

**Este artículo puede ser usado únicamente para uso personal o académico.  
Cualquier otro uso requiere permiso del autor y/o editor.**

**El siguiente artículo fue publicado en *Revista mexicana de fitopatología*,  
28(2), 124-134 (2010).**

## Caracterización de Especies de *Fusarium* Asociadas a la Pudrición de Raíz de Maíz en Guanajuato, México

### *Characterization of Fusarium Species Associated with Rotting of Corn Root in Guanajuato, Mexico*

**María Guadalupe Figueroa-Rivera, Raúl Rodríguez-Guerra, Brenda Zulema Guerrero-Aguilar, Mario Martín González-Chavira, Jose Luis Pons-Hernández,** INIFAP, Campo Experimental Bajío, Km. 6.5 carretera Celaya-San Miguel de Allende, Guanajuato, México. CP 38110; **Juan Francisco Jiménez-Bremont,** Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, Camino a la Presa de San José No. 2055 Lomas 4a Sección, San Luis Potosí, México. CP 78216; **Juan Gabriel Ramírez-Pimentel, Enrique Andrio-Enríquez y Mariano Mendoza-Elos,** Instituto Tecnológico de Roque, km 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, Celaya Guanajuato, México. CP 38110. Correspondencia: anthonomu@yahoo.com.mx

(Recibido: Julio 14, 2010 Aceptado: Septiembre 03, 2010)

Figueroa-Rivera, M.G., Rodríguez-Guerra, R., Guerrero-Aguilar, B.Z., González-Chavira, M.M., Pons-Hernández, J.L., Jiménez-Bremont, J.F., Ramírez-Pimentel, J.G., Andrio-Enríquez, E. y Mendoza-Elos, M. 2010. Caracterización de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de raíz de maíz en Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28:124-134.

**Resumen.** En el maíz *Fusarium* spp., ocasiona marchitez desde plántulas hasta planta adulta, causando generalmente pudriciones en los órganos vegetativos, como hojas, tallo y raíz. En el presente estudio se caracterizó la diversidad de especies del género *Fusarium* asociadas a la pudrición del tallo de maíz, en parcelas del estado de Guanajuato, y se realizaron pruebas de patogenicidad con las especies identificadas. Durante el 2006 se colectaron, en 15 municipios, plantas con daño evidente causado por éste patógeno. En 2009, se identificaron las especies presentes mediante pruebas microbiológicas y se evaluó su patogenicidad al inocularlas en trece accesiones raciales de maíz. Los resultados indican la presencia de *F. subglutinans*, *F. verticillioides*, *F. heterosporum*, *F. esquiseti*, *F. proliferatum* y *F. reticulatum*, en donde *F. subglutinans* fue la especie más abundante. En cuanto a patogenicidad, *F. verticillioides* y *F. subglutinans* fueron las especies más patogénicas en las razas de maíz. La raza de maíz más tolerante fue la raza Tuxpeño y la más susceptible fue Zapalote Chico.

Palabras clave Adicionales: Patogenicidad, *Fusarium esquiseti*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium reticulatum*, Razas de maíz.

Figueroa-Rivera, M.G., Rodríguez-Guerra, R., Guerrero-Aguilar, B.Z., González-Chavira, M.M., Pons-Hernández, J.L., Jiménez-Bremont, J.F., Ramírez-Pimentel, J.G., Andrio-Enríquez, E. and Mendoza-Elos, M. 2010. Characterization of *Fusarium* species associated with rotting of corn root in Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28:124-134.

**Abstract.** The negative effects revealed in corn, such as seedlings decay to damage on the mature plant, are caused by *Fusarium* spp., usually causing decay on the plant organs, for instance leaves, stem and root. The present study characterized the diversity of *Fusarium* species associated with rotting of corn stalk in plots from the state of Guanajuato; pathogenicity tests were performed with the identified species. Plants with an evident damage caused by this pathogen were collected from 15 municipalities during 2006. The species identified in 2009, by means of microbiological tests and their pathogenicity, became evaluated as they were inoculated into thirteen race of maize accessions. The presence of *F. subglutinans*, *F. verticillioides*, *F. heterosporum*, *F. esquiseti*, *F. proliferatum* and *F. reticulatum* is revealed, being *F. subglutinans* the most abundant species. Concerning pathogenicity, *F. verticillioides* and *F. subglutinans* were the most pathogenic races of maize. The most tolerant race of maize was the Tuxpeño breed, and the most susceptible was the Zapalote Chico.

Additional key words: Pathogenicity, *Fusarium esquiseti*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium reticulatum*, Races of maize.

## INTRODUCCIÓN

El cereal más ampliamente distribuido a nivel mundial es el maíz, el cual ocupa la tercera posición en producción, seguido por el trigo y el arroz (SIACON, 2007). Los principales países productores de maíz en Europa son Rumania, con una producción de 8.9 millones de toneladas, Italia, con 8.8 millones de toneladas y Hungría, con 5.8 millones de toneladas de grano. En América Latina, Argentina es uno de los principales productores de maíz, con el 8.7 % de la producción latinoamericana (Galarza *et al.*, 2004; Vega y Ramírez, 2004). México cultiva un promedio de 7 millones de ha, con una producción de 17.5 millones de toneladas (Galarza *et al.*, 2004; Velásquez, 2007). Los estados con mayor producción de maíz en México son: Jalisco, el estado de México y Chiapas. Guanajuato se encuentra ubicado en el octavo lugar de producción, en los 46 municipios que integran el estado se produce maíz, entre los principales están: Valle de Santiago, Pénjamo, Abasolo, Acámbaro, Manuel Doblado, Irapuato, Jaral del Progreso, Jérecuaro, León, Purísima, Salvatierra, San Francisco del Rincón y Villagrán (SIAP/SAGARPA, 2006). Durante el periodo de 1999-2004 en el estado de Guanajuato, las pérdidas en promedio fueron del 23 % del total de la superficie sembrada y el rendimiento medio fue de 3.4 t ha<sup>-1</sup> (6.96 t ha<sup>-1</sup> bajo riego y 1.75 t ha<sup>-1</sup> en temporal). Lo anterior refleja el desplazamiento de las variedades criollas de maíz, por el uso híbridos, que representa el 57 % de la superficie total sembrada de maíz en el estado (SIAP/SAGARPA, 2006). En México, la superficie dedicada al cultivo del maíz se ha reducido en los últimos años, con pérdidas de alrededor del 30 %, debido principalmente a la falta de abastecimiento hídrico necesario para el desarrollo del cultivo (SIAP/SAGARPA, 2006). Otros factores limitantes del rendimiento, son las enfermedades causadas por diversos factores bióticos y abióticos. Dentro de las enfermedades causadas por patógenos destacan las producidas por el género *Fusarium*, el cual se encuentra naturalmente en el suelo y en ocasiones puede estar asociado a las pudriciones de raíz y tallos de muchas plantas (Hernández *et al.*, 2007). Un gran número de especies han sido descritas dentro del género *Fusarium* por diversos autores, sin embargo 70 especies son consideradas por Leslie y Summerell (2006). Montiel-González *et al.*, (2005) consideran al género *Fusarium* como el más complejo de los que atacan las raíces de las plantas cultivadas, y uno de los más difíciles de clasificar. Las especies de *Fusarium* son saprofitas en algunas de sus fases de crecimiento y pueden o no desarrollar una fase de reproducción sexual según la especie (Finch y Finch, 1983; Alexopoulos y Mims, 2000). El género *Fusarium* presenta una distribución cosmopolita y es endémico de zonas maiceras de todo el mundo (Mendoza *et al.*, 2003). Este hongo, 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 geminación por la muerte del embrión (Cisneros, 2004; Morales *et al.*, 2007; González *et al.*, 2007). En plántula y planta adulta, debilita y pudre la raíz, ocasionando acame. En el maíz, la pudrición de tallo y mazorca está asociado con *F. verticillioides* (=moniliforme) Sheld y *F. graminearum* Schwabe (González *et al.*, 2007). Sin

