

HÍBRIDOS Y PROGENITORES DE SORGO TOLERANTES AL FRÍO.

II: EFECTO DE *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg EN EL RENDIMIENTO DE SEMILLA Y SUS COMPONENTES EN CONDICIONES DE CAMPO

COLD TOLERANT SORGHUM HYBRIDS AND PARENTAL LINES. II: *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg EFFECTS ON SEED YIELD AND ITS COMPONENTS UNDER FIELD CONDITIONS

Ma. Eugenia Cisneros-López¹, Leopoldo E. Mendoza-Onofre¹, Gustavo Mora-Aguilera²,
Leobigildo Córdova-Téllez¹ y Manuel Livera-Muñoz³

¹Producción de Semillas, ²Fitopatología y ³Genética. Campus Montecillo. Colegio de Posgraduados.
56230. Montecillo, Estado de México. (ecisneros@colpos.mx)

RESUMEN

La expansión del cultivo del sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) a los Valles Altos Centrales de México, donde ya existen sorgos híbridos experimentales tolerantes al frío (SHETF), está restringida por la susceptibilidad de éstos al tizón del tallo y de la panoja (*Fusarium verticillioides*) y su reducido tamaño de semilla. Se evaluó la tolerancia a este patógeno de nuevos SHETF y algunos de sus progenitores, a los cuales se había incorporado este carácter. En 2003 se estableció un experimento en Montecillo, Estado de México, en condiciones de campo y con riego, en el que se evaluaron 12 híbridos, 3 líneas A, 5 líneas B, 3 líneas R y la variedad VA-110; y tres tratamientos de inoculación al inicio de la floración: 1) inyección del patógeno en suspensión (5×10^4 conidios mL^{-1}); 2) inyección con solamente agua estéril y 3) testigo sin inóculo ni inyección. El diseño fue bloques completos al azar con tres repeticiones, en arreglo factorial. Las variables analizadas fueron el daño artificial, natural y total originado por el patógeno al tejido vascular y su efecto en la producción y distribución de la materia seca y en el rendimiento de semilla y en sus componentes (peso de 100 semillas y número de semillas por panoja). Los promedios de temperatura y humedad relativa fueron favorables para la expresión del hongo. En promedio, el grupo de híbridos produjo más materia seca, mayor rendimiento de semilla por panoja y de sus componentes que los grupos de sus progenitores. Los valores promedio de heterosis y heterobeltiosis para rendimiento de semilla por panoja fueron 35 y 22%. Se identificaron híbridos y líneas B y R cuyos daños al tejido vascular provocados por la infección fueron menos severos y con menores reducciones en el rendimiento y en sus componentes. El promedio del rendimiento y del tamaño de semilla de los nuevos progenitores fue mayor que el de VA-110. Los resultados indican que la incorporación de tolerancia a *F. verticillioides* y de mayor tamaño de semilla, a las nuevas líneas progenitoras de híbridos de sorgo tolerantes al frío, ha sido satisfactoria.

Palabras clave: *Fusarium verticillioides*, *sorghum bicolor*, fitopatología, mejoramiento genético, tolerancia al frío.

ABSTRACT

The expansion of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) crop to the Central High Valleys of México, where cold tolerant experimental sorghum hybrids (CTESH) are already available, is limited by their susceptibility to stem and head blight (*Fusarium verticillioides*) and by the small seed size. The tolerance to this pathogen of new CTEH and some of their parental lines, to which this trait had been incorporated, was evaluated. In 2003, an experiment was established under field and irrigation conditions at Montecillo, State of México, in which 12 hybrids, 3 A-lines, 5 B-lines, 3 R-lines and the open pollinated variety VA-110 were evaluated. Three inoculation treatments at the onset of flowering, were applied per genotype: 1) injection of a pathogen suspension (5×10^4 conidia mL^{-1}); 2) injection with sterile water; and 3) control without inoculum or injection. A complete randomized blocks design with three replicates, in a factorial arrangement, was used. The variables analyzed were: induced, natural and total damage caused by the pathogen on the vascular tissue, and its effect on dry matter production and distribution, and on seed yield and its components (100-seeds weight and number of seeds per panicle). The average temperature and relative humidity were favourable to the disease expression. On the average, the hybrids group produced more dry matter, higher seed yield per panicle and of its components than the groups of parental lines. The average values of heterosis and heterobeltiosis for seed yield per panicle were 35 and 22%. Some hybrids, and B and R-lines were found with less severe damage to vascular tissue and with lower yield and seed components reductions caused by the pathogen infection. The yield average and the seed size of the new parental lines were higher than those of VA-110. The results indicate that tolerance to *F. verticillioides* and greater seed size were traits successfully incorporated to new parental lines of cold tolerant sorghum hybrids.

Key words: *Fusarium verticillioides*, *sorghum bicolor*, phytopathology, plant breeding, cold tolerance.

INTRODUCTION

In México, grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) is an agricultural and economically valuable crop, which is sown in nearly all the

INTRODUCCIÓN

En México, el sorgo granífero (*Sorghum bicolor* L. Moench) es un cultivo de importancia agrícola y económica que se siembra en casi todo el país. El 90% de la producción (cerca de 3.8 millones t) proviene de regiones agrícolas con altitudes inferiores a 1800 m, donde prevalecen temperaturas mínimas promedio mayores de 15 °C durante el ciclo de cultivo (Williams-Alanís, 2002). Casi toda la superficie (1.0 millón ha) se siembra con semilla híbrida (Zavala *et al.*, 2002).

En los Valles Altos Centrales de México, cuya altitud promedio es superior a 1800 m, prevalecen temperaturas diurnas mínimas promedio cercanas a 8 °C durante la estación de crecimiento. Para esta región, el Programa de Mejoramiento Genético de Sorgo del Colegio de Posgraduados (PMGS-CP) desarrolló un primer grupo de sorgos híbridos experimentales tolerantes al frío (SHETF) (Mendoza-Onofre, 1991, 1992; Osuna-Ortega *et al.*, 2000, 2001).

El tizón del tallo y de la panoja, causado por *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (antes, *F. moniliforme*) es una enfermedad muy común en las áreas sorgueras de México, especialmente en la región del Bajío (Hernández *et al.*, 1987b). El daño económico que este patógeno ocasiona depende de varios factores, *i. e.*, el genotipo, la etapa fenológica del cultivo cuando ocurre la infección y las condiciones ambientales, especialmente temperatura y humedad, favorables tanto para la incidencia y severidad de la enfermedad, como para el desarrollo de la planta (Reid *et al.*, 1999; Stack y Pederson, 2002; Tesso *et al.*, 2004). En Montecillo y Chapingo, Estado de México (2240 m), Hernández *et al.* (1987a) y Mendoza-Onofre *et al.* (1998) demostraron una alta incidencia en campo de *Fusarium* spp. y que basta cualquier herida natural, como consecuencia de escardas o daños de trips (*Franklinella* sp.) o pulgones (*Rhopalosiphum* sp.), o artificial, como la causada por una aguja o un palillo, sin inóculo, para que el hongo penetre e infecte a las plantas.

Uno de los objetivos del PMGS-CP ha sido la incorporación de características deseables a las líneas progenitoras de los SHETF, como mayor tamaño y peso de semilla y tolerancia a *F. verticillioides*, patógeno al cual las líneas originales eran altamente susceptibles. El origen de las fuentes genéticas de la tolerancia a esta enfermedad, así como los avances iniciales de la incorporación de tal característica a las líneas tolerantes al frío se encuentran en Mendoza-Onofre *et al.* (1998).

