*) y mancha foliar gris (*Cercospora zae* –*maydis*). De León (1984) menciona las royas más comunes, entre las cuales se encuentran las siguientes: roya común (*Puccinia sorghi*), roya por Polysora (*Puccinia polysora*) y roya tropical (*Physopella zae*).

Una de las enfermedades con mayor impacto en la historia del cultivo del maíz, fue la ocasionada por el tizón foliar sureño en los Estados Unidos de América, que en el año de 1970 causó la pérdida de 1000 millones de dólares (Agrios, 2005). En los últimos años, la pudrición

de la mazorca por *Fusarium* es una enfermedad que ocasiona pérdidas en el rendimiento, en todos los países donde se cultiva el maíz (Vigier *et al.*, 1997). En países en desarrollo esta enfermedad afecta más del 40% de la superficie sembrada (Claure, 2001. Citado por Morales-Rodríguez, 2007). En México, en la región de Chalco, Edo. de México, la pudrición de la mazorca por *Fusarium* afecta la producción en un 30 a 50% en variedades criollas, según estimaciones de los productores de la zona (Briones-Reyes, 2007).

#### **1.4.2 Principales enfermedades y fitopatógenos de las raíces.**

De acuerdo a White (1999), las podredumbres de las raíces figuran entre las enfermedades menos estudiadas y menos comprendidas del maíz, y señala que los grupos de hongos que aparecen en las raíces difieren dependiendo de la fase de crecimiento del hospedante, condiciones ambientales, genotipo y cultivos anteriores.

Entre las enfermedades más frecuentemente presentes en las raíces de maíz se encuentran las inducidas por *Pythium* (existen al menos 14 especies que causan marchitez de las plántulas y podredumbre de las raíces: *P. acanthicum*, *P. adhaerens*, *P. angustatum*, *P. aphanidermatum*, *P. arrhenomanes*, *P. graminícola*, *P. irregulare*, *P. paroecandrum*, *P. pulchrum*, *P. rostratum*, *P. splendens*, *P. tardicrescens*, *P. ultimum* y *P. vexans*, podredumbre de las raíces por *Rhizoctonia* (*R. solani* tipo AG-2 2 III, grupo 2B), por *Fusarium* (las más comúnmente observadas son *F. oxysporum* y *F. solani*; otras incluyen *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. moniliforme* (Sinónimo: *F. verticillioides*), *F. proliferatum* y *F. subglutinans*, podredumbre roja de las raíces causada por *Phoma terrestris* como el patógeno primario en asociación con especies de *Pythium* y *Fusarium* (White, 1999).

La podredumbre de las raíces por *Pythium* es considerada como una causa importante de los bajos rendimientos del maíz en suelos pobremente drenados con continuos cultivos de maíz y labores de conservación. Así mismo, *Rhizoctonia solani* puede causar graves pérdidas en áreas locales y reducir la cosecha hasta un 30% (White, 1999).

Otros agentes causales son *Diplodia maydis*, *Cochliobolus* ssp. (Sinónimo: *Helminthosporium*), *Colletotrichum graminicola*, *Rhizoctonia zea*, *Macrophomina phaseolina*, *Aspergillus* ssp., *Penicillium* ssp., y *Cephalosporium maydis* (Shurtleff, 1980. Citado por Quiroga, 1995).

#### **1.5 Importancia de las enfermedades causadas por hongos del género *Fusarium* en maíz**

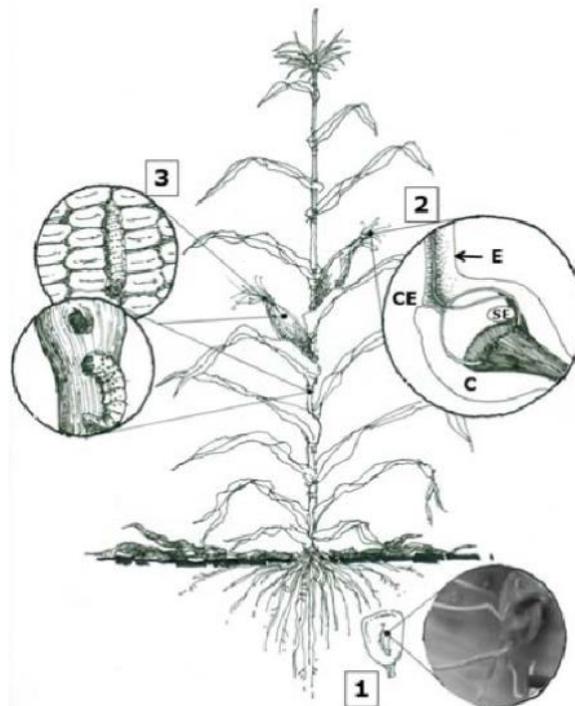
*Fusarium* constituye un género amplio y complejo de especies causantes de una gran variedad de enfermedades en las plantas y que producen numerosas micotoxinas (Jiménez,

2011). Las especies de *Fusarium* son agentes causales de enfermedades que ocasionan síntomas en diferentes partes de las plantas de varios cultivos (Reyes *et al.*, 2012). Varias de las especies de *Fusarium* (pero sobre todo *F. solani* y sus formas especiales, así como algunas formas especiales de *F. oxysporum*), ocasionan la pudrición de semillas y plántulas (ahogamiento), pudriciones de raíces, tallos inferiores, coronas, cormos, bulbos, tubérculos, etc., (Agrios, 2005). El género *Fusarium* es el más complejo de los hongos que atacan las raíces de las plantas cultivadas, y uno de los más difíciles de clasificar (Montiel *et al.*, 2005).

### **1.5.1 Fuentes de inóculo**

El género *Fusarium* contiene un número de especies que habitan en el suelo; están distribuídas en todo el mundo y por mucho tiempo han sido conocidas como importantes patógenos de plantas (Roncero *et al.*, 2003). El inóculo se encuentra presente en los residuos vegetales o en el suelo del campo donde se desarrolla un cultivo; en otras ocasiones llega al campo con las semillas, trasplantes, tubérculos u otros órganos de propagación, o a través de fuentes externas como plantas o campos cercanos (Agrios, 2005).

El maíz (*Zea mays* L.) con frecuencia es colonizado por el hongo *Gibberella moniliformis* Wineland (anamorfo *Fusarium verticillioides* (Saccardo) Nirenberg). La colonización de plantas puede ser por aislamientos endófitos, sin causar síntomas perceptibles, o aislamientos patógenos, con síntomas tan diversos como pudrición de la raíz, pudrición del tallo y pudrición de la mazorca (Munkvold y Desjardins, 1997). En campo, la infección de los estigmas de maíz por esporas de *F. verticillioides* en el aire es la principal vía de infección en la mazorca, pero el hongo también puede transmitirse a través de semillas infectadas asintomáticas (Munkvold *et al.*, 1997). El movimiento sistémico de cepas desde las semillas infectadas a las raíces, tallos y mazorcas se ha demostrado en laboratorio mediante el seguimiento de cepas marcadas aplicando microscopía *in planta* (Oren *et al.*, 2003).



**Figura 1.** Principales fuentes de inóculo de *F. moniliforme* (Sin: *F. verticillioides*) **1. Infección sistémica de plántulas.** El hongo sobrevive en la semilla o en el suelo de donde accede a la plántula e infecta las raíces. **2. Infección a través del estigma.** Las conidias del hongo son depositadas en el estigma (E) y penetran a través de la parte inferior del canal estilar (CE). C: carpelo, SE: saco embrionario. **3. Infección a través de heridas.** El hongo accede al tallo y/o a la mazorca a través de lesiones mecánicas causadas por insectos al alimentarse. Tomado de: de la Torre-Hernández *et al.*, 2014.

### 1.5.2 Daños en el cultivo

Las pudriciones de la raíz y del tallo por *Fusarium* aumentan su severidad cuando las plantas que están expuestas al patógeno sufren stress por bajas temperaturas, sequía intermitente o excesiva cantidad de agua en el suelo y la compactación de la superficie del suelo que limita el crecimiento de las raíces de las plantas (Agrios, 2005).

En el maíz, *Fusarium* ssp. ocasiona marchitez desde la fase de plántula hasta planta adulta, causando generalmente pudriciones en los órganos vegetativos (Figuroa-Rivera *et al.*, 2010). *Fusarium* presenta una distribución cosmopolita y es endémico de zonas maiceras de todo el mundo (Mendoza *et al.*, 2003). En maíz puede causar daño en todas las etapas del cultivo; en semilla, el micelio puede invadir y ocasionar manchas en las cubiertas externas causando además disminución de la germinación por la muerte del embrión; en plántula y planta adulta, debilita y pudre la raíz, ocasionando acame (González *et al.*, 2007). La pudrición de la mazorca es una enfermedad que ocasiona pérdidas en el rendimiento en todos los países en donde se cultiva maíz (Vigier *et al.*, 1997); en países en desarrollo afecta más del 40% de la superficie sembrada (Claire 2001, citado por Morales-Rodríguez, 2007). En México, en la región de Chalco en el Edo. de México, la pudrición de la mazorca por *Fusarium* afecta la

producción en un 30 a 50% en variedades criollas, según estimaciones de los productores de la zona (Briones-Reyes, 2007).

### 1.5.3 Producción de toxinas

Aunque *Fusarium* es especialmente importante en la patología de varias especies de plantas, también produce diversos metabolitos tóxicos que pueden contaminar los alimentos y animales que se alimentan de plantas (Moss, 2002); entre estas sustancias están las micotoxinas.

Las micotoxinas son moléculas relativamente pequeñas con una estructura química y una actividad biológica muy diversa. Aunque suelen ser genotípicamente específicas para un grupo de especies, el mismo compuesto puede también ser elaborado por hongos pertenecientes a géneros distintos; entre los hongos que producen micotoxinas, los de mayor importancia son *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* (Abarca *et al.*, 2000). Las toxinas de mayor importancia agroeconómica son los alcaloides del cornezuelo del centeno, aflatoxinas, fumonisinas, ocratoxinas, toxinas termogénicas, tricotecenos y zearalenona (Hussein y Brasel, 2001). Las micotoxinas inducen diversos y potentes efectos en los sistemas biológicos, algunas son carcinogénicas, dermatóxicas, estrogénicas, hemorrágicas, hepatotóxicas, mutagénicas, nefrotóxicas, neurotóxicas y teratogénicas (Steyn, 1995).

Los fumonisinas, tricotecenos y zearalenona son las micotoxinas mayormente producidas por *Fusarium* a nivel mundial en granos de cereales, alimentos y forrajes para animales (D'Mello *et al.*, 1999). Diferentes especies de *Fusarium* son productoras de micotoxinas como desoxinivalenol (vomitoxina), fumonisinas, nivalenol, toxinas HT2 y T2 y zearalenona (toxina F) (Bial-Arístegui, 2002).

Las **Fumonisin**as son un grupo de micotoxinas no fluorescentes (siendo las más importantes FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub> y FB<sub>3</sub>) producidas principalmente por *F. proliferatum* y *F. verticillioides* (CAST, 2003; citado por Richard, 2007). Las fumonisinas son consideradas factores de virulencia, ya que su producción se asocia con una mayor capacidad de infección de *F. verticillioides* en plántulas de maíz (de la Torre-Hernández *et al.*, 2014). En maíz, las fumonisinas suelen estar presentes junto a otras micotoxinas, generalmente con tricotecenos, como el deoxinivalenol (Elika, 2013). D'Mello y Macdonald (1997) mencionan que las fumonisinas se han relacionado con la incidencia de cáncer de esófago en los seres humanos y con brotes de micotoxicosis en animales en el sur de África. Otra toxina comúnmente producida por especies de *Fusarium* es el Deoxynivalenol también conocido como vomitoxina o DON, y

es producida principalmente por *F. graminearum*, y en algunas áreas geográficas por *F. culmorum* (Richard, 2000; citado por Richard, 2007).

### **1.6 Importancia del estudio de los organismos fitopatógenos y otros microorganismos en los ancestros silvestres de las plantas cultivadas.**

Las especies de plantas, así como el tipo de suelo, tienen una influencia sustancial en la estructura y función de las poblaciones microbianas asociadas a la rizósfera, la cual está integrada en una compleja red micro y macrobiana y en cadenas tróficas (Berg y Smalla, 2009).

En la rizosfera, existen organismos que forman asociaciones mutualistas o parasíticas con las raíces de distintas especies vegetales y por tanto, tienen un fuerte impacto en la supervivencia y crecimiento de estas especies (Rodríguez-Echeverría, 2009). Los microorganismos asociados a las plantas pueden influir profundamente en la salud de las mismas (Smith y Goodman, 1999).

La influencia que el suelo tiene en el establecimiento y crecimiento de distintas especies vegetales se debe tanto a sus propiedades abióticas, físicas y químicas, como a la biota edáfica residente. Ésta incluye bacterias, hongos e invertebrados que son mutualistas, herbívoros o patógenos vegetales y, por tanto determinan en gran medida el éxito colonizador de distintas especies vegetales (Rodríguez-Echeverría *et al.*, 2007).

Berg y Smalla (2009) mencionan que la interacción planta-microorganismo podría haber contribuido a la evolución de las plantas; sin embargo, se desconoce hasta qué punto las comunidades presentes en la rizósfera han participado en este proceso de gran diversificación, y señalan que las investigaciones se han realizado principalmente en cultivos agrícolas o sistemas modelos, por lo que es necesario ampliar estos estudios a las plantas nativas en los ecosistemas naturales.

### **1.7 Enfermedades causadas por fitopatógenos en teocintle**

El uso potencial del teocintle en el mejoramiento del maíz se ha evaluado desde la década de 1950; varios investigadores concluyeron que el teocintle puede ser una fuente de germoplasma valioso para el mejoramiento del maíz, ofreciendo cierta resistencia a aspectos tales como las enfermedades y otros factores adversos (Rincón, 2001).

Poco estudios se han llevado a cabo en relación a los organismos fitopatógenos que infectan al teocintle, entre ellos se pueden mencionar a Nault *et al.* (1982), quien afirma que el teocintle es una especie tolerante a siete de las nueve principales enfermedades ocasionadas por espiroplasmas, micoplasmas y virus que atacan al maíz. Por su parte, Mota y García (2013)

mencionan que el hongo conocido comúnmente como huitlacoche (*Ustilago maydis*) es un carbón parásito tanto de maíz como de teocintle.

### **1.8 Importancia del estudio taxonómico y molecular de los organismos fitopatógenos en general**

La clasificación taxonómica de organismos vivos aún se encuentra en una situación polémica (Margulis y Schwartz, 1998; Cavalier-Smith, 1998 y 2004; citados por Moreira *et al.*, 2012). Los estudios contemporáneos de Ecología molecular se han esforzado en entender las funciones metabólicas de los diferentes componentes biológicos presentes en el ambiente y en conocer la diversidad biológica mediante el uso y aplicación de técnicas moleculares basadas en la amplificación de diversas regiones del ADN y ARN (Eguiarte *et al.*, 2007). En el caso de los organismos fitopatógenos, Martin *et al.* (2000) mencionan que con el advenimiento de la biología molecular y la posibilidad de comparar regiones genómicas que presentan secciones de ADN conservadas, el desarrollo de las pruebas de laboratorio aumentó a un ritmo sorprendente para todos los grupos de patógenos de plantas. La comparación de las regiones ITS de bacterias, hongos y nematodos han demostrado ser útiles para propósitos taxonómicos y sistemáticos. Por otra parte, la aplicación de estas tecnologías en Fitopatología ha mejorado en gran medida la capacidad para detectar fitopatógenos y está aumentando la comprensión de su ecología y epidemiología (Martin *et al.*, 2000).

La rizósfera es una frontera en gran parte inexplorada por la ingeniería genética (O'Connell *et al.*, 1996). Los estudios actuales de ecología microbiana del suelo, basados en métodos de biología molecular, requieren de la extracción del ADN como paso inicial (Holben, 1992). Por su parte, los métodos convencionales para identificar a los microorganismos fitopatógenos, entre ellos a los hongos que infectan las raíces, a menudo se han basado en la identificación de los síntomas de la enfermedad, el aislamiento y cultivo de los organismos, y la identificación en laboratorio, por la morfología y en algunas especies pruebas bioquímicas (Atkins y Clakr, 2004). La identificación precisa de hongos fitopatógenos es esencial para prácticamente todos los aspectos en Fitopatología. En paralelo con los métodos moleculares y que además se han aplicado al estudio de la variación de las poblaciones de fitopatógenos, por ejemplo la detección de diferentes tipos de apareamiento o tipos de virulencia (McCartney *et al.*, 2003), etc.

## 1.9 Manejo de las enfermedades radicales de cultivos

De acuerdo a García (2010), el manejo de las enfermedades de la raíz, por su naturaleza de elevada complejidad, oscila siempre en el terreno de la incertidumbre. Aún los tratamientos al suelo que implican el uso de métodos de esterilización no son 100% eficientes, pues con frecuencia su efecto es efímero y los daños del patógeno regresan con más fuerzas.

Actualmente para el control de las enfermedades de la raíz se usan productos químicos (Berendsen *et al.*, 2012); sin embargo, el control por medio de estas prácticas han impactado negativamente la biodiversidad de los agroecosistemas, y lo cual ha motivado a la búsqueda y desarrollo de alternativas ecológicas (Zavaleta-Mejía, 2000). La asociación de cultivos, sobre todo cuando se utilizan plantas con propiedades antimicrobiales, tiene la ventaja que al incorporar los residuos vegetales en el suelo, se pueden reducir las poblaciones y daños ocasionados por patógenos que atacan a la raíz (Zavaleta-Mejía *et al.*, 1993). Con la asociación de cultivos, además de los beneficios económicos, se pueden obtener grandes beneficios ecológicos, al mejorar las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo, permitiendo un mejor desarrollo del cultivo (Gómez-Rodríguez y Zavaleta-Mejía, 2001).

Por otra parte, las prácticas culturales pueden promover la presencia y actividad de las poblaciones microbianas que habitan en el suelo (Pérez *et al.*, 2011). Chaves y Araya (2012) realizaron un experimento de rotación de cultivos para reducir la incidencia del nematodo *Aphelenchoides besseyi* Christie en frijol, y de acuerdo a los resultados obtenidos, los cultivos como ayote, chile picante, jengibre y tiquizque en el ciclo previo a la siembra de frijol, podrían contribuir a reducir la incidencia y las pérdidas que ocasiona en este cultivo. Así mismo, las enmiendas orgánicas tienen el potencial de proveer control biológico consistente de enfermedades, ya que pueden ser afectados tanto patógenos foliares, vasculares como radiculares (Hoitink *et al.*, 1997). Hernández y Bustamante (2001) evaluaron el efecto de control biológico de enmiendas orgánicas sobre la marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) del tomate; el mejor control de la enfermedad lo obtuvieron al usar materia orgánica en forma de abonos orgánicos fermentados. Gran parte del control biológico de enfermedades causadas por patógenos del suelo como *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium*, y *Rhizoctonia* requiere la introducción de nutrimentos orgánicos en el suelo, como sustento para los agentes de control biológico (Hoitink y Boehm, 2001). Entre los microorganismos comúnmente usados en el control biológico se encuentran hongos como *Trichoderma* y bacterias, *Bacillus* (Herrera, 2005). *Trichoderma* es de gran importancia a nivel agrícola gracias a las diversas ventajas que ofrece como agente de control biológico, para la protección de las

plantas frente al ataque de fitopatógenos causantes de enfermedades de importancia económica (Tovar-Castaño, 2008).

La utilización de cepas de *Trichoderma* para el control de enfermedades de vegetales producidas por hongos es una de las alternativas más prometedoras al empleo de fungicidas químicos (Rey *et al.*, 2000). Los mecanismos por los que las cepas *Trichoderma* desplazan al fitopatógeno están fundamentalmente asociados a la competencia directa por el espacio o por los nutrientes, producción de metabolitos, antibióticos, parasitismo directo sobre los hongos fitopatógenos (Chávez, 2006). En algunos casos *Trichoderma* actúa sobre algunos patógenos debido a su capacidad de colonizar rápidamente el follaje; también puede colonizar extensivamente una superficie foliar intacta (Fernández y Vega, 2001).

A continuación se citan algunos trabajos sobre el efecto de *Trichoderma* como agente de control biológico. González *et al.* (1998) reportan que con la aplicación de *T. harzianum*, se alcanzaron incrementos significativos en la masa fresca de la planta, la altura y el diámetro del tallo en el cultivo del tomate. López-Herrera *et al.* (1999) reportó que en presencia de *Trichoderma*, la densidad de inóculo de *Phytophthora cinnamomi* se redujo entre 86 y 91% y su porcentaje de aislamiento en las raíces de las plantas inoculadas, entre 40 y 60% en el cultivo de aguacate. Ezziyyani *et al.* (2004) encontraron que el tratamiento con *T. harzianum* fue capaz de reducir hasta un 65% la tristeza causada por el patógeno *P. capsici* en plantas de pimiento. Guédez *et al.* (2009) mencionan que *T. harzianum* resultó ser un excelente controlador “in vitro” de hongos de postcosecha en frutos de fresa. *T. harzianum* mostró una acción efectiva como biocontrolador de *F. solani* en el cultivo de maracuyá (Cubillos *et al.*, 2011).

Por otra parte, debe mencionarse que las plantas también son capaces de reaccionar y defenderse por sí solas, utilizando una serie de mecanismos naturales (Berendsen *et al.*, 2012). Los genes de defensa de las plantas están sujetos a su dinámica evolutiva (Zhang *et al.*, 2002). La diversidad de los patrones de secuencias de ADN varía ampliamente entre los genes que codifican las proteínas que protegen a las plantas contra patógenos y herbívoros (Tiffin, 2004). La resistencia inducida es una forma de defensa activa que involucra la expresión diferencial de genes y cambios metabólicos que ocurren como consecuencia de un proceso de reconocimiento específica entre la planta y el patógeno (Berendsen *et al.*, 2012).

### **1.10 Manejo de las enfermedades de la raíz en maíz**

En México son pocas las investigaciones que se han realizado para el manejo de las enfermedades de la raíz en maíz. En el 2009, el Dr. Ignacio Maldonado Mendoza, investigador del CIDIIR – IPN, ubicado en Guasave, Sinaloa, emprendió un proyecto con apoyo de la

Fundación Produce del mismo estado, con la finalidad de buscar microorganismos nativos de la zona, asociados a la rizósfera de maíz y que tuvieran efectos antagónicos contra *Fusarium* ssp., y poder crear un banco de germoplasma de especies nativas de Sinaloa, que permitan controlar e inhibir el crecimiento del patógeno; en el 2012 reportaron el aislamiento de aproximadamente 12 000 especies de microorganismos antagónicos asociados a la rizosfera del maíz, siendo bacterias (*Bacillus* ssp.) el grupo mayormente aislado en mayor frecuencia y de mayor efecto antagónico sobre *Fusarium*. Esta es una de las investigaciones más recientes del manejo de una enfermedad de gran importancia como la Fusariosis en un cultivo de suma relevancia para México, por ello es necesario la implementación de más proyectos de investigación en estos aspectos a nivel nacional. Así mismo, es conveniente el estudio de los microorganismos que se asocian a la rizosfera de plantas silvestres como el teocintle, debido a que estos microorganismos han persistido y convivido durante muchos años y muy probablemente participen en la regulación de las poblaciones de fitopatógenos.

### **1.11 Importancia del estudio epidemiológico de las enfermedades de plantas**

Desde el momento en que los primeros agricultores comenzaron a cultivar plantas, han tenido la preocupación de reducir las pérdidas agrícolas ocasionadas por las enfermedades de los cultivos (Arneson, 2001). Las enfermedades de las plantas son importantes para el hombre debido a que perjudican a las plantas y sus productos (Agrios, 2005).

La epidemiología es la ciencia que estudia los cambios temporales y espaciales que ocurren en el desarrollo de una enfermedad causada por poblaciones de patógenos en poblaciones de plantas (Campbell y Madden, 1990). Una epidemia ocurre cuando hay un cambio en la intensidad de la enfermedad temporal y espacialmente en una población de plantas (Kranz, 1974). En una epidemia se pueden observar interacciones entre el patógeno, la planta, factores ambientales y la interferencia humana (Horsfall and Cowling, 1978; Campbell y Madden, 1990). La enfermedad puede ser causada por hongos, bacterias, virus, nemátodos, entre otros (Achicanoy, 2000).

El impacto de las enfermedades y las pérdidas que ocasionan son funciones del progreso de enfermedad. Para reducir este impacto, no tenemos que eliminar la enfermedad; sólo tenemos que mantener el desarrollo de enfermedad debajo de algún nivel crítico (Arneson, 2001).

En Fitopatología es imprescindible conocer la intensidad de una enfermedad para valorar el efecto de un tratamiento, llevar a cabo medidas de control, evitar el uso excesivo de plaguicidas y como un componente para evitar la resistencia del patógeno (Nava, 2009). La

descripción cuantitativa de las epidemias de las plantas, proporciona abundante y valiosa información relacionada con la cantidad y eficiencia del inóculo inicial, los efectos del ambiente, la resistencia del hospedante, el tiempo de interacción entre el hospedante y el patógeno, los sistemas de predicción y la efectividad de las estrategias de manejo de la enfermedad (Achicanoy, 2000).

### **1.12 Importancia del análisis del comportamiento temporal de las enfermedades en general.**

Las enfermedades vegetales comúnmente comienzan a un nivel bajo (un número pequeño de plantas afectadas y una cantidad pequeña del tejido vegetal afectado) y llegan a ser de interés solamente cuando su incidencia y severidad aumenta con el tiempo (Arneson, 2001).

En el análisis temporal de epidemias, la enfermedad en una población de plantas se puede evaluar en varios momentos y los resultados se presentan como una curva de progreso de la enfermedad, que puede representarse en una gráfica a la intensidad (incidencia o severidad) de la enfermedad contra el tiempo (días, meses o años) (Campbell y Madden, 1990). Cuando se registra el cambio de incidencia en el tiempo de una enfermedad en una población de plantas, las tendencias se pueden expresar por medio de una curva de desarrollo de la enfermedad. Esta es una estrategia útil para estudiar las epifitias, ya que dicha curva integra los efectos del hospedante, del patógeno y del ambiente que ocurren durante la epifitia. El análisis de la curva de incremento de incidencia en el tiempo permite conocer mejor la enfermedad, y desarrollar formas más eficientes de control (Campbell y Madden 1990). La intensidad de la enfermedad, se monitorea a través del tiempo y los resultados pueden analizarse con modelos de regresión logística y observar su comportamiento por medio de gráficos, en un área bajo la curva del progreso de la enfermedad a través del tiempo (Pedroza y Samaniego, 2009). De acuerdo a Campbell y Madden (1990), los modelos clásicos a los que comúnmente se ajusta el comportamiento temporal de las epidemias y los más usualmente utilizados en diferentes análisis fitopatológicos son: el modelo exponencial, monomolecular, logístico y de Gompertz.

Uno de los aspectos importantes del análisis temporal de las epidemias es la selección de un modelo apropiado para describir el progreso de la enfermedad. La selección del modelo es importante porque la estimación de parámetros para el modelo son la base para el análisis estadístico y la comparación de las curvas de progreso de la enfermedad (Campbell y Madden, 1990).

El modelo exponencial ( $dy/dt = ry$ ) es uno de los modelos más simples, fue usado para predecir el incremento de la población humana; su interpretación biológica indica que la tasa

absoluta del incremento de la enfermedad es directamente proporcional a la cantidad de enfermedad e indirectamente al inóculo (Campbell y Madden, 1990). Mientras tanto, el modelo monomolecular ( $dy/dt = r(1 - y)$ ) está basado en reacciones químicas de primer orden; es también llamado “modelo exponencial negativo” y es usado en fenómenos que incluyen la expansión celular, respuesta de cultivos a nutrientes y al crecimiento de plantas y animales. El término  $(1 - y)$  representa la proporción de tejido o plantas aparentemente sanas, la tasa absoluta de cambio en la enfermedad es proporcional al nivel de tejido sano o proporción de plantas aparentemente sanas (Campbell y Madden, 1990).

Por otra parte, el modelo logístico [ $dy/dt = ry(1 - y)$ ], es posiblemente el más importante para un análisis temporal del progreso de la enfermedad, por su extensa aplicación para describir muchas epidemias. Fue propuesto originalmente por Verhulst en 1838 para describir el crecimiento de las poblaciones humanas. En la ecuación, el parámetro de la tasa  $r_L$  con unidades de tiempo y la  $y$  máxima equivale a 1. Vanderplank lo llamó “tasa de infección aparente” porque lo que se observa es el tejido aparentemente enfermo (Campbell y Madden, 1990).

Gompertz (1825), propuso un modelo de crecimiento de poblaciones animales, utilizando la ecuación  $dy/dt = ry[-\ln(y)]$ ; al igual que en el modelo logístico la gráfica de  $dy/dt$  contra los aumentos de  $t$  llega a un máximo (el punto de inflexión) y luego decae a 0. Al contrario del modelo logístico, no es simétrico alrededor del punto de inflexión y la tasa absoluta se acerca más rápido y decae lentamente (Campbell y Madden, 1990).

Al aplicar un análisis temporal, nos permite integrar los componentes esenciales en la curva de progreso de la enfermedad (CPE): hospedante, patógeno y condiciones ambientales que ocurren durante una epidemia, además nos permite identificar similitudes y diferencias entre epidemias, basándose en el comportamiento de la CPE (Campbell y Madden, 1990).