## INTRODUCTION

The grain most widely distributed worldwide is maize, which ranks third in production followed by wheat and rice (SIACON, 2007). The major maize producing countries in Europe are Romania, with a production of 8.9 million tons; Italy with 8.8 million tons, and Hungary, with 5.8 million tons of grain. Argentina, in Latin America, is a major maize producer with an 8.7% of the Latin American production (Galarza *et al.*, 2004; Vega and Ramírez, 2004). An average of 7 million hectares is grown in Mexico, producing 17.5 million tons (Galarza *et al.*, 2004; Velásquez, 2007). The highest maize production states in Mexico are reported in Jalisco, the states of Mexico and Chiapas. Guanajuato is ranked in the 8<sup>th</sup> place among the 46 municipalities that conform the maize producing entities within the state; among the most important are: Valle de Santiago, Pénjamo, Abasolo, Acámbaro, Manuel Doblado, Irapuato, Jaral del Progreso, Jérecuaro, León, Purísima, Salvatierra, San Francisco del Rincón and Villagrán (SIAP/SAGARPA, 2006). The average losses during the 1999-2004 period in the state of Guanajuato were 23% of the total acreage, and yield was 3.4 t ha<sup>-1</sup> (6.96 t ha<sup>-1</sup> under irrigation and 1.75 t ha<sup>-1</sup> in temporal). This reflects the displacement of maize native varieties because of hybrids utilization, which represents 57% of the total planted area dedicated to maize in the state (SIAP/SAGARPA, 2006). The area under maize cultivation in Mexico has become lately decreased, with losses around 30%, mainly due to a lack of water supply required for crop development (SIAP/SAGARPA, 2006). Other factor limiting performance are the diseases caused by various biotic and a-biotic factors. The diseases caused by the genus *Fusarium*, which is found naturally in soil and can sometimes be associated with rotting of root and stems of many plants, stand out among the diseases caused by pathogens (Hernández *et al.*, 2007). A large number of species have been described within the genus *Fusarium* by several authors, but 70 species are considered by Leslie and Summerell (2006). The genus *Fusarium* has been considered by Montiel-González *et al.*, (2005) as the most complex of those who attack the roots of cultivated plants, as well as one of the most difficult to classify. The *Fusarium* species is saprophytic in some stage of its growth and may or may not develop a sexual reproduction phase, according to species (Finch and Finch, 1983; Alexopoulos and Mims, 2000). A cosmopolitan distribution is revealed by the genus *Fusarium*, being endemic of maize growing areas around the world (Mendoza *et al.*, 2003). Damage can be caused by this fungus during the entire cultivation process. The mycelium can invade and cause stains in seed on the outer coverings, originating a reduced germination of the death of the embryo (Cisneros, 2004; Morales *et al.*, 2007; González *et al.*, 2007). It is capable of weaken and rot roots in seedling and adult plants, causing lodging, thus. The rotting of stem and ear in maize is associated with *F. verticillioides* (=moniliforme) Sheld and *F. graminearum* Schwabe (González *et al.*, 2007). Nevertheless, the disease incidence is related to the intrinsic susceptibility of some maize materials, as well as to the agronomic management and environmental conditions to which plants are exposed to during their development. Although, it is rather useful to identify maize

embargo, la incidencia de enfermedades está relacionada con la susceptibilidad intrínseca de algunos materiales de maíz, el manejo agronómico y las condiciones ambientales a las que se exponen las plantas durante su desarrollo, no obstante sería de gran utilidad identificar genotipos de maíz resistentes a la pudrición de tallo y mazorca, los cuales darían gran ventaja para el manejo eficiente y económico de esta enfermedad (González *et al.*, 2007). La presencia y daños ocasionados en maíz por *Fusarium* han sido reportados en los estados de Tamaulipas, Chiapas, Durango y Guanajuato (Moreno, 1996; Hernández *et al.*, 2007). Para la obtención de materiales de maíz con resistencia genética amplia y durable a *Fusarium* spp., es necesario como primer paso conocer la diversidad de especies presentes en la región de interés, para la cual se pretende desarrollar esos materiales. El presente estudio plantea como objetivo la identificación de las especies de *Fusarium* spp., asociadas a la pudrición del tallo de maíz, así como su distribución y frecuencia en campos de productores del estado de Guanajuato, y caracterizar la reacción patogénica de cepas de las especies más frecuentes, en usando trece accesiones raciales de maíz.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Fitopatología del Campo Experimental Bajío perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), y en el Laboratorio de Sanidad de Semillas de la División de Estudios de Posgrado e Investigación en el Instituto Tecnológico de Roque (ITR). El muestreo de plantas enfermas de maíz se llevó a cabo en el 2006, en 15 campos productores de maíz ubicados en el estado de Guanajuato, en los municipios de Dolores Hidalgo, San Miguel de Allende, Comonfort, Apaseo El Grande, Villagran, Santa Cruz de Juventino Rosas, Cortázar, Salvatierra, Abasolo, Jaral del Progreso, Valle de Santiago, Pénjamo, Irapuato, León de los Aldama (Cuadro 1). Se realizó la recolección de tallos con evidentes daños por pudrición a partir de cinco plantas tomadas al azar en un área de cinco surcos de 10 m de largo dentro de cada parcela. Para el aislamiento de las cepas obtenidas, trozos de un centímetro aproximadamente de tallos de plantas infectadas, se lavaron en hipoclorito de sodio al 1 % por un minuto y se lavaron en dos pasos de agua destilada estéril. Se colocaron cinco fragmentos de cada tallo en cajas Petri con el medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) acidificado (200 µL de ácido láctico al 85% L<sup>-1</sup>) y se incubaron a temperatura ambiente (22-25°C) en laboratorio en condición de luz diaria. A las 24, 48 y 72 horas se revisaron los fragmentos, bajo el microscopio compuesto para observar la presencia de crecimiento micelial y transferir puntas y grupos de hifas a nuevas cajas con PDA acidificado. Las colonias que se desarrollaron fueron observadas microscópicamente para identificar las cepas correspondientes al género *Fusarium*, de acuerdo a Barnett y Hunter (1998). Se obtuvo una suspensión de conidios a partir de las cepas identificados como *Fusarium* y se dispersó en cajas Petri. con medio de cultivo SNA (1.0g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.0g de KNO<sub>3</sub>, 0.5g de MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.5g de KCl, 0.2g de glucosa, 0.2g de sacarosa y 20.0g de agar en un litro de agua destilada). Un conidio germinado fue trasferido a otra caja

genotipos resistant to both stalk and ear rotting, which would provide a great advantage for an efficient and economical management of this disease (González *et al.*, 2007). The presence and damage caused by *Fusarium* have been previously reported in the states of Tamaulipas, Chiapas, Durango and Guanajuato (Moreno, 1996; Hernández *et al.*, 2007). It is necessary to understand the species diversity present within the region of interest, as the first step to obtain maize materials with broad and durable genetic resistance to *Fusarium* spp., for which these materials are aimed to be developed. The present study is aimed to identify the species of *Fusarium* spp., associated with maize stalk rotting, as well as their distribution and frequency in maize producing areas in the state of Guanajuato, as well as to characterize the strains pathogenic reaction of the most frequent species, using thirteen racial maize accessions.