Con objeto de evaluar el comportamiento de las nuevas líneas progenitoras, así como de los SHETF

country. Ninety percent of the production (almost 3.8 million t) comes from agricultural regions below to 1800 m of altitude, with a prevalence of average minimum temperatures over 15 °C during the crop growing season (Williams-Alanís, 2002). Almost all the production area (1.0 million ha) is sown with hybrid seed (Zavala *et al.*, 2002).

In the Central High Valleys of México, with an average altitude over 1800 m, there is a prevalence of average minimum daily temperatures approaching 8 °C during the crop growing season. For this region, the Sorghum Breeding Program of the Colegio de Posgraduados (PMGS-CP) developed a first group of cold tolerant experimental sorghum hybrids (CTESH) (Mendoza-Onofre, 1991, 1992; Osuna-Ortega *et al.*, 2000, 2001).

The stem and head blight, caused by *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (previously, *F. moniliforme*) is a very common disease in the sorghum growing areas of México, especially in the Bajío region (Hernández *et al.*, 1987b). The economic damage caused by this pathogen depends on various factors, *i. e.*, genotype, the phenological stage of the crop when the infection occurs, and the environmental conditions, particularly temperature and humidity, favourable for incidence and disease severity, as well as for the plant development (Reid *et al.*, 1999; Stack and Pederson, 2002; Tesso *et al.*, 2004). In Montecillo and Chapingo, State of México (2240 m altitude), Hernández *et al.* (1987a) and Mendoza-Onofre *et al.* (1998) demonstrated a high field incidence of *Fusarium* spp., and that any natural lesions caused, for instance, as a result of weeding, feeding damage from trips (*Franklinella* sp.) or aphids (*Rhopalosiphum* sp.), or artificial lesions, such as that caused by a thorn or twig, without inoculum, are enough for the fungus to penetrate and infect the plants.

One of the purposes of the PMGS-CP has been the incorporation of desirable traits to the parental lines of the CTEHS, such as greater size and seed weight, and tolerance to *F. verticillioides*, pathogen to which the original lines were highly susceptible. The origin of the genetic sources of the tolerance to this disease, as well as the initial advances of the incorporation of this trait to the cold tolerant lines, is found in Mendoza-Onofre *et al.* (1998).

With the objective of evaluating the behaviour of the new parental lines, as well as their corresponding CTEHS, a study was conducted in which in the first phase, under field and laboratory conditions, the goal was to assess the physical, physiological and sanitary conditions of the seed sown (Cisneros-López *et al.*, 2007). In the sanitary evaluation, no *F. verticillioides* was detected; nor was any isolate of this species found

formados con ellas, se realizó un estudio en cuya primera etapa se evaluaron, en campo y laboratorio, las características físicas, fisiológicas y sanitarias de la semilla utilizada (Cisneros-López *et al.*, 2007). En la evaluación sanitaria no se detectó *F. verticillioides*; tampoco se encontró cepa alguna de esta especie en la Colección de Hongos del CP, por lo que fue necesario aislar una cepa específica del hongo adaptada y prevalente a Montecillo, con la cual realizar las inoculaciones planteadas en esta investigación.

El objetivo particular del presente estudio fue evaluar la tolerancia del nuevo grupo de híbridos y progenitores a *F. verticillioides*, mediante la cuantificación del daño vascular ocasionado por el hongo, y su efecto en la producción y distribución de la materia seca y del rendimiento de semilla y sus componentes, bajo el supuesto de que el efecto será diferencial y afectará más a los progenitores que a los híbridos debido a la heterosis.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento de *Fusarium verticillioides*

El 13 de marzo del 2003, en Montecillo, Estado de México, se sembró un lote de 5 surcos de 3 m de longitud con la var. VA-110, susceptible a *Fusarium* spp., para utilizarla como trampa del patógeno. Se hicieron tres muestreos, de 10 plantas cada uno, el 14 de abril (etapa fenológica en 3ª a 4ª hoja), 19 de mayo (6ª a 7ª hoja) y 29 de mayo (hoja bandera). En cada muestreo se tomaron 20 fracciones de 1 cm² de láminas foliares y tallos, provenientes de tejidos dañados, que se desinfectaron por 5 min en una solución comercial de hipoclorito de sodio diluida 10 veces. Cinco fracciones se sembraron en caja Petri (una repetición) que contenía el medio PDA (papa-dextrosa-agar). Hubo cuatro repeticiones por órgano. Después de 5 a 6 d de incubación a 25 °C, muestras del talo de micelios con características semejantes a este género se colocaron en cajas Petri con el mismo medio, para favorecer el crecimiento y la esporulación del hongo. Una vez que las estructuras reproductivas se desarrollaron, se hizo la identificación microscópica con base en las características morfológicas del género y las claves de Nelson *et al.* (1983) aplicándose la técnica de cinta (Warham *et al.*, 1996). La purificación de especies se efectuó con el procedimiento propuesto por Waller *et al.* (1998). La cepa correspondiente a *F. verticillioides* se conservó en suelo estéril y húmedo dentro de tubos de ensaye (Narro *et al.*, 1992). Una vez confirmada la patogenicidad de la cepa, se incorporó a la Colección de Hongos del CP.

La preparación del inóculo se llevó a cabo 15 d antes de su aplicación en el campo, para tener al patógeno en un mismo estado de crecimiento. De la cepa pura 156/16/06/03 se preparó, mediante la técnica de dilución (De la Isla, 1992), una suspensión conteniendo 5×10^4 conidios mL⁻¹, semejante a la utilizada por Narro *et al.* (1992) y Tesso *et al.* (2004).

in the Fungus Collection of the CP. Thus, it was necessary to obtain a specific isolate adapted to and prevalent in Montecillo, in order to apply the inoculations in this research.

The particular objective of the present study was to evaluate the tolerance of the new group of hybrids and parental lines to *F. verticillioides*, by means of the quantification of the vascular damage caused by the fungus, the effect on dry matter production and distribution, and on seed yield and its components, under the assumption that the effect will be differential and will have a greater effect on the parental lines than that on the hybrids, as a result of heterosis.

MATERIALS AND METHODS

Isolation of *Fusarium verticillioides*

On March 13, 2003, in Montecillo, State of México, a plot of 5 rows, 3 m in length, was sown with VA-110, susceptible to *Fusarium* spp., to be used as a crop trap of the pathogen. Three samplings were made, of 10 plants each, on April 14 (phenological stage in 3rd to 4th leaf), May 19 (6th to 7th leaf) and May 29 (flag leaf). In each sampling, 20 tissue fractions of 1 cm² were taken from damaged laminae and stem tissues, which were surface sterilized for 5 min in a commercial solution of sodium hypochlorite diluted 10 times. Five fractions were sown in a Petri dish (a replicate) containing the PDA (potato-dextrose-agar) medium. Four replicates were made per plant organ. After 5 to 6 d of incubation at 25 °C, pieces of medium with *Fusarium*-like mycelia were placed in Petri dishes with the same medium, to favour the growth and sporulation of the fungus. Once the reproductive structures developed, the microscopic identification was made based on the morphological characteristics of the genus and the keys proposed by Nelson *et al.* (1983) applying the tape technique (Warham *et al.*, 1996). The species purification was carried out with the procedure proposed by Waller *et al.* (1998). The isolate corresponding to *F. verticillioides* was conserved in sterile and wet soil in test tubes (Narro *et al.*, 1992). Once the pathogenicity of the isolate was confirmed, it was incorporated into the Fungus Collection of the CP.