## LITERATURA CITADA

- Abarca, Ma. L., Ma. R. Bragulat, G. Castellá, F. Accensi, y F. J. Cabañes. 2000. Hongos productores de micotoxinas emergentes. *Revista Iberoamericana de Micología* 17: 863-868.
- Achicanoy L., H. 2000. Descripción cuantitativa de las epidemias de las plantas. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín* 53 (1): 941-968.
- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. 5th edition. Elsevier, Academic Press. 922 p.
- Altieri, M. A. 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 74: 19-31.
- Álvarez-Hernández, J. C., H. Cortez-Madrigal, y I. García-Ruiz. 2009. Exploración y caracterización de poblaciones silvestres de jitomate (*Solanaceae*) en tres regiones de Michoacán, México. *Polibotánica* 28: 139-159.
- Arneson, P. A. 2001. Epidemiología de las enfermedades de las plantas: Los aspectos temporales. *The Plant Health*. Disponible en línea: [www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/Epidemiologia/Pages/default.aspx](http://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/Epidemiologia/Pages/default.aspx). doi: 10.1094/PHI-A-2001-0524-01.
- Asturias, M. A. 2004. Maíz, de alimento sagrado a negocio del hambre. Acción ecológica. Red por una América latina libre de transgénicos. HIVOS. Quito, Ecuador. 111p.
- Atkins, S. D., and I. M. Clark. 2004. Fungal molecular diagnostics: a mini review. *Journal Appl Genet* 45 (1): 3-15.
- Bedoya, C. A., y V. H. Chávez T. 2010. Teocintle: el ancestro del maíz. *Claridades Agropecuarias* (201): 32-42.
- Berendsen, R. L., C. M. Pieterse, y A. P. Bakker. 2012. The Rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in plant Science* 17 (8): 478-486.
- Berg, G., and K. Smalla. 2009. Minireview. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology* 68 (1): 1-13.
- Betanzos M., E., A. Ramírez F., B. Coutiño E., N. Espinosa P., M. Sierra M., A. Zambada M., y M. Grajales S. 2009. Híbridos de maíz resistentes a pudrición de mazorca en Chiapas y Veracruz, México. *Agricultura Técnica en México* 35 (4): 389-398.
- Bial-Aristegui. 2002. *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Saccardo. *Revista Iberoamericana de Micología*. 31-32.
- Briones-Reyes, D. 2007. Resistencia a pudrición de mazorca en poblaciones de maíz bajo mejoramiento participativo en el Altiplano de México. Tesis de Maestra en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. de México.

- Brussaard, L., P. C. De Ruiter, and G. G. Brown. 2007. Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agriculture Ecosystems & Environment*. 121 (3): 233-244.
- Campbell, C. L. and L. V. Madden. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Willey and Sons, New York. 532 p.
- Carrillo T., C. 2009. El origen del maíz naturaleza y cultura en Mesoamérica. *Ciencias*. (92-93): 4-13.
- Casas S., J. F., J. L. Ramírez, D., J. de J. Sánchez G., J. Ron P., S. Montes H., y M. Chuela B. 2003. Características agronómicas en retrocruzamientos maíz – teocintle. *Rev. Fitotec. Mex.* 26 (4): 239-248.
- Chaves, N. F., y C. M. Araya. 2012. Efecto de la rotación de cultivos en la incidencia del amachamiento (*Aphelenchoides besseyi* Christie) en frijol. *Agronomía Costarricense* 36 (2): 61-70.
- Chávez-García, M. P. 2006. Producción de *Trichoderma sp.*, y evaluación de su efecto en cultivo de crisantemo (*Dendranthema grandiflora*). Tesis de Licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C.
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). 2008. Distribución geográfica del teocintle (*Zea spp.*) en México y situación actual de las poblaciones. En: Proyecto FZ002: Conocimiento de la diversidad y distribución actual del maíz nativo y sus parientes silvestres en México. Informe final de actividades 2007-2008. CONABIO, México.
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). 2012. El maíz, sus razas y parientes silvestres. Comunicado de Prensa CONABIO. N° 109. 28 de Septiembre de 2012.
- Cubillos H., J. G., A. Páez R., y L. Mejía D. 2011. Evaluación de la capacidad biocontroladora de *Trichoderma harzianum* Rifai contra *Fusarium solani* (Mart) Sacc. Asociado al complejo “secadera” en Maracuyá, bajo condiciones de Invernadero. *Rev. Fac. Nal. Agr. -Medellín*. 64(1): 5821-5830.
- D’Mello, J. P. F., and A. M. C. Macdonald. 1997. Mycotoxins. *Animal Feed Science Technology*. 69: 155-166.
- D’Mello, J. P. F., C. M. Placinta, and A. M. C. Macdonald. 1999. *Fusarium* mycotoxins: a review of global complications for animal health, welfare and productivity. *Animal Feed Science and Technology*. 80:183-205.
- de La Torre-Hernández, Ma. E., D. Sánchez-Rangel, E. Galeana-Sánchez y Javier Plascencia-de la Parra. 2014. Fumonisinias – síntesis y función de la interacción *Fusarium verticillioides* – maíz. *Rev. Esp. Cienc. Quím, Biol.* 17(1): 77-91.
- De León, C. 1984. Enfermedades del Maíz. Una Guía para su Identificación en el Campo. 3ª. Edición. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). 114 p.

- De Felipe A., Ma. R. 2004. Interacciones microorganismos-suelo-planta en la preservación del Medio Ambiente y la Salud. An. R. Acad. Nac. Farm. 70 (3): 743-776.
- Desprez-Loustau, Marie-Laure., C. Robin, M. Buée, R. Courtecuisse, J. Garbaye, F. Suffert, I. Satche, and D. M. Rizzo. 2007. The fungal dimension of biological invasions. *TRENDS in Ecology and Evolution*. 22 (9): 472-480.
- Doebley, J. 1990. Molecular systematics of *Zea* (Graminaceae). *Maydica* 35: 143-150.
- Doebley, J. 2004. The genetics of maize evolution. *Annu. Rev. Genet.* 38:37-59.
- Eguiarte, L. E., V. Souza, y X. Aguirre. 2007. *Ecología Molecular*. Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT. IEPSA. México, D.F. 592p.
- ELIKA. 2013. Fumonisin. Sustancias Indeseables alimentación animal. Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. Disponible en línea: <http://wiki.elika.net/index.php/Fumonisin>
- Espinosa G., F. J. y J. Sarukhán. 1997. *Manual de malezas del Valle de México*. Universidad Nacional Autónoma de México y Fondo de Cultura Económica. México, D. F. México. 407 p.
- Eubanks, M. W. 2001. The mysterious origin of maize. *Economic Botany* 55 (4): 492-514.
- FAOSTAT. Dirección estadística de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. 2014. Consultado el 25-Junio-2014. Disponible en línea: [http://faostat3.fao.org/browse/area/\\*/S](http://faostat3.fao.org/browse/area/*/S)
- Fernández, O. y L. Vega. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* (62): 96-100.
- Figueroa-Rivera, Ma. G., R. Rodríguez-Guerra, B. Z. Guerrero-Aguilar, M. M. González-Chavira, J. L. Pons-Hernández, J. F. Jiménez-Bremont, J. G. Ramírez-Pimentel, E. Andrio-Enríquez, y M. Mendoza-Elos. 2010. Caracterización de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de raíz de maíz en Guanajuato, México. *Rev. Mex. Fito.* 28(2): 124-134.
- García E., R. 2010. *Agroecología y enfermedades de la raíz en cultivos agrícolas*. Editorial del Colegio de Postgraduados. México, D.F. 130 p.
- García E., R. 1997. Breeding for horizontal resistance in bean: An example from México. *Biotechnology and Development Monitor* 33: 5.
- García E., R., R. A. Robinson, P. Ramírez V., F. Castillo G., and F. Romero R. 2001. A mexican bean breeding programme for comprehensive horizontal resistance to all locally important pest and disease. *In: Broadening the Genetic Base of Crop Production*. Cooper, H. D., C. Spillane, and T. Hodking (eds.). CABI Publishing. Oxford, U.K. pp: 399-406.

- Genetic Science Center Learning. 2014. La evolución del maíz. Learn Genetics. Consultado el 26-Mayo-2014. Disponible en línea: <http://learn.genetics.utah.edu/content/selection/corn/>
- Giller, K. E., M. H. Beare, P. Lavelle, A.-M. N. Izac, and M. J Swift. 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. *Applied Soil Ecology* 6: 3-16.
- Gómez-Rodríguez, O., y E. Zavaleta-Mejía. 2001. La asociación de cultivos una estrategia más para el manejo de enfermedades, en particular con *Tagetes* spp. *Rev. Mex. Fito.* 19 (1): 94-99.
- González H., A., L. M. Vázquez G., J. Sahagún C., J. E. Rodríguez P., y D. de. J. Pérez L. 2007. Rendimiento del maíz de temporal y su relación con la pudrición de mazorca. *Agricultura Técnica en México.* 33 (1): 33-42.
- González S., C. H., Ma. de los A. Fonseca, A. Puertas, L. Rodríguez L., y C. Arjona. 1999. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* R. sobre la composición cuantitativa de bacterias, hongos y actinomicetos de la rizosfera de solanáceas y su influencia con el crecimiento vegetativo. *INIA. Dialnet.* 14 (1-2): 297-306.
- Greenpeace, 2003. El maíz bajo amenaza: Contaminación genética por maíz transgénico en México. Paquete Informativo-Parte I. GREENPEACE.
- Guédez, C., L. Cañizález, C. Castillo, y R. Olivar. 2009. Efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* sobre algunos hongos patógenos postcosecha de la fresa (*Fragaria sp.*). *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología.* 29: 34-38.
- Hernández G., L. y E. Bustamante R. 2001. Control biológico de la marchitez bacterial en tomate con el uso de enmiendas orgánicas. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* (62): 18-28.
- Hernández-Delgado, S., M. A. Reyes-López, J. G. García-Olivares, N. Mayek-Pérez, y C. A. Reyes-Méndez. 2007. Incidencia de hongos potencialmente toxígenos en maíz (*Zea mays* L.) almacenado y cultivado en el norte de Tamaulipas, México. *Rev. Mex. Fito.* 25(2): 127-133.
- Herrera C., R. A. 2005. Control biológico de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Fusarium solani* en tomates bajo invernaderos. Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile.
- Herrera-Cabrera, B. E., F. Castillo-González, J. J. Sánchez-González, J. M. Hernández-Casillas, R. A. Ortega-Pazkca, y M. Major-Goodman. 2004. Diversidad del maíz chalqueño. *Agrociencia* 38(2): 191-206.
- Hoitink, H. A. J., A. G. Stone, y D. Y. Han. 1997. Supresión de enfermedades de plantas mediante compost. *Agronomía Costarricense* 21(1): 25-33.

- Hoitink, H. A. J., and M. J. Boehm. 2001. Control biológico en comunidades microbianas del suelo: un fenómeno de dependencia de sustrato. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* (62): 4-17.
- Hole, D. G., A. J. Perkins, J. D. Wilson, I. H. Alexander, P. V. Grice, and A. D. Evans. 2005. Does organic farming benefit biodiversity? *Biological Conservation* 122: 113-130.
- Holben, W. E. 1992. Isolation and purification of bacterial DNA from soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 33: 1225-1228.
- Hussein, S. H., and J. M. Brasel. 2001. Review. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology.* 167: 101-134.
- Iltis, H. H., and J. F. Doebley. 1980. Taxonomy of *Zea* (Graminaea). II. Subspecific categories in the *Zea mays* complex and a generic synopsis. *Amer. J. Bot.* 67 (6): 994-1004.
- Iltis, H. H., and B. F. Benz. 2000. *Zea nicaraguensis* (Poaceae), a new teosinte from Pacific Coastal Nicaragua. *Novon* 10 (4): 382-390.
- Izzeddin A., N., y L. Medina T. 2011. Efecto del control biológico por antagonistas sobre fitopatógenos en vegetales de consumo humano. *Salus. Rev. Fac. Ciencias Salud* 15(3): 8-12.
- Jaizme-Vega, Ma. del C., y A. S. Rodríguez-Romero. 2008. Integración de microorganismos benéficos (Hongos micorrízicos y bacterias rizosféricas) en agroecosistemas de las Islas Canarias. *Agroecología* 3: 33-39.
- Jiménez G., R. G., E. García M., y B. Peña O. 2001. Producción de forraje *in situ* del teocintle perenne *Zea diploperennis* Iltis, Doebley y Guzmán. *Téc. Pecu. Méx.* 39(2): 153-161.
- Kranz, J. 1974. Comparison of epidemics. *Annu. Rev. Phytopathol.* 12: 355-374.
- Kirk, J. L., L. A. Beaudette, M. Hart, P. Moutoglis, J. N. Klironomos, H. Lee, and J. T. Trevors. 2004. Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods* 58: 169-188.
- López-Herrera, C. J., R. M. Pérez-Jiménez, A. Llobel, E. Monte-Vázquez, y T. Zea-Bonilla. 1999. Estudios "in vivo" de *Trichoderma* como agente de biocontrol contra *Phytophthora cinnamomi* y *Rosellinia necatrix* en aguacate. *Revista Chapingo serie Horticultura.* 5: 261-265.
- Márquez-Sánchez, F. 2008. De las variedades criollas de maíz (*Zea mays* L.) a los híbridos transgénicos. I: Recolección de germoplasma y variedades mejoradas. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo.* 5(2): 151-166.

- Márquez S., F., L. Sahagún C., J. A. Carrera V., E. Barrera G., I. Morales R. y I. Cervantes M. 2003. El Centro Nacional de Rescate y Mejoramiento de Maíces Criollos del CRUOC. *Rev. Geografía Agrícola* 32: 7-24.
- Martin, R. R., D. James, and C. A. Lévesque. 2000. Impacts of molecular diagnostic technologies on plant disease management. *Annu. Rev. Phytopathol.* 38: 207-239.
- Martínez S., J. P. 1999. Maíz, ¿regalo de dioses o esclavo de mortales? Periodismo de Ciencia y Tecnología. Consultado 20-Mayo-2014. En línea: <http://www.invdes.com.mx/anteriores/Septiembre1999/htm/maiz.htm>
- Martínez-Soriano, J. P. y Leal-Klevezas, D. S. 2001. Maíz y teocintle, hermanos incómodos. Certezas sobre el flujo genético entre estas dos plantas. *La Jornada*. Consultado 28-Junio -2014. Disponible en línea: <http://www.jornada.unam.mx/2001/01/29/cien-maiz.html>.
- Massieu T., Y., y J. Lechuga M. 2002. El maíz en México: Biodiversidad y cambios en el consumo. *Análisis económico* 17 (36): 281-303.
- Matsuoka, Y., Y. Vigouroux, M. M. Goodman, J. Sánchez G., E. Buckler, and J. Doebley. 2002 A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *PNAS* 99 (9): 6080-6084.
- McLaughlin, A., and P. Mineau. 1995. The impact of agricultural practices on biodiversity. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 55: 201-212.
- McCartney, H. A., S. J. Foster, B. A. Fraaije, and E. Ward. 2003. Molecular diagnostics for fungal plant pathogens. *Pest Manag Sci.* 59: 29-42.
- Mendoza, M., A. López, A. Oyervides, G. Martínez, C. De León, y E. Moreno. 2003. Herencia genética y citoplásmica de la resistencia a la pudrición de la mazorca del maíz (*Zea mays* L.) causada por *Fusarium moniliforme* Sheld. *Rev. Mex. Fito.* 21(3): 267-271.
- Miranda-Colín, S. 2003. El origen genético y geográfico del maíz (*Zea mays* L.). *In: Centli-Maíz*, O. A. Muñoz, editor, 2nd. Edición. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. pp. 147-159.
- Montiel G., L., F. González F., B. Ma. Sánchez G., S. Guzmán R., F. P. Gámez V., J. A. Acosta G., R. Rodríguez G., J. Simpson W., M. Cabral E., y M. Mendoza E. 2005. Especies de *Fusarium* presentes en raíces de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con daños de pudrición, en cinco estados del centro de México. *Rev. Mex. Fito.* 23 (001): 1-7.
- Moonen, Anna-Camilla, and P. Bárberi. 2008. Functional biodiversity: An agroecosystem approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 127: 7-21.
- Morales-Rodríguez, I., Ma. De J. Yáñez-Morales, H. V. Silva-Rojas, G. García-de-los-Santos, y D. A. Guzmán-de-Peña. 2007. Biodiversity of *Fusarium* species in

- Mexico associated with ear rot in maize, and their identification using a phylogenetic approach. *Mycopathologia* 163: 31-39.
- Moreira, F., E. J. Huising, y D. E. Bignell. 2012. Manual de biología de suelos tropicales. Muestreo y caracterización de la biodiversidad bajo suelo. Instituto Nacional de Ecología, México. 337 p.
- Moss, M. O. 2002. Mycotoxin review – 2. *Fusarium*. *Mycologist* 16: 158-161.
- Mota C., C., y R. García-Sandoval. 2013. El huitlacoche: una delicadeza y alimento nutritivo de la milpa. CONABIO. Vida culinaria. Consultado 19-Agosto-2014. En línea: <http://www.vidaculinaria.com.mx/el-articulo-septiembre2013.html>.
- Munkvold, G. P., and A. E. Desjardins. 1997. Fumonisin in maize. Can we reduce their occurrence? *Plant Disease* 81(6): 556-565.
- Muñoz O., A., J. A. Cuevas S., A. Santacruz V., J. I. Olvera H., y O. Taboada G. 2001. Diversidad del maíz en los nichos ecológicos y culturales de México. Publicaciones del Programa Nacional de Etnobotánica. Serie: Agroecosistemas. Chapingo. (5): 1-31.
- Nava D., C. 2009. Consideraciones para muestreo de enfermedades: Muestreo simple aleatorio, muestreo estratificado para la estimación de la media y proporción. *In*: Tópicos selectos de Estadística aplicados a la Fitosanidad, Bautista M. N., L. Soto R., y R. Pérez P., editores, Editorial Colegio de Postgraduados.
- O'Connell, K. P., R. M. Goodman, and J. Handelsmar. 1996. Engineering the rizosphere: expressing a bias. *TIBTECH MARCH*. 14: 83-88.
- Oren, L., S. Ezrati, D. Cohen, and A. Sharon. 2003. Early events in the *Fusarium verticillioides* – maize interaction characterized by using a green fluorescent protein expressing transgenic isolate. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(3): 1695-1701.
- Quiroga M., R. R. 1995. Enfermedades del maíz en algunas regiones tropicales de México, con énfasis en el estado de Chiapas. Manual para técnicos, investigadores y estudiantes. Ed. Colina Universitaria. Universidad Autónoma de Chiapas. 116p.
- Rey, M., J. Delgado-Jarana, A. Ma. Rincón, Ma. C. Limón, y T. Benítez. 2000. Mejora de cepas de *Trichoderma* para su empleo como biofungicidas. *Rev. Iberoam. Micol.* 17: 531-536.
- Reyes R., A., J. Cristóbal A., E. Ruiz S., y J. Ma. Tun S. 2012. Inhibición del crecimiento *in vitro* de *Fusarium* sp., aislado de chile habanero (*Capsicum chinensis*) con hongos antagonistas. *Fitosanidad*. 16(3): 161-165.
- Richard, J. L. 2007. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses-An overview. *International Journal of Food Microbiology* 119: 3-10.

- Rodríguez-Echeverría, S. 2009. Organismos del suelo: la dimensión invisible de las invasiones por plantas no nativas. *Ecosistemas* 18 (2): 32-43.
- Rodríguez-Echeverría, S., S. R. Costa, and H. Freitas. 2007. Biodiversity and interactions in the rhizosphere: Effects on ecosystem functioning. *In: Functional Plant Ecology*, Pugnaire F. y F. Valladares, eds. 2<sup>nd</sup>. ed. CRC Press. Taylor and Francis Group. USA. pp. 581-600.
- Sánchez-Hernández, M. A., C. U. Aguilar-Martínez, N. Valenzuela-Jiménez, C. Sánchez-Hernández, Ma. C. Jiménez-Rojas y C. Villanueva-Verduzco. 2011. Densidad de siembra y crecimiento de maíces forrajeros. *Agro. Mesoame.* 22(2): 281-295.
- Sánchez G., J. J., M. M. Goodman, and C. W. Stuber. 2000. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Economic Botany* 54(1): 43-59.
- Sánchez G., J. J., and J. A. Ruiz C. 1997. Teosinte distribution in Mexico. *In: Gene flow among maize landraces, improved maize varieties, and teosinte: Implications for transgenic maize*. Serratos J. A., M. Willcox, and F. Castillo, editors, Mexico, D.F. CIMMYT. pp. 18-39.
- Serratos, H. J. A. 2009. El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. Editorial Review. Greenpeace de México. 36 p.
- Steenkamp, E. T., T. A. Coutinho, A. E. Desjardins, B. D. Wingfield, W. F. O. Marasas, and M. J. Wingfield. 2001. *Gibberella fujikuroi* mating population E is associated with maize and teosinte. *Molecular Plant Pathology.* 2 4): 215-221.
- Steyn, P. S. 1995. Mycotoxins, general view, chemistry and structure. *Toxicology Letters.* 82/83: 843-851.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2007. Situación actual y perspectivas del maíz en México 1996-2012. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). México, D. F. 208 p.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2012-2014. Cierre de la producción agrícola por cultivo-Año 2013. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Consultado el 16-Julio-2014. En línea: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>
- Stukenbrock, E. H., and B. A. McDonald. 2008. The origins of plant pathogens in agroecosystems. *Annu. Rev. Phytopathol.* 46: 75-100.
- Tiffin, P. 2004. Comparative evolutionary histories of chitinase genes in the genus *Zea* and family Poaceae. *Genetics* 167: 1331-1340.
- Tovar-Castaño, J. C. 2008. Evaluación de la capacidad antagonista “in vivo” de aislamientos de *Trichoderma* ssp., frente al hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C.

- Tunuary y Chávez, C. 2008. El antiguo teocintle, en manos de Monsanto. La Jornada michoacana. En línea: <http://www1.lajornadamichoacan.com.mx/2008/10/05/index.php?section=politica&article=006a1pol>. Consultado el: 14-Abril-2014.
- Vigier, B., L. M. Reid, K. A. Seifert, D. W. Stewart, and R. I. Hamilton. 1997. Distribution and prediction of *Fusarium* species associated with maize ear rot in Ontario. Canadian Journal of Plant Pathology 19 (1): 60-65.
- White, D. G. 1999. Compendium of Corn Diseases. 3<sup>rd</sup> ed. The American Phytopathological Society. USA. 78p.
- Zavaleta-Mejía, E., E. A. Castro A., y V. Zamudio G. 1993. Efecto del cultivo e incorporación de *Tagetes erecta* sobre la población e infección de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood en Chile (*Capsicum annum* L.). Nematropica 23: 49-56.
- Zavaleta-Mejía, E. 2000. Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. Terra 17(3): 201-207.
- Zhang, L., A. S. Peek, D. Dunams, and B. S. Gaut. 2002. Population genetics of duplicated disease-defense genes, *hm1* and *hm2*, in maize (*Zea mays* ssp. *mays* L.) and its wild ancestor (*Zea mays* ssp. *parviglumis*). Genetics 162: 851-860.

## CAPÍTULO II.

### DINÁMICA TEMPORAL DE LA INCIDENCIA DE *Fusarium* Y Oomycetes ASOCIADOS A LAS RAÍCES DEL MAÍZ CRIOLLO “AZUL” (*Zea mays* L. raza Chalco) Y DEL TEOCINTLE (*Zea mays* subsp. *mexicana*).

#### RESÚMEN

Las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos de las raíces (HOFIR) en maíz han sido poco estudiadas y se desconoce el papel que estos hongos juegan en el patosistema aéreo y edáfico de este cultivo. En las especies silvestres que son ancestros de las plantas cultivadas, como es el “teocintle” para el maíz, se desconoce aún más la relación y el efecto que los HOFIR pueden tener. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia y dinámica temporal de la incidencia de *Fusarium* spp., y de Oomycetes en las raíces de maíz criollo “azul” y del teocintle a lo largo del ciclo fenológico de ambas especies. Se colectaron plantas de maíz criollo en ocho etapas fenológicas de una parcela comercial y plantas de teocintle en cinco etapas fenológicas de una población silvestre en el Estado de México. Del sistema radical de ambas especies, se seleccionaron raíces mostrando daño por marchitez y se sembraron en medios de cultivo semiselectivos, evaluándose la incidencia de *Fusarium* spp. y de Oomycetes a través del tiempo. Con base en su morfología, color y textura se realizó la purificación de cepas, extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación genética, así como su identificación taxonómica. *Fusarium oxysporum* y *F. fujikuroi*, y algunos Oomycetes no identificados a género ni especie, fueron los más frecuentemente encontrados tanto en maíz como en teocintle. La incidencia de *Fusarium* siempre fue mayor que los Oomycetes; sin embargo, la incidencia en general por estos organismos fitopatógenos fue menor en teocintle que en maíz. Ambas especies de plantas presentaron un alto nivel de daño por necrosamiento en las raíces, el cual se infiere se debe en gran parte a la infección por *Fusarium*; sin embargo, se deben realizar trabajos experimentales bajo condiciones controladas que confirmen esta suposición. A la cosecha del maíz, se halló una elevada incidencia y severidad causada por *Fusarium* spp., en las mazorcas; pero no en teocintle. Este es un trabajo preliminar que permite establecer por primera vez la presencia de *F. fujikuroi* en las raíces de maíz, así como también por primera vez la presencia de *F. oxysporum* y *F. fujikuroi* en raíces de teocintle a lo largo de todo el desarrollo fenológico de ambas especies de plantas; sin embargo, aún se desconoce el papel específico y la importancia que estos hongos tienen en las poblaciones del ancestro silvestre del maíz, y el papel que el inóculo del suelo tiene en las infecciones y fuerte daño en el cultivo del maíz.

**Palabras claves:** Dinámica temporal, hongos fitopatógenos de las raíces, *Fusarium*, Oomycetes, maíz criollo “azul”, teocintle.

## INTRODUCCIÓN

De manera general se acepta que los organismos fitopatógenos causan un menor daño en los sistemas naturales que en los sistemas agrícolas o manejados, debido a que en un sistema natural existe una mayor diversidad biológica (Gliessman, 2002) la cual se manifiesta a través de múltiples interacciones (Cohen, 1989; Ingham, 2000), y ello favorece el equilibrio en la estructura y función de las comunidades que lo conforman (Bardgett *et al.*, 2005), lo cual a su vez influye en la regulación de las especies (Hunter, 2002).

Así mismo, se ha propuesto que en los sistemas naturales, la convivencia entre planta y patógeno depende en gran parte de la duración de la coexistencia espacio-temporal (coevolución) que han tenido las dos especies involucradas y en la cual han desarrollado estrategias de resistencia y virulencia, sin presentar situaciones de extrema virulencia y destrucción como sucede en los sistemas agrícolas (Thompson, 1994; Burdon y Thrall, 2000).

En epidemiología botánica, el análisis temporal y cuantitativo de las enfermedades en plantas, proporciona información precisa de los cambios en la densidad del inóculo inicial del patógeno, la influencia de las diferentes etapas del desarrollo de la planta hospedante (Dobson y Crawley, 1994; Houlden *et al.*, 2008), la fluctuación de las condiciones climatológicas que mayor influencia tienen en el desarrollo de la epidemia, y en el caso de los agroecosistemas, el efecto de las actividades culturales (Zadoks y Schein, 1979; Campbell y Madden, 1990), información que no se obtiene cuando sólo se estudia una enfermedad al inicio (siembra) y/o final (cosecha) del cultivo.

Por otra parte, se reconoce la importancia del estudio y la conservación de los ancestros silvestres de las plantas cultivadas de importancia agrícola, pues representan un trascendental recurso biológico, genético y ecológico para: a) obtención de genes de resistencia a diversos factores bióticos y abióticos (Sánchez y Ruiz, 1997 y Casas *et al.*, 2003), b) obtención y conservación de microorganismos de la rizósfera, filósfera y caulósfera importantes para su desarrollo y función (Sánchez *et al.*, 1998), c) fomento del flujo e intercambio genéticos para conservar la diversidad de las especies (Miranda-Colín, 2003; de Lange *et al.*, 2014).

El maíz es uno de los cultivos fundamentales en la alimentación de la humanidad; sin embargo, es afectado por diversos patógenos (White, 1999), entre los más importantes están los hongos del género *Fusarium*, que causan fuertes daños y pérdidas directas e indirectas en su producción (White, 1999; Hernández-Delgado *et al.*, 2007).

Al presente, se acepta que el ancestro silvestre del maíz es el teocintle (Doebley *et al.*, 1984; Miranda-Colín, 2003; Doebley, 2004), y aún cuando de manera natural existe flujo genético entre maíz y teocintle (Sánchez y Ruiz, 1997) y se han hecho cruza experimentales

entre ellos para valorar el uso potencial del teocintle en el mejoramiento del maíz (Casas *et al.*, 2003), existen pocos trabajos sobre las interacciones planta-patógenos en las especies de teocintle (de Lange *et al.*, 2014), y menos aún sobre los hongos fitopatógenos de las raíces tanto del teocintle como del maíz, a pesar de la importancia que ello representa en la búsqueda de resistencia genética a enfermedades para el maíz (Nault *et al.*, 1982), y en la conservación del ancestro teocintle (Kato *et al.*, 2009).

Es importante mencionar que a pesar de la trascendencia que tiene el teocintle como fuente para la obtención de genes en el mejoramiento del maíz, y para la obtención de microorganismos benéficos (Sánchez *et al.*, 1998), las áreas naturales en las que se encuentran las poblaciones de las diferentes especies del teocintle en la República Mexicana (Sánchez y Ruiz, 1997) han ido disminuyendo debido principalmente al cambio en el uso del suelo, y de acuerdo a varios autores es una especie en peligro de extinción (Wilkes, 2007; Kato *et al.*, 2009).

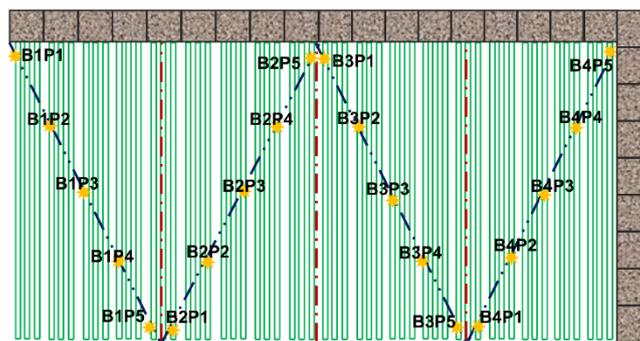
Por lo anterior, el objetivo de este trabajo ha sido determinar de manera comparativa cuales son los hongos fitopatógenos más comunes que afectan el sistema radicular tanto del teocintle como del maíz, así como conocer el comportamiento temporal de incidencia y daño a lo largo del desarrollo fenológico de ambas especies de plantas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación y descripción de los sitios de muestreo.