#### MATERIALS AND METHODS

The study hereby was performed at the Laboratorio de Fitopatología del Campo Experimental Bajío, which belongs to the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), and at the Laboratorio de Sanidad de Semillas de la División de Estudios de Posgrado de Investigación en el Instituto Tecnológico de Roque (ITR). The sampling of disease maize plants was conducted in 2006 from 15 maize producing fields located in the state of Guanajuato in the municipalities of Dolores Hidalgo, San Miguel de Allende, Comonfort, Apaseo El Grande, Villagran, Santa Cruz de Juventino Rosas, Cortázar, Salvatierra, Abasolo, Jaral del Progreso, Valle de Santiago, Pénjamo, Irapuato and León de los Aldama (Table 1). The collection of stems with evident damage by rotting was performed from five plants taken at random in an area of five rows of 10 m long from each plot. Stem pieces of approximately one centimeter taken from the stems of infected plants were used for the isolation of the strains obtained; they were washed in sodium hypochlorite at 1% for a minute and washed again in two steps of sterile distilled water. A total of five fragments from each stem were placed in Petri dishes with a potato-dextrose-agar (PDA) acidified culture medium (200 µL of lactic acid at 85% L<sup>-1</sup>) and they were incubated at room temperature (22-25°C) at the laboratory in daylight condition. The fragments were checked at 24, 48 and 72 hours by means of a compound microscope for the presence of mycelia growth; the of transfer points and groups of hyphae to new boxes with acidified PDA was performed, afterwards. The developed colonies were observed microscopically to identify strains corresponding to the *Fusarium* genus, in accordance to Barnett and Hunter (1998). A conidia suspension was obtained from the strains identified as *Fusarium*, and dispersed in Petri dishes with an SNA culture medium (1.0g of KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.0g of KNO<sub>3</sub>, 0.5g of MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.5g of KCl, 0.2g of glucose, 0.2g of sucrose and 20.0g of agar in one liter of distilled water). A germinated conidia was transferred to another Petri dish with the same culture medium where the monoconidial crops were maintained. A conidia suspension was prepared and dispersed into new plates containing SNA, looking forward to perform the morphological identification of monoconidial

Cuadro 1. Información de los sitios de colecta de 15 campos productores de maíz ubicados en el estado de Guanajuato, México. 2006

Table 1. Information regarding the collection sites of 15 maize producing fields located in the state of Guanajuato, Mexico. 2006.

Municipio	Latitud	Longitud (msnm)	Altitud maíz	Tipo	Riego/Temporal
Dolores Hidalgo	21°21'54"	101°11'03"	1,910	Criollo	Temporal
San Miguel de Allende	21°54'08"	100°39'08"	1,870	Criollo	Temporal
Comonfort	20°42'48"	100°58'30"	1,884	Hibrido	Punta de riego
Apaseo el Grande	20°32'37"	100°41'07"	1,767	Hibrido	Temporal
Villagrán	20°30'35"	100°53'07"	1,730	Hibrido	Punta de riego
Sta. Cruz de Juventino Rosas	20°37'35"	100°59'50"	1,750	Hibrido	Punta de reigo
Cortazar	20°28'59"	100°52'58"	1,730	Hibrido	Temporal
Salvatierra	20°12'56"	100°53'46"	1,749	Hibrido	Temporal
Abasolo	20°26'59"	101°31'48"	1,760	Criollo	Punta de riego
Jaral del Progreso	20°15'08"	100°59'01"	1,730	Hibrido	Temporal
Valle de Santiago	20°23'31"	100°11'21"	1,720	Hibrido	Punta de riego
Penjamo	20°25'44"	101°42'22"	1,700	Criollo	Temporal
Irapuato	20°51'18"	101°34'09"	1,730	Hibrido	Punta de riego
León de los Aldama	21°07'22"	101°41'00"	1,798	Hibrido	Punta de riego
Silao	20°56'24"	100°25'59"	1,780	Hibrido	Punta de riego

Petri con el mismo medio de cultivo, donde los cultivos monoconidiales se mantuvieron. Para llevar a cabo la identificación morfológica de los cultivos monoconidiales, se preparó una suspensión de conidios y se dispersó en nuevas cajas conteniendo SNA. A las 24 horas se obtuvieron tres conidios germinados e individualmente fueron transferidos a cajas Petri de 100 x 15mm, con los medios de cultivo hojas de clavel-agar (CLA; 20gr de agar en un litro de agua destilada, y 12 piezas de hojas de clavel estériles), SNA y PDA (Montiel-González *et al.*, 2005). A los 14 días se realizó la observación de características microscópicas de las colonias. La ubicación taxonómica se basó en las claves de Nelson *et al.* (1983) y Leslie y Summerell (2006). Las colonias desarrolladas en el medio de cultivo PDA se mantuvieron 14 días aproximadamente para observar el color de ellas. Las cepas fueron almacenadas en los medios PDA y SNA con aceite mineral a 4°C (Massa, 1991). Para la caracterización patogénica de las cepas de *Fusarium* spp., se utilizaron trece accesiones diferentes de razas de maíz (Cuadro 2), las cuales fueron proporcionadas por el banco de germoplasma del Centro Internacional de Mejoramiento de

crops. A total of three germinated conidia were obtained after 24 hours and transferred individually to 100 x 15mm new Petri dishes with the culture media of carnation leaf-agar (CLA; 20gr of agar in a liter of distilled water, and 12 pieces of sterile carnation leaves), SNA and PDA (Montiel-González *et al.*, 2005). The observation of the colonies microscopic features was performed after 14 days. The taxonomic placement was based on the codes provided by Nelson *et al.* (1983), and Leslie and Summerell (2006). The Colonies developed on PDA culture medium remained the same for approximately 14 days to observe their color the strains were stored on PDA and SNA media with mineral oil at 4°C (Massa, 1991). A total of thirteen accessions of different maize race were used to characterize pathogenic strains of *Fusarium* spp., (Table 2), which were provided by the bank of germplasm from the Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT, México). These accessions were increased during the spring of 2007 in an experimental batch from the División de Estudios de Posgrado Del ITR, through fraternal plant to plant pollination (Table 2).

Maíz y Trigo (CIMMYT, México). Estas accesiones fueron incrementadas durante la primavera del 2007 en un lote experimental de la División de Estudios de Posgrado del ITR, a través de polinizaciones fraternales planta a planta (Cuadro 2). Se seleccionaron cuatro cepas de las tres especies de *Fusarium* más frecuentemente aisladas en tallos de maíz colectadas en los campos del estado de Guanajuato para caracterizar su reacción patogénica sobre las accesiones raciales de maíz (Cuadro 3). Las cepas fueron reactivadas en el medio de cultivo SNA, y a partir de las colonias desarrolladas en este medio se transfirió un fragmento de micelio a 20 cajas Petri con el medio de cultivo PDA. A las colonias formadas a los cinco días de inoculadas, se les agregó 50 µL de agua destilada estéril y se diseminó con una varilla de vidrio, después se mantuvieron por cinco días adicionales a temperatura ambiente en laboratorio. Posteriormente se elaboró una suspensión conidial a una concentración de  $1 \times 10^6$  microconidios mL<sup>-1</sup> en agua destilada (Pastor y Abawi, 1987; Velásquez *et al.*, 2002), la cual se utilizó para la inoculación de 20 semillas de cada accesión de maíz. Las semillas se sumergieron previamente en hipoclorito de sodio al 1 % durante un minuto y posteriormente se realizaron tres lavados con agua estéril. En seguida, las semillas se mantuvieron sumergidas durante cinco minutos en agua estéril, y finalmente se colocaron durante cinco minutos en la suspensión de conidios de la cepa correspondiente de *Fusarium* antes de sembrarse. En 2009, las semillas se colocaron en vasos de unicel No. 14 conteniendo vermiculita estéril como sustrato y se mantuvieron en invernadero a una temperatura promedio de 30°C. Doce días después de la siembra se realizó una segunda inoculación a cada vaso con 10 mL de suspensión conidial a una concentración de  $1 \times 10^6$  microconidios mL<sup>-1</sup>. Los riegos se llevaron a cabo cada tercer día después de la siembra, aplicando 10 mL de agua/vaso con el fin de mantener la humedad requerida para la germinación y desarrollo de la plántula. A los 21 días después de la inoculación (etapa V3), se extrajeron las plántulas con el

Cuadro 2. Accesiones de maíz utilizadas, raza a la que pertenece, origen y tipo de endospermo presente, para el ensayo de patogenicidad de *Fusarium* spp.