The preparation of the inoculum was carried out 15 d prior to its application in the field, in order to maintain the same growth pathogen stage. From the pure isolate 156/16/06/03, a suspension was prepared using the dilution technique (De la Isla, 1992), containing 5×10^4 conidia mL⁻¹, similar to that applied by Narro *et al.* (1992) and Tesso *et al.* (2004).

Field experiment

Sowing took place on May 9, 2003. A complete randomized blocks experimental design was established with three replicates, in factorial arrangement, product of 24 genotypes (12 hybrids, 3 A-lines, 5 B-lines, 3 R-lines, and VA-110) (Table 1) and three inoculation treatments: 1) with inoculum, 5 mL of a suspension of 5×10^4 conidia

Experimento de campo

La siembra fue el 9 de mayo de 2003. Se empleó el diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones, en arreglo factorial, producto de 24 genotipos (12 híbridos, 3 líneas A, 5 líneas B, 3 líneas R y VA-110) (Cuadro 1) y tres tratamientos de inoculación: 1) con inóculo, 5 mL de una suspensión de 5×10^4 conidios mL^{-1} inyectada con jeringa, para asegurar la incidencia del patógeno y la uniformidad de la densidad de inóculo; 2) inyección de 5 mL de agua destilada estéril; 3) testigo, sin inyección de agua ni de inóculo.

La parcela experimental tenía dos surcos de 5.0 m de longitud y 0.90 m aparte; la parcela útil fueron cinco plantas seleccionadas al azar, con competencia completa, por tipo de inoculación en cada genotipo. La inyección se aplicó en el pedúnculo a 5 cm de la base de la panoja, al inicio de la floración (Hernández *et al.*, 1987c; Mendoza-Onofre *et al.*, 1998). En algunas parcelas se inocularon plantas adicionales para dar seguimiento a la sintomatología y a la efectividad de la inoculación, mediante muestreos destructivos de tres a cinco plantas al azar, cada 4 d, durante 30 d. Después de la inoculación, para evitar daños por pájaros, las panojas de las cinco plantas tratadas se mantuvieron cubiertas con bolsas de papel hasta la cosecha. En las líneas androestériles (líneas A) se efectuaron dos polinizaciones manuales, con mezcla abundante de polen de plantas fértiles vecinas, 7 d después de la inoculación y 5 d más tarde, para asegurar una mayor fecundación y evitar así modificar las relaciones fuente-demanda de fotoasimilados durante la etapa de llenado de grano (Dodd, 1980; Hernández y Mendoza, 1988). La cosecha se efectuó después de la madurez fisiológica de la semilla cortando las plantas desde la base del tallo. Se aplicó riegos de siembra y de auxilio conforme lo requirió el cultivo, así como las prácticas de manejo recomendadas. También se registraron datos de temperatura media y humedad promedio diaria desde la siembra hasta la cosecha, de mayo a noviembre de 2003, en una estación meteorológica ubicada a 150 m del experimento.

Las variables medidas fueron: días a floración (DF), días desde la siembra hasta que 50% de las panojas de las plantas de la parcela presentaban entre 25 y 50% de floración. En cada planta: la longitud de la panoja (LP), del tallo (LT), anchura apical (en el pedúnculo, AAT) y anchura basal (primer entrenudo, ABT) del tallo, en cm; y área vascular del tallo (AVT) $\{AVT = [(AAT + ABT)/2 \times LT]\}$, en cm^2 ; así como la producción de la biomasa aérea: materia seca (MS), en tallo (MST), láminas (MSL), vainas (MSV), ramas (MSR), panoja (MSP), raquis-raquillas (MSRQ) y total (MSTO) por planta, resultado de separar las partes de la planta y secarlas a 70 °C por 76 h en una estufa Felisa Mod. 293 A. También se obtuvo el rendimiento de semilla de la panoja principal (RSP), en g/panoja; y el peso de 100 semillas (PS, g) en una muestra compuesta de las cinco plantas por tratamiento y por repetición; con los cuales se calculó el número de semillas por panoja $[NSP = (RSP/PS) \times 100]$.

En las mismas plantas, la severidad del daño se evaluó en el tallo y en la panoja. En el tallo, la severidad se midió con base en el porcentaje del área vascular dañada respecto al área total (Mendoza-Onofre *et al.*, 1998), dividiéndola en tres tipos: 1) severidad artificial (SA) causada por la infección del patógeno inoculado y localizada

Cuadro 1. Relación de híbridos, progenitores y variedad de sorgo tolerantes al frío.

Table 1. Hybrids, parental lines, and variety of cold tolerant sorghum.

Tipo	Genotipo	Tipo	Genotipo y clave
Híbridos	A1XR17	Progenitores Líneas androestériles	A2
	A2XR14		A3
	A2XR19		A5
	A3XR14	Líneas mantenedoras	B2
	A3XR17		B3
	A3XR19		B5
	A3XR22		B6
	A5XR14		B9
	A6XR14		
	A9XR14		
	A9XR17	Líneas restauradoras	R14
	A9XR19		R17
			R22
		Variedad	VA-110

mL^{-1} injected with a syringe, to assure the incidence of the pathogen and the uniformity of the inoculum density; 2) injection of 5 mL of sterilized distilled water; 3) control, without injection of water or inoculum.

The experimental plot was two rows, 5.0 m in length and 0.90 m apart; the useful plot consisted of five fully competitive and randomly selected plants, per type of inoculation in each genotype. The injection was applied in the peduncle 5 cm from the panicle base, at the onset of flowering (Hernández *et al.*, 1987c; Mendoza-Onofre *et al.*, 1998). In some plots additional plants were inoculated to follow up the development of symptomatology and to verify the effectiveness of the inoculation, by means of destructive samplings of three to five plants at random, every 4 d, during 30 d. After inoculation, in order to avoid damage by birds, the panicles of the five treated plants were kept covered with paper bags until harvest. In the male-sterile lines (A-lines), two manual pollinations with an abundant mixture of pollen from neighbouring fertile plants were carried out at 7 d after inoculation and 5 d later, to insure higher fecundation and thus avoid modifying the sink-source relationships of photo-assimilates during the grain filling period (Dodd, 1980; Hernández and Mendoza, 1988). The harvest was made after the seed physiological maturity cutting the plants at the base of the stem. A sowing and auxiliary irrigations were applied as required by the crop, as well as the recommended agronomic management. Data of mean temperature and average daily humidity were also recorded from sowing to harvest, from May to November of 2003, in a meteorological station located 150 m from the experiment.

The variables measured were: days to flowering (DF), days from sowing until 50% of the panicles of the plants of the plot showed between 25 and 50% flowering. In each plant: the panicle (LP) and stem (LT) length; apical width (in the peduncle, AAT) and basal width (first internode, ABT) in cm, and vascular area of the stem (AVT) $\{AVT = [(AAT + ABT)/2 \times LT]\}$, in cm^2 ; as well as the

sólo en el pedúnculo; 2) severidad natural (SN) causada por la presencia del patógeno, localizada en cualquier otro punto del tallo, con o sin herida de por medio; 3) severidad total (ST=SN+SA). La severidad del daño en la panoja (SP) se midió visualmente y se expresó como porcentaje de lesiones a raquis, raquillas y eje central, desde la base hasta el ápice de la panoja, respecto al total de esos tejidos.