Este estudio se llevó a cabo de abril a diciembre de 2013 en una parcela comercial de maíz nativo ‘azul’ (*Zea mays* subsp. *mays* raza Chalco) ubicada en Juchitepec, Municipio de Juchitepec, estado de México, con longitud 98°58’46’’ W y latitud 19°10’28’’N, a 2540 msnm, clima templado subhúmedo con una precipitación media anual de 750 mm y temperatura anual de 20° a 23°C. En el caso del teocintle, se trabajó en una población silvestre localizada en Cocotitlán, Municipio de Cocotitlán, estado de México, con longitud 98°49’46’’ W y latitud 19°14’33’’ N, a 2300 msnm, clima templado subhúmedo, precipitación media anual de 650 mm y temperatura media anual de 13.6 °C.

La parcela de maíz, con un área de 0.24 ha, abarcó una población aproximada de 5 616 plantas, distribuidas en 54 surcos con 104 plantas cada uno; la distancia entre plantas fue aproximadamente de 0.40 m y entre surcos de 1.0 m. Para el muestreo de las plantas se siguió un muestreo sistemático, trazando una ‘W’ en toda la parcela (cuatro cuadrantes), y en cada brazo (cuadrante) de la W se seleccionaron cinco plantas equidistantes; con 20 plantas por fecha de muestreo (Figura 2).



**Figura 2.** Representación de la parcela de maíz nativo “azul” que muestra la distribución de los puntos de muestreo.

Se efectuaron ocho muestreos durante todo el ciclo fenológico del cultivo durante los meses de Mayo a Diciembre del 2013, e incluyó un total de 160 plantas. El diseño de muestreo seguido en este trabajo es recomendado para el análisis de los organismos fitopatógenos de las raíces que comúnmente presentan una disposición espacial en agregados (Campbell y Benson, 1994).

La población silvestre de teocintle con la cual se trabajó, ocupa un área de aproximadamente 0.806 ha, conformada por individuos en diferentes etapas fenológicas, desde

plántula hasta plantas adultas en reproducción; presenta una elevada densidad de población por metro cuadrado, y semeja un pastizal silvestre (Figura 3). Para el muestreo de esta población, se trazó un transecto de 30 m de largo por 2.0 m de ancho, y a lo largo de él se tomaron 20 plantas de teocintle en cada uno de los tres muestreos realizados durante el periodo de estudio; se eligieron, plantas en aparente diferente estado fenológico. Se estimó la densidad total de esta población, colocando aleatoriamente seis cuadrantes de un metro cuadrado cada uno y se contó el total de individuos por cuadrante; posteriormente se calculó la densidad promedio por metro cuadrado y este valor se extrapoló al área total ocupada por la población.



**Figura 3.** Población silvestre de teocintle, ubicada en el municipio de Cocotitlán, Edo. de México, 2013.

Las plantas seleccionadas de maíz y teocintle se extrajeron con toda la raíz, y se colocaron en bolsas de plástico etiquetadas dentro de hieleras para su transporte. Todas las muestras de plantas y raíces se procesaron en el Laboratorio de Ecología de Patógenos de la Raíz del Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados, Campus montecillo, México.

### **Evaluación de la incidencia de *Fusarium* y oomycetes asociados a las raíces del maíz y teocintle.**

#### **Procesamiento de muestras de raíces en laboratorio**

Las plantas extraídas de maíz criollo y teocintle, no presentaron síntomas aéreos de marchitez o pudrición, si no que éstas se veían aparentemente vigorosas.

El sistema radical de cada planta se separó de la parte aérea y se lavó perfectamente con agua corriente para quitar el exceso de suelo. Del sistema radical se seleccionaron 10 raíces al azar y de cada una de ellas se cortaron trocitos de  $\pm 1$  cm de largo. Estos trocitos de raíces se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1%, agitándolos durante un minuto; posteriormente se les dio un triple lavado con agua destilada estéril; se les quitó el exceso de agua con toallitas de papel esterilizadas, y se dejaron secar bajo condiciones estériles dentro de la cámara de transferencia. De cada muestra de raíces, se sembraron 10 trocitos en una caja de Petri con medio

PDA (BD Bioxon®) y medio de Kerr (Kerr, 1962) para *Fusarium*, y 10 más con medio PARPH (Base Harina de Maíz (MASECA)-Agar (MERCK®), en adición de los antibióticos: Pimaricina-Amplicilina-Rifampicina-PCNB e Himexazol) para oomicetes.

Las cajas selladas y etiquetadas se incubaron a 27°C durante siete días en oscuridad. A los tres días de incubación, se inició la cuantificación y registro del número de colonias de *Fusarium* y oomicetes; éstos fueron los organismos que se observaron con más frecuencia en todos los muestreos en ambas especies de plantas. A los siete días después de la incubación de las raíces en los medios de cultivo, se evaluó el porcentaje de incidencia por muestra de raíces con base en el número de colonias observadas en relación a los 10 trocitos de raíces. Este mismo procedimiento se siguió en todos los muestreos para maíz y teocintle. Las colonias de *Fusarium* se cuantificaron de forma global y con base en la morfología, color y textura de las mismas, sin determinar a qué especie pertenecía cada unidad formadora de colonia.

La identificación morfológica y molecular de *Fusarium* se aborda en el Capítulo III de este trabajo. Es necesario mencionar que la identificación morfológica y molecular de Oomicetes no se realizó, debido a que los aislamientos obtenidos se presentaban fuertemente contaminados con bacterias, y aunque se intentó limpiar utilizando como base de medio de cultivo Harina de Maíz (MASECA)-Agar (MERCK®), en adición de los antibióticos: Pimaricina, Penicilina, Rifampicina, Estreptomicina, Cloranfenicol, no se logró la limpieza.

### **Evaluación de la severidad del daño por pudriciones y marchiteces en raíces de maíz y teocintle.**

Una vez lavado el sistema radicular de las plantas muestreadas, se colocó sobre toallas de papel para quitar el exceso de agua y se evaluó su peso fresco. Después de esto, las raíces se arreglaron para valorar el grado de daño causado por pudriciones radicales, tomando fotografías del sistema radicular de cada planta en cada muestreo.

### **Evaluación del desarrollo y crecimiento del maíz y del teocintle**

Además de evaluar el peso fresco y peso seco de las raíces también se evaluó la parte aérea de las plantas, y se cuantificó el número de hojas. Al final del ciclo de cultivo del maíz, se seleccionaron 16 surcos (cuatro por cuadrante) y 30 plantas por surco; se cuantificó el número de mazorcas por planta, y se extrapoló al total de la población en la parcela. En teocintle se cuantificó el número de hijuelos por planta, y el número de mazorquitas por hijuelo y por planta. Desde el primer muestreo, las plantas de teocintle se clasificaron con base en su morfología, número de hojas, hijuelos y mazorquitas, y se definieron cinco diferentes etapas

fenológicas; en los muestreos posteriores se colectaron plantas en tales fases. El material vegetal se colocó en estufa de secado a 78°C durante 72 hrs, y después se evaluaron el peso seco total (biomasa), peso seco de raíces y peso seco de la parte aérea.

### **Análisis cuantitativo de la dinámica temporal de la incidencia de *Fusarium* y oomycetes asociados a las raíces de maíz y de teocintle a lo largo de su ciclo fenológico.**

La incidencia de *Fusarium* y oomycetes en raíces se graficó en función del tiempo para obtener la curva de progreso de la enfermedad (CPE). Los datos en proporción de la incidencia, se ajustaron a los modelos de crecimiento monomolecular, logístico y Gompertz en su versión lineal, mediante el análisis de regresión lineal, aplicando el método de mínimos cuadrados y utilizando el programa estadístico SAS versión 9.0. El mejor modelo para describir las curvas de crecimiento, se seleccionó con base en los estadísticos  $R^2$ ,  $CME$ ,  $Prob > F$ ,  $\hat{S}_{\beta 0}$  y  $\hat{S}_{\beta 1}$ , y comportamiento de residuales. La aplicación de estos modelos permitió obtener la tasa de crecimiento ( $r$ ) de cada CPE para *Fusarium* y Oomycetes.

Las tasas de crecimiento de la incidencia causada por *Fusarium* y Oomycetes en maíz y en teocintle, se compararon mediante un intervalo de confianza (I.C.) siguiendo lo propuesto por Madden (1986) para la comparación de los parámetros epidemiológicos, y se aplicaron las siguientes ecuaciones:

$$(\theta_1 - \theta_2) \pm t [ P; n_1 + n_2 - (2p) ] \cdot s [d].$$

En donde:  $p$  es el número de parámetros en cada modelo;  $n_1$  y  $n_2$  son el número de observaciones para los dos diferentes curvas de progreso de la enfermedad;  $t [.]$  es el valor crítico en una tabla de  $t$  con nivel de significancia  $P$  y  $n_1+n_2 - (2p)$  grados de libertad; y  $s [d]$  es el error estándar de la diferencia, la cual es calculada como la raíz cuadrada de la suma de las varianzas de los dos parámetros estimados:

$$s [d] = ( s^2 [\theta_1] + s^2[\theta_2] )^{1/2}$$

La Regla de decisión para este análisis es: ‘Si el intervalo de confianza no incluye cero, entonces uno puede rechazar la hipótesis nula de igualdad de parámetros en favor de la hipótesis alternativa de no-igualdad’.

### **Análisis de correlación de las variables de crecimiento de maíz y teocintle respecto a la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes.**

Las variables de crecimiento de maíz y teocintle se correlacionaron con la incidencia de *Fusarium* y oomycetes aplicando el coeficiente de correlación de Pearson ( $\rho$ ), y el programa estadístico SAS versión 9.0.

### **Evaluación de la severidad causada por *Fusarium* ssp., en mazorcas de maíz.**

Al finalizar el ciclo de cultivo del maíz se presentó un severo daño causado por *Fusarium* en las mazorcas, el cual se evaluó solamente en las mazorcas cosechadas. Para ello, las 417 mazorcas cosechadas se ordenaron con base en el grado de daño que presentaban (pudriciones, semillas con coloración blanquecina-rosa, amarillentas; deformaciones en semillas y mazorcas) y se definió una escala cualitativa de severidad con diez clases de daño donde: 1=0% (sin daño aparente), 2= 1–3%, 3= 4–12%, 4= 13–25%, 5= 26–35%, 6= 36–55%, 7= 56–80%, 8= 81–95%, 9= 96–98% y 10= 100% daño. Se determinó el índice de daño medio (I.D.) en la parcela de acuerdo a la ecuación propuesta por Parry (1990).

### **Observación preliminar de la presencia de *Fusarium* en semillas asintomáticas y sintomáticas de mazorcas de maíz y de teocintle.**

De las mazorcas de maíz cosechadas y seleccionadas para definir la escala de severidad, solo se tomaron 10 semillas; 5 semillas de una mazorca con 0% (sin daño aparentemente), y 5 semillas de una mazorca con 100% de daño de *Fusarium*.

En lo que respecta al teocinte, y como ninguna mazorquita o semillas presentaron síntomas visibles de daño por *Fusarium*, sólo se tomaron 10 semillas al azar; es importante mencionar que este proceso sólo se efectuó una vez con la única finalidad de conocer qué patógenos podrían estar presentes en las semillas, pero no se llevó a cabo un muestreo formal de manera sistemática. Las semillas de maíz y teocintle seleccionadas, se desinfestaron con hipoclorito de sodio al 1% durante un minuto, dando un triple lavado con agua destilada estéril; se les quitó el exceso de agua con toallas de papel previamente esterilizadas, dejándolas secar durante 30 minutos a temperatura ambiente dentro de la cámara de transferencia. Las semillas asintomáticas y sintomáticas de maíz, y las semillas de teocintle, se sembraron en medio de cultivo PDA, incubándose a 26°C en oscuridad. Al tercer día de incubación se observó crecimiento de colonias de *Fusarium* en todas las semillas; se seleccionaron 3 aislamientos de las semillas de maíz provenientes de mazorcas con 100% daño y 2 aislamientos de semillas de mazorcas con 0% daño. En el caso del teocintle también se observó crecimiento de colonias de *Fusarium*, y se seleccionaron 3 aislamientos. Todos los aislamientos de *Fusarium* se cultivaron por cultivos monoconidiales para su purificación y posterior caracterización molecular, la cual se describe más detalladamente en el Capítulo III de este trabajo.

## **Evaluación de la producción en maíz**

### **Recolección de mazorcas.**

La cosecha del cultivo de maíz se realizó a los 225 días después de la siembra (DDS), para ello se seleccionaron cuatro surcos por cuadrante, colectando las mazorcas de 30 plantas tomadas al azar por surco, y teniendo un total de  $\pm 120$  plantas cosechadas por cuadrante. Las mazorcas cosechadas fueron puestas en costales previamente etiquetados con los datos correspondientes y fueron transportadas al laboratorio donde se procedió a limpiar cada una de las mazorcas, quitando las brácteas que las envuelven.

### **Estimación de la producción**

Del total de las mazorcas cosechadas se tomó una muestra de 50 mazorcas al azar, y en cada una se evaluó el número de hileras de semillas, número de semillas por hilera y peso de la mazorca; se obtuvo el valor promedio de cada variable, y posteriormente por extrapolación se obtuvo la producción total para el área de la parcela de cultivo y de la densidad de siembra establecida, aplicando las siguientes ecuaciones y variables  $Ntm = Mpp \times Pps \times Spp$ ;  $Producción = Ntm \times Ppm$ ; en donde,  $Ntm$ : número total de mazorcas;  $Pps$ : plantas por surco;  $Spp$ : surcos por parcela;  $Ppm$ : peso promedio de mazorcas;  $Mpp$ : número de mazorcas promedio por planta.

### **Estimación de pérdidas de producción en maíz, debidas al daño causadas por *Fusarium ssp.*, en las mazorcas.**

Una vez estimada la producción total de la parcela, se hizo la comparación de los resultados obtenidos en este trabajo con los obtenidos por Jhonson y Jha (1993) bajo condiciones de temporal, y Antonio *et al.*, (2004) y Arellano *et al.*, (2003) bajo condiciones de temporal, riego y dosis de fertilización en el Edo. de México, Puebla y Tlaxcala y así poder estimar las pérdidas ocasionadas por *Fusarium* en mazorcas de maíz criollo azul.

## RESULTADOS

### Definición de fases fenológicas de maíz y teocintle

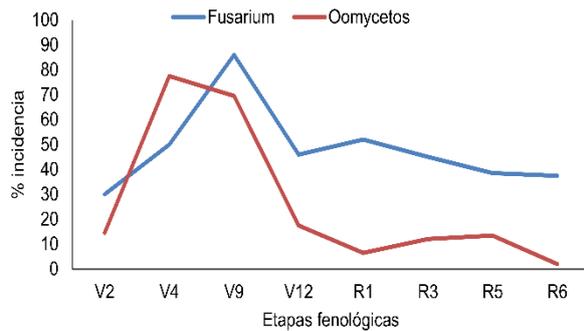
Las fases fenológicas de las plantas de maíz muestreadas se definieron con base en lo propuesto por Ritchie y Hanway (1984), citado por Lafitte (1993), y en esta investigación concordaron con las etapas vegetativas V2, V4, V9 y V12, y reproductivas R1, R3, R5 y R6 en los correspondientes ocho muestreos. En el teocintle se definieron cinco fases fenológicas: fase vegetativa inicial (FVI), fase vegetativa avanzada (FVA), fase reproductiva inicial 1 (FRI1), fase reproductiva inicial 2 (FRI2) y fase reproductiva avanzada (FRA), de acuerdo a la presencia y número de estructuras vegetativas y reproductivas (Cuadro 1). En este trabajo se están describiendo por primera vez las fases fenológicas del teocintle *Zea mays* subsp. *mexicana*.

**Cuadro 1.** Definición de las fases fenológicas del teocintle (*Zea mays* subsp. *mexicana*) en una población silvestre ubicada en Cocotitlán, Edo. de México, 2013.

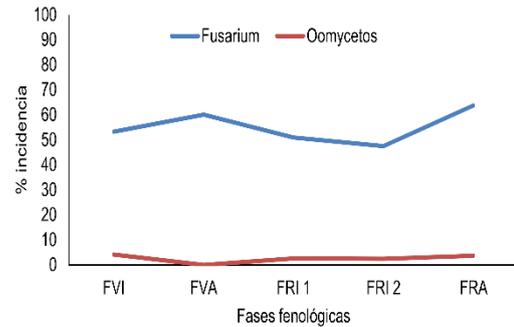
	Fases fenológicas				
	FVI	FVA	FRI1	FRI2	FRA
Características	No hijuelos y no mazorcas	Hijuelos pero no mazorcas	No hijuelos pero <10 mazorcas	Hijuelos con <10 mazorcas	Hijuelos con >10 mazorcas

### Evaluación de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes asociados a las raíces del maíz y teocintle.

De acuerdo a la curva de fluctuación de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes a través del tiempo en el maíz criollo azul, se observa que estos microorganismos estuvieron presentes en las raíces durante todas las etapas del ciclo fenológico del cultivo, observándose en general una mayor incidencia de *Fusarium* que de Oomycetes; presentándose los mayores porcentajes de incidencia de ambos grupos de organismos en las primeras etapas fenológicas de la planta (Figura 4a).



**Figura 4a.** Fluctuaciones de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes de raíces de maíz nativo azul a través del ciclo fenológico de esta planta. V2-V12: Etapas Vegetativas, R1-R5: Etapas Reproductivas y R6: Madurez Fisiológica. Juchitepec, Edo. de México, 2013.



**Figura 4b.** Fluctuaciones de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes de raíces de teocintle, a través de diferentes etapas fenológicas de esta especie silvestre. FVI: Fase vegetativa inicial, FVA: Fase vegetativa avanzada, FRI<sub>1</sub> y FRI<sub>2</sub>: Fase reproductiva inicial 1 y 2, FRA: Fase reproductiva avanzada. Cocotitlán, Edo. de México, 2013.

En el caso del teocintle, las fluctuaciones de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes (Figura 4b), también muestran que estos organismos estuvieron presentes en todas las fases fenológicas de la población silvestre sin manifestar fuertes cambios en el tiempo; sin embargo, el nivel de incidencia de los Oomycetes fue mucho menor que el de *Fusarium*. La comparación general gráfica del comportamiento de ambos grupos de patógenos entre maíz y teocintle (Figuras 4a y 4b), evidencia que la incidencia fue mucho menor en teocintle que en maíz.

### Curvas de progreso de la enfermedad (CPE) causada por la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en raíces de maíz y teocintle.

Las curvas de progreso de la enfermedad (CPE), que muestran el incremento acumulado de la incidencia ocasionada por *Fusarium* y Oomycetes en relación al tiempo de duración de la enfermedad (Figura 4), y que se ajustaron a diferentes modelos de crecimiento (Cuadros 2 y 3), permitieron obtener el valor cuantitativo de las tasas de crecimiento ( $r$ ) de dichas enfermedades así como compararlas y determinar sus significancia estadística (Cuadro 1).

Las CPE de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en las raíces de maíz y teocintle, tuvieron un mejor ajuste estadístico al modelo de crecimiento monomolecular, con base en los diferentes estadísticos que se consideraron (Cuadros 2 y 3). En el caso de *Fusarium* en maíz, los valores de los estadísticos para el modelo monomolecular fueron: coeficiente de determinación  $R^2 = 0.97$ , cuadrado medio del error  $CME = 0.0014$ , probabilidad del modelo  $Prob > F = 0.0001$ , valor del intercepto  $\beta_0 = 0.0256$  y error estándar del intercepto  $\hat{S}\beta_0 = 0.0253$ , valor de la pendiente  $\beta_1 = 0.0028$  y error estándar de la pendiente  $\hat{S}\beta_1 = 0.0001$ , y el comportamiento de los residuales fue aceptable. Con respecto a los Oomycetes en maíz, los valores de los diferentes estadísticos que se consideraron (Cuadro 2), fueron:  $R^2 = 0.74$ ,  $CME =$

0.0030, Prob>F= 0.0057, Intercepto  $\beta_0= 0.0908$ ,  $\hat{S}\beta_0 = 0.0370$ , pendiente  $\beta_1= 0.0011$ ,  $\hat{S}\beta_1 = 0.0002$ , y el comportamiento de los residuales fue aceptable. En teocintle, para el caso de la incidencia de Fusarium los valores de los mejores estadísticos considerados corresponden al modelo Monomolecular (Cuadro 3), y fueron:  $R^2= 0.73$ , CME= 0.0281, Prob>F= 0.0634, Intercepto  $\beta_0= 0.2274$  y error estándar del intercepto  $\hat{S}\beta_0= 0.0990$ , pendiente  $\beta_1= 0.0074$  y error estándar de la pendiente  $\hat{S}\beta_1 = 0.0025$ , y con un comportamiento aceptable de los residuales; en lo referente a Oomycetes, los mejores estadísticos correspondieron también al modelo Monomolecular (Cuadro 2) y fueron:  $R^2= 0.69$ , CME= 0.00004, Prob>F= 0.0804, intercepto  $\beta_0= 0.0124$  y error estándar del intercepto  $\hat{S}\beta_0= 0.0037$ , pendiente  $\beta_1= 0.0002$  y error estándar de la pendiente  $\hat{S}\beta_1= 0.00009$ , y el comportamiento de los residuales fue aceptable.

**Cuadro 2.** Estadísticos considerados en el ajuste de la curva epidemiológica de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en maíz criollo azul a los modelos de crecimiento logístico, monomolecular y Gompertz. La evaluación de la incidencia se realizó en la localidad de Juchitepec, Edo. de México.

Patógeno	Modelo	R <sup>2</sup>	CME	Prob>F	β <sub>0</sub>	Ŝβ <sub>0</sub>	Prob	β <sub>1</sub>	Ŝβ <sub>1</sub>	Prob	Residuales
<i>Fusarium</i>	Logístico	0.82	0.2408	0.0019	-2.6238	0.3276	0.0002	0.0129	0.0024	0.0019	Aceptable
	<b>Monomolecular</b>	<b>0.97</b>	<b>0.0014</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0256</b>	<b>0.0253</b>	<b>0.3504</b>	<b>0.0028</b>	<b>0.0001</b>	<b>&lt;0.0001</b>	<b>Aceptable</b>
	Gompertz	0.90	0.0302	0.0003	-1.0244	0.1161	0.0001	0.0064	0.0008	0.0003	Aceptable
Oomycetes	Logístico	0.52	0.5703	0.0435	-2.7170	0.5043	0.0017	0.0096	0.0037	0.0435	Aceptable
	<b>Monomolecular</b>	<b>0.74</b>	<b>0.0030</b>	<b>0.0057</b>	<b>0.0908</b>	<b>0.0370</b>	<b>0.0495</b>	<b>0.0011</b>	<b>0.0002</b>	<b>0.0057</b>	<b>Aceptable</b>
	Gompertz	0.59	0.0663	0.0242	-0.9768	0.1720	0.0013	0.0038	0.0012	0.0242	Aceptable

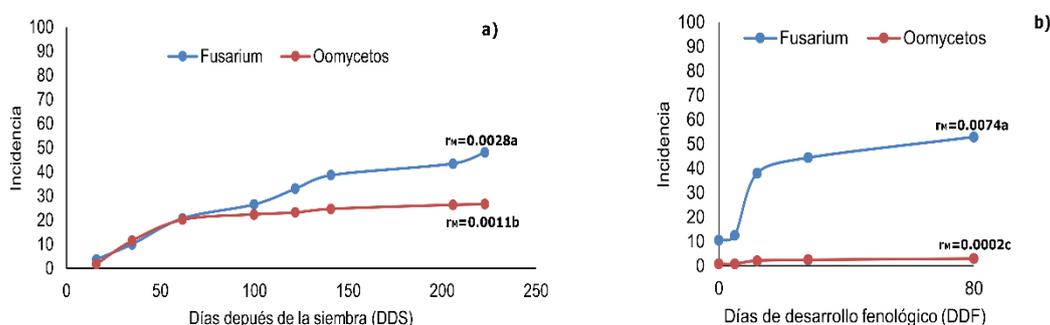
R<sup>2</sup>= coeficiente de determinación, CME= cuadrado medio del error, Prob>F= probabilidad del modelo, β<sub>0</sub>= intercepto, Ŝβ<sub>0</sub>= error estándar del intercepto, β<sub>1</sub>= pendiente, Ŝβ<sub>1</sub>= error estándar de la pendiente. En negritas se presentan los valores del modelo que mejor describió la curva de crecimiento.

**Cuadro 3.** Estadísticos considerados en el ajuste de la curva epidemiológica de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en teocintle a los modelos de crecimiento logístico, monomolecular y Gompertz. La evaluación de la incidencia se realizó en la localidad de Cocotitlán, Edo. de México.

Patógeno	Modelo	R <sup>2</sup>	CME	Prob>F	β <sub>0</sub>	Ŝβ <sub>0</sub>	Prob	β <sub>1</sub>	Ŝβ <sub>1</sub>	Prob	Residuales
<i>Fusarium</i>	Logístico	0.60	0.562	0.122	-1.547	0.442	0.0395	0.024	0.011	0.1224	Aceptable
	<b>Monomolecular</b>	<b>0.73</b>	<b>0.0281</b>	<b>0.0634</b>	<b>0.2274</b>	<b>0.0990</b>	<b>0.1053</b>	<b>0.0074</b>	<b>0.0025</b>	<b>0.0634</b>	<b>Aceptable</b>
	Gompertz	0.65	0.1487	0.0972	-0.5212	0.2274	0.1058	0.0141	0.0059	0.0972	Aceptable
Oomycetes	Logístico	0.58	0.2184	0.1339	-4.4648	0.2756	0.0005	0.0146	0.0071	0.1339	Aceptable
	<b>Monomolecular</b>	<b>0.69</b>	<b>0.00004</b>	<b>0.0804</b>	<b>0.0124</b>	<b>0.0037</b>	<b>0.0459</b>	<b>0.0002</b>	<b>0.00009</b>	<b>0.0804</b>	<b>Aceptable</b>
	Gompertz	0.60	0.0114	0.1214	-1.4946	0.0631	0.0002	0.0035	0.0016	0.1214	Aceptable

R<sup>2</sup>= coeficiente de determinación, CME= cuadrado medio del error, Prob>F= probabilidad del modelo, β<sub>0</sub>= intercepto, Ŝβ<sub>0</sub>= error estándar del intercepto, β<sub>1</sub>= pendiente, Ŝβ<sub>1</sub>= error estándar de la pendiente. En negritas se presentan los valores del modelo que mejor describió la curva de crecimiento.

Los resultados anteriores indican que la tasa de crecimiento de la CPE para *Fusarium* en teocintle fue la que mayor valor tuvo ( $r_M = 0.0074$ ) (Figura 5), seguida por la tasa para *Fusarium* en maíz ( $r_M=0.0028$ ), la tasa para Oomycetes en maíz ( $r_M = 0.0011$ ) y la tasa más baja fue la de Oomycetes en teocintle ( $r_M=0.0002$ ) (Cuadro 4). Los valores máximos de las tasas (pendientes) de infección se alcanzaron en las etapas fenológicas vegetativas tanto en maíz como en teocintle (Figura 5).



**Figura 5.** Curvas del progreso de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en raíces de maíz (a) y teocintle (b) durante su ciclo fenológico.

### Comparación estadística de las tasas de crecimiento de la incidencia causada por *Fusarium* y Oomycetes en maíz y teocintle.

El análisis estadístico de las tasas promedio de crecimiento ( $r$ ) para las diferentes CPE causadas por *Fusarium* y Oomycetes en maíz y teocintle, aplicando el intervalo de confianza (I.C.) propuesto por Madden (1986) para comparar los parámetros epidemiológicos, y de acuerdo a la regla de decisión (Cuadro 4), se muestra que:

**Cuadro 4.** Intervalo de Confianza (I.C.) aplicado en la comparación de las tasas promedio de crecimiento ( $r$ ) de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en raíces de maíz criollo azul y teocintle.

Organismo fitopatógeno	Planta	I.C.	Hipótesis	Conclusión
<i>Fusarium</i>	Maíz vs. Teocintle	-0.00128 a 0.01048	acepta $H_0$	Tasas de crecimiento de <i>Fusarium</i> en maíz y teocintle, son estadísticamente iguales ( $P= 0.095$ ).
Oomycetes	Maíz vs. Teocintle	-0.000244 a -0.00156	rechaza $H_0$	Tasas de crecimiento de Oomycetes en maíz y teocintle, son estadísticamente diferentes ( $P= 0.095$ ).
<i>Fusarium</i> vs. Oomycetes	Maíz	0.001047 a 0.002353	rechaza $H_0$	Tasas de crecimiento de <i>Fusarium</i> y Oomycetes en maíz, son estadísticamente diferentes ( $P= 0.095$ ).
<i>Fusarium</i> vs. Oomycetes	Teocintle	0.00086 a 0.01354	rechaza $H_0$	Tasas de crecimiento de <i>Fusarium</i> en maíz y teocintle, son estadísticamente iguales ( $P= 0.095$ ).

I.C. = Intervalo de confianza,  $H_0$  = Hipótesis nula de igualdad de parámetros epidemiológicos ( $r$ ), se rechaza cuando no incluye a cero.

Considerando al maíz solo, la tasa promedio de crecimiento de la incidencia de *Fusarium* ( $r_M= 0.0028$ ) fue significativamente mayor que la de oomycetes ( $r_M= 0.0011$ ), con una  $P= 0.095$  (Cuadro 5); en teocintle se presentó el mismo comportamiento, la tasa de crecimiento de *Fusarium* ( $r_M= 0.0074$ ) fue estadísticamente mayor que la de Oomycetes ( $r_M= 0.0002$ ) con una significancia de  $P= 0.095$ .

Comparando el comportamiento de los patógenos entre las dos plantas hospedantes (Cuadro 5), se encontró que *Fusarium* en teocintle presentó una tasa de incremento ( $\bar{r}_M= 0.0074$ ) mayor que en maíz ( $\bar{r}_M= 0.0028$ ), pero estadísticamente no fueron diferentes significativamente ( $P= 0.095$ ); mientras que en el caso de Oomycetes la tasa promedio de crecimiento fue mayor en maíz ( $\bar{r}_M= 0.0011$ ) que la obtenida en teocintle ( $\bar{r}_M= 0.0002$ ), y fue diferente de manera significativa estadísticamente ( $0.095$ ).