Table 2. Accessions maize used the race they belong to, origin and type of endosperm present for the purpose of the essay of pathogenicity of *Fusarium* spp.

Raza de Maíz	No. Colecta	No. Raza	Origen	Tipo de endospermo
Tuxpeño	1	R1	Michoacana	Dentado
Jala	1655	R2	Nayarit	Dentado
Pepitilla	1346	R3	Guerrero	Dentado Harinoso
Dulce	1060	R4	Guanajuato	Dulce
Tepecintle	756	R5	Chiapas	Harinoso cristalino
Zapalote Chico	2272	R6	Oaxaca	Harinoso duro
Harinoso de 8	2250	R7	Nayarit	Harinoso suave
Bolita	5983	R8	Oaxaca	Cristalino
Reventador	1671	R9	Nayarit	Cristalino
Celaya	1670	R10	Guanajuato	Dentado
Cristalino Chihuahua	6746	R11	Chihuahua	Cristalino
Tablón	331	R12	Jalisco	Harinoso
Criollo de Durango	UAAAN	R13	Durango	Cristalino

A total of four strains were selected from the three most commonly isolated species of the *Fusarium* cornstalks, which were collected in the fields from the state of Guanajuato, aiming to characterize its pathogenic reaction on maize racial accessions (Table 3). The strains were activated in the SNA culture medium, and a fragment of mycelium was transferred to 20 Petri dishes with the PDA culture medium from the colonies developed in this environment. A total of 50 µL of sterile distilled water were added and spread with a glass rod once the colonies were formed after five days of inoculation, then held for five additional days at room temperature in the laboratory. Subsequently, a conidial suspension was developed at a concentration of  $1 \times 10^6$  microconidia mL<sup>-1</sup> in distilled water (Pastor and Abawi, 1987; Velásquez *et al.*, 2002), which was used for the inoculation of 20 seeds from each maize accession. The seeds were previously immersed in sodium hypochlorite at 1% for a minute, and three washes with sterile water were performed, afterwards. Then, the seeds were kept submerged for five minutes in sterile water and finally incubated for five minutes in the conidia of the *Fusarium* from the corresponding strain, before planting. The seeds were placed in polystyrene cups containing vermiculite sterile No. 14 as substrate in 2009, and kept in a greenhouse at an average temperature of 30°C. A second inoculation was performed twelve days after on each vessel, with 10 mL of conidial suspension at a concentration of  $1 \times 10^6$  microconidia mL<sup>-1</sup>. Irrigation was performed every third day after sowing using 10 mL of water/vessel in order to maintain the moisture required for germination and seedling development.

Cuadro 3. Doce cepas de *Fusarium* spp., empleadas para el estudio de pruebas de patogenicidad sobre las trece accesiones raciales de maíz.

Table 3. Twelve strains of *Fusarium* spp., utilized for the study of pathogenicity tests concerning the thirteen maize racial accessions.

Especie	Clave de Identificación	Origen
<i>F. subglutinans</i>	*SAM-L2P1F1	San Miguel De Allende
<i>F. subglutinans</i>	SAM-L2P2F2	San Miguel De Allende
<i>F. subglutinans</i>	Leo-L15P1F1	León De Los Aldama
<i>F. subglutinans</i>	Leo-L15P1F3	León De Los Aldama
<i>F. verticillioides</i>	Dol-L1P3F1	Dolores Hidalgo
<i>F. verticillioides</i>	Dol-L1P3F4	Dolores Hidalgo
<i>F. verticillioides</i>	Jar-L11P4F2	Jaral del Progreso
<i>F. verticillioides</i>	Jar-L11P4F3	Jaral del Progreso
<i>F. heterosporum</i>	Villa-L6P1F1	Villagrán
<i>F. heterosporum</i>	Villa-L6P4F1	Villagrán
<i>F. heterosporum</i>	Pen-L13P2F1	Penjamo
<i>F. heterosporum</i>	Pen-L13P2F4	Penjamo

\*Clave de identificación la letra L representa el municipio, la P representa el número de planta y F representa el fragmento del cual se obtuvo la cepa.

propósito de evaluar el daño ocasionado por los cepas de *Fusarium*. Se utilizó una escala de cinco valores (0-4) según los síntomas de la enfermedad donde: 0= raíces sanas; 1= ligera coloración interna café a rojiza en raíces secundarias; 2= daño moderado que se extiende hasta el cuello de la plántula; 3= daño severo que se extienden a las raíces y cuello de la plántula; 4= plántula muerta (Figura 1). La escala de daño se diseño de acuerdo a los síntomas de la enfermedad mostrados en las plántulas de maíz del presente estudio, ya que en la literatura no se reporta una escala que se haya realizado exclusivamente para la identificación del daño. La combinación de las accesiones y cepas dio como resultado 156 tratamientos; cada uno con tres repeticiones, las cuales contenían cinco plantas por repetición. Se utilizó un diseño completamente al azar, con dos factores. Los valores obtenidos de las variables de las pruebas de patogenicidad se transformaron a proporción, y posteriormente a arcoseno con el fin de normalizarlos. Los datos se sometieron a un análisis de varianza con el programa SAS 9.1 (1999). Cuando el análisis estadístico indicó diferencias entre tratamientos ( $p \leq 0.01$ ) se aplicó la prueba de Tukey para la separación de medias ( $p \leq 0.01$ ).

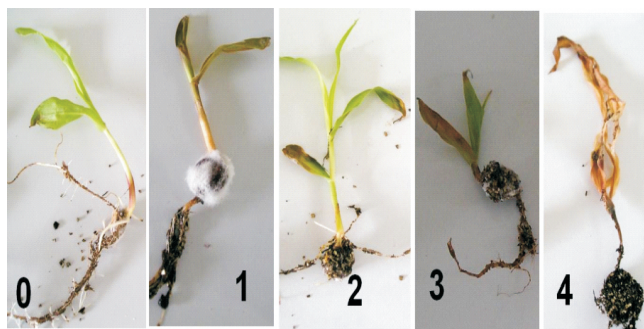


Figura 1. Escala del daño causado por *Fusarium* spp., en plántulas de variedades criollas de maíz a los 21 días después de la inoculación del hongo.

Figure 1. Scale of the damage caused by *Fusarium* spp., in seedlings of native maize varieties 21 days after fungus inoculation.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Se recolectó un total de 375 plantas de maíz como resultado del muestreo realizado a los 15 campo de producción de maíz en Guanajuato (Cuadro 1), las cuales se utilizaron para la identificación de las especies de *Fusarium*. En total 356 cepas, se obtuvieron de los fragmentos de las plantas de maíz con daños evidentes ocasionados por el hongo. Se identificaron 198 cepas correspondientes al género *Fusarium*. Se identificaron seis especies de éste patógeno. Los cepas de *F. subglutinans*, presentaron el mayor porcentaje de incidencia con un 61.6 %, seguidos por *F. verticillioides* y *F. heterosporum* con un 18.1 y 10.1 %, respectivamente la ocurrencia de cada especie de *Fusarium* fue diferente en los municipios (Cuadro 4). Las especies de *Fusarium* más frecuentes, en la identificación, fueron *F.*

Plants were extracted 21 days after inoculation (V3 stage), in order to assess the damage depending on the damage caused by the *Fusarium* strains. A scale of five values (0-4) was used depending on the symptoms revealed by the disease, where 0 = healthy roots; 1 = light brown to reddish color in domestic secondary roots; 2 = moderate damage extending to the neck of the seedling; 3 = severe damage extending to the roots and collar of the seedling; 4 = dead seedling (Figure 1). The scale of damage was designed according to the symptoms of the disease shown in maize seedlings in the study hereby, due to the fact that a scale made exclusively for damage identification has not been reported in literature, yet. A total of 156 treatments resulted from the combination of the accessions and strains, each with three replicates that contained five plants per replicate. A completely randomized design was used with two factors. The values of the variables in the pathogenicity tests were transformed to proportion and then to arcsine, looking forward to have them normalized. The data were submitted to a variance analysis with the SAS 9.1 program (1999). A Tukey test was used for means separation ( $p < 0.01$ ) as the differences among treatments ( $p < 0.01$ ) were indicated by the statistical analysis.