Los promedios de las cinco plantas, por repetición, se sometieron a análisis de varianza (ANAVA) (SAS, 1998). Los tipos de transformación de las variables expresadas en porcentaje, aplicados a los cinco grupos (híbridos, líneas A, líneas B, líneas R y VA-110), la prueba de comparación de medias entre los grupos y la manera en la que se calcularon y compararon los valores de heterosis y heterobeltiosis, se encuentran en Cisneros-López *et al.* (2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los promedios de temperatura y humedad relativa, durante los 30 d previos y 30 d posteriores a la inoculación (19.5 °C y 72.9%) se consideraron favorables para la infección pues fueron ligeramente inferiores a las óptimas (24 a 30 °C y 86 a 90%) para el establecimiento de la enfermedad en EE. UU. (Reid *et al.*, 1999). En México no se encontraron reportes de las condiciones de humedad y temperaturas óptimas para el desarrollo de la enfermedad. La humedad relativa se mantuvo casi constante hasta el final del ciclo, pero la temperatura disminuyó a 14.9 °C en octubre, cuando ocurrió la madurez fisiológica de la semilla.

En los muestreos efectuados en las plantas adicionales inoculadas, se observó que las lesiones en pedúnculo y resto del tallo ocurrieron 15 d después de la inoculación, manifestándose como coloraciones púrpura en el tejido vascular y fragilidad en los puntos afectados. En la panoja, los síntomas se presentaron una semana después de los del tallo y fueron estrangulamientos en las axilas de las raquillas y manchas de color café y rojizas en el raquis, semejantes a los descritos por Larry y Giorda (2002) y Frederiksen y Odvody (2000) para *F. verticillioides*. Las lesiones aumentaron paulatinamente en los muestreos posteriores.

En el Cuadro 2 se presentan los resultados del ANAVA y hay una alta frecuencia de efectos significativos para grupos de genotipos, una menor frecuencia para el efecto de los tratamientos de inoculación y sólo en dos de las 20 variables hubo significancia estadística para la interacción grupos de genotipos × inoculación.

En el Cuadro 3 se observa que el grupo de híbridos, en promedio, fue el más tardío y VA-110 fue el genotipo más precoz, con 10 d de diferencia entre ambos. En la mayoría de las variables morfológicas y en todas las variables relacionadas con la producción de materia seca (excepto en ramas), incluyendo el rendimiento de

aboveground biomass production, dry matter (MS), of stem (MST), laminae (MSL), sheaths (MSV), branches (MSR), panicle (MSP), rachis-rachillas (MSRQ) and total (MSTO) per plant, resulting from the separation of these organs and drying them at 70 °C for 76 h in a Felisa oven, Mod. 293 A. The seed yield of the main panicle was also obtained (RSP), in g/panicle; and the 100-seeds weight (PS, g) in a sample comprised of five plants per treatment and per replicate; with which the number of seeds per panicle was calculated [$NSP = (RSP/PS) \times 100$].

In the same plants, the severity of the fungus damage was evaluated in the stem and in the panicle. In the stem, the severity was measured based on the percentage of the damaged vascular area with respect to the total area (Mendoza-Onofre *et al.*, 1998), divided into three types: 1) artificial severity (SA) caused by the infection of the inoculated pathogen and located only in the peduncle; 2) natural severity (SN) caused by the presence of the pathogen, located in any other point of the stem, with or without a wound; 3) total severity (ST=SN+SA). The severity of the damage in the panicle (SP) was measured visually and was expressed as percentage of lesions to rachis, rachillas and central axis, from the base to the apex of the panicle, with respect to the total of these tissues.

The averages of the five plants, per replicate, were subjected to analysis of variance (ANOVA) (SAS, 1998). The types of transformation of the variables expressed in percentage, applied to the five groups (hybrids, A-lines, B-lines, R-lines, and VA-110), the means comparison test among the groups and the way in which the values of heterosis and heterobeltiosis were calculated and compared, are found in Cisneros-López *et al.* (2007).

RESULTS AND DISCUSSION

The temperature and relative humidity averages, during the 30 d prior to and 30 d after inoculation (19.5 °C and 72.9%) were considered favourable for the infection, as they were slightly lower than the optimum (24 to 30 °C and 86 to 90%) for the establishment of the disease in the U.S.A. (Reid *et al.*, 1999). In México, no reports were found about humidity and temperature optimum conditions for the development of the disease. The relative humidity was maintained almost constant until the end of the crop season, but the temperature dropped to 14.9 °C in October, when the seed physiological maturity occurred.

In the sampling made in the additional inoculated plants, it was observed that the lesions in peduncle and the rest of the stem occurred 15 d after inoculation, manifested as purple coloration in the vascular tissue and fragility in the infection sites. In the panicle, the symptoms appeared one week later than those of the stem, and were strangulation in the axiles of the rachillas and brown and reddish spots in the rachis, similar to those described by Larry and Giorda (2002) and Frederiksen and Odvody (2000) for *F. verticillioides*. The lesions gradually increased in the later samplings.

semilla por panoja (RSP) y sus componentes (NSP y PS), el grupo de híbridos fue superior al de sus progenitores maternos (líneas A o líneas B) y superior o igual al de sus progenitores paternos (líneas R), lo que confirma que el comportamiento de este nuevo grupo de híbridos es más semejante a sus progenitores paternos que a sus maternos (Cisneros-López *et al.*, 2007).

La presencia de vigor híbrido en este nuevo grupo de SHETF también es evidente; *i. e.*, en promedio, el grupo de híbridos presentó 35% de heterosis (superioridad respecto al promedio de los grupos de sus progenitores - líneas R y líneas B) y 22% de heterobeltiosis (superioridad respecto al mejor grupo de sus progenitores - líneas R) en este caso, en el rendimiento de semilla por panoja. La superioridad del rendimiento del híbrido respecto al promedio de sus progenitores o respecto al mejor de los progenitores está documentada en sorgo (House, 1982; Doggett, 1988; Peña *et al.*, 2002, 2004).

Entre las líneas A y B, por ser isogénicas, no se detectaron diferencias significativas para la mayoría de las variables (Cuadro 3). Pero destaca que el rendimiento promedio de semilla por panoja del grupo de líneas B progenitoras de estos nuevos SHETF (28.0 g) no fue estadísticamente diferente al del testigo (27.6 g), y el promedio de las líneas R (34.9 g) fue estadísticamente superior a VA-110, lo cual es un evidente avance del PMGS-CP pues en los primeros SHETF el rendimiento promedio de semilla por panoja de los progenitores fue inferior al de VA-110: 15.6 g para las líneas B y 18.8 g para las líneas R, contra 19.8 g de VA-110 (Osuna-Ortega *et al.*, 2003).

Cuadro 2. Significancia de los cuadrados medios de las fuentes de variación.

Table 2. Significance of the mean squares of the variation sources.

Variables	GG	I	GGxI
Días a floración	98.96**	0.00 ns	0.00 ns
Longitud del tallo	228.71**	0.32 ns	0.14 ns
Anchura basal del tallo	14.49**	0.28 ns	1.39 ns
Anchura apical del tallo	1.94 ns	0.90 ns	0.77 ns
Área vascular del tallo	102.75**	0.23 ns	0.28 ns
Longitud de panoja	25.43**	0.75 ns	1.10 ns
Severidad artificial en tallo	10.96**	228.83**	5.24*
Severidad natural en tallo	1.57 ns	0.36 ns	0.96 ns
Severidad total en tallo	5.59*	33.91**	0.87 ns
Severidad en la panoja	5.89*	4.18*	1.48 ns
Materia seca de tallo	128.17**	7.40*	0.74 ns
Materia seca de lámina	51.52**	0.61 ns	0.31 ns
Materia seca de vaina	63.08**	2.64 ns	0.75 ns
Materia seca de rama	1.69 ns	0.46 ns	0.23 ns
Materia seca de panoja	70.45**	5.43*	1.91 ns
Materia seca de raquis y raquillas	7.22**	1.36 ns	3.12*
Materia seca total	119.59**	13.02**	1.04 ns
Rendimiento de semilla por panoja	58.65**	19.72**	0.74 ns
Número de semillas por panoja	39.77**	18.79**	0.32 ns
Peso de 100 semillas	65.73**	4.53**	2.43 ns

GG: grupos de genotipos; I: tratamientos de inoculación; GGxI: interacción grupos de genotipos × inoculación.