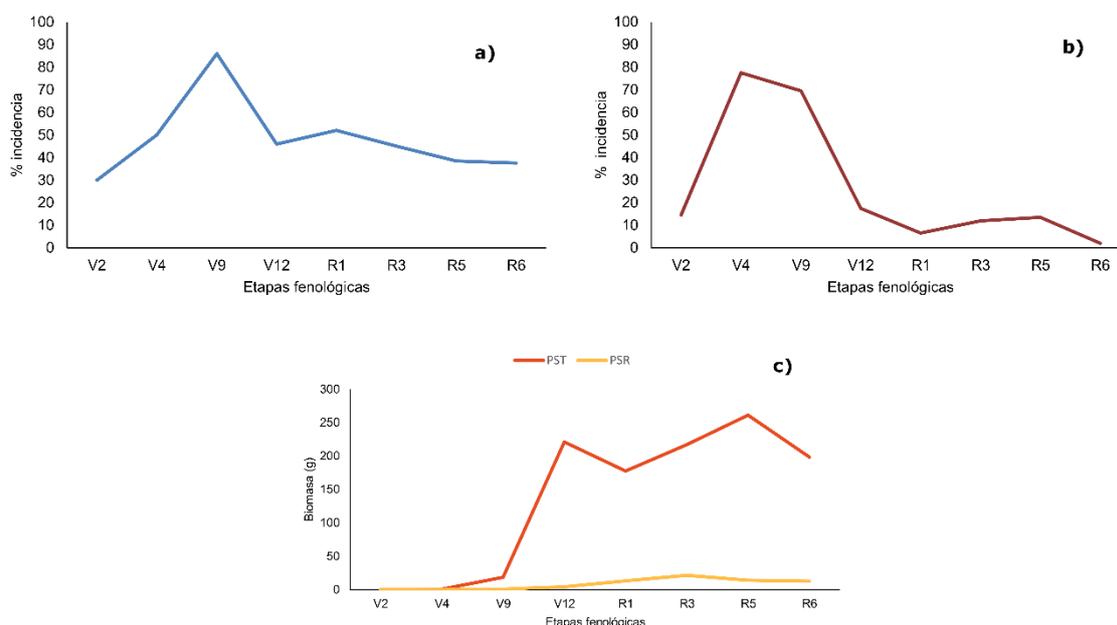
**Cuadro 5.** Comparación de las tasas promedio de crecimiento ( $r$ ) de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en las raíces de maíz criollo azul y de teocintle

Patógeno	Maíz	Teocintle
<i>Fusarium</i>	$\bar{r}_M= 0.0028^{a**}$	$\bar{r}_M = 0.0074^a$
Oomycetes	$\bar{r}_M = 0.0011^b$	$\bar{r}_M = 0.0002^c$

\*\* Valores con la misma letra son iguales estadísticamente de manera significativa.

### **Dinámica temporal de las variables peso seco total y peso seco de raíces de maíz y teocintle en relación a la dinámica de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes.**

Se observó gráficamente que existe cierta relación negativa entre la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes con las variables de crecimiento peso seco total (PST) y peso de raíces (PSR) del maíz (Figura 6), por lo que se aplicó un análisis de correlación utilizando el coeficiente de correlación de Pearson para determinar el tipo de relación existente entre dichas variables.



**Figura 6.** Dinámica temporal de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en relación a las variables de crecimiento peso seco total de plantas y peso seco de raíces en maíz nativo. Juchitepec, Edo. de México, 2013.

**Análisis de correlación de las variables de crecimiento respecto a la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en raíces de maíz nativo azul.**

De acuerdo a los resultados obtenidos con el análisis de correlación (Cuadro 6), en el caso del maíz se observa que existe una correlación negativa entre la incidencia tanto de *Fusarium* como de Oomycetes con las variables PST y PSR. En el caso de *Fusarium*, la correlación negativa es muy baja y no significativa ( $\rho = -0.33$  con PST, y  $\rho = 0.28$  con PSR); sin embargo, en el caso de la correlación entre la dinámica temporal de la incidencia de Oomycetes y el PST fue de  $\rho = -0.71$  ( $\alpha = 0.04$ ) y con el PSR fue de  $\rho = -0.65$  ( $\alpha = 0.08$ ), es decir, éstas fueron significativas estadísticamente y más altas que las obtenidas con *Fusarium* (Cuadro 6).

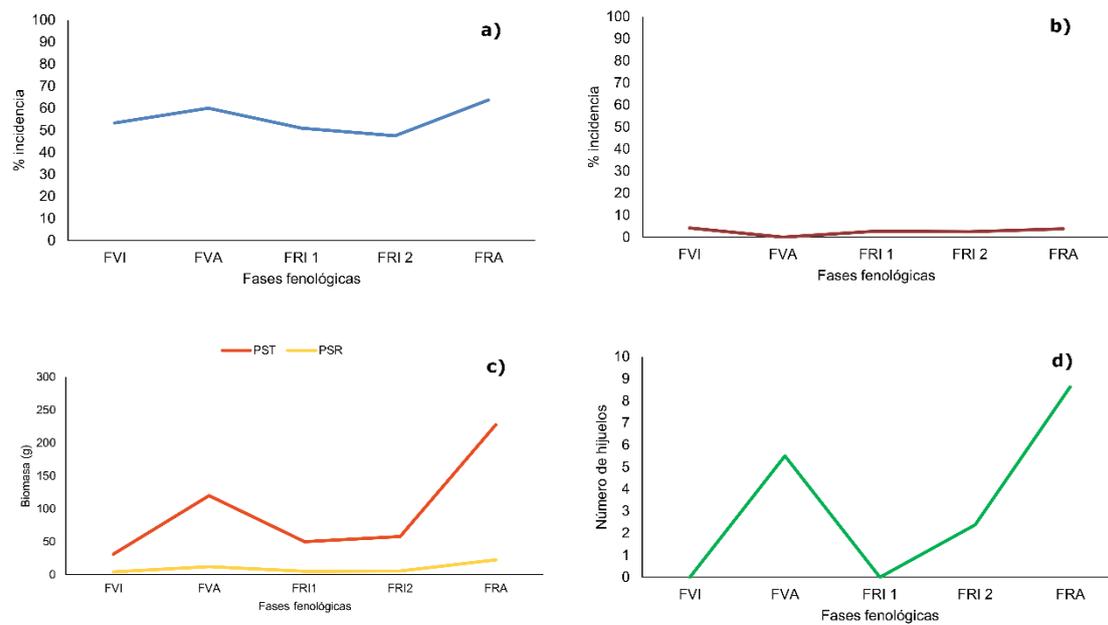
**Cuadro 6.** Análisis de correlación entre las variables de crecimiento y la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en raíces de maíz nativo azul

Variables	<i>Fusarium</i>		Oomycetes	
PST	$\rho^a$	-0.3347	P	-0.7133
	Prob >[r] <sup>b</sup>	0.4176	Prob >[r]	0.0470
PSR	P	-0.2766	P	-0.6480
	Prob >[r]	0.5072	Prob >[r]	0.0823

<sup>a</sup> Coeficiente de correlación de Pearson, <sup>b</sup> Probabilidad, PST= Peso seco total, PSR= Peso seco de raíces.

En el caso del teocintle, también se observó gráficamente una posible relación entre la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes con las variables de crecimiento PST y PSR (Figura 7),

por lo que también se aplicó un análisis de correlación utilizando el coeficiente de correlación de Pearson para determinar el tipo y nivel de relación existente entre las variables mencionadas.



**Figura 7.** Dinámica temporal de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en relación a las variables de crecimiento peso seco total de plantas, peso seco de raíces y número de hijuelos en teocintle. Cocotitlán, Edo. de México, 2013.

### Análisis de correlación de las variables de crecimiento respecto a la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en teocintle

Los resultados obtenidos muestran que existe una correlación positiva alta y significativa estadísticamente entre el comportamiento temporal de la incidencia de *Fusarium* con la variables de crecimiento del teocintle PST ( $\rho = 0.87$ ), PSR ( $\rho = 0.89$ ) y número de hijuelos (NH) ( $\rho = 0.84$ ); mientras que en el caso de la dinámica temporal de los oomycetes en relación con PST ( $\rho = -0.02$ ), PSR ( $\rho = -0.003$ ) y NH ( $\rho = -0.20$ ) la correlación siempre fue negativa, muy baja y no significativa estadísticamente (Cuadro 7).

**Cuadro 7.** Análisis de correlación entre las variables de crecimiento y la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes en raíces de teocintle.

Variables		<i>Fusarium</i>		Oomycetes
PST	$\rho^a$	0.86801	P	-0.0226
	Prob >[r] <sup>b</sup>	0.0564	Prob >[r]	0.9711
PSR	P	0.89475	P	-0.0033
	Prob >[r]	0.0403	Prob >[r]	0.9958
NH	P	0.83820	P	-0.2021
	Prob >[r]	0.0762	Prob >[r]	-0.7444

<sup>a</sup> Coeficiente de correlación de Pearson, <sup>b</sup> Probabilidad, PST= Peso seco total de plantas, PSR= Peso seco de raíces y NH= Número de hijuelos.

**Severidad del daño causado por pudriciones y necrosamientos en raíces de maíz y de teocintle.**

Este aspecto sólo se visualizó y registró a través de fotografías tomadas al sistema radicular de las plantas muestreadas de maíz y de teocintle; pero no se definió ninguna escala de severidad. Sin embargo, fue posible detectar daño causado por pudriciones y necrosamientos en las raíces de todas las plantas de maíz tanto en las etapas fenológicas vegetativas (V2) (Figura 8) como en las reproductivas (R3) (Figura 9). De igual forma, en el teocintle se encontraron daños por pudriciones y necrosamientos en raíces de plantas en etapas vegetativas y reproductivas (Figura 10).



**Figura 8.** Niveles de severidad de daño por pudriciones y necrosamientos radicales en plantas de maíz nativo azul tomadas en la etapa vegetativa V2.

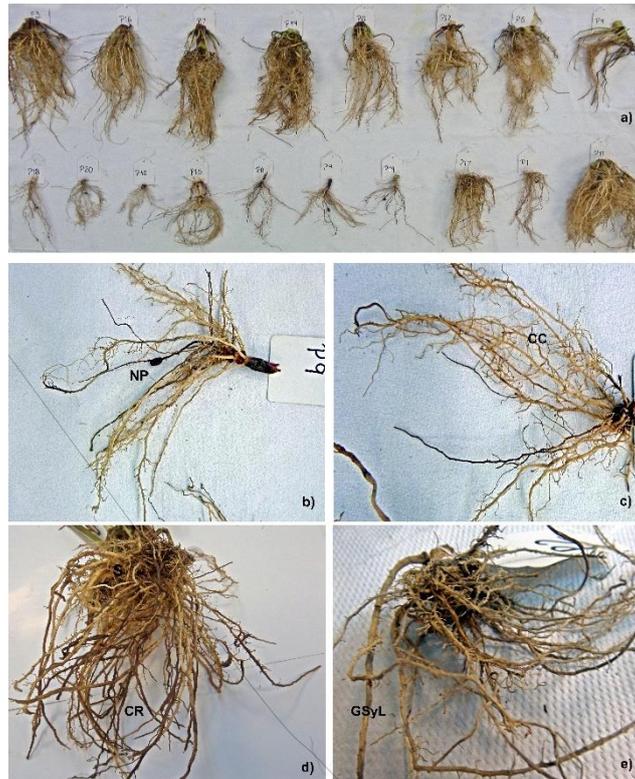


**Figura 9.** Niveles de severidad de daño por pudriciones radicales en plantas de maíz nativo azul tomadas en la etapa reproductiva R3.

Todas las plantas de teocintle (Figura 10a) mostraron en todas las etapas vegetativas raíces S (Figura 10c), CC (Figura 10e), CR (Figura 10c) y NP (Figura 10b), además de numerosas raíces GSyL (Figura 10d) que se incrementaron en las etapas reproductivas; debe señalarse que en teocintle las raíces sanas fueron escasas.

En este trabajo, se ha intentado comparar el daño causado por *Fusarium* en las raíces de maíz y teocintle; sin embargo, debe indicarse que hay especies de *Fusarium* que sí causan un grave daño; pero otras actúan como endófitos de las plantas, mientras que algunas más funcionan como antagonistas a fitopatógenos, y aún cuando todas ellas entran a la raíz y causan algún tipo de síntoma (cambio de color y textura) en las raíces, es imposible diferenciar por simple observación de las raíces cuál especie de *Fusarium* está causando qué síntoma. Por otra parte, éste es un trabajo de investigación que se ha realizado bajo condiciones naturales, y aún cuando *Fusarium* fue el organismo que se encontró con más frecuencia, es muy probable que otros organismos patógenos, oomycetes entre ellos (aún no publicado), también participen en los síntomas observados en las raíces.

Es importante señalar que la presencia de raíces grises, secas y leñosas en teocintle, no debe considerarse necesariamente como resultado del daño por patógenos de las raíces, en este caso por *Fusarium*, pues existe la posibilidad de que este necrosamiento sea un proceso natural del envejecimiento del sistema radicular, ya que fueron las plantas de mayor edad fenológica las que presentaron mayor volumen de raíces GSyL. La evaluación de la incidencia, infección y severidad del daño causados por organismos patógenos en las raíces no es una tarea fácil, y aún es necesario desarrollar metodologías y herramientas para su medición precisa y objetiva, apoyándose en las técnicas metagenómicas y la digitalización de imágenes.



**Figura 10.** Severidad del daño por pudriciones y necrosamientos en el sistema radicular de plantas de teocintle en diferentes etapas fenológicas. Cocotitlán, Edo. de México, 2013. b) Fase vegetativa inicial, c) fase vegetativa avanzada, d) fase reproductiva inicial 2, e) fase reproductiva avanzada. S: raíces sanas; CC: raíces café claras; CR: raíces café rojizas; NP: raíces negras con total pudrición; GSyL: raíces grises, secas, con textura leñosa. Cocotitlán, Edo. de México. 2013.

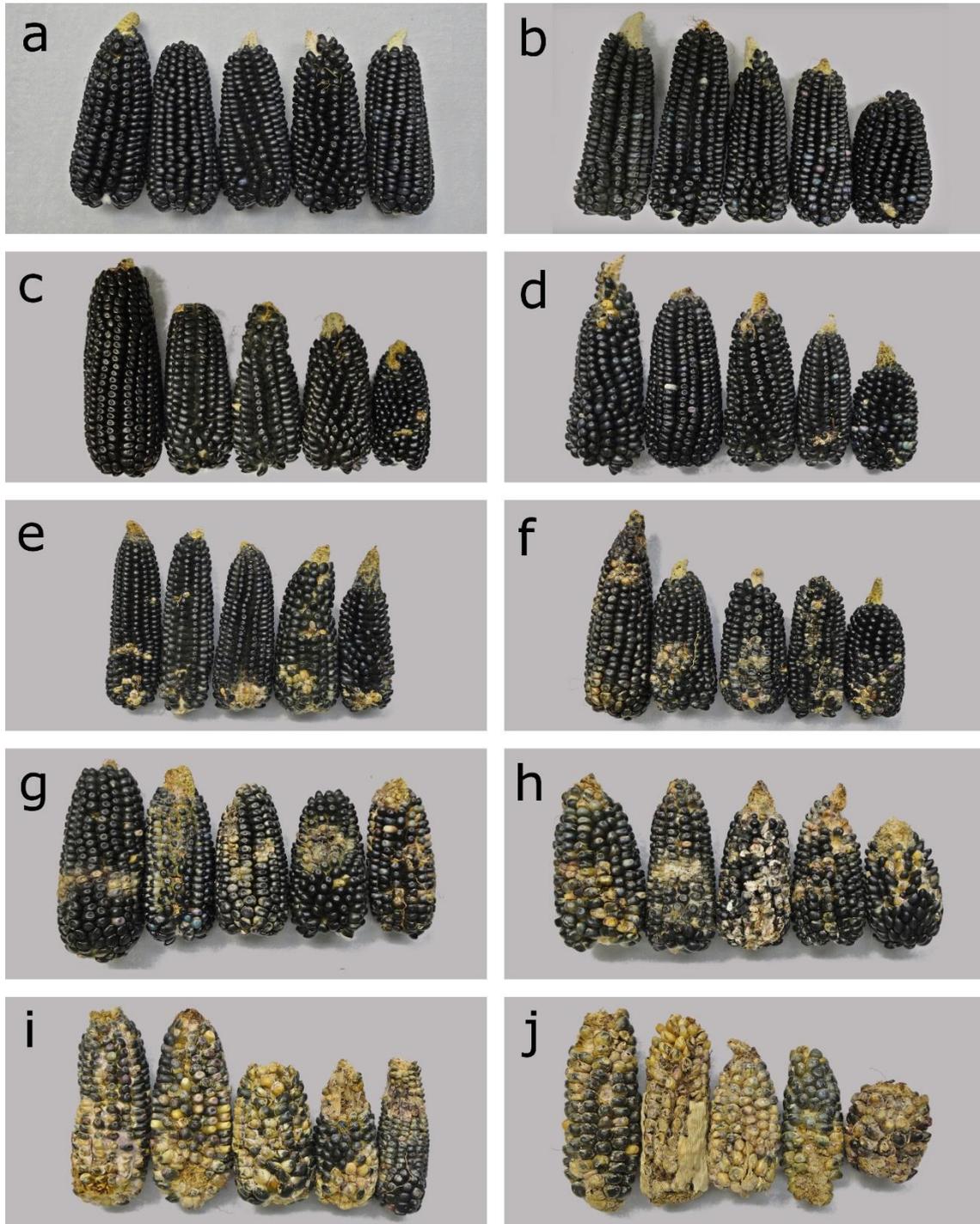
### Especies de *Fusarium* aisladas de raíces de maíz y teocintle

La caracterización molecular y taxonómica de los aislamientos de *Fusarium* obtenidos de las raíces, indican que *F. fujikuroi* Nirenberg y *F. oxysporum* Schlecht son las especies asociadas a las raíces tanto de maíz como de teocintle (Villa-Delgado *et al.*, aún no publicado).

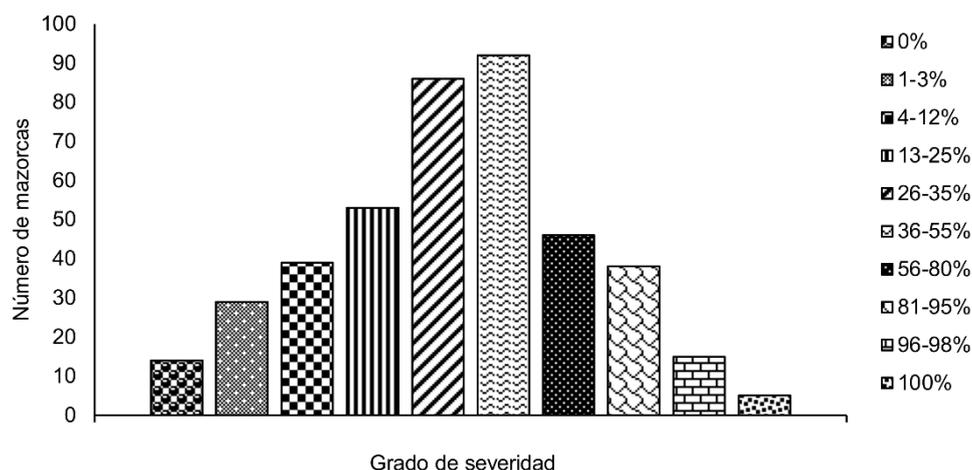
### Severidad del daño causado por *Fusarium* ssp., en mazorcas de maíz

El índice de daño medio (I.D.) causado por *Fusarium* en las mazorcas de maíz en la parcela fue de fue I.D.= 52.6 %, de acuerdo a la ecuación propuesta por Parry (1990).

La escala de severidad aplicada estuvo conformada por 10 clases, lo que permitió describir de manera más precisa el grado de infección y daño causado por *Fusarium* spp., en las mazorcas de maíz nativo “azul” (Figura 11), y ayudó a definir que el grado de daño o severidad presentó una tendencia a la distribución normal. Del total de las mazorcas evaluadas, el 43% estuvo dentro de las clases intermedias de daño 5 y 6, mientras que sólo el 3.4% de las mazorcas no mostró daño alguno (clase 1) y el 1.2% de las mazorcas mostró un 100% de daño (clase 10) (Figura 12).



**Figura 11.** Escala de severidad de los niveles de daño causados por *Fusarium* spp., en mazorcas de maíz nativo “azul”, en Juchitepec, Edo. de México, 2013. Los niveles de daños fueron: a) **clase 1:** 0% (sin daño aparente), b) **clase 2:** 1-3%, c) **clase 3:** 4-12%, d) **clase 4:** 13-25%, e) **clase 5:** 26-35%, f) **clase 6:** 36-55%, g) **clase 7:** 56-80%, h) **clase 8:** 81-95%, i) **clase 9:** 96-98% y j) **clase 10:** 100% daño.



**Figura 12.** Distribución de la frecuencia del grado de severidad causado por *Fusarium* spp., en las mazorcas de maíz nativo “azul”, cosechadas en una parcela comercial de Juchitepec, Edo. de México. 2013.

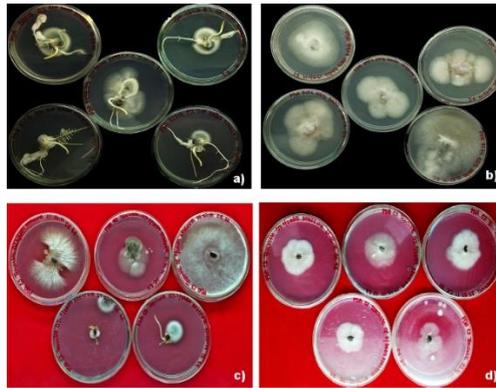
### ***Fusarium* en semillas de maíz y teocintle**

Los resultados de la caracterización molecular indicaron que *Fusarium verticillioides* (Sacc.) y *F. fujikuroi* Nirenberg (Cuadro 8) con un porcentaje de identidad entre 99 y 100%, son las especies de *Fusarium* asociadas a las semillas sintomáticas y asintomáticas de mazorcas de maíz y semillas asintomáticas de teocintle.

**Cuadro 8.** Especies de *Fusarium* aisladas de semillas de maíz nativo azul y de teocintle, caracterizadas molecularmente utilizando los iniciadores ITS-4 e ITS-5.

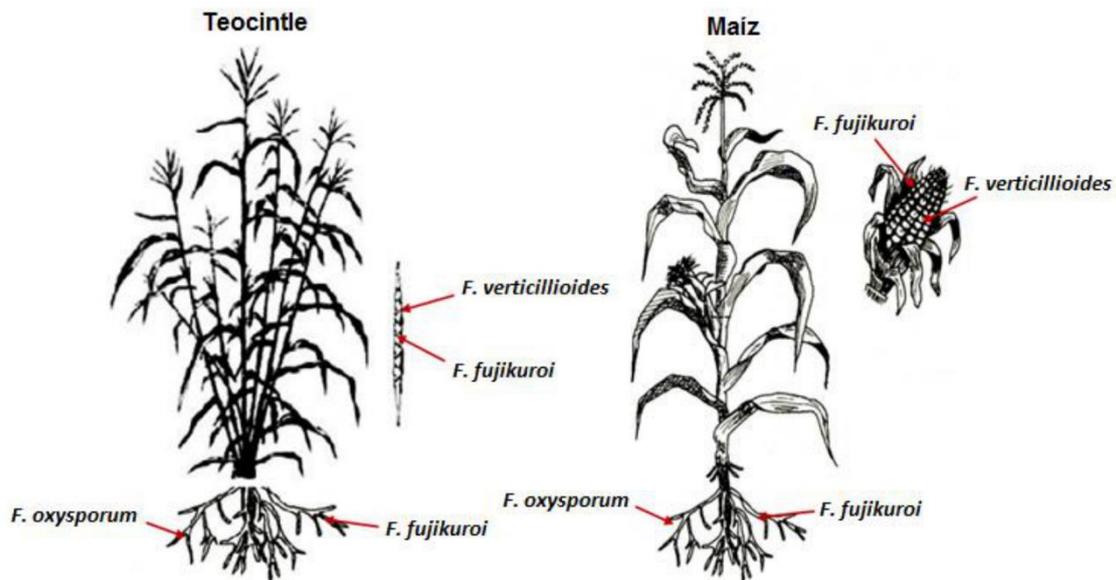
Procedencia del Aislamiento	Hospedante	Aislamiento	Identificación basada en la secuencia	% de identidad
Semillas asintomáticas	Maíz	1	<i>F. verticillioides</i>	100
		2	<i>F. verticillioides</i>	99.8
1		<i>F. verticillioides</i>	100	
Semillas sintomáticas		2	<i>F. fujikuroi</i>	100
		3	<i>F. fujikuroi</i>	100
Semillas asintomáticas		Teocintle	1	<i>F. verticillioides</i>
	2		<i>F. fujikuroi</i>	100
	3		<i>F. fujikuroi</i>	100

La infección por *Fusarium* en todas las semillas de maíz (Figura 13a y 13b) y teocintle (Figura 13c y 13d) que se sembraron en medio de cultivo PDA, indica que al menos en el caso del teocintle y considerando que en todas las semillas crecieron colonias de *Fusarium*, y a pesar de que sí germinaron, el desarrollo del hipocotilo fue pobre y totalmente cubierto por micelio del hongo (Figura 13c y 13d), es probable que este patógeno tenga un efecto importante en la reproducción y sobrevivencia del teocintle.



**Figura 13.** Colonias de *Fusarium* asociadas a las semillas asintomáticas y sintomáticas de maíz en Juchitepec, y asintomáticas de teocintle en Cocotitlán, Edo. de México. 2013.

Por otra parte, en este trabajo se encontró que *F. fujikuroi* Nirenberg y *F. oxysporum* Schlecht fueron las especies asociadas a las raíces tanto de maíz como de teocintle, mientras que *F. verticillioides* (Sacc.) y *F. fujikuroi* Nirenberg se aislaron de las semillas de ambas especies (Figura 13 y 14). Estos datos indican que ambas especies de plantas comparten las mismas especies de *Fusarium* en las raíces y en las semillas (Figura 14). Sin embargo, en ambas especies se aisló a *F. oxysporum* sólo de raíces y a *F. verticillioides* sólo se le encontró en las semillas, mientras que *F. fujikuroi* se aisló tanto de raíces como de semillas.



**Figura 14.** Especies de *Fusarium* asociadas a las raíces y semillas de maíz y teocintle

### Evaluación de la producción

**Maíz.** Los valores aplicados en las ecuaciones para estimar la producción, de acuerdo a los datos de la parcela de maíz nativo “azul” evaluada en este trabajo se presentan en el Cuadro 9.

**Cuadro 9.** Valores promedio de las variables de producción, utilizados en la estimación de la producción en maíz nativo azul, en una parcela comercial en Juchitepec, Edo. de México. 2013.

Abreviación	Descripción	Valor
Spp	Surcos por parcela	54
Pps	Plantas por surco	± 104
Mpp	Mazorcas promedio por planta	1
Ppm	Peso promedio de mazorca	140 g
Ntm	Número total de mazorcas	5 616

La producción de maíz estimada en la parcela de maíz fue de 0.786 toneladas en una superficie aproximada de 2,432 m<sup>2</sup>. Estos datos se extrapolaron para obtener la producción en toneladas por hectárea, por lo que el resultado indica que la producción fue equivalente a 3.27 t ha<sup>-1</sup>.

Hay discrepancias en cuanto a los rendimientos por hectárea que se pueden obtener en cultivos de maíz azul. En zonas sin riego se obtienen rendimientos que van de 1.02 a 3.36 t ha<sup>-1</sup> (Johnson y Jha, 1993), y bajo condiciones de fertilización y riego de acuerdo a Antonio *et al.* (2004), el rendimiento de grano en variedades de maíz azul raza Chalqueño en el Edo. de México varía de 2.9 a 5.4 t ha<sup>-1</sup>. Por otra parte, Arellano *et al.* (2003), evaluaron el rendimiento de 100 variedades de maíces criollos (88-color azul y 12-color rojo) en los estados de Puebla y Tlaxcala bajo condiciones de temporal y fertilización y en el Edo. de México con la aplicación de 3 riegos y fertilización; teniendo rendimientos entre variedades de 5.6 a 6.6 t ha<sup>-1</sup>; pero las variedades de mejor respuesta y bajo las mejores condiciones ambientales se lograron en el estado de Puebla, con rendimientos entre 8.7 a 10.5 t ha<sup>-1</sup>.

**Teocintle.** En función de las cinco fases fenológicas que se definieron para la población de teocintle, y debido a que se desconocía el comportamiento de esta especie, en las plantas seleccionadas y extraídas que se encontraban en las tres fases reproductivas establecidas FRI1, FRI2 y FRA se cuantificó el número de mazorcas en los tallos principales y en los hijuelos; sin embargo, y por cuestiones de tiempo de la investigación, no se evaluó directamente en plantas creciendo aún en el campo, a las mazorcas totalmente maduras, por lo que sólo se presenta una estimación de la producción de esta población silvestre de teocintle (Cuadro 10).

**Cuadro 10.** Número de plantas de teocintle (*Zea mays* subsp. *mexicana*) con su respectivo número de hijuelos y mazorcas en las diferentes fases fenológicas halladas en la población silvestre ubicada en Cocotitlán, Edo. de México, 2013.

Fases	FVI	FVA	FRI 1	FRI 2	FRA
No. mazorcas	0	0	140	49	222
No. Hijuelos	0	11	0	19	69
No. Plantas	12	2	30	8	8

## DISCUSIÓN

En este trabajo, en el que se aplicaron métodos tradicionales utilizando medios de cultivo semiselectivos para la detección y aislamiento de los diferentes hongos extraídos de las raíces de maíz y de teocintle, y caracterizados molecularmente, sólo se obtuvo a las especies de *Fusarium* tales como *F. oxysporum* Schlecht y *F. fujikuroi* Nirenberg. Roncero *et al.* (2003) mencionan que el género *Fusarium* contiene un número de especies que son transmitidas por el suelo y en ocasiones puede estar asociado a las pudriciones de raíz y tallos de muchas plantas (Hernández-Delgado *et al.*, 2007). Agrios (2005) señala que el inóculo de *Fusarium* también puede encontrarse presente en los residuos vegetales, semillas, trasplantes u otros órganos de propagación; sin embargo, no hay datos sobre la densidad de inóculo de especies específicas de *Fusarium* en el suelo y sobre la importancia que el inóculo en el suelo tiene para las infecciones en la parte aérea del maíz.