## RESULTS Y DISCUSSION

A total of 375 corn plants were collected as a result of the sampling performed over the 15 maize production fields in Guanajuato (Table 1), which were used for *Fusarium* species identification. Moreover, 356 strains were obtained from the fragments of maize plants with an evident damage caused by the fungus. A total of 198 strains corresponding to the genus *Fusarium* were identified. Six more of this pathogen species were identified as well. The highest incidence percentage of 61.6% was revealed by the *F. subglutinans* strains, followed by *F. verticillioides* and *F. heterosporum* with an 18.1% and a 10.1 %, respectively; the occurrence of *Fusarium* species was different in some municipalities (Table 4). The *Fusarium* species most frequently identified were *F. subglutinans* (fifteen fields), followed by *F. verticillioides* (seven), *F. esquiseti* (five); nevertheless, *F. heterosporum* (three), *F. reticulatum* (three), and *F. proliferatum* (two), were less frequently identified. The maize dominant host *F. subglutinans* species was most commonly found in all the surveyed municipalities (Leslie *et al.*, 2005) (Table 4). The *F. esquiseti* species (Table 4) was also identified in five municipalities, which had been previously identified and reported by Villalobos *et al.*, (2003); concerning this particular species, it has been stated by Summerell *et al.* (2003) that it is regarded as a saprophyte, which is consistent with the results revealed by the study hereby. A diversity of *Fusarium* species was revealed by the municipalities of San Miguel de Allende, Santa Cruz de Juventino Rosas and Valle de Santiago. A great adaptation capacity was revealed by some species of pathogenic fungi; therefore, diversity in agro-ecosystems is due to the dissemination of planting materials (seeds, seedlings and substrates), and subsequent and repeated crops of susceptible plants (Samaniego-Gaxiola and Chew-Madinaveitia, 2007). However, it is rather interesting to appreciate that a single *Fusarium* species was identified in the municipality of León de los Aldama (Table

*subglutinans* (quince campos), seguido *F. verticillioides* (siete), *F. esquiseti* (cinco), y con menor frecuencia se identificaron a *F. heterosporum* (tres), *F. reticulatum* (tres), *F. proliferatum* (dos). En todos los municipios muestreados se encontró la especie de *F. subglutinans* huésped dominante del maíz (Leslie *et al.*, 2005) (Cuadro 4). También fue identificado en cinco municipios *F. esquiseti* (Cuadro 4), el cual también fue identificado y reportado por Villalobos *et al.* (2003), al respecto de esta especie, Summerell *et al.* (2003) afirman que está considerado como saprofito, lo cual es coincidente a los resultados de presente estudio. Los municipios que mostraron diversidad de especies de *Fusarium*, fueron San Miguel de Allende, Santa Cruz de Juventino Rosas y Valle de Santiago. Algunas especies de hongos patógenos presentan una gran capacidad de adaptación y se encuentran ampliamente distribuidos, por tal razón, la diversidad en los agroecosistemas se debe a la diseminación de los materiales de plantación (semillas, plántulas y substratos), cultivos subsiguientes y repetidos de plantas susceptibles (Samaniego-Gaxiola y Chew-Madinaveitia, 2007). Sin embargo es interesante observar que una sola especie de *Fusarium* se identificó en el municipio de León de los Aldama (Cuadro 4). Lo cual sugiere que las condiciones edáficas y climáticas de este municipio favorecen el desarrollo y dominancia del patógeno, descrito en el cultivo de maíz (Samaniego-Gaxiola y Chew-Madinaveitia, 2007). Dentro de las tres especies más frecuentemente encontradas, *F. heterosporum* solo está presente en los municipios del sur del estado de Guanajuato, en cambio *F. subglutinans* y *F. verticillioides* están presentes en municipios tanto del norte como del centro y sur del estado, lo que sugiere que la presencia azarosa de estas

Cuadro 4. Cepas del género *Fusarium*, aisladas en plantas de maíz colectadas en parcelas, del Estado de Guanajuato, México en el 2006.

Table 4. Strains of the *Fusarium* genus, isolated in maize plants collected from plots located in the state of Guanajuato, Mexico in 2006.

Lote	Municipio	A	B	C	D	E	F	G
1	Dolores Hidalgo	3	13		1			
2	San Miguel de Allende	16	13		2		1	
3	Comonfort	8	2			3		
4	Apaseo el Grande	7						
5	Villagran	2		9				1
6	Santa Cruz de Juventino Rosas	6	5			2		2
7	Cortazar	11						
8	Salvatierra	4						
9	Abasolo	10		9				
10	Jaral del Progreso	4	1		2			
11	Valle de Santiago	8	1		1		1	
12	Penjamo	12	1	2				
13	Irapuato	7					1	
14	Leon de los Aldama	20						
15	Silao	4			1			2

(A) *Fusarium subglutinans*, (B) *Fusarium verticillioides*, (C) *Fusarium heterosporum*, (D) *Fusarium esquiseti*, (E) *Fusarium proliferatum*, (F) *Fusarium reticulatum*, (G) *Fusarium sp.*

4). Thus, it is suggested that both soil and climatic conditions in this town favor development and dominance of this pathogen, as described in the maize crop (Samaniego-Gaxiola y Chew-Madinaveitia, 2007). Among the three species most frequently encountered, *F. heterosporum* is only present in the municipalities located on the southern area of the state of Guanajuato; although, the *F. subglutinans* and *F. verticillioides* species are present on the northern, central and southern state municipalities, suggesting that the random presence of these species is given mainly because of its cosmopolitan status and distribution of its natural hosts, as well as by the less likely differentiated agricultural activity in Guanajuato soils (Samaniego-Gaxiola and Chew-Madinaveitia, 2007). Furthermore, genus *Fusarium* species identified in the study hereby are consistent with those reported in similar studies, as that of Morales *et al.*, (2007), who reported several *Fusarium* strains associated with the maize cultivation in the State of Mexico (Texcoco), among which *F. subglutinans* and *F. verticillioides* were properly identified. Similarly, *F. subglutinans* and *F. verticillioides* were reported by Leslie *et al.*, (2005), as the most widely distributed in all maize growing areas worldwide, and are considered as the species with the highest pathogenic capacity. Additionally, five *Fusarium* strains were not assigned to any sort of species, so that the great strains variability even within the same species may hinder their full identification (Montiel-González, *et al.*, 2005). The strains considered for their pathogenic characterization were the three most frequently encountered, out of which four strains were selected from each one of them, at the discretion of their geographical origin and pre-tested for *in vitro* pathogenicity (data not included). It is revealed by the analysis of the results that significant statistical differences prevail among racial maize accessions, evaluated in accordance to their tolerance reaction to the *Fusarium* strains used. Likewise, a variation was revealed by the strains of the fungus in their pathogenic effect on the maize populations under evaluation, taking into consideration the seedlings general symptoms. It is shown on Table 5 that the *F. verticillioides* and *F. subglutinans* strains are the most harmful for maize seedlings. It has been reported by Mendoza *et al.*, (2006) that *F. verticillioides* is able to colonize maize during the vegetative cycle of plants. It has been also reported by other studies, such as those performed by González *et al.*, (2007), that *F. moniliforme* (*F. verticillioides*) is pathogenic on maize, which was one of the most aggressive strains revealed in this study. However, a minor damage was caused at ground level by some strains of *F. subglutinans* and *F. heterosporum*, suggesting that there is a great diversity in *Fusarium* species, and different levels of susceptibility of maize populations (Betanzos, 2001). Pathogenicity was revealed by the *F. subglutinans* (Leo-L15P1F1), *F. verticillioides* (Dol-L1P3F1) and *F. verticillioides* (Jar-L11P4F3) strains, since they caused the death of nine out of thirteen maize racial accessions under evaluation, corresponding to the same number of races (Table 6). Quite the opposite, the *F. verticillioides* (Dol-L1P3F4) and *F. subglutinans* (SAM-L2P2F2) strains caused damage only on five maize racial accessions, whereas *F. verticillioides* (Jar-L11P4F2) only on four of them (Table 6);