Significancia con $p \leq 0.05$ (*), $p \leq 0.01$ (**).

The results of the ANOVA are shown in Table 2 and there is a high frequency of significant effects for groups of genotypes, a lower frequency for the effect of the inoculation treatments and that there was statistical

Cuadro 3. Comparación de medias entre grupos de genotipos para variables cuyo efecto fue significativo para esa fuente de variación.
Table 3. Mean comparisons among groups of genotypes for variables whose effect was significant for this source of variation.

GG	DF	LT	ABT	AV	LP	SA	ST	SP	
A	75.5 b	61.2 b	1.4 b	29.7 d	14.2 b	24.9 a	38.3 b	14.1 b	
B	76.2 b	67.2 b	1.5 b	36.0 c	13.7 b	21.6 a	38.1 b	25.1 a	
H	81.1 a	106.6 a	1.8 a	65.5 a	21.6 a	13.3 b	30.1 c	25.7 a	
R	73.4 b	107.0 a	1.6 a	59.9 b	15.6 b	16.1 b	32.7 c	27.8 a	
VA-110	71.0 bc	69.7 b	1.7 a	42.0 c	14.6 b	23.7 a	46.9 a	27.4 a	
GG	MST	MSL	MSV	MSP	MSRQ	MSTO	RSP	NSP	PS
A	7.4 c	3.1 c	4.4 b	21.8 d	9.6 b	37.9 e	13.0 d	563 b	1.998 b
B	8.7 c	3.3 c	4.4 b	37.1 c	9.8 b	53.9 cd	28.0 c	1547 a	1.796 b
H	18.6 a	6.6 a	7.1 a	55.6 a	13.2 a	90.3 a	42.5 a	1657 a	2.610 a
R	19.0 a	7.0 a	6.6 a	47.9 b	13.7 a	82.2 b	34.9 b	1437 a	2.145 bc
VA-110	11.2 b	4.9 b	6.9 a	38.6 c	10.9 b	61.9 c	27.6 c	1395 a	1.638 cd

GG: Grupos de genotipos; A: líneas androestériles; B: líneas mantenedoras; H: híbridos; R: líneas restauradoras; DF: días a floración; LT: longitud del tallo (cm); ABT: anchura basal del tallo (cm); AV: área vascular del tallo (cm²); LP: longitud de la panoja (cm); SA: severidad artificial (%); ST: severidad total del daño al área vascular (%); SP: severidad del daño en la panoja (%); materia seca (g) en tallo (MST), láminas (MSL), vainas (MSV), panoja (MSP), raquis y raquillas (MSRQ) y total (MSTO); RSP: rendimiento de semilla por panoja (g); NSP: número de semillas por panoja; PS: peso de 100 semillas (g). Valores con diferente letra para cada variable son diferentes estadísticamente (DMS, $p \leq 0.05$).

En cuanto a la severidad de las lesiones en el tallo, se corroboró la hipótesis planteada pues el grupo de híbridos presentó menores porcentajes de severidad artificial (SA) y total (ST) que el promedio de los dos grupos de progenitores, aunque no fue estadísticamente diferente al promedio del grupo de líneas restauradoras. Además, la diferencia entre ST y SA, o sea, la severidad natural (SN) del patógeno (con una media general ponderada de $20.5 \pm 19.8\%$, datos no mostrados), si bien no resultó significativa entre grupos de genotipos (Cuadro 2), confirma la alta incidencia de campo de *F. verticillioides* en el área de estudio (Hernández *et al.*, 1987a; Mendoza-Onofre *et al.*, 1998) pues basta una herida artificial o natural en el tallo para que el hongo penetre y colonice los tejidos. Por último, es clara la alta susceptibilidad de VA-110 a este patógeno ya que la severidad total del tallo fue 46.9% de su área vascular (Cuadro 3).

Respecto al efecto promedio de los tratamientos de inoculación (Cuadro 4), la inoculación artificial (inóculo en suspensión) resultó la más eficiente pues ocasionó el mayor porcentaje de daño vascular. Además, aunque sin diferencias significativas entre tratamientos de inoculación, la herida ocasionada por la aguja al inyectar agua sin inóculo (INO 2), fue suficiente para ocasionar infecciones naturales (SN) de *F. verticillioides* (Hernández *et al.*, 1987a; Mendoza-Onofre *et al.*, 1998), lo cual incrementó significativamente la severidad total del daño en el tallo (36.9%), respecto a la ocurrida en ausencia de herida (INO 3, 26.7%). Se debe notar que las panojas de las plantas testigo, cuyos pedúnculos no fueron inoculados ni inyectados con agua (INO 3), presentaron un porcentaje de lesiones (26.6%) estadísticamente similar al de las panojas de las plantas inoculadas (25.2%), lo que evidencia que en condiciones de campo las lesiones naturales del tallo son la fuente principal de entrada del inóculo a la panoja.

El efecto negativo del hongo en la producción y distribución de la materia seca de la planta fue evidente. En promedio, el peso seco de tallo, panoja y total, así como el rendimiento de semilla por panoja y de sus

significance in only two of the 20 variables for the interaction groups of genotypes $\times$ inoculation.

In Table 3 it can be observed that on the average, the group of hybrids was the latest and VA-110 was the earliest genotype to mature, with 10 d of difference between the two. In most of the morphological variables and in all of the variables related to the dry matter production (except in branches), including seed yield per panicle (RSP) and its components (NSP and PS), the group of hybrids was superior to that of its female parents (A-lines or B-lines) and higher or equal to that of its male parents (R-lines). Therefore, it is confirmed that the behaviour of this new group of hybrids is more similar to its paternal than to its maternal parents (Cisneros-López *et al.*, 2007).

The presence of hybrid vigour in this new group of SHETF is also evident; *i.e.*, on average, the heterosis for seed yield per panicle (superiority with respect to the average of the groups of its parental R-lines and B-lines) was 35%, and 22% of heterobeltiosis (superiority with respect to the best group of its parents, R-lines) in this case in the seed yield per panicle. The higher yield of the hybrid with respect to the average of its parents or with respect to the best parent is documented in sorghum (House, 1982; Doggett, 1988; Peña *et al.*, 2002, 2004).

Between A and B-lines, because they are isogenic, no significant differences were detected for most of the variables (Table 3). However, it is outstanding that the average seed yield per panicle of the parental group of B-lines of these new SHETF (28.0 g) was not statistically different from that of the control (27.6 g), and the average of the R-lines (34.9 g) was statistically higher than VA-110, which is an evident progress of the PMGS-CP, given that in the first group of SHETF, the average seed yield per panicle of the parents was lower than that of VA-110: 15.6 g for B-lines and 18.8 g for R-lines, against 19.8 g of VA-110 (Osuna-Ortega *et al.*, 2003).