En la mayoría de los organismos fitopatógenos, el inóculo llega a las plantas hospedantes a través del viento, agua o insectos. Cabe mencionar que en el Edo. México, en la región de Chalco, los productores siembran principalmente maíces criollos, los cuales a pesar de que son fuertemente afectados por las pudriciones causadas por varias especies de *Fusarium*, no se trabajan con buenas prácticas agrícolas para el manejo del cultivo, provocando niveles elevados de daño e inóculo en las mazorcas del cultivo. Debido a que los agricultores se rigen por el precio del grano para definir el grado de manejo que le dan a su cultivo, si el precio es muy bajo, el productor prefiere abandonar la parcela, quedando como una peligrosa fuente de inóculo para ciclos posteriores o cultivos colindantes.

Por otra parte, los resultados obtenidos en este trabajo de investigación indicaron que la incidencia de *Fusarium* fue muy similar en maíz y en teocintle, mientras que en el caso de los Oomycetes la incidencia fue mayor en maíz que en teocintle. El hecho de que ambos grupos de organismos, *Fusarium* y Oomycetes hayan tenido la mayor incidencia en el cultivo de maíz en comparación con el teocintle, lleva a considerar cuál o cuáles factores están involucrados en este comportamiento y si son factores de resistencia genética en el teocintle, o bien se debe a la actividad reguladora de diferentes microorganismos presentes en el suelo y en la rizósfera de esas especies.

De acuerdo a García (2010), las enfermedades con origen en el suelo, son el resultado de múltiples y complejas interacciones que se establecen en el tetraedro de la enfermedad; en la que el hombre es un poderoso modificador del ambiente, el hospedante y el patógeno, esto implica que son las actividades humanas las que mantienen el balance productivo del sistema o las que causan los desbalances y la pérdida en productividad.

De acuerdo a los resultados obtenidos del análisis de correlación se logró definir que existe cierta relación entre las variables de crecimiento respecto a la dinámica temporal de la incidencia de *Fusarium* y Oomycetes. Para el caso de maíz, existe una relación negativa significativa entre las variables de crecimiento y la incidencia de *Fusarium*, lo que indica que a mayor incidencia de este hongo, la producción de biomasa es afectada considerablemente ocurriendo lo mismo para el caso de los Oomycetes en maíz. En el caso del teocintle, la relación que existe entre la incidencia de *Fusarium* y las variables de crecimiento resultó ser positiva, lo que indica que probablemente la interacción que existe entre las especies asociadas a las raíces de teocintle no estén causando algún efecto negativo en la planta, y en los Oomycetes se observó que la relación que existe entre los Oomycetes y las variables de crecimiento si pudieran tener un efecto negativo en el crecimiento y desarrollo de las plantas.

### **Severidad de *Fusarium* en mazorcas de maíz y teocintle.**

*Fusarium* causa dos enfermedades distintas en las mazorcas de maíz, la pudrición rosa por especies de *Fusarium* y la pudrición roja por el complejo de *Gibberella fujikuroi* (Munkvold, 2003). Se han determinado diferentes escalas de severidad para evaluar la pudrición de la mazorca por *Fusarium*; Mendoza *et al.*, 2003 determinaron la severidad del daño causado por *F. moniliforme* en mazorcas, utilizando la escala propuesta por De León (1997) con cinco clases, donde 1= mazorcas sanas, 2= mazorcas con 10% de granos afectados, 3= mazorcas con 10-25%, 4= mazorcas con el 26-50% y 5= mazorcas con más del 50% de granos afectados, así mismo en 2011, Rivas-Valencia *et al.*, evaluaron la severidad de *Fusarium* en mazorcas de híbridos de maíz y utilizaron una escala con seis clases 0 = sana, 1 = 1 – 10%, 2 = 11 – 25%, 3 = 26 – 50%, 4 = 51 – 75% y 5 = 76 – 100%, mientras que Briones-Reyes *et al.*,(2015) determinaron visualmente la severidad en mazorcas de maíces nativos, haciendo una modificación a la escala usada por De León y Pandey (1989) teniendo 5 clases: 1= 0–20%, 2= 21–40%, 3= 41–60%, 4= 61–80% y 5= 81–100%. En el estudio realizado aquí, se decidió definir, en base a la observación visual del nivel de daño en las mazorcas, una escala con 10 clases de severidad, donde: 1= 0% (sin daño aparente), 2= 1–3%, 3= 4–12%, 4= 13–25%, 5= 26–35%, 6= 36–55%, 7= 56–80%, 8= 81–95%, 9= 96–98% y 10= 100%, lo que facilitó tener mayor precisión y claridad en la detección de los daños; sin embargo, debe mencionarse que las escalas de severidad, sobre todo la definición de los niveles o clases de daño pueden ser subjetivos y están en función de los objetivos específicos que se persiguen en los trabajos de investigación.

El agente causal más importante de la pudrición de la mazorca en maíz es *F. verticillioides* (Saccardo) Nirenberg (sin. *F. moniliforme*), pero *F. subglutinans* y *F. proliferatum* también se han encontrado (Munkvold, 2003). En este trabajo, los aislamientos obtenidos de las semillas asintomáticas y sintomáticas de maíz y semillas de teocintle y de acuerdo a los resultados de la caracterización molecular, fueron *F. verticillioides* y *F. fujikuroi* Nirenberg las especies encontradas en las semillas de maíz y teocintle.

Para el caso de maíz, se han hecho diferentes trabajos con *F. verticillioides*, relacionados con la pudrición de la mazorca o granos de maíz (Peiretti-Uzal *et al.*, 2007, Briones-Reyes, 2007, Duncan y Howard, 2010, García-Aguirre y Martínez-Flores, 2010, Rivas-Valencia *et al.*, 2011, Briones-Reyes *et al.*, 2015), la pudrición del tallo (Mendoza *et al.*, 2006, Figueroa-Rivera *et al.*, 2010, Sainz *et al.*, 2012) y la pigmentación que este hongo produce como un factor de virulencia en plántulas de maíz (Solano-Báez *et al.*, 2010).

*F. verticillioides* es el patógeno más común de maíz, y también es uno de los hongos más comunes que se encuentran colonizando semillas asintomáticas de maíz y teosinte (Desjardins *et al.*, 2000; Munkvold y Desjardins, 1997). En 2005, Desjardins y colaboradores determinaron la sensibilidad a la fumonisina producida por este hongo en semillas de maíz y teocintle, teniendo como resultado que el 76% de las muestras de *Z. mays* fueron moderadamente o altamente sensible a FB<sub>1</sub> (ED<sub>50</sub> ≤ 30 μM), y también las especies de teocintle el anual mexicano (*Zea mays* ssp. *mexicana* (Schrader) Iltis and Doebley) y el anual del balsas (*Z. mays* ssp. *parviglumis*) fueron muy sensibles (ED<sub>50</sub> = 10-15 μM), lo que indica que la sensibilidad a FB<sub>1</sub> es probable que sea un rasgo ancestral en *Z. mays*.

### **Evaluación del rendimiento y estimación de pérdidas causadas por *Fusarium* ssp., en mazorcas de maíz**

La producción estimada en la parcela de maíz fue equivalente a 3.27 tha<sup>-1</sup>. Por lo tanto, al comparar los rendimientos obtenidos por Johnson y Jha (1993) con los obtenidos en este trabajo de investigación, existe una diferencia en la producción de 2.68% menor a lo obtenido por dicho autor; y una diferencia del 39.45% menor en comparación con lo obtenido por Antonio *et al.* (2004). Por otra parte, de acuerdo a lo reportado por Arellano *et al.* (2003) tomando como referencia el rendimiento obtenido entre variedades; en este trabajo de investigación las diferencias en la producción fueron del 50.46%, y del 68.86% menores comparado a los rendimientos obtenidos por este mismo autor bajo las mejores condiciones ambientales.

En los últimos años, la pudrición de la mazorca por *Fusarium* es una enfermedad que ocasiona pérdidas en el rendimiento en todos los países donde se cultiva el maíz (Vigier *et al.*, 1997). En países en desarrollo esta enfermedad afecta más del 40% de la superficie sembrada (Claure, 2001. Citado por Morales-Rodríguez, 2007). En México, las pérdidas del rendimiento causadas por las enfermedades del maíz oscila entre 7.5 y 38.0% (Castañón y Latournerie, 2004; Morán *et al.*, 1993). En la región de Chalco, en el Estado de México, la pudrición de la mazorca por *Fusarium* afecta la producción en un 30 a 50% en variedades criollas, según estimaciones de los productores de la zona (Briones-Reyes, 2007), mientras que las pérdidas obtenidas en este trabajo de investigación oscilan entre el 39.45% y el 68.86% en maíz nativo azul raza Chalqueño.

En la mayoría de los trabajos que se llevan a cabo en Fitopatología se realizan muestreos y aislamientos de fitopatógenos específicos en tiempos o etapas también específicas del cultivo, pues se sabe que hay etapas fenológicas de las plantas que resultan más susceptibles al ataque de los organismos patógenos que otras; sin embargo, los estudios epidemiológicos sobre el comportamiento temporal de las enfermedades y de sus componentes: planta hospedante, patógeno y condiciones ambientales, permiten obtener un conocimiento más preciso y amplio sobre los cambios que hay en la incidencia y grado de infección causada por los fitopatógenos a lo largo del desarrollo fenológico de la planta hospedante, o bien, a lo largo del cultivo. Es en este sentido que los resultados obtenidos en este trabajo muestran que organismos asociados a las raíces como son los hongos pertenecientes a algunas especies del género *Fusarium* y los ubicados como Oomycetes (*Phytophthora* y *Pythium*) se encuentran presentes a lo largo de todo el ciclo de vida del maíz y de su ancestro silvestre el teocintle, al menos en las localidades en donde se llevó a cabo este estudio. Pero tienen una dinámica temporal distinta, ya que mientras en el maíz las mayores incidencias de ambos grupos de patógenos se presentaron en las etapas vegetativas, en el teocintle se mantienen estables a lo largo del ciclo de vida; este comportamiento en el maíz es posible tenga un efecto negativo en su producción final, aún cuando no se cuenta con datos específicos al respecto ni a nivel comercial ni a nivel experimental. Por otra parte, resalta el hecho de que los niveles de incidencia de *Fusarium* en ambas especies de plantas fueron significativamente más elevadas que el de los Oomycetes, con lo cual surgen varias preguntas, entre ellas: ¿Cuál es el papel que realmente tienen estos organismos en el microambiente de la rizósfera y dentro de las raíces en la población silvestre del teocintle? ¿Son todas las especies de *Fusarium* y los Oomycetes patógenos de las raíces, o quizá algunas actúan como endófitos a sus hospedantes, o como antagonistas a otros patógenos? Se sabe que *Fusarium* es un organismo cosmopolita habitante del suelo, y que

tiene una elevada capacidad saprofítica que le ayuda a permanecer por largo tiempo en el suelo, permitiéndole contar con una alta densidad de inóculo, la cual bajo condiciones de desequilibrio como sucede en los sistemas agrícolas representa una peligrosa fuente de inóculo e infección.

Por lo anterior, es necesario llevar a cabo más estudios sobre los hongos patógenos de las raíces tanto en maíz como en teocintle y establecer diferentes experimentos que ayuden a dilucidar la importancia que tienen tales fitopatógenos en la reproducción y conservación, del ancestro silvestre teocintle, el cual sabemos se encuentra en peligro de extinción debido a los cambios en el uso del suelo.

## CONCLUSIONES

Las especies de *Fusarium* *F. oxysporum* Schlecht y *F. fujikuroi* Nirenberg, y algunos Oomycetes fueron los más frecuentemente encontrados asociados a las raíces de maíz criollo azul y su ancestro silvestre teocintle.

Tanto en maíz como en teocintle, la incidencia de *Fusarium* siempre fue mayor que los Oomycetes; sin embargo, la incidencia por hongos fitopatógenos fue menor en teocintle que en maíz.

Los organismos *Fusarium* y Oomycetes se encontraron asociados a las raíces del maíz y de su ancestro teocintle a lo largo de todo su ciclo de vida, participando de manera importante con daños causados por marchitez y necrosamiento.

A la cosecha del maíz, se halló una elevada incidencia y severidad causada por *Fusarium* ssp., en las mazorcas; pero no en Teocintle.

Datos preliminares indican que aún en semillas asintomáticas de maíz y de teocintle es posible aislar a especies de *Fusarium*.

Las plantas de maíz afectadas por *Fusarium* tanto en la parte aérea como en las raíces, representan una fuente de inóculo de alto riesgo para la contaminación de otros cultivos y del mismo maíz, sobre todo cuando las parcelas son mal manejadas o abandonadas por el agricultor.

Todas las plantas muestreadas de la población de teocintle, mostraron sobre todo en las etapas fenológicas más avanzadas, fuertes daños por necrosamiento y marchitez en las raíces.

Para definir el papel e importancia que tienen *Fusarium* y los Oomycetes en las poblaciones silvestres del ancestro teocintle deberán llevarse a cabo estudios por varios años en diferentes regiones geográficas bajo condiciones naturales como en experimentos controlados.

## LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. 5th edition. Elsevier, Academic Press. 922 p.
- Antonio M., M., J. L. Arellano, G. García, S. Miranda, J. A. Mejía, y F. V. González. 2004. Variedades criolla de maíz azul raza Chalqueño. Características agronómicas y calidad de semilla. *Revista Fitotecnia Mexicana* 27(1): 9-15.
- Arellano V., J. L., C. Tut C., A. María R., Y. Salinas M., y O. R. Taboada G. 2003. Maíz azul de los Valles Altos de México. I. Rendimiento de grano y caracteres agronómicos. *Revista Fitotecnia Mexicana*. Vol. 26 (2): 101-107 pp.
- Bardgett, R. D., G. W. Yeates, and J. M. Anderson. 2005. Patterns and determinants of soil biological diversity. In: *Biological diversity and function in soils*. Bardgett, R., M. Usher, and D. Hopkins. (eds.) Cambridge University Press. Cambridge, U.K. pp. 100-118.
- Briones-Reyes, D. 2007. Resistencia a pudrición de mazorca en poblaciones de maíz bajo mejoramiento participativo en el Altiplano de México. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillo, Texcoco, Estado de México.
- Briones-Reyes, D., F. Castillo-González, J. L. Chávez-Servia, V. H. Aguilar-Rincón, C. de León García-de Alba, y A. Ramírez-Hernández. 2015. Respuesta del maíz nativo del altiplano mexicano a pudrición de mazorca, bajo infección natural. *Agronomía Mesoamericana* 26 (1): 73-85. doi: 10.15517/am.v26i1.16922
- Burdon, J. J., and P. H. Thrall. 2000. Coevolution at multiple spatial scales: *Linum marginale*–*Melampsora lini* – from the individual to the species. *Evolutionary Ecology* 14: 261-281.
- Campbell, C. L., and D. M. Benson. 1994. *Epidemiology and management of root diseases*. Springer-Verlag. Berlín. 344p.
- Campbell, C. L., and L. V. Madden. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley and Sons, New York. 532p.
- Casas S., J. F., J. L. Ramírez, D., J. de J. Sánchez G., J. Ron P., S. Montes H., y M. Chuela B. 2003. Características agronómicas en retrocruzamientos maíz – teocintle. *Rev. Fitotec. Mex.* 26 (4): 239-248.
- Castañón N., G., y L. Latournerie M. 2004. Comportamiento de familias S<sub>1</sub> de maíz en distintos pH del suelo. *Bragantia, Campinas*. 63(1): 63-72.
- Cohen, J. E. 1989. The structure and assembly of communities. In: *Perspectives in ecological theory*. Roughgarden, J., R. M. May, and S. A. Levin. (eds.). Princeton University Press. Princeton, New Jersey. pp. 203-226.
- de Lange, S. E., D. Balmer, B. Mauch-Mani, and T. C. J. Turlings. 2014. Insect and pathogens attack and resistance in maize and its wild ancestors, the teocintes. *New Phytologist* 204: 329-341. doi: 10.1111/nph.13005

- Desjardins, A. E., R. D. Plattner, and T. R. Gordon. 2000. *Gibberella fujikuroi* mating population A and *Fusarium subglutinans* from teosinte species and maize from Mexico and Central America. *Mycol. Res.* 104 (7): 865-872.
- Desjardins, A. E., R. D. Plattner, R. J. Stessman, S. P. McCormick, and M. J. Millard. 2005. Identification and heritability of fumonisin insensitivity in *Zea mays*. *Phytochemistry*. 66: 2474-2480.
- Dobson, A., and M. Crawley. 1994. Pathogens and the structure of plant communities. *Trends in Ecology and Evolution* 9 (10): 393-398.
- Doebley, J. 2004. The genetics of maize evolution. *Annu. Rev. Genet.* 38:37-59.
- Doebley, J. F. 1984. Maize introgression into teosinte – A reappraisal. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 71 (4): 1100-1113.
- Duncan, K. E., and R. J. Howard. 2010. Biology of maize kernel infection by *Fusarium verticillioides*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 23 (1): 6-16.
- Figueroa-Rivera, Ma. G., R. Rodríguez-Guerra, B. Z. Guerrero-Aguilar, M. M. González-Chavira, J. L. Pons-Hernández, J. F. Jiménez-Bremont, J. G. Ramírez-Pimentel, E. Andrio-Enríquez, y M. Mendoza-Elos. 2010. Caracterización de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de raíz de maíz en Guanajuato, México. *Rev. Mex. Fito.* 28(2): 124-134.
- García E., R. 2010. Agroecología y enfermedades de la raíz en cultivos agrícolas. Ed. Colegio de Postgraduados. México, D.F. 130 p.
- García-Aguirre, G. y Martínez-Flores, R. 2010. Especies de *Fusarium* en granos de maíz recién cosechado y desgranado en el campo en la región de Ciudad Serdán, Puebla. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 81: 15-20.
- Gliessman, S. R. 2002. Agroecología: Procesos ecológicos en agricultura sostenible. LITOCAT. Turrialba, C.R. 358p.
- Hernández-Delgado, S., M. A. Reyes-López, J. G. García-Olivares, N. Mayek-Pérez, y C. A. Reyes-Méndez. 2007. Incidencia de hongos potencialmente tóxicos en maíz (*Zea mays* L.) almacenado y cultivado en el Norte de Tamaulipas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25(2): 127-133.
- Houlden, A., T. M. Timms-Wilson, M. J. Day, and M. J. Bailey. 2008. Influence of plant developmental stage on microbial community structure and activity in the rhizosphere of three field crops. *FEMS Microbiol Ecol* 65: 193-201. doi: 10.1111/j.1574-6941.2008.00535.x.
- Hunter, M. D. 2002. Ecological causes of pest outbreaks. *In: Encyclopedia of pest management*. Pimentel, D. (ed.) Advisory Board. USA. pp. 214-217.

- Ingham, E. R. 2004. The soil foodweb: Its role in ecosystems health. *In: The overstory book cultivating connections with trees*. Elevitch, C. R. (ed.) 2<sup>nd</sup> ed. Permanent Agriculture Resources. USA. pp. 62-65.
- Johnson, D. L., and M. N. Jha. 1993. Blue corn. *In: New crops*. J. Janick, and J. E. Simon (eds.). Wiley, New York. pp: 228-230.
- Kato Y., T. A., C. Mapes S., L. Ma. Mera O., J. A. Serratos H., y R. A. Bye B. 2009. Origen y diversificación del maíz. Una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 116p.
- Kerr, A. 1962. The root rot – *Fusarium* wilt complex of peas. *Aust. J. Biol. Sci.* 16(1): 55-69.
- Madden, L. V. 1986. Statistical Analysis and Comparison of Disease Progress Curves. *In: Plant Disease Epidemiology. Population Dynamics and Management*. Leonard, K. J., and W. E. Fry. Macmillan Publishing Company. New York. Pp: 55-84.
- Mendoza E., M., E. Andrio E., A. López B., R. Rodríguez G., L. Latournerie M., y S. A. Rodríguez H. 2006. Tasa de infección de la pudrición del tallo en maíz causada por *Fusarium moniliforme*. *Agronomía Mesoamericana*. 17 (1): 19-24.
- Mendoza, M., A. López, A. Oyervides, G. Martínez, C. De León, y E. Moreno. 2003. Herencia genética y citoplásmica de la resistencia a la pudrición de la mazorca del maíz (*Zea mays* L.) causada por *Fusarium moniliforme* Sheld. *Rev. Mex. Fito.* 21(3): 267-271.
- Miranda-Colín, S. 2003. El origen genético y geográfico del maíz (*Zea mays* L.). *In: Centli-Maíz*. Muñoz O., A. (ed.) 2<sup>nd</sup> ed. Ed. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. pp. 147-159.
- Morales-Rodríguez, I. 2007. Especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de la mazorca del maíz en México. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillo, Texcoco, Edo. de México.
- Morán, R. V., J. L. Ramírez D., y J. Ron P. 1993. Ganancia genética de variedades mejoradas de maíz liberadas en diferentes épocas. *Rev. Fitotec. Mex.* 16(2): 102-112.
- Munkvold, G. P. 2003. Epidemiology of *Fusarium* diseases and their mycotoxins in maize ears. *European Journal of Plant Pathology*. 109: 705-713.
- Munkvold, G. P., and A. E. Desjardins. 1997. Fumonisin in maize. Can we reduce their occurrence? *Plant Disease* 81 (6): 556-565.
- Nault, L. R., D. T. Gordon, V. D. Damsteegt, and H. H. Iltis. 1982. Response of annual perennial teosintes (*Zea*) to six maize viruses. *Plant Disease* 66(1): 61-62.
- Parry, D. W. 1990. *Plant pathology in agriculture*. Cambridge University Press. U.K. 387p.

- Peiretti-Uzal, A., M. C. Nazar-Lovera, C. A. Biasutti-Valenzano, y L. M. Giorda-Lerda. 2007. Susceptibilidad a *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg en la población de maíz MPB-FCA 856. *Agronomía Mesoamericana* 18 (2): 171-176.
- Rivas-Valencia, P., J. Virgen-Vargas, I. Rojas M., A. Cano S., y V. Ayala E. 2011. Evaluación de la pudrición de mazorca de híbridos de maíz en Valles Altos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2(6): 845-854.
- Roncero, M. I. G., C. Hera, M. Ruíz-Rubio, Fe. I. García M., M. P. Madrid, Z. Caracuel, F. Calero, J. Delgado-Jarana, R. Roldán-Rodríguez, A. L. Martínez-Rocha, C. Velasco, J. Roa, M. Martínez-Urdiroz, D. Córdoba, y A. Di Pietro. 2003. *Fusarium* as a model for studying virulence in soilborne plant pathogens. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 62: 87-98. doi: 10.1016/S0885-5765(03)00043-2
- Saiz, M. J., O. Aguín, M. J. Bande, C. Pintos, y J. P. Mansilla. 2012. Biodiversidad de especies de *Fusarium* en tallos de maíz forrajero en Galicia. *Pastos* 42 (1): 51-66.
- Sánchez G., J. J., and J. A. Ruiz C. 1997. Teosinte distribution in Mexico. *In: Gene flow among maize landraces, improved maize varieties, and teosinte: Implications for transgenic maize*. Serratos, J. A., M. C. Wilcox, and F. Castillo (eds.) CIMMYT. Mexico, D.F. pp. 18-39.
- Sánchez Y., J. M., M. L. Sánchez, R. Álvarez y J. Balandreau. 1998. La microflora fijadora de nitrógeno asociada a las raíces de teocintle y maíz en México. Reporte técnico del proyecto IIQB-UMSNH-Morelia-México-CONACYT y Universidad Claude Bernard, Ecología Microbiana, Lyon, CNRS-Francia.
- SAS Institute. 2002. The SAS System for Windows. Version 9.0. SAS Inst., Cary, NC. USA.
- Solano-Báez, A. R., C. De León-García De Alba, G. Valdovinos-Ponce, H. V. Silva-Roja, y L. Soto-Rojas. 2011. La pigmentación de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) como factor de virulencia en plántulas de maíz. *Agronomía Mesoamericana* 22 (2): 297-307.
- Thompson, J. N. 1994. *The Coevolutionary Process*. The University of Chicago Press. USA. 383p.
- Vigier, B., L. M. Reid, K. A. Seifert, D. W. Stewart, and R. I. Hamilton. 1997. Distribution and prediction of *Fusarium* species associated with maize ear rot in Ontario. *Canadian Journal of Plant Pathology* 19 (1): 60-65.
- Villa-Delgado, D.B., Ma. del P. Rodríguez-Guzmán, F. Castillo-González, y Ma. de J. Yáñez-Morales. *Aún no publicado*. Identificación y caracterización morfológica y molecular de especies de *Fusarium* asociadas a las raíces del maíz criollo "azul" (*Zea mays* L. raza Chalco) y del teocintle (*Zea mays* subsp. *mexicana*).

- White, D. G. 1999. *Compendium of Corn Diseases*. 3<sup>rd</sup> ed. The American Phytopathological Society. USA. 78p.
- Wilkes, G. 2007. Urgent notice to all maize researchers: disappearance and extinction of the last wild teosinte population is more than half completed. A modest proposal for teosinte evolution and conservation in situ: the Balsas, Guerrero, Mexico. *Maydica* 52: 49-58.
- Zadoks, J. C., and R. D. Schein. 1979. *Epidemiology and plant disease management*. Oxford University Press. Oxford. 427p.

### CAPÍTULO III.

## IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ESPECIES DE *Fusarium* ASOCIADAS A LAS RAÍCES DEL MAÍZ CRIOLLO “AZUL” (*Zea mays* raza Chalco) Y DEL TEOCINTLE (*Zea mays* subsp. *mexicana*).

### RESÚMEN

La identificación precisa de hongos fitopatógenos es esencial para prácticamente todos los aspectos en Fitopatología. En la actualidad las técnicas moleculares permiten la identificación y caracterización exacta de los organismos, entre ellos los hongos fitopatógenos, y ello ha contribuido a enriquecer el conocimiento sobre las diferentes asociaciones que se establecen entre las plantas y los microorganismos como son hongos, bacterias, actinomicetos y otros, tanto benéficos como patógenos. El estudio e identificación de organismos fitopatógenos de las raíces en plantas de poblaciones silvestres pocas veces se ha llevado a cabo, aún en aquéllas que son ancestros de importantes plantas cultivadas como es el teocintle del maíz. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue aislar, identificar y caracterizar morfológica y molecularmente a las especies de *Fusarium* ssp., obtenidas de las raíces de plantas de maíz criollo “azul” y de teocintle a lo largo de su fenología. Los aislamientos de *Fusarium* de las raíces, se obtuvieron usando medios de cultivo semiselectivos. De los 78 aislamientos totales de *Fusarium* obtenidos en raíces de maíz y teocintle a lo largo de su desarrollo, se seleccionaron 17 por sus características morfológicas y por su frecuencia de aislamiento; a partir de cultivos monoconidiales se llevó a cabo su caracterización morfológica y molecular, llevando a cabo la extracción de ADN mediante una PCR y utilizando los iniciadores ITS-4 e ITS-5, lo cual permitió determinar que las especies obtenidas son *F. fujikuroi* Nirenberg., y *F. oxysporum* Schlecht con un porcentaje de identidad de 99 a 100%. La identificación morfológica de las especies de *Fusarium* se logró principalmente con base en la formación y dimensiones de microconidios, macroconidios y clamidosporas. Las características morfológicas observadas en los aislamientos de *F. fujikuroi* fueron: a) microconidios abundantes de una sola célula y de forma ovalada, con un tamaño de 6-12 x 2.5-3.5µm (largo x ancho), con monofialides; b) los macroconidios fueron escasos, observándose mejor en el medio de CLA; ligeramente falcados, usualmente con 3 septos y tamaño de 27-58 x 3-5.0µm; en los medios de cultivo CLA, SNA y SA no se observó la presencia de clamidosporas. Respecto a *F. oxysporum* se observaron: a) microconidios abundantes de forma ovalada, midiendo 5-12 x 2.3-3.5 µm; b) macroconidios abundantes, falcados, con paredes delgadas, ambos lados casi rectos, célula basal en forma de pie, generalmente con 3 septos, con un tamaño de 25-48 x 3-4.5 µm; c) clamidosporas abundantes, solitarias, en pareja o en cadena corta, de paredes lisas y tamaño de 5-12 µm. Se concluye que en las raíces del maíz criollo “azul” y su ancestro silvestre “teocintle”, se encontraron asociadas las dos mismas especies de *Fusarium*: *F. oxysporum* y *F. fujikuroi*.

**Palabras claves:** Ancestro silvestre, maíz, teocintle, patógenos de las raíces, *F. oxysporum*, *F. fujikuroi*.

## INTRODUCCIÓN

El género *Fusarium* fue descrito por Link in 1809 (Leslie y Summerell, 2006). Es un género heterogéneo que incluye especies muy diferentes con respecto a sus características morfológicas y fisiológicas (Nelson *et al.*, 1983). Este género incluye una amplia diversidad de especies; Nelson *et al.*, (1983) describen 30 especies; Leslie y Summerell (2006) describen 70 especies; sin embargo, en el trabajo realizado por Ma *et al.* (2013), sobre la filogenia y genómica de la patogénesis de *Fusarium*, estos autores describen 20 complejos de especies, cada uno de los cuales incluye a su vez varias especies.

Se sabe que *Fusarium* es un hongo habitante común de los suelos del mundo, posee una importante capacidad saprofitica que le permite sobrevivir alimentándose de residuos vegetales (Munkvold y Desjardins, 1997; Agrios, 2005), y también por mucho tiempo ha sido conocido como importante patógeno de una gran diversidad de plantas (De León, 1984; White, 1999; Roncero *et al.*, 2003). Algunas especies del género *Fusarium* producen diversos metabolitos tóxicos, comúnmente llamadas micotoxinas, que pueden contaminar los alimentos derivados de las plantas infectadas, así como causar fuertes problemas de salud al hombre y a los animales que se alimentan de tales plantas (Moss, 2002).