especies esta dada principalmente por su condición cosmopolita y por la distribución de sus hospederos naturales, así como la actividad agrícola poco diferenciada en los suelos de Guanajuato (Samaniego-Gaxiola y Chew-Madinaveitia, 2007). Así mismo las especies del género *Fusarium* identificadas en este trabajo coinciden con las reportadas en trabajos similares como el de Morales *et al.* (2007) que reportan varias cepas de *Fusarium* asociados al cultivo de maíz del Estado de México (Texcoco), de entre las cuales se identificaron a *F. subglutinans* y *F. verticillioides*. De igual manera, Leslie *et al.*, (2005) reportaron *F. subglutinans* y *F. verticillioides* como las más ampliamente distribuidas en todas las áreas maiceras del mundo y son consideradas las de mayor capacidad patógena. Por otro lado cinco cepas de *Fusarium* no fueron asignados a ninguna especie, por lo que la gran variabilidad existente de cepas aún dentro de una misma especie pueden dificultar su plena identificación (Montiel-González, *et al.*, 2005). Las cepas que se consideraron para su caracterización patógena fueron las tres más frecuentemente encontradas, de las cuales se seleccionaron cuatro cepas de cada una, bajo el criterio de su origen geográfico y una prueba previa de patogenicidad *in vitro* (datos no mostrados). El análisis de resultados muestra diferencias estadísticas significativas entre las accesiones raciales de maíz evaluadas, en función de su reacción de tolerancia a las cepas del género *Fusarium* utilizadas. Así mismo, las cepas del hongo presentaron variación en su efecto patógeno sobre las poblaciones de maíz evaluadas, al considerar los síntomas generales de las plántulas. El Cuadro 5 muestra, las cepas *F. verticillioides* y *F. subglutinans* son las que mayor daño a las plántulas de maíz. Mendoza *et al.* (2006) reportaron que *F. verticillioides* es capaz de colonizar maíz durante todo el ciclo vegetativo de las plantas. Otros estudios como los realizados por González *et al.*, (2007) reportan a *F. moniliforme* (*F. verticillioides*) como patógeno en el maíz, el cual fue uno de los más agresivos que resultaron en este estudio. Por otro lado, algunas cepas de *F. subglutinans* y *F. heterosporum* causaron menor nivel de daño en planta, lo que sugiere que existe alta diversidad en las especies de *Fusarium*, y diferentes niveles de susceptibilidad de las poblaciones de maíz (Betanzos, 2001). Las cepas *F. subglutinans* (Leo-L15P1F1), *F. verticillioides* (Dol-L1P3F1) y *F. verticillioides* (Jar-L11P4F3) mostraron patogenicidad, ya que causaron la muerte a nueve de trece accesiones raciales de maíz evaluadas, correspondientes a igual número de razas (Cuadro 6). En cambio las cepas *F. verticillioides* (Dol-L1P3F4) y *F. subglutinans* (SAM-L2P2F2) solo causaron daño en cinco accesiones raciales de maíz y *F. verticillioides* (Jar-L11P4F2) solo en cuatro de ellas (Cuadro 6), aunque estadísticamente el nivel de patogenicidad mostrado fue igual a las anteriores (datos no mostrados). Con respecto al nivel de susceptibilidad de los materiales de maíz, las colectas más susceptibles al patógeno fueron Zapalote Chico con un 33.4 %, Cristalino Chihuahua con 31 %, Dulce con un 30 %, Harinoso de 8, con 28.1 %, Celaya con el 28 %, Tablón con 27.8 %, Tepecintle con 27.6 % y Jala con el 26.4 % (Cuadro 7). Estos resultados coinciden con los de Cerovich *et al.*, (2004) donde reportan a la raza de maíz Zapalote Chico susceptible a *Fusarium*, y tiene

although statistically, the level of pathogenicity revealed was the same as the pathogenicity previously shown (data not included). Regarding the level of susceptibility of maize materials, the most susceptible collections to the pathogen were Zapalote Chico, with a 33.4%, Cristalino Chihuahua with 31 %, Dulce with a 30 %, Harinoso de 8, with 28.1 %, Celaya with 28 %, Tablón with 27.8 %, Tepecintle with 27.6 % and Jala with 26.4 % (Table 7). These results are consistent with those of Cerovich *et al.*, (2004), where the race of maize Zapalote Chico was reported to be susceptible to *Fusarium*, having rather favorable characteristics to have it utilized for a program of genetic improvement due to its reaction to the pathogen. It has been pointed out by another similar results reported by Wellhausen *et al.*, (1951) that this same race has adverse physiological characteristics that make it susceptible to be attacked by pathogens. The maize race that is considered as tolerant to the damage caused by the pathogen was Tuxpeño with a 20.8 % (Table 7). These results are consistent with those reported by Paliwal (1986), which brings to this race as pathogen resistant, given its tropical origin. It maybe mentioned that this race is more diverse and resistant to *Fusarium*; also states that this race may have interacted for many years in their environment with this pathogen, which formed resistance pathogens. Another reason that this race may have this tolerance is due to erratic conditions where this maize is produced. According to this observation, it has been indicated by Preciado *et al.*, (2009) that, recently, the adverse conditions in which it is grown have forced producers to select native materials with characteristics of resistance to adverse factors, such as drought and biotic factors. The maize race of Celaya has been reported by González *et al.*, (2007) to be resistant to *Fusarium* spp. These results contradict those of González and Larios (1993) and Peiretti *et al.*, (2007), who entered that the Creoles of cone type are seen as susceptible because they may present damage up to 85% in plant; what has been found in the study hereby is more in line with this, since the Celaya race behaved as susceptible to pathogen. It has been indicated by the statistical significance among races that, as expected, at least one race had a positive reaction to a fungus attack and that within racial accessions they have different degrees of resistance to this fungus. A similar result was presented with the strains, since they revealed different degrees of pathogenicity or represented a wide genetic variation (Table 5). The stage of inoculation is an important factor to consider when analyzing these results because according to Munkvold and Desjardins (1997) and Mendoza *et al.* (2006), it has been indicated that symptoms of the disease increase when the seedlings are at the V3 stage (third leaf) and the infection is symptomatic and may occur at any stage of the plant; although, it may or may not develop a systemic infection.

## CONCLUSIONS

A total of six *Fusarium* genus species associated to rotting of maize stem ant root were found in the state of Guanajuato, in the study hereby. Those most frequently found along the state were *F. subglutinans*, *F. verticillioides* and *F. heterosporum*. The most pathogenic species present in Guanajuato are *F. subglutinans* and *F. verticillioides*. The most susceptible

Cuadro 5. Número de cepas presentes en las colectas raciales.