As for the severity of the lesions in the stem, the proposed hypothesis was confirmed, as the hybrids

Cuadro 4. Comparación de medias de los tipos de inoculación para las variables cuyo efecto resultó significativo para esa fuente de variación.

Table 4. Mean comparisons among types of inoculation for the variables whose effect was significant for this source of variation.

INO	SA	ST	SP	MST	MSP	MSTO	RSP	NSP	PS
1	38.5 a	47.8 a	25.2 a	12.3 b	36.2 b	60.5 b	25.4 b	1161 b	1.913 b
2	22.0 b	36.9 b	20.2 b	12.3 b	40.6 a	64.4 b	28.9 b	1275 b	2.087 b
3	0.0 c	26.7 c	26.6 a	14.6 a	43.9 a	70.9 a	33.5 a	1523 a	2.113 a

Inoculación (INO): con inyección de *F. verticillioides* (1), inyección con agua (2) y testigo (3); severidad de las lesiones por inoculación artificial (SA, %) y total (ST, %) al área vascular; severidad en la panoja (SP, %); distribución de materia seca (g) en tallo (MST), panoja (MSP) y total (MSTO); rendimiento de semilla por panoja (RSP, g), número de semillas por panoja (NSP) y peso de 100 semillas (PS, g). Medias con diferente letra para cada variable son diferentes estadísticamente (DMS, $p \leq 0.05$).

dos principales componentes (número y peso de semillas) fue mayor en las plantas testigo (INO 3, Cuadro 4). Además, en el promedio de los cinco grupos, la reducción de RSP y NSP observadas en las plantas inoculadas (INO 1) fue equivalente a 24% del testigo, en tanto que las reducciones para MST, MSP y MSTO fueron menores (16, 18 y 15%). Esto corrobora que durante la etapa de llenado la semilla es la principal demanda fisiológica y que cuando el sistema de transporte de metabolitos hacia esa demanda es afectado por patógenos como este hongo, los fotoasimilados pueden acumularse en estructuras vegetativas, *i. e.*, el propio tallo (Dodd, 1980; Hernández y Mendoza, 1988).

Para la variación de los genotipos dentro de cada grupo (Cuadro 5) se identifican los que tuvieron los valores mínimos y máximos para las variables más relevantes a los objetivos del estudio, en promedio de los tres tratamientos de inoculación. Se observa que uno de los híbridos más precoces (A1xR17), el de menor rendimiento de semilla por panoja dentro de ese grupo (32.8 g), superó al RSP de VA-110 en 19%; mientras que el híbrido más rendidor (A9xR19) duplicó el RSP de VA-110, lo que es otra evidencia del avance logrado por el PMGS-CP en la selección por rendimiento de semilla. También destaca que el rendimiento de la línea restauradora R22 (similar al de seis de los 12 híbridos) superó a VA-110 en 43%. Esto confirma las observaciones de León *et al.* (1998) de que algunas líneas R generadas por el PMGS-CP podrían recomendarse para su siembra como variedades de polinización libre en sustitución de VA-110. En el peso de 100 semillas, es clara la superioridad que la mayoría de las líneas progenitoras (B o R) tienen sobre VA-110, lo cual demuestra que la selección para este carácter también fue exitosa. Finalmente, se observa que los porcentajes de severidad artificial en la línea B9 (12.5%) y en las tres líneas restauradoras (cuyo valor máximo fue 15.2%) fueron menores a los presentados por VA-110. Mediante comparaciones similares de los datos de la severidad natural y total, se infiere que la incorporación de tolerancia al *F. verticillioides* a las líneas sobresalientes del PMGS-CP iniciada por Mendoza-Onofre *et al.* (1998), ha dado buenos resultados.

Respecto a los resultados de la interacción entre los grupos de genotipos y los tratamientos de inoculación que sólo fue significativa para SA y MSR (Cuadro 2), se observó (Cuadro 6) que la inoculación artificial del patógeno ocasionó un mayor daño al tejido vascular del grupo de líneas A y del testigo, que a los demás grupos, incluyendo al de sus contrapartes mantenedoras. El mayor daño vascular y los menores RSP y NSP del grupo de líneas A que sus isogénicas B (Cuadro 3), a pesar de que la polinización se efectuó dos veces con abundante polen, probablemente se debió a que la

group had lower percentages of artificial severity (SA) and total severity (ST) than the average of the two groups of parents, although it was not statistically different from the average of the group of restorer lines. Furthermore, the difference between ST and SA, that is, the natural severity (SN) of the pathogen (with a weighted general mean of $20.5 \pm 19.8\%$, data not shown), although not significant among groups of genotypes (Table 2), confirms the high field incidence of *F. verticillioides* in the area of study (Hernández *et al.*, 1987a; Mendoza-Onofre *et al.*, 1998), given that an artificial or natural lesion is enough for the fungus to penetrate and colonize the tissues. Finally, the high susceptibility of VA-110 to this pathogen is clear, as the total severity of the stem was 46.9% of its vascular area (Table 3).

With respect to the average effect of the inoculation treatments (Table 4), artificial inoculation (inoculum in suspension) was the most efficient, as it caused the highest percentage of vascular damage. In addition, although there were no significant differences among inoculation treatments, the lesion caused by the needle when injecting water without inoculum (INO 2), was enough to cause natural infections (SN) of *F. verticillioides* (Hernández *et al.*, 1987a; Mendoza-Onofre *et al.*, 1998), that significantly increased the total severity of damage in the stem (36.9%), compared to that occurred in absence of lesions (INO 3, 26.7%). It should be noted that the panicles of the control plants, whose peduncles were not inoculated or injected with water (INO 3), showed a percentage of lesions (26.6%) that was statistically similar to that of the panicles of the inoculated plants (25.2%), which indicates that under natural field conditions, the natural lesions of the stem are the main source of inoculum entry to the panicle.

The negative effect of the fungus on the dry matter production and distribution was evident. On the average, the dry weight of stem, panicle and total, as well as the seed yield per panicle and of its two main components (number and weight of seeds) was greater in the control plants (INO 3, Table 4). Furthermore, in the average of the five groups, the reduction of RSP and NSP observed in the inoculated plants (INO 1) was equivalent to 24% of the control, whereas the reductions for MST, MSP and MSTO were lower (16, 18 and 15%). This confirms that during the grain filling period, the seed is the main physiological sink and that when the transport system of metabolites toward this sink is affected by pathogens such as this fungus, the photo-assimilates can accumulate in vegetative structures, *i. e.*, the stem itself (Dodd, 1980; Hernández and Mendoza, 1988).