Entre las plantas fuertemente afectadas por varias especies de *Fusarium* está el maíz (*Zea mays* L.); se sabe que algunas de estas especies causan fuertes daños en la mazorca (Peiretti-Uzal *et al.*, 2007; Briones-Reyes, 2007; Rivas-Valencia *et al.*, 2011; Briones-Reyes *et al.*, 2015) y severas pudriciones en la base del tallo (Mendoza *et al.*, 2006; Figueroa-Rivera *et al.*, 2010; Sainz *et al.*, 2012). Sin embargo, se tiene escasa información de las especies que infectan y dañan a las raíces de este cultivo. White (1999) menciona a *F. oxysporum* y *F. solani* como las especies comúnmente observadas causando podredumbres de las raíces de esta planta; sin embargo también señala que las enfermedades ocasionadas por patógenos del suelo en las raíces del maíz han sido poco estudiadas a nivel mundial.

Por otra parte, de Lange *et al.* (2014), señalan la necesidad de estudiar a las especies de teocintle y a sus plagas y enfermedades con el objeto de identificar caracteres de resistencia que puedan servir para mejorar al maíz, sobre todo considerando que los teocintles se encuentran en peligro de extinguirse.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue aislar, identificar y caracterizar morfológica y molecularmente a las especies de *Fusarium* ssp., obtenidas de las raíces de plantas de maíz criollo “azul” y de teocintle durante su desarrollo fenológico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Aislamiento y purificación de especies de *Fusarium* asociadas a las raíces de maíz y teocintle en medios de cultivo semiselectivos.**

Los aislamientos de *Fusarium* se obtuvieron de muestras de raíces de maíz criollo ‘azul’ sembrado en una parcela comercial en Juchitepec, Edo. de México, y de raíces de plantas de teocintle en una población silvestre localizada en Cocotitlán, Edo. de México. Las raíces de ambas especies se colectaron a través de diferentes etapas fenológicas durante el ciclo 2013; de cada una de las plantas muestreadas se extrajo completamente el sistema radical y una vez lavado perfectamente con agua corriente, se cortaron pequeños porciones de raícecillas mostrando daño por marchitez y/o necrosamiento; éstos trocitos de raíces se desinfestaron con Hipoclorito de Sodio al 1.0% durante un minuto, posteriormente se les aplicó un triple lavado con agua destilada estéril y se les quitó el exceso de humedad con toallas de papel esterilizadas, permitiendo que se secaran completamente a temperatura ambiente en la cámara de transferencia. Posteriormente se sembraron 10 trocitos de raíces por planta muestreada y se colocaron en una caja de Petri con medio PDA y 10 trocitos en medio de Kerr (Kerr, 1962), éstas cajas se colocaron dentro de una estufa de incubación a 27°C y bajo condiciones de oscuridad. Las cajas con raíces se mantuvieron bajo observación, y una vez iniciado el crecimiento de las colonias (3 a 4 días después de la siembra), se empezó a hacer la cuantificación del número de colonias por trocito que presentaba el crecimiento y características morfológicas típicas de *Fusarium*.

Los aislamientos puros se obtuvieron tomando parte del micelio de *Fusarium* crecidos de las raíces de maíz y teocintle, y transfiriendo nuevamente a cajas de Petri con medio PDA. De los 78 aislamientos totales de *Fusarium*, se seleccionaron 8 para maíz y 9 para teocintle, en ambos casos de acuerdo a la morfología y coloración de la colonia. Debe mencionarse que también se consideró importante aislar cinco colonias de *Trichoderma* ssp., que crecieron de las raíces de teocintle, durante el período de evaluación.

### **Cultivos monoconidiales**

De las cepas de *Fusarium* seleccionadas y de los aislamientos de *Trichoderma*, y con el propósito de obtener aislamientos puros, se tomó cuidadosamente con una aguja de disección un trocito de medio de cultivo con gran cantidad de conidios (vistos con anterioridad en un microscopio óptico) y bajo la lupa de un microscopio estereoscopio (Reichert Scientific Instruments) en una caja Petri con medio PDA se agregó una ligera película de agua destilada estéril y en

forma de punciones se colocó el trocito de medio para liberar los conidios y con un triángulo de vidrio previamente estéril, se dispersaron los conidios sobre la caja, dejando reposar 30 segundos para favorecer que los conidios se fijaran en el medio; después se decantó el agua; las cajas se escurrieron sobre sanitas estériles, fueron selladas, rotulas e incubadas a 26°C por  $\pm 12$  horas en oscuridad. Transcurrido el tiempo, las cajas se observaron en el microscopio estereoscopio para ubicar los conidios germinados, transfiriendo 5 conidios a cajas Petri con PDA e incubándolas a 26°C por 7 días.

### **Caracterización molecular de especies de *Fusarium* asociadas a las raíces de maíz y teocintle**

La caracterización molecular se realizó en el Laboratorio de Diagnóstico de Fitopatología (LADIFIT), ubicado en el Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados – Campus Montecillo.

### **Incremento de inóculo para extracción de ADN**

De las 17 cepas puras de *Fusarium* y las 5 cepas de *Trichoderma*, se tomaron muestras de micelio y se transfirieron por duplicado a cajas de Petri con medio PDA incubándolas en oscuridad a 26°C por 7 días. Cabe mencionar que para la extracción de ADN, es necesario que las cepas sean jóvenes, para el caso de *Fusarium* no deben de ser mayores de 12 días, y en *Trichoderma* no mayor a 10 días.

### **Extracción de ADN**

La extracción del ADN se realizó siguiendo el protocolo CTAB al 2% (metodología modificada de Falcón y Valera, 2007) de la siguiente manera: con una espátula se tomó el micelio de cada uno de los hongos y se colocaron por separado en morteros de porcelana, agregando 600µl de CTAB al 2% (previamente calentado a baño maría), macerando cada una de las muestras perfectamente, transfiriendo a tubos de 1.5 ml y fueron agitadas vigorosamente en el vórtex (Scientific Industries®). Se incubaron en baño maría a 60°C durante 60 minutos (mezclando por vórtex cada 15 minutos hasta completar el tiempo de incubación), después se adicionaron 600µl de cloroformo – alcohol isoamyl (24:1) y se mezcló nuevamente por vórtex. Se centrifugó por nueve minutos a 13 200 rpm utilizando una centrifuga Eppendorf, se tomó cuidadosamente con la micropipeta la fase acuosa (parte superior) depositándola en un tubo nuevo de 1.5 ml; se adicionaron 600µl de isopropanol frío y se mezcló suavemente por inversión; incubando a una temperatura de -20°C (congelador) durante una hora. Transcurrida

la incubación, se centrifugó a 13 200 rpm durante 9 minutos, eliminando el sobrenadante y cuidando de no tirar la pastilla. Se colocaron los tubos boca abajo en una sanita estéril (para secar la pastilla) a temperatura ambiente durante 20 minutos. Una vez seca la pastilla se re-suspendió en agua destilada estéril (50 a 100  $\mu$ l) dependiendo el tamaño de la pastilla y se incubaron a 50°C en baño maría durante 15 minutos. La presencia y calidad de las extracciones de ADN fueron verificadas con la técnica de electroforesis en gel de agarosa al 1 % (0.30g de agarosa y 30 ml de TAE 1X); el gel se corrió en una cámara de electroforesis (Thermo Electron Corporation EC105-Cleaver Scientific Ltd); los amplicones fueron visualizados en un fotodocumentador BIORAD.

### **Amplificación por PCR del ADN ribosomal.**

A partir del DNA extraído, se procedió a la amplificación de la región ITS por la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), se utilizaron los iniciadores universales ITS4 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') e ITS5 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') que amplifica un fragmento de 580 pares de bases (pb) aproximadamente (manual LADIFIT, 2013). La mezcla de reacción para PCR se preparó en un volumen final de 25 $\mu$ L conteniendo 5  $\mu$ l - Buffer 5x; 1,5  $\mu$ l - MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0,5  $\mu$ l - dNTP (10 mM); 1  $\mu$ l - iniciador ITS4 (10 mM); 1  $\mu$ l - iniciador ITS 5 (10 mM); para los genes ribosomales; 0,2  $\mu$ l - *GoTaq* DNA ((5 U/ $\mu$ l) Promega, USA) en 13,8  $\mu$ l de agua destilada estéril. Las amplificaciones se hicieron en un termociclador Modelo Icycler ® BIORAD; bajo las siguientes condiciones: un ciclo de desnaturalización a 94°C por 5 minutos; 45 ciclos de desnaturalización a 94°C por un minuto, el alineamiento a 55°C por un minuto, y una extensión final a 72°C por un minuto; finalmente un ciclo de amplificación a 72°C por 10 minutos. Las amplificaciones fueron verificadas con la técnica de electroforesis en gel de agarosa al 1 % preparado con 1x TAE búfer (Tris Acetate-EDTA), el gel se tiñó con bromuro de etidio y se corrió en una cámara de electroforesis (Thermo Electron Corporation EC105-Cleaver Scientific Ltd) a 88 V cm<sup>-3</sup> durante 30 minutos. Los amplicones fueron visualizados en un fotodocumentador BIORAD.

### **Limpieza y purificación de las muestras de ADN**

La limpieza del ADN se realizó con el kit de purificación Wizard SV Gel and PCR Clean- Up System (PROMEGA, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. A cada tubo del producto de PCR, se agregaron 20 $\mu$ l de Buffer N°1 (Membrane Binding Solution) mezclando por pipeteo, la mezcla fue transferida a una columna dejando reposar por 1 minuto y centrifugando por 1 minuto a 10 000 rpm, enseguida se le agregaron 700 $\mu$ l del Buffer N° 2

(Membrane Wash Solution), centrifugando por un minuto a 10 000 rpm. Se decantó la parte superior y todo lo que quedó en el tubo se desechó. Posteriormente se añadieron 500µl del Buffer N° 2 para el segundo lavado, se centrifugaron por cinco minutos a 10 000 rpm y se retiró el sobrenadante (ya no se añadió nada) centrifugando por un minuto a 10 000 rpm. Se marcaron tubos de 1.5 ml para cada muestra y sobre estos se colocaron las columnas correspondientes, se añadieron 35µl de agua del frasco N° 3 (Nuclease free water) a cada columna, centrifugando por un minuto a 10 000 rpm, obteniendo así el ADN limpio.

### **Secuenciación**

Las muestras de ADN ya limpias, fueron enviadas para su secuenciación a la Unidad de Síntesis y Secuenciación del Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Estos productos se secuenciaron en ambas direcciones.

### **Análisis de secuencias**

Una vez obtenidas las secuencias de ambas regiones (ITS4 e ITS5 del ADNr), se acoplaron y editaron con el programa EditSeq versión 5.06 1989-2003 (DNASTAR Inc., USA), con el cual se creó una secuencia consenso. Esta secuencia, se comparó con las secuencias más relacionadas depositadas en el GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI, Estados Unidos), mediante la opción BLAST. Posteriormente la secuencia consenso se compiló en un archivo y se alineó utilizando el programa MegAlign versión 5.06 1993-2003 (DNASTAR Inc., USA); posteriormente aplicando el programa BLAST, y basándose en el porcentaje de identidad se definieron las especies de los hongos.

### **Identificación morfológica de las especies de *Fusarium* encontradas asociadas a raíces de maíz y teocintle**

Para la identificación morfológica de los aislamientos del género *Fusarium* a nivel de género se utilizó el manual de Leslie y Summerell (2006) y para la determinación de especie los manuales de Booth (1971), Gerlach y Nirenberg, 1982 y Nelson *et al.*, (1983).

Una vez caracterizadas molecularmente las cepas de *Fusarium*, se seleccionaron aquellas que presentaron mayor porcentaje de identidad, tomando un aislamiento de cada especie para los estudios morfológicos, los cuales se realizaron de la siguiente manera:

## **Formación de estructuras de reproducción**

Para inducir la formación de phialides, se colocó una pequeña porción de crecimiento micelial y agar sobre un portaobjetos dentro de una caja Petri en condiciones de humedad y esterilidad por un periodo de 72 horas. La caja Petri se selló y se mantuvo a 26°C bajo luz blanca (Solano-Báez *et al.*, 2010). Las estructuras obtenidas se midieron y documentaron con una cámara digital moticam 2300 3.0M Pixel USB 2.0 montada al microscopio (VELAB<sup>MR</sup>). Para obtener macro y microconidios se inoculó micelio en cajas Petri con medio de cultivo “Carnation Leaf Agar” (CLA), a una temperatura de 24°C por 24 días (Leslie y Summerell, 2006).

## **Formación de Clamidosporas**

De acuerdo con Leslie y Summerell (2006), mencionan que el género *Fusarium* induce la formación de clamidosporas en los medios de cultivo de CLA, SNA y SA, por lo tanto se procedió hacer la siembra en los tres medios de cultivo como se describe a continuación.

**CLA (Hojas de Clavel Agar).** Se diluyeron 20 g de agar en 1000 ml de agua destilada estéril y en cada caja de Petri se añadieron cinco trocitos (0.5 mm<sup>2</sup>) de hojas de clavel desinfectadas con hipoclorito de sodio al 1% por un minuto e irradiadas con rayos UV por seis horas (modificando la metodología propuesta por Leslie y Summerell, 2006) antes de que el agar solidificara. Las cajas de Petri se incubaron a 25°C, alternando 12 horas de luz negra (Lámpara TecnoLite 127 V-60Hz) y 12 horas de oscuridad de 15 a 20 días.

**SNA (Spezieller-Nährstoffarmer-Agar).** Se pesó 1g-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1g-KNO<sub>3</sub>, 0.5g-MgSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O, 0.5g-KCl, 0.2g-Glucosa, 0.2g-Sacarosa y 20g-Agar). Después de que el agar solidificó se colocaron 2 piezas de papel filtro (Whatman N° 1 de 0.6 mm<sup>2</sup> sobre la superficie del medio, con el objetivo de incrementar la esporulación. Las cajas de Petri fueron incubadas a 25°C, alternando 12 horas de luz negra (lámpara TecnoLite 127 V-60Hz) y 12 horas de oscuridad durante 21 días.

**SA (Suelo-Agar).** Se pesó 250 g de suelo seco y cribado, 15 g de Agar y 1000 ml de agua destilada estéril). Las cajas Petri se incubaron a 25°C, alternando 12 horas de luz negra (Lámpara TecnoLite 127 V-60Hz) y 12 horas de oscuridad por 21 días. De cada medio de cultivo, se hicieron los montajes correspondientes y fueron observadas al microscopio óptico.

### **Caracterización morfológica de las especies de *Trichoderma* aisladas de raíces de teocintle.**

También se consideró importante realizar la caracterización morfológica de los aislamientos de *Trichoderma* obtenidos de las raíces de teocintle. Una vez que se tuvieron los aislamientos puros del hongo se indujo la formación de: phialides, conidios y clamidosporas.

Los aislamientos fueron sembrados en medio de PDA para inducir la formación de las estructuras de reproducción. Posteriormente se colocó una pequeña porción de crecimiento micelial y agar sobre un portaobjetos dentro de una caja Petri en condiciones de humedad y esterilidad por un periodo de 72 horas. La caja Petri se selló y se mantuvo a 26°C bajo luz blanca (Solano-Báez *et al.*, 2010). Las estructuras obtenidas se midieron y fueron comparadas con las descritas por Bissett, 1991a; Bissett, 1991 b; Gams y Meyer, 1998; y se documentaron con una cámara digital moticam 2300 3.0M Pixel USB 2.0 montada al microscopio (VELAB MR).

A los aislamientos puros de *Trichoderma* también se les extrajo el ADNr mediante la técnica PCR, utilizando los iniciadores ITS-4 e ITS-5. El material genético obtenido se envió al Instituto de Biotecnología de la UNAM para efectuar la secuenciación.

### **Conservación de los hongos asociados encontrados en raíces de maíz y teocintle**

La conservación de los 17 aislamientos de *Fusarium* se realizó en tubos de ensayo de 50 mL, con PDA y tubos de 10 mL con suelo de río. Para ello, se preparó PDA esterilizado a 15 lb de presión durante 15 minutos, a cada tubo previamente estéril se agregó 10 mL de medio, se sellaron y se esterilizaron nuevamente a 15lb de presión durante 15 minutos, transcurrida la esterilización, los tubos fueron sellados y colocados en un ángulo de 30°C, para la distribución uniforme del medio en todo el tubo.

Los tubos con suelo arenoso de río, se llenaron a dos tercios de su capacidad, se sellaron y esterilizaron a 15 lb de presión durante 15 minutos, ambos tubos se dejaron enfriar y se procedió a la siembra. Segmentos de medio infestado con los diferentes aislamientos fue adicionado a cada uno de los tubos. Se incubaron a 26°C durante 48 horas. Se depositaron en la colección del Laboratorio No. 121, Ecología de Patógenos de las Raíces, del Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados. Se consideró importante la conservación de los aislamientos de *Trichoderma* para futuros trabajos de pruebas de antagonismo. Se conservaron de la misma manera que *Fusarium*, como anteriormente se describió.

## RESULTADOS

### Caracterización molecular de las especies de *Fusarium* asociadas a las raíces de maíz y teocintle

Con la amplificación de las regiones ITS del ADNr, se consiguieron fragmentos de alrededor de 550 pares de bases (pb), lo que indicó que los aislamientos de *Fusarium* obtenidos de las raíces de maíz y teocintle, corresponden a *F. fujikuroi* Nirenberg y *F. oxysporum* Schlecht con 99 y 100% de identidad (Cuadro 11).

**Cuadro 11.** Especies de *Fusarium* aisladas de raíces de maíz criollo azul y teocintle caracterizados molecularmente utilizando los iniciadores ITS-4 e ITS-5.

No. de aislamiento	Fenología	Muestreo	Hospedante	Especie	% identidad
001	V2 <sup>a</sup>	1M	Maíz	<i>F. oxysporum</i>	100
002	V9	3M		<i>F. fujikuroi</i>	99.2
003	V12	5M		<i>F. fujikuroi</i>	100
004	R3	6M		<i>F. oxysporum</i>	100
005	R5	7M		<i>F. fujikuroi</i>	100
006				<i>F. oxysporum</i>	99.2
007				<i>F. oxysporum</i>	100
008	R6 <sup>b</sup>	8M		<i>F. oxysporum</i>	100
009	FVI <sup>c</sup>		Teocintle	<i>F. oxysporum</i>	100
010	FRI 1			<i>F. oxysporum</i>	100
011	FRI 2	2M		<i>F. oxysporum</i>	100
012	FRA			<i>F. oxysporum</i>	100
013				<i>F. oxysporum</i>	100
014	FRI 1			<i>F. fujikuroi</i>	100
015		3M		<i>F. oxysporum</i>	100
016	FVI			<i>F. oxysporum</i>	100
017	FRI 1			<i>F. oxysporum</i>	100

<sup>a</sup> Etapas vegetativas y <sup>b</sup> reproductivas del maíz, <sup>c</sup> Fases fenológicas del teocintle

Los aislamientos de *Trichoderma* fueron identificados molecularmente como *T. harzianum* Rifai con el 100% identidad (Cuadro 12).

**Cuadro 12.** Especies de *Trichoderma* aisladas de raíces de teocintle caracterizados molecularmente utilizando los iniciadores ITS-4 e ITS-5.

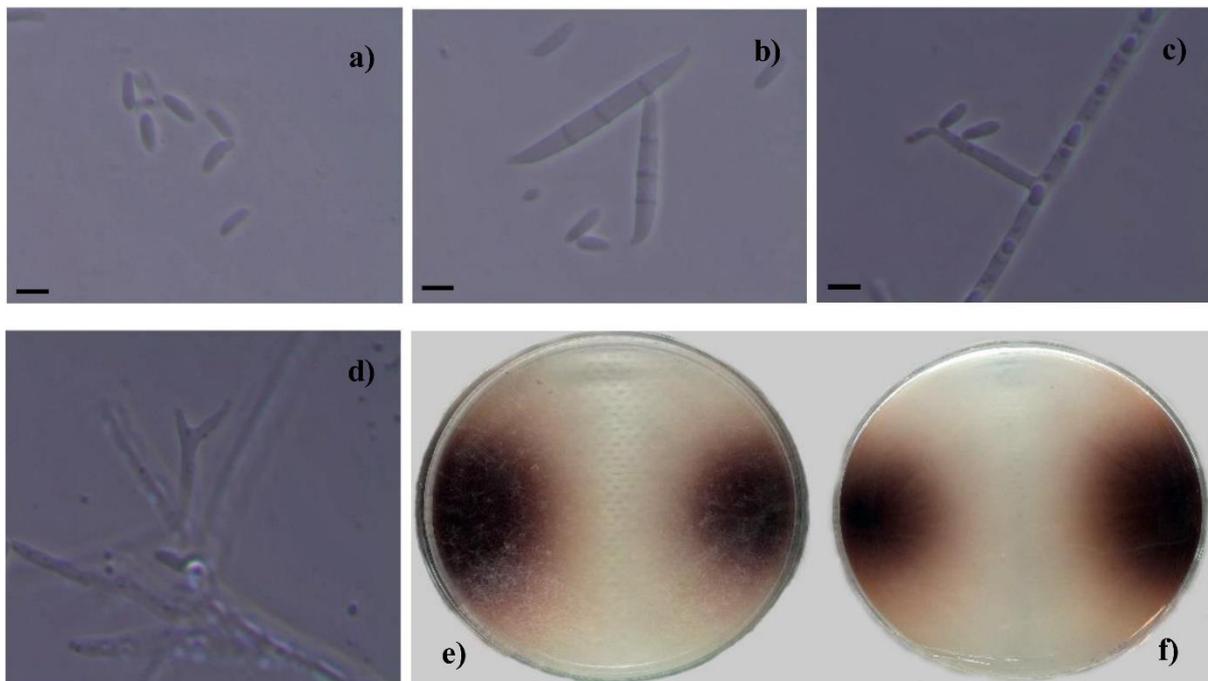
No. de aislamiento	Etapas fenológica	Muestreo	Hospedero	Especie	% identidad
018	FRI 2 <sup>c</sup>		Teocintle	<i>T. harzianum</i>	100
019	FVA	1M		<i>T. harzianum</i>	100
020	FRI 1			<i>T. harzianum</i>	100
021				<i>T. harzianum</i>	100
022	FRI 1	3M		<i>T. harzianum</i>	100

<sup>c</sup> Fases fenológicas del teocintle

## Caracterización morfológica de las especies de *Fusarium* asociadas a las raíces de maíz y teocintle.

### *Fusarium fujikuroi* Nirenberg (Sin: *F. proliferatum*)

El crecimiento micelial de *F. fujikuroi* Nirenberg en medio de cultivo PDA presento micelio aéreo abundante, de color blanquecino a rosa pálido gris o violeta con la edad), pigmentación café-rojizo en el medio de cultivo. Microconidios abundantes de una sola célula, 6-12 x 2.5-3.5µm (largo x ancho), en monofialides; macroconidios falcados a casi rectos, delgados y generalmente con 3 septos y tamaño de 27-58 x 3-5.0µm. En los medios de cultivo CLA, SNA y SA no se observó la presencia de clamidosporas Gerlach and Nirenberg (1982); Nelson *et al.*, 1983 y Leslie y Summerell, 2006 (Figura 15).



**Figura 15.** Características morfológicas de *F. fujikuroi*. **a)** microconidios, **b)** macroconidios, **c)** monofialide, **d)** polifialide, **e)** micelio violeta (visto por el anverso) y **f)** pigmentación café-rojiza sobre el medio de PDA (visto por el reverso). Barras = 10 µm.

Las especies de *Fusarium* que forman parte del complejo de *Gibberella fujikuroi* entre las cuales se encuentran *F. verticillioides*, *F. proliferatum* y *F. fujikuroi* comparten características morfológicas muy similares (cuadro 13) que en muchas ocasiones llega a la confusión e identificación morfológica errónea.

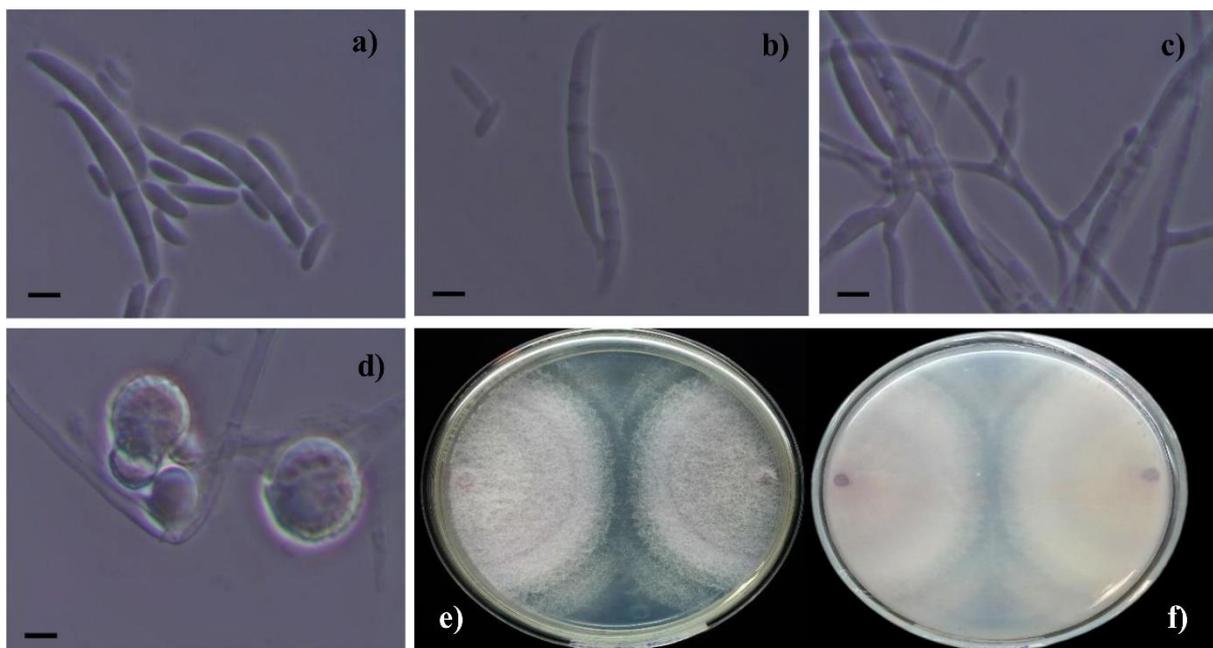
**Cuadro 13.** Características morfológicas distintivas entre especies del complejo de *Gibberella fujikuroi*

Características morfológicas	<i>F. verticillioides</i> <sup>a,b,d</sup>	<i>F. proliferatum</i> <sup>d,c,d</sup>	<i>F. fujikuroi</i> <sup>d,c,d</sup>
<b>Color</b>	Blanco, crema, beige, gris magenta, salmón, violeta, púrpura.	Blanco, violeta o púrpura	Blanco, rosa pálido a violeta o púrpura
<b>Microconidia (largo x ancho en µm)</b>	5.0-12.0 x 1.5-2.5 Clavadas con base aplanada	3-16 x 1.2-5.3 Clavadas con base aplanada, rara vez piriformes	5-13 x 2.1-4.7 Clavadas con base aplanada
<b>Microconidia en cadena</b>	+ Cadenas largas	+ Cadenas largas	+ Cadenas cortas
<b>Falsas cabezas</b>	+	+	+
<b>Macroconidia (largo x ancho en µm)</b>	18-61 x 2.0-4.2 (3 septos)	19-59 x 2.6-5.0 (3 septos)	22-59 x 2.5-4.7 (3 septos)
	39-73 x 2.4-4.3 (5 septos) delgados, falcados a rectos, célula apical curvada y célula pie distinta	39-79 x 3.0-5.0 (5 septos) falcados a rectos, algo más amplio que los de <i>F. fujikuroi</i> , con una célula de pie distinta	43-65 x 3.3-4.4 (5 septos) del mismo tipo que <i>F. verticillioides</i> , sin embargo, en promedio un poco más amplios
<b>Conidióforo</b>	Simple o ramificado	Ramificado	Ramificado
<b>Fiálides (largo x ancho en µm)</b>	14-32 x 2.0-3.5 Monofialides	11-32 x 2.3-3.5 Monofialides, pero muy a menudo polifiálides	12-32 x 2.8-4.0 Mayormente monofialides, rara vez polifiálides
<b>Clamidosporas</b>	Ausentes. Sin embargo se producen células infladas con paredes engrosadas	Ausentes	Ausentes

Referencias: <sup>a</sup> Booth, 1971; <sup>b</sup> Gerlach y Nirenberg, 1982; <sup>c</sup> Nelson *et al.*, 1983; <sup>d</sup> Leslie y Summerell 2006.