Table 5. Number of strains present in the maize racial collections.

Cepas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Total
<i>F. subglutinans</i> (SAM-L2P1F1)		X							X	X	X	X		5
<i>F. subglutinans</i> (SAM-L2P2F2)				X	X	X				X		X		5
<i>F. subglutinans</i> (Leo-L15P1F1)	X			X	X	X	X	X		X	X	X		9
<i>F. subglutinans</i> (Leo-L15P1F3)	X			X		X		X			X			5
<i>F. verticillioides</i> (Dol-L1P3F1)				X	X	X	X		X	X	X	X	X	9
<i>F. verticillioides</i> (Dol-L1P3F4)						X			X		X	X	X	5
<i>F. verticillioides</i> (Jar-L11P4F2)		X				X			X			X		4
<i>F. verticillioides</i> (Jar-L11P4F3)	X		X	X	X	X		X		X	X		X	9
<i>F. heterosporum</i> (Villa-L6P1F1)			X				X							2
<i>F. heterosporum</i> (Villa-L6P4F1)		X	X				X	X						3
<i>F. heterosporum</i> (Pen-L13P2F1)		X		X		X								3
<i>F. heterosporum</i> (Pen-L13P2F4)		X		X				X			X			4

1. Tuxpeño, 2. Jala, 3. Pepitilla, 4. Dulce, 5. Tepecintle, 6. Zapalote Chico, 7. Harinoso de 8, 8. Bolita, 9. Reventador, 10. Celaya, 11. Cristalino Chihuahua, 12. Tablón, 13. Criollo de Durango.

características poco favorables para ser utilizada en el algún programa de mejoramiento genético por su reacción a dicho patógeno. Otro resultado semejante reportó Wellhausen *et al.* (1951) señalan que esta misma raza tiene características fisiológicas desfavorables que la hacen susceptible al ataque de patógenos. La raza de maíz que se considera como tolerante al daño ocasionado por el patógeno, fue Tuxpeño con un 20.8 % (Cuadro 7); estos resultados coinciden con los publicados por Paliwal (1986), donde reporta a esta raza, como resistente a este patógeno, considerando su origen tropical. Se puede mencionar que esta raza tiene mayor diversidad y es resistente a *Fusarium*; también afirma que esta raza pudo haber interactuado por muchos años en su medio ambiente con este patógeno, lo cual fue formando genes de resistencia. Otra razón por lo que esta raza puede presentar esta tolerancia es debido a las condiciones erráticas de las áreas donde son producidas estos maíces; de acuerdo a esta observación, Preciado *et al.*, (2009) indican que en los últimos años las condiciones adversas en las que se desarrolla el cultivo, ha forzado a los productores a seleccionar materiales nativos, con características de resistencia a factores adversos como la sequía y factores bióticos. González *et al.*, (2007) reportan a la raza de maíz Celaya resistente a *Fusarium* spp. Estos resultados se contraponen con los de González y Larios (1993) y Peiretti *et al.*, (2007) quienes consignan que los criollos de tipo Cónicos son considerados como susceptibles debido a que pueden presentar daños de hasta un 85 % en planta, lo encontrado en nuestro trabajo está más acorde a esto, ya que la raza Celaya se comportó como susceptible al patógeno. La significancia estadística entre razas indicó que al menos una raza tuvo reacción positiva al ataque del hongo, lo cual se esperaba, ya que dentro de las accesiones raciales se tienen diferentes grados de resistencia a este hongo. Resultado similar se presento con las cepas, ya que estas presentaron diferentes grados de patogenicidad o sea, que representan amplia variación genética (Cuadro 5).

Cuadro 6. Comparación de medias de los niveles de reacción observadas a los 21 días de la inoculación por cepas *Fusarium* spp., las 13 accesiones raciales de maíz en la variable de daño de la plántula.

Table 6. Comparison of mediums of the reaction levels observed after 21 days of the inoculation by strains of *Fusarium* spp., and the thirteen maize racial accessions in the variable of damage of the seedling.

Cepas	21 ddi*
<i>F. verticillioides</i> (Dol-L1P3F1)	1.81 a
<i>F. verticillioides</i> (Jar-L11P4F3)	1.73 ab
<i>F. subglutinans</i> (Leo-L15P1F1)	1.69 abc
<i>F. verticillioides</i> (Dol-L1P3F4)	1.51 abc
<i>F. subglutinans</i> (SAM-L2P2F2)	1.49 abc
<i>F. verticillioides</i> (Jar-L11P4F2)	1.48 abc
<i>F. subglutinans</i> (Leo-L15P1F3)	1.40 bcd
<i>F. heterosporum</i> (Pen-L13P2F1)	1.36 bcd
<i>F. subglutinans</i> (SAM-L2P1F1)	1.31 bcd
<i>F. heterosporum</i> (Villa-L6P4F1)	1.26 d
<i>F. heterosporum</i> (Pen-L13P2F4)	1.25 d
<i>F. heterosporum</i> (Villa-L6P1F1)	1.13 d

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey; p 0.01), \* días después de la inoculación.

species, out of the maize races used, were Zapalote Chico, Cristalino Chihuahua, Dulce, Harinoso de 8, Celaya, Tablón, Tepecintle and Jala. The maize race that revealed the highest tolerance to strains of *Fusarium* spp., was Tuxpeño.

**Acknowledgements.** The financial support provided by CONCYTEG (convenant 06-11-K117-41. 2006-2007). Y al INIFAP (Desarrollo de variedades e híbridos de maíz bajo un esquema de mejoramiento genético asistido por marcadores moleculares).

Cuadro 7. Promedio de los niveles de la reacción de daño en parte de la plántula de las colectas de maíz a los cepas de *Fusarium* spp., a los 21 días de inoculación.

Table 7. Average of the damage levels of reaction of part of the seedling from the maize collections of the strains of *Fusarium* spp., after 21 days of inoculation.

Razas de maíz	Daño en plántula (%)	
Zapalote Chico	33.4	a
Cristalino Chihuahua	31.0	ab
Dulce	30.0	ab
Harinoso de 8	28.1	abc
Celaya	28.0	abc
Tablón	27.8	abc
Tepecintle	27.6	abc
Jala	26.4	abc
Reventador	25.6	bc
Bolita	24.8	bc
Criollo de Durango	23.4	bc
Pepitilla	23.2	bc
Tuxpeño	20.8	c

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey; p 0.01)

La etapa de inoculación es un factor importante a considerar al analizar estos resultados ya que de acuerdo a Munkvold y Desjardins (1997) y Mendoza *et al.*, (2006) señalan que los síntomas de la enfermedad se incrementan cuando las plántulas se encuentran en la etapa V3 (tercera hoja) y la infección es sintomática y puede presentarse en cualquier etapa de la planta, pudiéndose o no desarrollar una infección sistémica.

## CONCLUSIONES

De acuerdo a este estudio se encontraron seis especies del género *Fusarium* asociadas a las pudriciones del tallo y raíz en maíz en el estado de Guanajuato. Las que se encuentran con mayor frecuencia en el estado son *F. subglutinans*, *F. verticillioides* y *F. heterosporum*. Las especies más patogénicas presentes en Guanajuato son *F. subglutinans* y *F. verticillioides*. De las razas de maíz usadas para la evaluación de patogenicidad, las más susceptibles fueron Zapalote Chico, Cristalino Chihuahua, Dulce, Harinoso de 8, Celaya, Tablón, Tepecintle y Jala. La raza de maíz que presentó mayor tolerancia a las cepas de *Fusarium* spp., fue Tuxpeño.