In Table 5 it is shown the variation of the genotypes within each group, *i. e.*, the minimum and maximum values for the variables that were most relevant to the

Cuadro 5. Valores mínimos, máximos, media y desviación estándar dentro de cada grupo, para las variables más representativas del estudio, así como genotipos respectivos.**Table 5. Minimum, maximum, mean values, and standard deviation within each group, for the most representative variables of the study, along with corresponding genotypes.**

Valores	Líneas mantenedoras	Líneas restauradoras	Híbridos	VA-110
Días a floración				
Mín	73.0 (B2)	70.7 (R14)	78.6 (A1XR17)	71.0±0.9
Máx	79.0 (B6)	78.0 (R22)	84.6 (A9XR14)	
Med±S	76.2±2.5	73.4±3.3	81.1±2.2	
Severidad artificial en el tallo				
Mín	12.5 (B9)	9.5 (R14)	3.6 (A6XR14)	23.4±24.4
Máx	27.0 (B3)	15.2 (R17)	22.5 (A3XR19)	
Med±S	20.3±21.2	12.5±14.2	9.5±13.6	
Severidad natural en el tallo				
Mín	16.8 (B5)	11.3 (R14)	9.7 (A9XR17)	30.0±25.0
Máx	23.9 (B2)	24.9 (R17)	20.6 (A1XR17)	
Med±S	19.7±14.0	18.3±11.2	17.5±15.3	
Severidad total en tallo				
Mín	32.4 (B9)	20.8 (R14)	13.8 (A6XR14)	53.4±23.9
Máx	47.5 (B2)	40.1 (R17)	45.3 (A3XR17)	
Med± S	39.5±24.2	30.8±20.0	27.0±20.1	
Materia seca total				
Mín	47.8 (B6)	73.3 (R14)	76.1 (A3XR14)	61.9±7.5
Máx	66.4 (B9)	94.5 (R22)	115.3 (A9XR19)	
Med±S	53.9±9.7	82.2±15.5	90.3±16.5	
Rendimiento de semilla por panoja				
Mín	25.3 (B5)	29.2 (R17)	32.8 (A1XR17)	27.5±4.4
Máx	33.1 (B9)	39.5 (R22)	56.4 (A9XR19)	
Med± S	28.0±5.7	34.9±10.4	42.5±12.1	
Número de semillas por panoja				
Mín	1314 (B2)	1092 (R17)	1143 (A1XR17)	1395±123.5
Máx	2199 (B9)	1706 (R22)	2485 (A9XR19)	
Med± S	1547±373.8	1437±362.8	1657±517.8	
Peso de 100 semillas				
Mín	1.393 (B9)	1.891 (R14)	2.301 (A9XR19)	1.638±0.11
Máx	2.067 (B6)	2.373 (R17)	2.901 (A1XR17)	
Med±S	1.796±0.33	2.145±0.28	2.610±0.33	

inoculación se efectuó al inicio de la floración y 7 d después se hizo la primera polinización manual; por tanto, ante la ausencia de la demanda fisiológica inicial el hongo pudo avanzar más rápido en la colonización del pedúnculo y de la panoja, que en las líneas androfértiles B. Esta interacción entre líneas A y B en respuesta a la inoculación artificial sugiere que en

objectives of this study, averaged over the three inoculation treatments. It is observed that one of the earliest hybrids to mature (A1xR17), with the lowest seed yield per panicle within this group (32.8 g), surpassed the RSP of VA-110 by 19%; whereas the hybrid with highest yield (A9×R19) doubled the RSP of VA-110, which is additional evidence of the progress

Cuadro 6. Promedios de la combinación de grupos de genotipos y tratamientos de inoculación para el porcentaje de severidad artificial en el tallo, causada por la inoculación de *F. verticillioides*.**Table 6. Averages of the combination of groups of genotypes and inoculation treatments for the severity percentage in the stem, caused by the inoculation of *F. verticillioides*.**

Grupos de genotipos	Inyección con inóculo	Inyección con agua	Sin inyección ni inóculo	Promedio de grupos
Líneas androestériles	55.5 a	22.7 b	0.0 d	26.1 A
Líneas mantenedoras	36.6 b	28.3 b	0.0 d	21.6 A
Híbridos	27.0 b	13.1 c	0.0 d	13.3 B
Líneas restauradoras	28.1 b	20.2 b	0.0 d	16.1 AB
VA-110	45.6 a	25.4 b	0.0 d	23.7 A
Prom. de tratamientos de inoculación	38.5 A	22.0 B	0.0 C	

Medias con letra mayúscula entre grupos de genotipos o entre tratamientos de inoculación, son diferentes estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$); Medias con diferente letra minúscula para la interacción son diferentes estadísticamente (DMS, $p \leq 0.05$).

posteriores estudios donde se evalúe la tolerancia a *F. verticillioides* en plantas androestériles de sorgo, la inoculación artificial debe ser después de la polinización manual, o bien, analizar la interacción entre el momento de la inoculación y el de la polinización controlada, porque es evidente que la fisiología del rendimiento de semilla de las plantas androestériles difiere del de sus isogénicas androfértiles.

CONCLUSIONES

Las condiciones de campo favorecieron la infección natural de *Fusarium*, así como la inducida por la inoculación artificial con *F. verticillioides*. El grupo de híbridos produjo más materia seca, mayor rendimiento de semilla por panoja y de sus componentes que los grupos de sus progenitores. Los valores promedio de heterosis y heterobeltiosis para rendimiento de semilla por panoja fueron 35 y 22%. La inoculación artificial causó reducciones significativas en el rendimiento de semilla por panoja y en sus componentes pero se identificaron nuevas líneas B y R con daños menos severos. El promedio del rendimiento y del tamaño de semilla de los nuevos progenitores fue mayor que VA-110. Por tanto, la incorporación de fuentes de tolerancia a *F. verticillioides* y de mayor tamaño de semilla, a líneas progenitoras de híbridos de sorgo tolerantes al frío, ha sido satisfactoria.

AGRADECIMIENTOS

A la M. C. Victoria Ayala y M.C. Bertha Tlapal Bolaños por su colaboración en la identificación de las especies de hongos.

LITERATURA CITADA

Cisneros-López, M. E., L. E. Mendoza-Onofre, G. Mora-Aguilera, L. Córdova-Téllez, y M. Livera-Muñoz. 2007. Híbridos y

achieved by the PMGS-CP in the selection for seed yield. It is also outstanding that the yield of the restorer line R22 (similar to that of six of the 12 hybrids) surpassed VA-110 by 43%. This confirms the observations of León *et al.* (1998) that some R-lines generated by the PMGS-CP could be recommended for sowing as open pollinated cultivars in substitution of VA-110. As for the 100-seeds weight, the superiority of most of the parental lines (B or R) over VA-110 is clear, which demonstrates that the selection for this trait has also been successful. Finally, it is observed that the percentages of artificial severity in line B9 (12.5%) and in the three restorer lines (whose maximum value was 15.2%) were lower than those of VA-110. Through similar comparisons of natural and total severity data, it is inferred that the incorporation of tolerance to *F. verticillioides* to the outstanding lines of the PMGS-CP initiated by Mendoza-Onofre *et al.* (1998), have had good results.

With respect to the results of the interaction among the groups of genotypes and the inoculation treatments that was only significant for SA and MSR (Table 2), it is observed (Table 6) that the induced inoculation of the pathogen caused greater damage to the vascular tissue of the A-lines and to the control, than to the rest, including the group of its maintainer counterparts. Although pollination was carried out twice with abundant pollen, the greater vascular damage and the lower RSP and NSP of the A-lines than its isogenic B lines (Table 3) was probably due to the fact that inoculation was applied at the onset of flowering and the first manual pollination was carried out 7 d later. Therefore, because of the absence of initial physiological sink, the fungus was able to advance more rapidly in the peduncle and panicle colonization, than in the male-fertile B lines. This interaction between A and B-lines in response to induced inoculation suggests that in future studies in which the tolerance to *F. verticillioides* is