### ***Fusarium oxysporum* Schlecht. Emend. Snyd. & Hans**

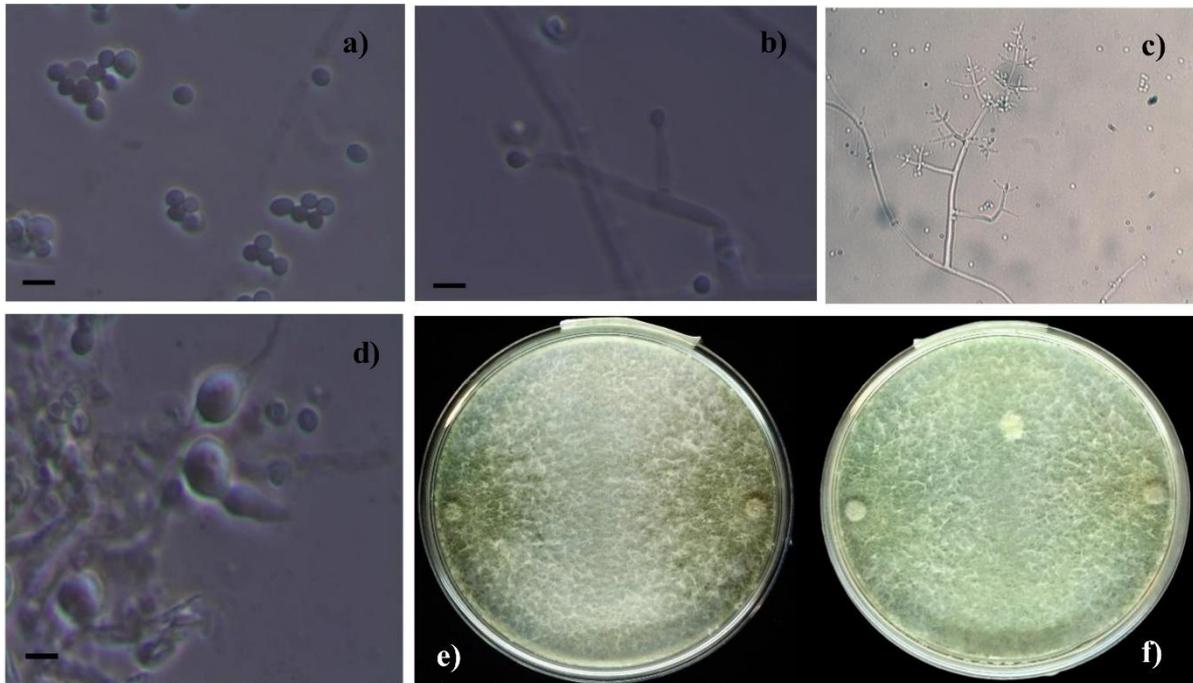
El crecimiento micelial de *F. oxysporum* en medio de cultivo PDA inicialmente fue de color blanco a ligeramente rosa, produciendo una tenue pigmentación de color violeta sobre el medio. Este hongo presentó microconidios abundantes de una sola célula y de forma ovalada, con un tamaño de 5-12 x 2.3-3.5  $\mu\text{m}$ , en monofialides; los macroconidios fueron abundantes, levemente de forma falcada, paredes delgadas, ambos lados casi rectos, célula basal en forma de pie, generalmente con 3 septos y tamaño de 25-48 x 3-4.5  $\mu\text{m}$ . En los medios CLA, SNA y SA se observó la presencia de clamidosporas con paredes lisas y tamaño de 5-12  $\mu\text{m}$ , solitarias, en pareja o en cadena corta (Booth, 1971; Nelson *et al.*, 1983 y Leslie y Summerell, 2006) (Figura 16).



**Figura 16.** Características morfológicas de *F. oxysporum*. **a)** y **b)** macroconidios y microconidios, **c)** monofialides, **d)** clamidosporas, **e)** micelio ligeramente rosa-violeta (visto por el anverso) y **f)** pigmentación violeta tenue sobre el medio de PDA (visto por el reverso). Barras = 10  $\mu\text{m}$ .

### ***Trichoderma harzianum* Rifai**

En *T. harzianum* se observaron conidios subhialinos, de forma esférica y tamaño 2.5-4.0  $\mu\text{m}$ , fiálides hialinas formados en verticilos de 3-5, tamaño de 5-7 x 2.5-3.5 $\mu\text{m}$  (largo x ancho). Conidióforos ramificados. En medio de cultivo PDA se observó inicialmente micelio algodónoso de color blanco que posteriormente se tornó de color verde intenso. También se observaron clamidosporas abundantes, hialinas, terminales o intercaladas, de forma globosa de 5-12.5  $\mu\text{m}$  Bissett, 1991a; Bissett, 1991b; Gams y Meyer, 1998 (Figura 17).



**Figura 17.** Características morfológicas de *T. harzianum*. **a)** conidios, **b)** fiálides, **c)** conidióforo, **d)** clamidosporas, **e)** micelio blanco a los 4 días de edad (visto por el anverso) y **f)** micelio verde en medio de PDA (visto por el anverso) a los 8 días de edad. Barras = 10 $\mu\text{m}$ .

## DISCUSIÓN

Los miembros del género *Fusarium* son algunos de los patógenos de las plantas más importantes en el mundo (Nelson *et al.*, 1983). Sin embargo, la taxonomía de este género ha sido objeto de controversia durante muchos años (Nelson *et al.*, 1983). Los sistemas taxonómicos clásicos se basan en caracteres morfológicos tales como el tamaño y forma de los macroconidios, presencia o ausencia de los microconidios, fiálides y clamidosporas, la coloración de la colonia, y la estructura de los conidióforos (Windels, 1992); pero en la actualidad, las técnicas moleculares y genéticas han permitido una identificación y caracterización más completa y precisa de los organismos, entre ellos los hongos fitopatógenos, por lo cual deben aplicarse de manera complementaria las técnicas tradicionales dependientes de cultivos y las técnicas moleculares independientes de cultivos, como se ha intentado llevar a cabo en este trabajo. Debe mencionarse que la caracterización molecular de *Fusarium* aún está en investigación, pues sólo es hasta muy reciente y con el trabajo de Ma *et al.* (2013) que se propone la clasificación del género *Fusarium* en 20 complejos de especies, dentro de las cuales está el complejo *Gibberella fujikuroi* que incluye a las especies *F. fujikuroi*, *F. proliferatum*, *F. verticilloides*, *F. mangiferae* y *F. circinatum*.

En el caso de este trabajo con maíz y teocintle, debe indicarse que la especie *Fusarium oxysporum* está bien representada entre las comunidades de hongos del suelo de todo el mundo (Burgess, 1981). Esta especie también se considera como un componente normal de las comunidades de hongos en la rizosfera de plantas (Gordon y Martyn, 1997). *F. oxysporum*, pertenece al complejo de especies *Oxysporum* de acuerdo a Ma *et al.* (2013), se caracteriza morfológicamente porque tiene micelio aéreo, color blanco a ligeramente violeta (Leslie and Summerell, 2006; Nelson *et al.*, 1983) y pueden tomar coloraciones salmón, rosa o violeta pálido (Booth, 1971), de acuerdo a esto, las características morfológicas observadas en algunos de los aislamientos obtenidos de las raíces de maíz y teocintle en este trabajo, concuerdan con las descritas por los anteriores autores.

Por otra parte, *F. fujikuroi* no forman clamidosporas, pero algunas especies de *Fusarium* forman hinchamientos de hifas que ocasionalmente son confundidas con pseudoclamidosporas (Gerlach y Nirenberg, 1982; Nelson *et al.*, 1983, Leslie and Summerell, 2006), de acuerdo a esto, en los aislamientos aislados de raíces de maíz y teocintle y caracterizados morfológica y molecularmente como *F. fujikuroi* no se observó la formación de clamidosporas. La descripción morfológica de *F. fujikuroi* es confusa ya que Nelson *et al.*, 1983 lo describe como un sinónimo de *F. moniliforme* y Leslie y Summerell (2006) describe a *F. proliferatum* como sinónimo de *F. fujikuroi*; pero el reciente estudio llevado a cabo por Ma *et al.* (2013) ha

demostrado mediante análisis filogenéticos que *F. fujikuroi* está ubicado dentro del complejo de especies de *Gibberella fujikuroi*, el cual incluye como especies diferentes a *F. proliferatum*, *F. mangiferae*, *F. verticillioides* y *F. fujikuroi*, y por tanto ésta última es una especie diferente a *F. proliferatum* y *F. verticillioides* (Ma *et al.*, 2013).

En 2011, Mei y colaboradores realizaron la identificación molecular del complejo de *Gibberella fujikuroi* en maíz, arroz y caña de azúcar, y mencionan que basarse sólo en caracteres morfológicos para la identificación de las especies de este complejo de *Fusarium* puede dar una identificación errónea. Debe mencionarse que se han utilizado diversos métodos alternativos basados en herramientas moleculares que han permitido la identificación de especies de *Fusarium*, por ejemplo, Edel *et al.*, (1997) propusieron usar el método de PCR-RFLP para diferenciar especies de *Fusarium*; mientras otros autores Watanabe *et al.* (2011), han utilizado diferentes regiones que incluyen genes codificadores de proteínas, como son el gen  $\beta$ -tubulina, el gen EF-1 $\alpha$  (factor de elongación 1 $\alpha$ ), y el gen lys2 (amino reductasa).

En relación a los aislamientos de *Trichoderma harzianum* que se obtuvieron mediante medios de cultivo en este estudio, debe indicarse que aún cuando no se trabajó de manera sistemática para el aislamiento de este hongo, se decidió caracterizar y conservar para posteriores pruebas de antagonismo; pero resultó interesante que sólo se aislaron de raíces de teocintle.

Es importante mencionar que en este trabajo no se aplicaron métodos metagenómicos para la definición y caracterización de la diversidad de especies de *Fusarium* en la rizósfera y en las raíces por razones de tiempo y presupuesto; sin embargo, se tiene contemplado continuar con esta investigación, utilizando técnicas metagenómicas y filogenéticas que permitan determinar la diversidad e identificación precisa de las especies de *Fusarium* asociadas a las raíces de maíz y de su ancestro silvestre teocintle.

## CONCLUSIONES

*F. fujikuroi* (99 y 100%) y *F. oxysporum* (100%) se encuentran asociadas a las raíces de maíz nativo “azul” y a su ancestro silvestre “teocintle”.

El maíz criollo azul” y su ancestro silvestre teocintle, comparten las mismas especies de *Fusarium* asociadas a las raíces, y estas se presentaron en las diversas etapas fenológicas de ambas especies de plantas.

*F. fujikuroi*, *F. verticillioides* y *F. proliferatum*, aunque se encuentran dentro del complejo de especies de *Gibberella fujikuroi*, son especies diferentes.

En trabajos de diversidad e identificación de especies de hongos fitopatógenos de las raíces, se recomienda ampliamente utilizar de forma complementaria técnicas tradicionales dependientes de cultivo con las técnicas genómicas independientes de cultivo.

## LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. 5th edition. Elsevier, Academic Press. 922 p.
- Bissett, J. 1991a. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. Can. J. Bot. 69: 2357-2372.
- Bissett, J. 1991b. A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section *Pachybasium*. Can. J. Bot. 69: 2373-2417.
- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, United Kingdom. 237p.
- Briones-Reyes, D. 2007. Resistencia a pudrición de mazorca en poblaciones de maíz bajo mejoramiento participativo en el Altiplano de México. Tesis de Maestra en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. de México.
- Briones-Reyes, D., F. Castillo-González, J. L. Chávez-Servia, V. H. Aguilar-Rincón, C. de León García-de Alba, y A. Ramírez-Hernández. 2015. Respuesta del maíz nativo del altiplano mexicano a pudrición de mazorca, bajo infección natural. *Agronomía Mesoamericana* 26 (1): 73-85. doi: 10.15517/am.v26i1.16922
- Burges, L. W. 1981. General ecology of the Fusaria. *In: Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*, Toussoun, T. A., P. E. Nelson, and R. J. Cook, editors, Pennsylvania State University Press, University Park and London. pp. 225-235.
- de Lange, S. E., D. Balmer, B. Mauch-Mani, and T. C. J. Turlings. 2014. Insect and pathogens attack and resistance in maize and its wild ancestors, the teocintes. *New Phytologist* 204: 329-341. doi: 10.1111/nph.13005
- De León, C. 1984. Enfermedades del Maíz. Una Guía para su Identificación en el Campo. 3ª. Edición. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) 114 p.
- Edel, V., C. Steinberg, N. Gautheron, and C. Alabouvette. 1997. Evaluation of restriction analysis of polymerase chain reaction (PCR)-amplified ribosomal DNA for the identification of *Fusarium* species. *Mycological Research* 101: 179-187.
- EditSeq. 1989-2003. Expert sequence analysis software. Version 5.06. DNASTAR Inc. USA.
- Falcón, L. I., y A. Valera. 2007. Extracción de ácidos nucleicos. *In: Ecología molecular*. Eguiarte, L. E., V. Souza, X. Aguirre. (Comps.). Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT. México, D.F. p. 499-516.
- Figuroa-Rivera, Ma. G., R. Rodríguez-Guerra, B. Z. Guerrero-Aguilar, M. M. González-Chavira, J. L. Pons-Hernández, J. F. Jiménez-Bremont, J. G. Ramírez-Pimentel, E. Andrio-Enríquez, y M. Mendoza-Elos. 2010. Caracterización de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de raíz de maíz en Guanajuato, México. *Rev. Mex. Fito.* 28 (2): 124-134.

- Gams, W., and W. Meyer. 1998. What exactly is *Trichoderma harzianum*? *Mycologia* 90(5): 904-915.
- Gerlach, W., and H. Nirenberg. 1982. The genus *Fusarium* – a pictorial atlas. Biologische Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft. Berlin-Dahlem. 406p.
- Gordon, T. R., and R. D. Martyn. 1997. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annu. Rev. Phytopathol* 35: 111-128.
- Kerr, A. 1962. The root rot – *Fusarium* wilt complex of peas. *Aust. J. Biol. Sci.* 16(1): 55-69.
- Leslie, J. F., and B. A. Summerell. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual, 1<sup>st</sup>. Ed.; Blackwell Publishing: Hoboken, N.J., USA. 388p.
- Ma, Li-Jun, D. M. Geiser, R. H. Proctor, A. P. Rooney, K. O'Donnell, F. Trail, D. M. Gardiner, J. M. Manners, and K. Kazan. 2013. *Fusarium* Pathogenomics. *Annu. Rev. Microbiol.* 67: 399-416.
- MegAlin. 1993-2003. Expert sequence analysis software. Version 5.06. DNASTAR Inc. USA.
- Mei H., H., B. Salleh, and L. Zakaria. 2011. Molecular identification of *Fusarium* species in *Gibberella fujikuroi* species complex from rice, sugarcane and maize from Peninsular Malaysia. *Int. J. Mol. Sci.* 12: 6722-6732. Doi: 10.3390/ijms12106722
- Mendoza E., M., E. Andrio E., A. López B., R. Rodríguez G., L. Latournerie M., y S. A. Rodríguez H. 2006. Tasa de infección de la pudrición del tallo en maíz causada por *Fusarium moniliforme*. *Agronomía Mesoamericana* 17 (1): 19-24.
- Moss, M. O. 2002. Mycotoxin review – 2. *Fusarium*. *Mycologist* 16: 158-161.
- Munkvold, G. P., and A. E. Desjardins. 1997. Fumonisin in maize. Can we reduce their occurrence? *Plant Disease* 81(6): 556-565.
- Nelson, P. E., T. A. Tousson, and W. F. O. Marasas. 1983. *Fusarium* Species. An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press. University Park and London. 193 p.
- Peiretti-Uzal, A., M. C. Nazar-Lovera, C. A. Biasutti-Valenzano, y L. M. Giorda-Lerda. 2007. Susceptibilidad a *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg en la población de maíz MPB-FCA 856. *Agronomía Mesoamericana* 18 (2): 171-176.
- Rivas-Valencia, P., J. Virgen-Vargas, I. Rojas M., A. Cano S., y V. Ayala E. 2011. Evaluación de la pudrición de mazorca de híbridos de maíz en Valles Altos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2 (6): 845-854.
- Roncero, M. I. G., C. Hera, M. Ruíz-Rubio, Fe. I. García M., M. P. Madrid, Z. Caracuel, F. Calero, J. Delgado-Jarana, R. Roldán-Rodríguez, A. L. Martínez-Rocha, C. Velasco, J. Roa, M. Martínez-Urdiroz, D. Córdoba, y A. Di Pietro. 2003.

*Fusarium* as a model for studying virulence in soilborne plant pathogens. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 62: 87-98. doi: 10.1016/S0885-5765(03)00043-2

Saiz, M. J., O. Agúin, M. J. Bande, C. Pintos, y J. P. Mansilla. 2012. Biodiversidad de especies de *Fusarium* en tallos de maíz forrajero en Galicia. *Pastos* 42 (1): 51-66.

Solano-Báez, A. R., C. De León-García De Alba, G. Valdovinos-Ponce, H. V. Silva-Roja, y L. Soto-Rojas. 2011. La pigmentación de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) como factor de virulencia en plántulas de maíz. *Agronomía Mesoamericana* 22 (2): 297-307.

Watanabe, M., T. Yonezawa, Ken-ichi Lee, S. Kumagai, Y. Sugita-Konishi, K. Goto, and Y. Hara-Kudo. 2011. Molecular phylogeny of the higher and lower taxonomy of the *Fusarium* genus and differences in the evolutionary histories of multiple genes. *BMC Evolutionary Biology* 11:322. doi: [10.1186/1471-2148-11-322](https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-322).

White, D. G. 1999. *Compendium of corn disease*. 3th. Ed. American Phytopathological Society. USA. 128p.

Windels, C. E. 1992. *Fusarium*. In: *Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi*. Singleton, L. L., J. D. Mihail, and C. M. Rush (Eds.). American Phytopathological Society Press, St Paul, Minnesota. pp: 115-128.

## CAPÍTULO IV

### **ESTUDIO PRELIMINAR COMPARATIVO BAJO CONDICIONES NATURALES, DE LA FENOLOGÍA DEL MAÍZ NATIVO “AZUL” (*Zea mays* raza Chalco) CON EL ANCESTRO SILVESTRE TEOCINTLE (*Zea mays* subsp. *mexicana*) EN POBLACIONES AFECTADAS POR FUSARIUM.**

#### **RESÚMEN**

El maíz (*Zea mays* L.) es un cultivo de suma importancia en la alimentación de las sociedades humanas, y en especial para México, considerado como el centro de origen y diversidad del maíz. Este cultivo se originó de la domesticación del teocintle llevada a cabo por el hombre durante siglos, hasta la amplia diversidad del maíz cultivado actual. Las plantas cultivadas y sus ancestros silvestres están asociadas con diversos microorganismos benéficos y patógenos; sin embargo, no existen trabajos que muestren de forma comparativa la presencia de patógenos de las raíces que sean comunes a teocintle y maíz, y la relación con su crecimiento y desarrollo, a pesar de la relevancia que ello tiene en la sobrevivencia, reproducción y diversidad de ambas especies, y en la producción económica de la especie cultivada. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue conocer y comparar el crecimiento y desarrollo fenológico del maíz en relación a su ancestro silvestre teocintle, bajo condiciones de campo y naturales respectivamente, cuando ambas especies son afectadas por hongos patógenos de las raíces. Se colectaron 20 plantas de maíz en cada una de ocho etapas fenológicas, de una parcela comercial ubicada en el poblado de Juchitepec, y 60 plantas de teocintle en cinco fases fenológicas de una población silvestre en Cocotitlán, ambas localidades ubicadas en el Edo. de México. En ambas especies de plantas se evaluó: peso fresco total y de raíces, peso seco total y de raíces y número de hojas; en teocintle se cuantificó además número de hijuelos por planta y número de mazorquillas por hijuelo y por planta; en maíz se evaluó el número de mazorcas por planta. En las raíces de ambas especies se valoró el grado de daño causado por marchiteces, tomando fotografías del sistema radical de cada planta en cada muestreo. Bajo las condiciones naturales en que se llevó a cabo este estudio, sin alterar ninguna de las actividades propias de la parcela comercial del cultivo de maíz ni del área en donde se ubicó a la población silvestre de teocintle, las diferencias que se reportan y dentro de las limitaciones consideradas, son inherentes a cada una de las especies, sin que ello indique que una es mejor que la otra en alguna de sus características biológicas y/o ecológicas. Es así que los resultados muestran que las diferencias morfológicas en ambas especies de plantas son muy evidentes, sobre todo en las etapas reproductivas. La producción de biomasa total por planta fue mayor en maíz que en teocintle; sin embargo, la

biomasa radical por planta fue mayor en teocintle que en maíz. El sistema radical del maíz aún cuando durante todo su ciclo fenológico mostró raíces dañadas por pudriciones, tuvo una mayor cantidad de raíces aparentemente sanas, con tejido fresco de color amarillo cremoso, en comparación con el sistema radical del teocintle que durante todas las fases fenológicas presentó gran parte de las raíces de color gris, secas y leñosa, otras con pudriciones café oscuras y muy pocas con apariencia sana. En promedio, una planta de maíz nativo azul produce solamente una mazorca de gran tamaño, y 304 semillas por mazorca; mientras que una planta de teocintle *Zea mays* subsp. *mexicana* produce 28 mazorquitas en promedio, de tamaño pequeño y con sólo 8 semillas por mazorca. Debe indicarse que la estructura y densidad poblacional de las dos especie de plantas son muy diferentes y son inherentes a su propio estado de cultivo o de población silvestre, por lo que para conocer de manera precisa y de forma comparativa el efecto que pueden tener los hongos fitopatógenos de las raíces en el desarrollo y crecimiento del maíz nativo y del teocintle, se requiere de un estudio epidemiológico espacio-temporal a largo plazo, y con mayor profundidad en la biología y ecología poblacional de estas especies.

**Palabras claves:** crecimiento, desarrollo fenológico, maíz nativo, teocintle, *Zea mays* subsp. *mexicana*, ancestro silvestre, hongos patógenos de las raíces.

## INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays L.*) es un cultivo de suma importancia para los pueblos latinoamericanos y en especial para México, que es reconocido como el centro de origen y diversidad del maíz (Bedoya y Chávez, 2010). Este cultivo se originó por la domesticación del teocintle y por un proceso de evolución bajo domesticación por muchas generaciones se ha alcanzado la amplia diversidad del maíz cultivado (Miranda-Colín, 2003) que se tiene en la actualidad.

Se reconoce que México y Mesoamericana es el centro de origen del maíz debido a: a) los restos arqueológicos más antiguos han sido encontrados en este país; b) la mayor diversidad genética está representada en los maíces nativos de México, y c) el pariente más cercano y posible ancestro, el teocintle anual, solamente crece en forma silvestre en México y norte de Centroamérica (Martínez-Soriano y Leal-Klevezas, 2001). En forma empírica, el mejoramiento genético del maíz lo iniciaron las etnias mexicanas, quienes del teocintle (*Zea mays* subsp. *mexicana*) comenzaron a seleccionar plantas que ofrecían algunas características del grano para ser aprovechadas en la alimentación (Márquez-Sánchez, 2008). En México, el proceso de domesticación y mejoramiento del maíz continúa en el presente; los agricultores indígenas y mestizos del país cultivan, seleccionan, guardan y usan su propia semilla de maíz año con año (CONABIO, 2012). Los agricultores que cultivan poblaciones nativas de maíz en forma tradicional, contribuyen a la conservación y a la generación de la diversidad genética *in situ* del cultivo (Bommer, 1991, citado por Herrera-Cabrera *et al.*, 2004). De acuerdo con la clasificación más reciente basada en características morfológicas e isoenzimáticas, en México existen 59 razas con miles de variantes (Sánchez *et al.*, 2000); de las cuales las más utilizadas en el mejoramiento genético son: Celaya, Chalqueño, Cónico y Tuxpeño (Márquez-Sánchez, 1994).

El teocintle es una planta silvestre y es reconocido como el ancestro del maíz (Matsuoka *et al.*, 2002; Doebley, 2004). Se reconoce la importancia del estudio y la conservación de los ancestros silvestres de las plantas cultivadas de importancia agrícola, pues representan un trascendental recurso biológico, genético y ecológico para: a) obtención de genes de resistencia a diversos factores bióticos y abióticos (Sánchez y Ruiz, 1997 y Casas *et al.*, 2003), b) obtención y conservación de microorganismos de la rizósfera, filósfera y caulósfera importantes para su desarrollo y función (Sánchez *et al.*, 1998), y c) fomento del flujo e intercambio genéticos para conservar la diversidad de las especies (Miranda-Colín, 2003; de Lange *et al.*, 2014); sin embargo, muchos agricultores le conceden nula importancia, pues consideran que tiene poca utilidad agrícola y ganadera, y aún más, lo ven como una

maleza; por lo que algunas especies de teocintle se encuentran en peligro de extinción (Bedoya y Chávez, 2010). De acuerdo a de Lange *et al.* (2014), y a diversos autores, es urgente proteger a las especies y poblaciones de teocintle.

Por lo anteriormente expuesto, el objetivo de este trabajo fue conocer y comparar el crecimiento y desarrollo fenológico de maíz en relación a su ancestro silvestre “teocintle”, en poblaciones afectadas por fitopatógenos de las raíces.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación y descripción de los sitios de muestreo

Este estudio se llevó a cabo de abril a diciembre de 2013 en una parcela comercial de maíz nativo ‘azul’ (*Zea mays* subsp. *mays* raza Chalqueño) ubicada en Juchitepec, Municipio de Juchitepec, estado de México, con longitud 98°58’46’’ W y latitud 19°10’28’’N, a 2540 msnm, clima templado subhúmedo con una precipitación media anual de 750 mm y temperatura anual de 20° a 23°C. En el caso del teocintle, se trabajó en una población silvestre localizada en Cocotitlán, Municipio de Cocotitlán, estado de México, con longitud 98°49’46’’ W y latitud 19°14’33’’ N, a 2300 msnm, clima templado subhúmedo, precipitación media anual de 650 mm y temperatura media anual de 13.6 °C.

La parcela de maíz, con un área de 0.24 ha, abarcó una población aproximada de 5 616 plantas, distribuidas en 54 surcos con 104 plantas cada uno; la distancia entre plantas fue aproximadamente de 0.40 m y entre surcos de 1.0 m. Para el muestreo de las plantas se siguió un muestreo sistemático, trazando una ‘W’ en toda la parcela (cuatro cuadrantes), y en cada brazo (cuadrante) de la W se seleccionaron cinco plantas equidistantes; con 20 plantas por fecha de muestreo. Se efectuaron ocho muestreos durante todo el ciclo fenológico del cultivo, que incluyó un total de 160 plantas. El diseño de muestreo seguido en este trabajo es recomendado para el análisis de los organismos fitopatógenos de las raíces que comúnmente presentan una disposición espacial en agregados (Campbell y Benson, 1994).

La población silvestre de teocintle con la cual se trabajó, ocupaba un área aproximada de 0.806 ha, conformada por individuos en diferentes etapas fenológicas, desde plántula hasta plantas adultas en reproducción; presenta una elevada densidad de población por metro cuadrado, y semeja un pastizal silvestre (Figura 18). Para el muestreo de esta población, se trazó un transecto de 30 m de largo por 2.0 m de ancho, y a lo largo de él se tomaron 20 plantas de teocintle en cada uno de los tres muestreos realizados durante el periodo de estudio; se eligieron, plantas en aparente diferente estado fenológico. Se estimó la densidad total de esta población, colocando aleatoriamente tres cuadrantes de un metro cuadrado cada uno y se contó el total de individuos por cuadrante; posteriormente se calculó la densidad promedio por metro cuadrado y este valor se extrapolaron al área total ocupada por la población.



**Figura 18.** Población silvestre de teocintle. Cocotitlán, Edo. de México, 2013.

### **Evaluación de variables de crecimiento y desarrollo en plantas de maíz criollo “azul” y teocintle**

Las plantas de maíz y teocintle de las muestras se extrajeron con toda la raíz, y se colocaron en bolsas de plástico etiquetadas, dentro de hieleras para su transporte. Las plantas con sus raíces se procesaron en el Laboratorio de Ecología de Patógenos de la Raíz del Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, México.

#### **Peso seco de la parte aérea y del sistema radical**

El sistema radical de cada planta se separó de la parte aérea y se lavó perfectamente con agua corriente para quitar el exceso de suelo. La parte aérea de cada planta y el sistema radical ya separados, se colocaron en bolsas de papel estraza y se pusieron dentro de un horno de secado (Ríos.Rocha®) a una temperatura de 73°C durante 72 horas; posteriormente se obtuvo el peso seco en una balanza en gramos. Este procedimiento se siguió en cada uno de los muestreos.

#### **Número de hojas, hijuelos y mazorcas**

Además de evaluar el peso fresco y peso seco de las raíces y de la parte aérea de las plantas, se cuantificó el número de hojas en maíz y teocintle. Al final del ciclo de cultivo del maíz, se seleccionaron 16 surcos (cuatro por cuadrante) y 30 plantas por surco; se cuantificó el número de mazorcas por planta, y se extrapoló al total de la población en la parcela. En teocintle se cuantificó el número de hijuelos por planta, y el número de mazorquitas por hijuelo y por planta.

### **Análisis de datos**

Los datos de las variables antes mencionadas fueron promediados y graficados en relación al tiempo (etapas fenológicas), con el programa de Excel Office. Sólo se llevó a cabo un análisis gráfico comparativo de las fluctuaciones de cada variable durante el ciclo fenológico de cada especie de planta.

### **Definición de etapas fenológicas**

Las etapas fenológicas del maíz observadas durante el crecimiento y desarrollo del cultivo fueron definidas de acuerdo a lo indicado por Tollenaar y Kumudini (1998) y Ritchie y Hanway (1984; citado por Lafitte, 1991). En teocintle, desde el primer muestreo, las plantas de teocintle se clasificaron con base en su morfología, número de hojas, hijuelos y mazorquitas, y se definieron cinco diferentes etapas fenológicas; en los muestreos posteriores se colectaron plantas en tales fases.

### **Definición de la especie de teocintle**

Se colectaron plantas de teocintle de la población silvestre muestreada, y para la definición de la especie se consultó a la Dra. Heike Vibrans especialista en Etnobotánica, del Instituto de Recursos Naturales del Colegio de Postgraduados.

### **Viabilidad de las semillas de teocintle**

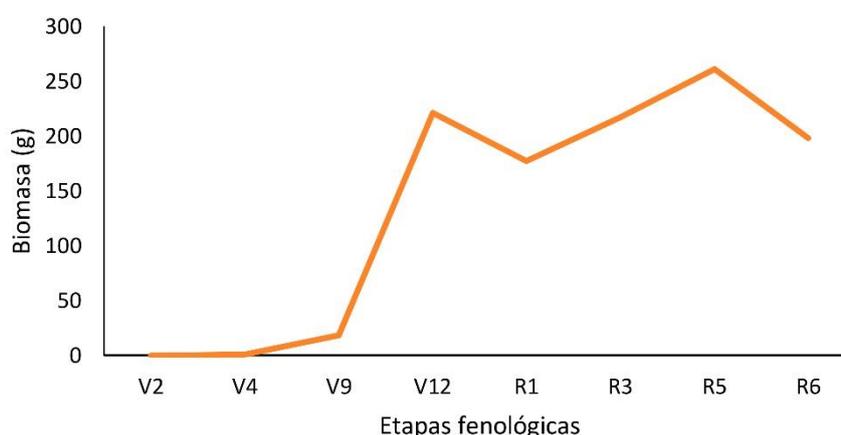
De las semillas colectadas a partir de mazorquitas de teocintle de la población silvestre con la que se trabajó, se seleccionaron 10 semillas, las cuales se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% por 1 minuto y se escurrieron en sanitas estériles por 10 minutos. En la base de una caja de Petri se colocó papel sanita estéril y se humedeció con agua destilada estéril; posteriormente con una pinza previamente desinfectada, se colocaron cada una de las semillas sobre la sanita húmeda, y se distribuyeron de manera equidistante sobre la superficie. La caja de Petri se selló y se colocó en una incubadora a 28°C hasta la germinación de las mismas.