**Agradecimientos.** Se agradece el financiamiento otorgado por el CONCYTEG (convenio 06-11-K117-41. 2006-2007). Y al INIFAP (Desarrollo de variedades e híbridos de maíz bajo un esquema de mejoramiento genético asistido por marcadores moleculares).

## LITERATURA CITADA

Alexopoulos, C.J., y Mims, W.C. 2000. Introducción a la Micología. Omega. Barcelona España. 240 p.

- Barnett, H.L., y Hunter, B.B. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. The American Psychopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 218 p.
- Betanzos, M.E. 2001. Variedades de maíz resistentes, una opción para reducir la pudrición de mazorca en Chiapas, México. Agricultura Técnica en México 27: 57-67.
- Cerovich, M., Miranda, F., López, A., Figueroa, R., y Trujillo, A. 2004. El peso específico como indicador de calidad física y fisiológica en semilla certificada en arroz. Venezuela. Agronomía Tropical 54:5-16.
- Cisneros, L.M.E. 2004. *Fusarium verticillioides* (Sacc) Nirenberg en híbridos y progenitores de sorgo tolerantes al frío. Tesis de maestría. Colegio de Posgraduados. Montecillos, Texcoco, Edo de México. 159 p.
- Finch, H.C., y Finch, A.N. 1983. Los Hongos Comunes que Atacan Cultivos en América Latina. Trillas. México. 58 p.
- Galarza, M.J.M., Miramontes, P.U., Muñoz, P.D., Hernández, R.G. 2004. Situación Actual y Perspectiva del Maíz en México. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera. México D. F. Pág. 102. Disponible en Internet. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>. Consulta: febrero 17. 2009
- González, H.A., Vázquez, G.L.M., Sahagún, C.J., Rodríguez, P.J.E., y Pérez, L.D.J. 2007. Rendimiento del maíz de temporal y su relación con la pudrición de mazorca. Agricultura Técnica en México 33: 33-42.
- González, H.A., y Larios, G.M.A. 1993. Estudio comparativo del rendimiento de grano en maíz: 7 híbridos experimentales, 2 variedades sintéticas y 7 criollos sobresalientes. Revista Ciencias Agrícolas Informa 1: 19-26.
- Hernández, D.S., Reyes, L.A., García, O.G.J., Mayek, P.N., Reyes, M.C.A. 2007. Incidencia de hongos potencialmente toxígenos de maíz (*Zea mays* L.) Almacenado y Cultivado en el Norte de Tamaulipas, México. Revista Mexicana de Fitopatología 25:127-133.
- Leslie, J.F., Zeller, K.A., Lamprecht, S.C., Riederer, J.P., and Marasas, W.F.O. 2005. Toxicity, Pathogenicity, and Genetic Differentiation of Five Species of *Fusarium* from Sorghum and Millet. Phytopathology 95: 275-283.
- Leslie, J.F., y Summerell, B.A. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blacwell. Iowa USA. 388 p.
- Massa, L.D.B. 1991. Preservação de espécies de *Fusarium* sob óleo mineral. Pesquisa Agropecuária Brasileira 26:853-855.
- Mendoza, E.M., López, B.A.O., Oyervides, G.A., Martínez, Z.G., De León, C., Moreno, M.E. 2003. Herencia genética y citoplásmica de la resistencia a la pudrición de la mazorca de maíz (*Zea mays* L.) causada por *Fusarium moniliforme* Sheld. Revista Mexicana de Fitopatología 21: 267-271.
- Mendoza, E. M., Andrio, E.E., López, B.A., Rodríguez, G.R., Latournerie, M.L., Rodríguez, H.S.A. 2006. Tasa de infección de la pudrición del tallo en maíz causada por *Fusarium moniliforme*. Agronomía Mesoamericana 17: 19-24.
- Montiel-González, L., González-Flores, F., Sánchez-García, B.M., Guzmán-Rivera, S., Gámez-Vázquez, F.P., Acosta-Gallegos, J.A., Rodríguez-Guerra, R., Simpson,

- W.J., Cabral-Enciso, M. y Mendoza-Elos, M. 2005. Especies de *Fusarium* (Link) presentes en raíces de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con daños de pudriciones, en cinco estados del centro de México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 23: 1-10.
- Morales-Rodríguez, I., Yañez-Morales, M.J., Silva-Rojas, H.V., García-Santos G., Guzmán-Peña, D.A. 2007. Biodiversity of *Fusarium* species in Mexico associated with ear rot in maize, and their identification using a phylogenetic approach. *Mycopathologia* 163:30-31
- Moreno, M.E. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México. 383 p.
- Munkvold, G.P., Desjardins, A.E. 1997. *Fumonisin* in maize. Can we reduce their occurrence?. *Plant Disease* 81: 556-563.
- Nelson, P.E., Toussoun, T.A., y Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium* species: An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University. University Park. USA. 190 p.
- Paliwal, R.L. 1986. Mejoramiento del maíz híbrido. Documentos de la FAO. Departamento de agricultura. [www.fao.org/docrep/003/X7650S/x7650s16.htm](http://www.fao.org/docrep/003/X7650S/x7650s16.htm). Consulta: 24 de julio de 2009.
- Pastor, C.M.A., y Abawi, G.S. 1987. Reactions of selected bean germ plums to infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. *Plant Disease* 71: 990-993.
- Peiretti, U.D.A., Nazar, L.M.C., Biasutti, V., Giorda, L.L.M. 2007. Susceptibilidad a *Fusarium verticillioides* (SACC.) Nirenberg en la población de maíz MPB-FCA 856. *Agronomía Mesoamericana* 18: 171-176.
- Preciado Ortiz, R.E., Terrón Ibarra, A.D., Aguirre Gómez, J.A., Ortega Corona, A., Hernández Casillas, J.M., Noriega González, L.A., y Cruz Morales, A.S. 2009. Diversidad genética de maíz en el estado de Guanajuato. Memoria III Reunión Nacional para el Mejoramiento, Conservación y Uso de los Maíces Criollos, Celaya, Guanajuato México. Resumen. 56 p.
- Samaniego-Gaxiola, J. A., y Chew-Madinaveitia, Y. 2007. Diversidad de géneros de hongos del suelo en tres campos con diferente condición agrícola en La Laguna, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 78: 383- 390.
- SAS. 1999. Statistical Analysis System. Versions 9.1. SAS® Institute Inc. Cary, NC, USA.
- SIACON. 2007. Sistema de Información Agropecuaria de Consulta. Anuario Estadístico de Producción Agrícola. SAGARPA. México D.F., México. 603 p.
- SIAP/SAGARPA. 2006. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera. Anuario estadístico. <http://www.sia.gob.mx>. Consulta: 3 de agosto 2009.
- Summerell, B.A., Baharuddin, S., Leslie, F.J. 2003. A Utilitarian Approach to *Fusarium* Identification. The American Psychopathological Society. *Plant Disease* 87: 117-128.
- Vega, V.D.D., y Ramírez, M.P. 2004. Situación y Perspectivas de Maíz en México. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Edo de México. 56 p.
- Velásquez, C.G.A. 2007. Cultivo de maíz en la Mesa Central de México. *Agrosíntesis México* 4: 8-9.
- Villalobos, B.C.M., Martínez, J.O.A., y Morales, G.R.H. 2003. Contaminación con Hongos en Maíz Recién Cosechado en el Estado de Guanajuato durante el año 2003. VII Congreso Nacional de Ciencia de los Alimentos y III Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, Gto. pp. 425-431.
- Wellhausen, E.J., Roberts, L.M., y Hernández, X.E. 1951. Razas de Maíz de México su Origen, Características y Distribución. Programa de Agricultura Cooperativo de la Secretaría de Agricultura y Ganadería en México, D.F y la Fundación Rockefeller. USDA-ARS North Central Regional Plant Introduction State University Ames IOWA. 237p.