- progenitores de sorgo tolerantes al frío. I: Calidad de la semilla y su influencia en el establecimiento de plántulas. *Agrociencia* 41: 45-55.
- De la Isla, B., M. L. 1992. Manual de Prácticas de Métodos de Investigación Fitopatológica. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Edo. de México. 45 p.
- Dodd, J. L. 1980. The photosynthetic stress-translocation balance concept of sorghum stalk rots. In: Williams, R. J., R. A. Frederiksen, L. K., Mughogho, and G. D. Bengston (eds.). *Sorghum Diseases: A World Review*. ICRISAT. India: pp: 300-305.
- Doggett, H. 1988. *Sorghum*. 2nd ed. Tropical Agricultural Series. Longman. London, U K. 512 p.
- Frederiksen, R. A., and G. N. Odvody. 2000. Compendium of Sorghum Diseases. 2nd ed. APS Press St. Paul, MN. USA. 79 p.
- Hernández M., M., y L. E. Mendoza O. 1988. El tizón de la panoja *Fusarium moniliforme* (Sheld.) S. & H. en sorgos con respuesta diferencial a la enfermedad. II. Efecto en las relaciones fuente-demanda. *Rev. Mex. Fitopat.* 6: 151-159.
- Hernández M., M., L. E. Mendoza O., and S. Osada K. 1987a. *Fusarium* inoculation techniques and organs of a cold tolerant sorghum under field conditions. *Sorghum Newsletter* 30: 75-76.
- Hernández M., M., L. E. Mendoza O., y S. Osada K. 1987b. Incidencia natural de *Fusarium moniliforme* (Sheld.) S. & H. sobre sorgo granífero en Celaya, Gto. *Rev. Mex. Fitopat.* 5: 27-31.
- Hernández M., M., L. E. Mendoza O., y S. Osada K. 1987c. Inoculación en sorgo en antesis con *Fusarium moniliforme* (Sheld.) S. & H. mediante palillo y jeringa en pedúnculo y tercer entrenudo basal. *Rev. Mex. Fitopat.* 5: 91-97.
- House, L. R. 1982. A Guide to Sorghum Breeding. ICRISAT. India. 238 p.
- Larry, E. C., and L. M. Giorda. 2002. Stalk rots in sorghum. In: Leslie, J. F. (ed). *Sorghum and Millets Diseases*. Iowa State Press. Ames, IO, USA. pp: 185-190.
- León V., H., L. E. Mendoza O., M. Livera M., and J. A. Estrada G. 1998. Phenology, seed yield and seed quality of cold tolerant sorghum restorer lines. *Agrociencia* 32: 339-347.
- Mendoza O., L. E. 1991. Sorgo. In: 10 años de Investigación Agrícola en la Región Central de México. Centro de Investigaciones Forestales y Agropecuarias del Estado de México. Campo Exp. Valle de México. INIFAP. SARH. Publicación Especial No. 4. pp: 104-118.
- Mendoza-Onofre, L. E. 1992. Grain yield of the first cold tolerant sorghum hybrids developed in Mexico. *Sorghum Newsletter* 33: 62.
- Mendoza-Onofre, L. E., V. A. González-Hernández, I. Aburto-Rizo, and S. Osada-Kawasoe. 1998. Response of cold tolerant sorghum lines to *Fusarium moniliforme* (Sheldon). *Agrociencia* 32: 233-239.
- Narro S., J., S. Osada K., E. Redondo J., y J. Ortega S. 1992. Especies de *Fusarium* en diferentes etapas fenológicas y tejidos de la planta de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) Moench, en el Estado de Guanajuato. *Rev. Mex. Fitopat.* 10: 192-199.
- Nelson, P. E., T. A. Toussoun, and W. F. O. Marasas. 1983. *Fusarium* species. An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State Univ. Press. University Park, PA, USA. 193 p.
- Osuna-Ortega, J., L. E. Mendoza-Onofre, V. A. González-Hernández, F. Castillo-González, Ma. del C. Mendoza-Castillo, and H. Williams-Alanís. 2000. Potential of cold tolerant germplasm in the adaptation and adaptability of sorghum in México: I. High Valleys. *Agrociencia* 34: 561-572.
- Osuna-Ortega, J., L. E. Mendoza-Onofre, F. Castillo-González, V. A. González-Hernández, Ma. del C. Mendoza-Castillo, H. Williams-Alanís, and M. Hernández-Martínez. 2001. Potential of cold tolerant germplasm in the adaptation and adaptability of sorghum in México: II. Río Bravo, Tamaulipas; and Celaya, Guanajuato. *Agrociencia* 35: 625-636.
- evaluated in male-sterile sorghum plants, artificial inoculation should be applied after manual pollination, or, an analysis should be made of the interaction between the time of inoculation and that of controlled pollination, because it is evident that the physiology of the seed yield of the male-sterile plants differs from that of its isogenic male-fertile counterparts.

CONCLUSIONS

The field conditions favoured the natural infection of *Fusarium*, as well as that induced by artificial inoculation with *F. verticillioides*. The group of hybrids produced more dry matter, higher seed yield per panicle and its components than the groups of parental lines. The average values of heterosis and heterobeltiosis for seed yield per panicle were 35 and 22%. Artificial inoculation caused significant reductions in seed yield per panicle and in its components, but new B and R-lines were identified with less severe damage. The average of seed yield and seed size of the new parental lines was higher than VA-110. Therefore, the incorporation of sources of tolerance to *F. verticillioides* and greater seed size, to parental lines of cold tolerant sorghum hybrids, has been successful.

—End of the English version—



- Osuna-Ortega, J., Ma. del C. Mendoza-Castillo, and L. E. Mendoza-Onofre. 2003. Sorghum cold tolerance, pollen production, and seed yield in the Central High Valleys of México. *Maydica* 48: 125-132.
- Peña R., A., J. D. Eastin, S. D. Kachman, y D. J. Andrews. 2002. Respuesta a la selección para rendimiento de grano y sus componentes número y tamaño de la semilla de sorgo. *Rev. Fitot. Mex.* 25: 49-56.
- Peña R., A., J. D. Eastin, S. D. Kachman, y D. J. Andrews. 2004. Herencia del rendimiento, número y tamaño de grano en sorgo. *Rev. Fitot. Mex.* 27: 149-156.
- Reid, L. M., R. W. Nicol, T. Oullet, M. Savard, J. D. Miller, J. C. Young, D. W. Stewart, and A. W. Schaafsma. 1999. Interaction of *Fusarium graminearum* and *F. moniliforme* in maize ears, disease progress, fungal biomass, and mycotoxin accumulation. *Phytopathology* 89: 1029-1037.
- SAS Institute. 1998. SAS/SAT Users Guide. Version 6.09. SAS Inst., Cary, NC. USA. pp: 100-120.
- Stack, J. P., and J. F. Pederson. 2002. Expression of susceptibility to *Fusarium* head blight and grain mold in A1 y A2 cytoplasm of *Sorghum bicolor*. *Plant Dis.* 87: 172-176.
- Tesso, T., L. E. Claflin, and M. R. Tuinstra. 2004. Estimation of combining ability for resistance to *Fusarium* stalk rot in grain sorghum. *Crop Sci.* 44: 1195-1199.
- Waller, J. M., B. J. Ritchie, and M. Holderness. 1998. *Plant Clinic Handbook*. CAB Int. Press. Wallingford, UK. 94 p.
- Warham, E. J., D. Butter, y B. C. Sutton. 1996. Ensayos para la Semilla de Maíz y de Trigo. Manual de Laboratorio. CIMMYT. 84 p.

Williams-Alanis, H. 2002. Sorghum and Millet Diseases in Mexico.
In: Leslie, J. F. (ed). Sorghum and Millets Diseases. Iowa State
Press. Ames, IO, USA. pp: 457-463.

Zavala G., F., E. Ortiz P., N. E. García T., G. E. Salinas G. y H.
Gómez. 2002. Mejoramiento genético en sorgo para resistencia
a Ergot. Ciencia UANL V (3). pp: 322.