## RESULTADOS

### Crecimiento y desarrollo en plantas de maíz criollo “azul”

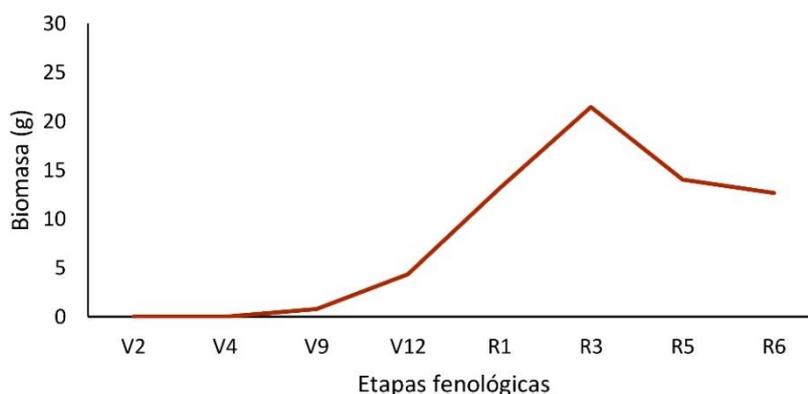
#### Peso seco de plantas y raíces

El peso seco total de plantas (Figura 19) aumentó conforme transcurrieron las etapas fenológicas del cultivo, mostrándose así aumentos de biomasa más intensos en las etapas V12 y R5 con 221.23g y 261.15g, respectivamente, que corresponden al inicio de la floración y a la maduración del fruto; posteriormente se ve una disminución de biomasa probablemente debido a la senescencia del cultivo.



**Figura 19.** Fluctuaciones del peso seco total de plantas durante 8 etapas fenológicas del maíz nativo azul, evaluado en el periodo de mayo a diciembre del 2013, en la población de Juchitepec, Edo. de México. Etapas vegetativas (V2, V4, V9 y V12), etapas reproductivas (R1, R3, R5 y R6).

El peso seco de raíces (Figura 20) tuvo un aumento en la etapa fenológica R3, con 21.44g, debido probablemente a la necesidad de la planta de una mayor absorción de nutrientes y agua que permitieran el llenado del fruto y anclaje de la planta.

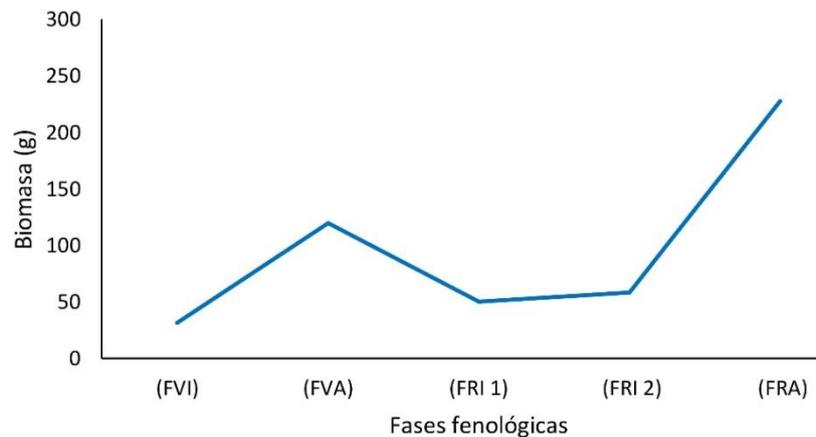


**Figura 20.** Fluctuaciones del peso seco de raíces durante 8 etapas fenológicas del maíz nativo azul, evaluado en el periodo de mayo a diciembre del 2013, en la población de Juchitepec, Edo. México. Etapas vegetativas (V2, V4, V9 y V12), etapas reproductivas (R1, R3, R5 y R6).

## Crecimiento y desarrollo en plantas de teocintle

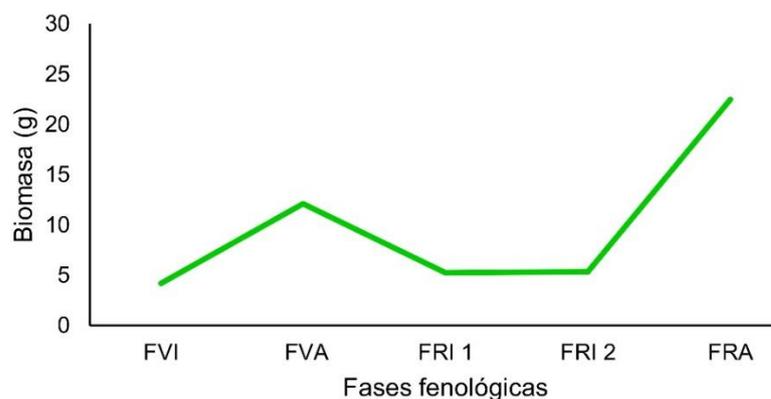
### Peso seco de plantas y raíces

El peso seco total de las plantas de teocintle (Figura 21), aumentó considerablemente durante las fases vegetativas y reproductivas de la especie. En la fase FVA se observó un aumento considerable de biomasa con 119.83g, alcanzando el máximo de 227.65g en la fase FRA; esto se debió a que la planta por su fisiología formó tallos laterales (hijuelos) y a la vez mazorcas, permitiendo así el aumento de su biomasa.



**Figura 21.** Fluctuaciones del peso seco total de plantas en cinco fases fenológicas del teocintle, evaluado en el periodo de agosto a diciembre del 2013, en la localidad de Cocotitlán, Edo. de México. Fase vegetativa inicial (FVI), fase vegetativa avanzada (FVA), fase reproductiva inicial 1 (FRI1), fase reproductiva inicial 2 (FRI2) y fase reproductiva avanzada (FRA).

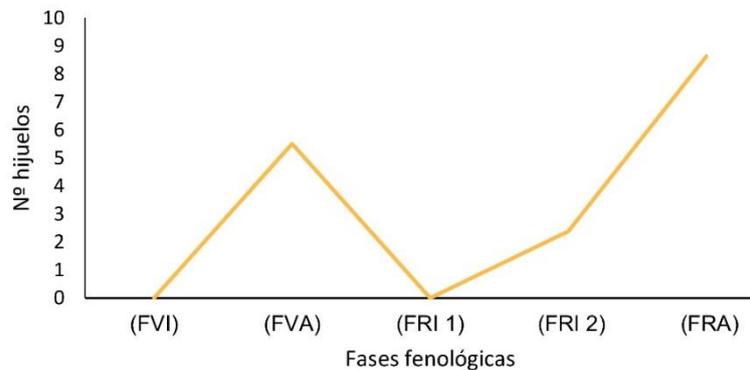
El peso seco de raíces (Figura 22) mostró un comportamiento similar al peso seco total (Figura 21). En la gráfica se observa que la biomasa de raíces aumentó acorde al crecimiento y desarrollo de la planta, teniendo el máximo valor de acumulación de biomasa en la FRA con 22.45g.



**Figura 22.** Fluctuaciones del peso seco de raíces en 5 fases fenológicas del teocintle, evaluado en el periodo de Agosto a Diciembre del 2013, en la localidad de Cocotitlán, Edo. de México. Fase vegetativa inicial (FVI), fase vegetativa avanzada (FVA), fase reproductiva inicial 1 (FRI1), fase reproductiva inicial 2 (FRI2) y fase reproductiva avanzada (FRA).

### Número de hijuelos por planta

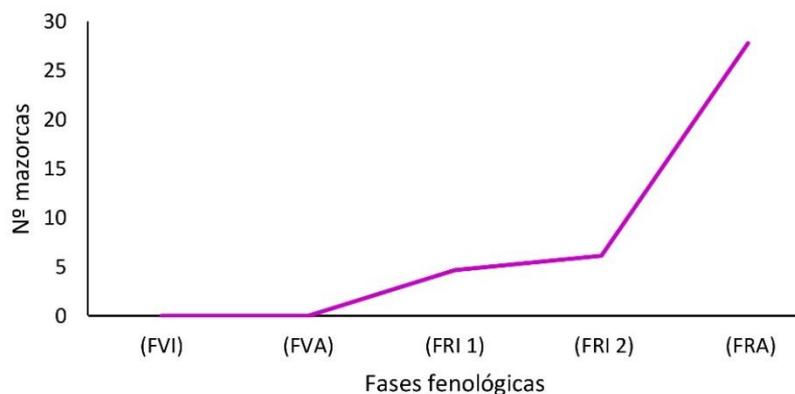
Las fluctuaciones del número de hijuelos (Figura 23) mostró un comportamiento distinto a las demás variables; en la FVA se observó un incremento notorio en el número de hijuelos y esto se debe a que la planta pasa de la fase vegetativa a la fase reproductiva, por lo tanto tiende a formar hijuelos, pero es en la FRA cuando la planta desarrollo el mayor número de hijuelos alcanzando en promedio de 9 hijuelos por planta. Pero también se observa que de la FVI a FVA existe un aumento evidente y disminuye drásticamente en la FRI<sub>1</sub>.



**Figura 23.** Fluctuaciones del número de hijuelos, en 5 fases fenológicas del teocintle, evaluado en el periodo de agosto a diciembre del 2013, en la localidad de Cocotitlán, Edo. de México. Fase vegetativa inicial (FVI), fase vegetativa avanzada (FVA), fase reproductiva inicial 1 (FRI<sub>1</sub>), fase reproductiva inicial 2 (FRI<sub>2</sub>) y fase reproductiva avanzada (FRA).

### Número de mazorcas por planta

El número de mazorcas se encuentra estrechamente relacionada a las variables anteriormente descritas. Durante las fases vegetativas de la planta, no hay aún presencia de mazorcas, pero una vez que se inicia la fase reproductiva, se ve un incremento en el número de mazorcas, presentándose en promedio 28 mazorcas por planta en la FRA (Figura 24).



**Figura 24.** Fluctuaciones del número de mazorcas, en 5 fases fenológicas del teocintle, evaluado en el periodo de agosto a diciembre del 2013, en la localidad de Cocotitlán, Edo. de México. Fase vegetativa inicial (FVI), fase vegetativa avanzada (FVA), fase reproductiva inicial 1 (FRI<sub>1</sub>), fase reproductiva inicial 2 (FRI<sub>2</sub>) y fase reproductiva avanzada (FRA).

## Definición de las etapas fenológicas.

En el teocintle se definieron cinco fases fenológicas: fase vegetativa inicial (FVI), fase vegetativa avanzada (FVA), fase reproductiva inicial 1 (FRI1), fase reproductiva inicial 2 (FRI2) y fase reproductiva avanzada (FRA), de acuerdo a la presencia y número de estructuras vegetativas y reproductivas (Cuadro 14). En este trabajo se están describiendo por primera vez las fases fenológicas del teocintle *Zea mays* subsp. *mexicana*

**Cuadro 14.** Definición de las fases fenológicas del teocintle (*Zea mays* subsp. *mexicana*) en una población silvestre ubicada en Cocotitlán, Edo. de México, 2013.

	Fases fenológicas				
	FVI	FVA	FRI1	FRI2	FRA
<b>Características</b>	No hijuelos y no mazorcas	Hijuelos pero no mazorcas	No hijuelos pero <10 mazorcas	Hijuelos con <10 mazorcas	Hijuelos con >10 mazorcas

En maíz, las fases fenológicas de las plantas muestreadas se definieron con base en lo propuesto por Ritchie y Hanway (1984; citado por Lafitte, 1993) y en esta investigación concordaron con las etapas vegetativas V2, V4, V9 y V12, y reproductivas R1, R3, R5 y R6 en los correspondientes ocho muestreos y en teocintle se definieron cinco fases fenológicas descritas anteriormente. En el cuadro 15 se hace la comparación de las etapas fenológicas descritas para cada especie de planta.

**Cuadro 15.** Comparación de las etapas fenológicas definidas para maíz nativo azul y para el teocintle (*Zea mays* subsp. *mexicana*)

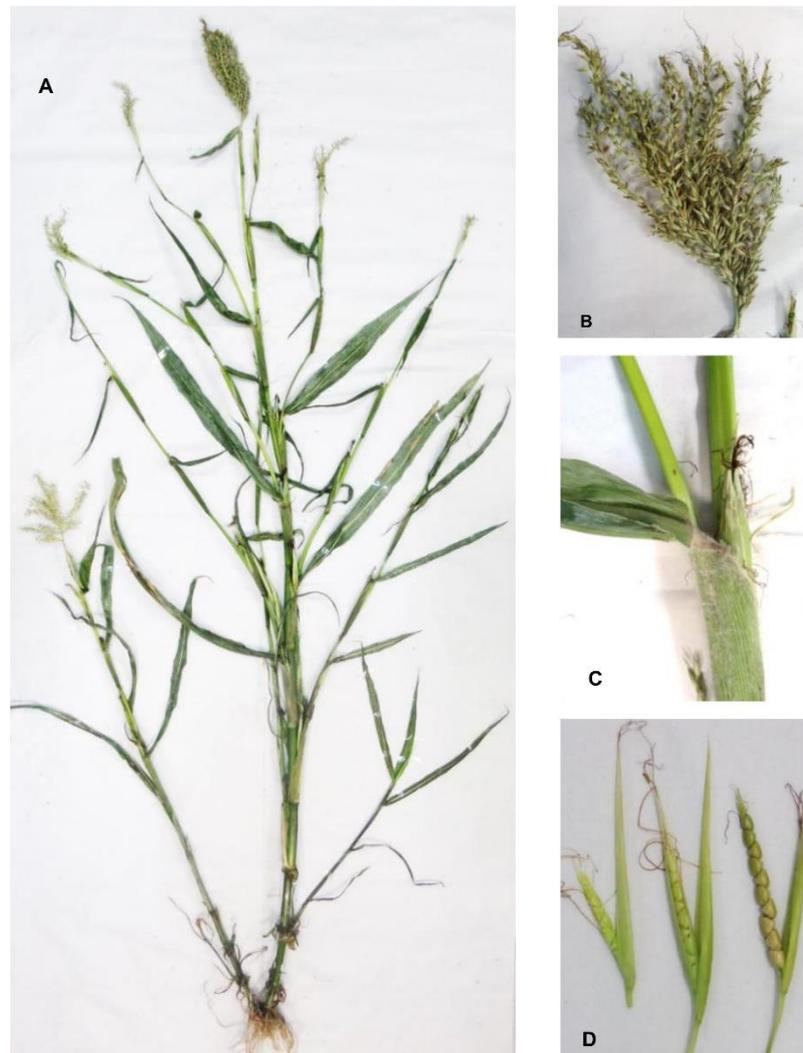
<b>Etapas fenológicas del maíz nativo azul</b> ††	<b>Vegetativa 2</b>	<b>Fases fenológicas del teocintle</b> §§	<b>Vegetativa inicial</b>
	Vegetativa 4		Vegetativa avanzada
	Vegetativa 9		Reproductiva inicial 1
	Vegetativa 12		Reproductiva inicial 2
	Reproductiva 1		
	Reproductiva 3		
	Reproductiva 6		Reproductiva avanzada

†† De acuerdo a: Tollenaar y Kumudini (1998) y Ritchie y Hanway (1984; citado por Lafitte, 1991), §§ descritas en este trabajo de investigación.

## Definición de la especie de teocintle

La identificación taxonómica de la especie, fue definida con el apoyo de la Dra. Heike Vibrans del Departamento de Botánica del Colegio de Postgraduados. Con base en la morfología y la distribución geográfica de la población silvestre de teocintle, se determinó que el teocintle muestreado pertenece a *Zea mays* subsp. *mexicana*. Algunas características morfológicas distintivas de la especie, importantes en la identificación taxonómica de la

misma, se muestran en la Figura 25 y en la Figura 26 se observan diferentes coloraciones de las semillas, de acuerdo al grado de madurez.



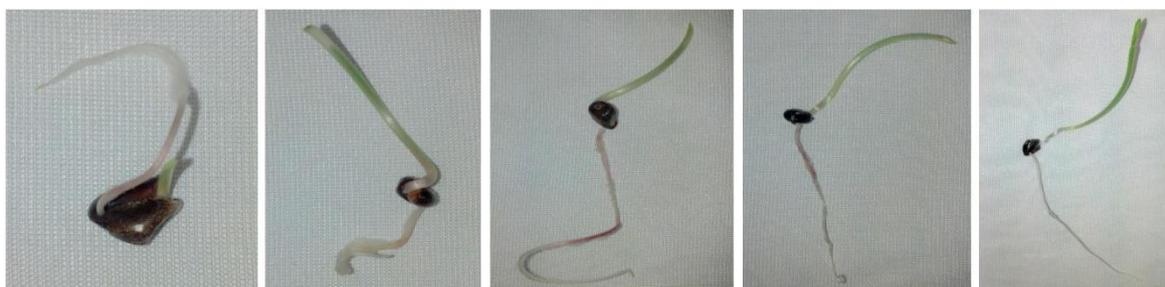
**Figura 25.** Características morfológicas consideradas en la identificación de *Zea mays* subsp. *mexicana*. **A:** planta completa de teocinte, **B:** inflorescencia masculina, **C:** Inflorescencia femenina y **D:** mazorcas inmaduras.



**Figura 26.** Coloraciones en semillas, con diferentes grados de madurez, colectadas en la población silvestre ubicada en Cocotitlán, Edo. México; 2013. **A:** semillas inmaduras, **B, C y D:** madurez intermedia, **E:** semillas maduras.

### Germinación de la semilla

En la prueba de viabilidad de las semillas, se obtuvo un porcentaje de viabilidad del 50%. Al tercer día, se observó la emergencia de la radícula a través de la envoltura de la semilla, observándose también la formación de los pelos radicales que permitirían a la plántula sujetarse al sustrato y absorber agua y nutrientes. Posteriormente se observó la elongación del mesocotilo, empujando al coleoptilo y la formación de las hojas. En la radícula de las nuevas plántulas de teocintle (Figura 27), se apreció una ligera coloración rosa, posiblemente causada por *Fusarium* spp.



**Figura 27.** Germinación de semillas de teocintle, colectadas en la población silvestre ubicada en Cocotitlán, Edo. México, 2013.

### Síntomas de enfermedades foliares causadas por organismos fitopatógenos en plantas de teocintle.

Durante los muestreos se observaron diversos síntomas y daños foliares causados por fitopatógenos en plantas de la población silvestre de teocintle. Cabe mencionar que no se realizó la identificación de los agentes causales; sólo se consideró importante documentar que también las plantas de teocintle son atacadas por diversos patógenos en la parte aérea, así como también en las raíces (Figura 28).



**Figura 28.** Síntomas y daños comúnmente observados en las plantas de teocintle, causados por diversos organismos fitopatógenos foliares.

## DISCUSIÓN

Doebley (1984) señala que el género *Zea* consiste de pastos anuales y perennes, incluyendo al cultivo del maíz y sus parientes silvestres (los teocintles) que son nativos de Guatemala, Honduras y México. Guzmán (1982) menciona que el maíz es la planta monocotiledónea más evolucionada de las gramíneas y sus parientes silvestres anuales y perennes son: *Zea mays* subsp. *mexicana*, *Zea mays* subsp. *parviglumis*, *Zea luxurians*, *Zea diploperennis* y *Zea perennis*.

Por su parte, Doebley (1995) indica que las diferencias principales entre maíz y teocintle son: a) ramas laterales alargadas terminadas en inflorescencia masculina en teocintle, contra ramas laterales muy cortas terminadas en inflorescencias femeninas en maíz, b) las glumas de la inflorescencia femenina están altamente endurecidas y rodean el grano en el teocintle, c) presencia de una inflorescencia (espiguilla) en maíz, contra espiguillas apareadas en cada copilla, d) las espiguillas pistiladas dísticas contra polísticas.

En la descripción de la fenología del maíz y de acuerdo a las descripciones de Ritchie y Hanway (1984, citado por Lafitte, 1991) y Tollenaar y Kumudini (1998), en este trabajo se identificaron 8 etapas fenológicas: V2, V4, V9, V12, RI, R3, R5 y R6. En el caso del teocintle, durante los muestreos realizados, se definieron cinco fases fenológicas de acuerdo al crecimiento y desarrollo de las plantas: 1) Fase Vegetativa Inicial (FVI): Plantas sin hijuelos y sin mazorcas, 2) Fase Vegetativa Avanzada (FVA): Plantas con hijuelos pero no mazorcas, 3) Fase Reproductiva Inicial 1 (FRI1): Plantas con cero hijuelos pero menos de 10 mazorcas, 4) Fase Reproductiva Inicial 2 (FRI2): Plantas con hijuelos y menos de 10 mazorcas y la 5) Fase Reproductiva Avanzada (FVA): Plantas con hijuelos y más de 10 mazorcas.

Es importante señalar que en teocintle se encontraron plantas que tenían hijuelos pero no mazorcas, o viceversa, lo que podría indicar que en esta población que ha persistido por años en ese lugar y ha convivido con el maíz por muchos años, exista intercambio genético con el maíz, que ha dado lugar a individuos híbridos. Ellstrans *et al.* (2007) mencionan que los híbridos entre el maíz y el teocintle, a menudo se producen cuando las dos poblaciones de plantas son simpátricas (se encuentran dentro de la misma área geográfica) en México. En 2007, Ellstrans *et al.* realizaron un trabajo para medir la tasa de hibridación entre especies de teocintle con el maíz, teniendo como resultados que el maíz y *Zea mays* subsp. *mexicana* se hibridan de forma natural a una tasa baja (<1%), mientras *Zea mays* subsp. *parviglumis* se hibrida con el cultivo a una tasa elevada (>>50%). Por otra parte, Lingzhi *et al.* (2008) crearon un nuevo germoplasma de maíz usando la introgresión de *Zea mays* subsp. *mexicana*, donde los resultados obtenidos indicaron que algunas de las líneas con introgresión presentaban

excelentes características agronómicas y capacidad de combinación para cultivar maíz, demostrado que *Zea mays* subsp. *mexicana* puede ser una fuente valiosa para el mejoramiento del maíz, y podría utilizarse para ampliar y enriquecer los germoplasmas de maíz. Sin embargo, debido a la poca información sobre su utilidad agrícola y ganadera existen algunas especies que están en peligro de extinción (Bedoya y Chávez, 2010), por lo tanto hay necesidad de proteger su germoplasma para las futuras generaciones (de Lange *et al.*, 2014). Debe explicarse que bajo las condiciones naturales en que se llevó a cabo este estudio, sin alterar ninguna de las actividades propias de la parcela comercial del cultivo de maíz ni del área en donde se ubicó a la población silvestre de teocintle, las diferencias que se reportan y dentro de las limitaciones consideradas, estas diferencias son inherentes a cada una de las especies, sin que ello indique que una es mejor que la otra en alguna de sus características biológicas y/o estrategias ecológicas. Es así que los resultados muestran que las diferencias morfológicas en ambas especies de plantas son muy evidentes, sobre todo en las etapas reproductivas. La producción de biomasa total por planta fue mayor en maíz que en teocintle; sin embargo, la biomasa radical por planta fue mayor en teocintle que en maíz. El sistema radical del maíz aún cuando durante todo su ciclo fenológico mostró raíces dañadas por pudriciones, tuvo una mayor cantidad de raíces aparentemente sanas, con tejido fresco de color amarillo cremoso, en comparación con el sistema radical del teocintle que durante todas las fases fenológicas presentó gran parte de las raíces de color gris, secas y leñosa, otras con pudriciones café oscuras y muy pocas con apariencia sana. En promedio, una planta de maíz nativo azul produce solamente una mazorca de gran tamaño, y 304 semillas por mazorca; mientras que una planta de teocintle *Zea mays* subsp. *mexicana* produce 28 mazorquitas en promedio, de tamaño pequeño y con sólo 8 semillas por mazorca.

Debe indicarse que la estructura y densidad poblacional de las dos especies de plantas aquí estudiadas son muy diferentes y son inherentes a su propio estado de cultivo o de población silvestre, por lo que para conocer de manera precisa y de forma comparativa el efecto que pueden tener los hongos fitopatógenos de las raíces en el desarrollo y crecimiento del maíz nativo y del teocintle, se requiere de un estudio epidemiológico espacio-temporal a largo plazo, y con mayor profundidad en la biología y ecología poblacional de estas especies.

## CONCLUSIONES

Es de relevancia el estudio y conservación de las especies silvestres de las plantas cultivadas, ya que son un importante reservorio genético para el mejoramiento de las mismas; pero también representan una fuente importante de microorganismos benéficos que tienen aplicación potencial en el mejor desarrollo de las especies vegetales y de los agroecosistemas.

Se requiere de un estudio epidemiológico espacio-temporal a largo plazo, y con mayor profundidad en la biología y ecología poblacional del maíz nativo y del teocintle, para conocer de manera precisa y de forma comparativa el efecto que pueden tener los hongos fitopatógenos de las raíces en el desarrollo y crecimiento de ambas especies.

Es probable que haya hibridación entre el maíz nativo azul y la especie de teocintle *Zea mays* subsp. *mexicana*, en la población ubicada en Cocotitlán, Edo. de México, y se debe considerar como un proceso favorable para la diversidad de especies de maíz.

## LITERATURA CITADA

- Bedoya, C. A. y V. H. Chávez T. 2010. Teocintle: el ancestro del maíz. *Claridades Agropecuarias* 201: 32-42.
- Campbell, C. L. and D. M. Benson. 1994. *Epidemiology and management of root diseases*. Springer-Verlag. Berlín. pp: 148-194.
- Casas S., J. F., J. L. Ramírez D., J. de J. Sánchez G., J. Ron P., S. Montes H., y M. Chuela B. 2003. Características agronómicas en retrocruzamientos maíz – teocintle. *Rev. Fitotec. Mex.* 26 (4): 239-248.
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). 2012. El maíz, sus razas y parientes silvestres. Comunicado de Prensa CONABIO. N° 109. 28 de Septiembre de 2012.
- de Lange, E. S., D. Balmer, B. Mauch-Mani, and T. C. Turlings. 2014. Insect and pathogen attack and resistance in maize and its wild ancestors, the teosintes. *New Phytologist*. 204: 329-341.
- Doebley, J. 1984. Maize introgression into teosinte – A reappraisal. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 71 (4): 1100-1113.
- Doebley, J. 1995. Genetics, development and the morphological evolution of maize. *In: Experimental and molecular approaches to plant biosystematics*. Hoch, P. C., and A. G. Stephenson (Eds.). Monographs in systematics botany from the Missouri Botanical Garden. pp: 57-70.
- Doebley, J. 2004. The genetics of maize evolution. *Annu. Rev. Genet.* 38:37-59.
- Ellstrans, N. C., L. C. Garner, S. Hegde, R. Guadagnuolo, and L. Blancas. 2007. Spontaneous hybridization between maize and teosinte. *Journal of Heredity*. 98(2).
- Guzmán M., R. 1982. El teocintle en Jalisco: su distribución y ecología. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara.
- Herrera-Cabrera, B. E., F. Castillo-González, J. J. Sánchez-González, J. M. Hernández-Casillas, R. A. Ortega-Pazkca, y M. Major-Goodman. 2004. Diversidad del maíz chalqueño. *Agrociencia* 38(2): 191-206.
- Lafitte, H. R. 1991. Identificación de problemas en la producción de maíz tropical. Guía de campo. CIMMYT.
- Lingzhi, W., A. Yang, C. He, M. Qu, and J. Zhang. 2008. Creation of new maize germoplams using alien introgression from *Zea mays* ssp. mexicana. *Euphytica* 164: 789-801.
- Márquez-Sánchez, F. 1994. El Centro Nacional de Rescate y Mejoramiento de Maíces Criollos. *In: Simposium Internacional de Etnobotánica en Mesoamérica* “Efraín

- Hernández X.” Cuevas, J. A. S., Estrada, E. L., y Cedillo, E. P. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Edo. de México, México. pp: 131-136.
- Márquez-Sánchez, F. 2008. De las variedades criollas de maíz (*Zea mays* L.) a los híbridos transgénicos. I: Recolección de germoplasma y variedades mejoradas. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo* 5(2): 151-166.
- Martínez-Soriano, J. P., y D. S. Leal-Klevezas. 2001. Maíz y teocintle, hermanos incómodos. Certezas sobre el flujo genético entre estas dos plantas. *La Jornada*. Consultado el 28-Junio-2014. Disponible en línea: <http://www.jornada.unam.mx/2001/01/29/cien-maiz.html>
- Matsuoka, Y., Y. Vigouroux, M. M. Goodman, J. Sánchez G., E. Buckler, and J. Doebley. 2002 A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *PNAS* 99 (9): 6080-6084.
- Miranda-Colín, S. 2003. El origen genético y geográfico del maíz (*Zea mays* L.). *In: Centli-Maíz*, O. A. Muñoz, editor, 2nd. Edición. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. pp: 147-159.
- Sánchez G., J. J., and J. A. Ruiz C. 1997. Teosinte distribution in Mexico. *In: J.A. Serratos et al.*, editors, *Gene flow among maize landraces, improved maize varieties, and teosinte: Implications for transgenic maize*. Mexico, D.F. CIMMYT. p. 18-39.
- Sánchez G., J. J., M .M. Goodman and C. W. Stuber. 2000. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Economic Botany* 54(1): 43-59.
- Sánchez Y., J. M., M. L Sánchez, R. Álvarez y J. Balandreau. 1998. La microflora fijadora de nitrógeno asociada a las raíces de teocintle y maíz en México. Reporte técnico del proyecto IIQB-UMSNH-Morelia-México-CONACYT y Universidad Claude Bernard, Ecología Microbiana, Lyon, CNRS-Francia.
- Tollenaar, T. and S. Kumudini. 1998. Corn phenology. University of Guelph. <http://www.plant.uoguelph.ca/research/homepages/tollena/research/corn.html>