

HÍBRIDOS Y PROGENITORES DE SORGO TOLERANTES AL FRÍO. III: CALIDAD DE LA SEMILLA COSECHADA DE PLANTAS INFECTADAS CON *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg

COLD TOLERANT SORGHUM HYBRIDS AND PARENTAL LINES. III: QUALITY OF SEEDS HARVESTED FROM PLANTS INFECTED WITH *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg

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

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

RESUMEN

Un factor que restringe la expansión comercial del sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) en los Valles Altos Centrales en México, es su susceptibilidad al tizón del tallo y de la panoja, enfermedad causada por *Fusarium verticillioides* (*F. moniliforme*). Ante la ausencia de información acerca de la calidad de la semilla cosechada de plantas infectadas con este hongo, en 2003 se estableció un experimento en Montecillo, Estado de México, en condiciones de campo y con riego, donde se evaluaron 24 genotipos tolerantes al frío (híbridos, progenitores y la variedad VA-110), y tres tratamientos de inoculación: 1) inyección del patógeno en suspensión (5×10^4 conidios mL⁻¹); 2) inyección con solamente agua estéril; 3) testigo absoluto, sin inóculo ni inyección, en un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. En la semilla cosechada se evaluó la calidad fisiológica (germinación con base en plántulas normales y anormales, semillas muertas, vigor y producción de materia seca de la plántula); física (peso de 100 semillas, peso volumétrico y número de semillas por gramo) y sanitaria (frecuencia de plántulas enfermas). Además, se efectuaron pruebas para confirmar la presencia de *F. verticillioides* como fuente de inóculo y de transmisión por semilla. La semilla cosechada del grupo de híbridos presentó mejores características de calidad física que los grupos de progenitores y VA-110, pero esas ventajas no se reflejaron en mejores características de las variables de calidad fisiológica ni sanitaria. Las características de calidad de semilla del grupo de híbridos fue más similar a las del grupo de progenitores paternos que a los maternos. En promedio de los 24 genotipos, la semilla cosechada de las plantas inoculadas artificialmente con *F. verticillioides* presentó menor germinación, vigor y peso de 100 semillas, que la proveniente de plantas del testigo, pero sin efecto en la producción de materia seca de la plántula ni en el porcentaje de plántulas enfermas. La inoculación artificial y la inyección con agua tuvieron efectos similares en la mayoría de las características de calidad de la semilla cosechada. En los Valles Altos Centrales de México, *F. verticillioides* y *F. oxysporum* son los agentes causales de esta enfermedad en sorgo.

ABSTRACT

One factor that limits commercial expansion of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) in the Central High Valleys of México is its susceptibility to stem and head blight, a disease caused by *Fusarium verticillioides* (*F. moniliforme*). Because of the lack of information on quality of seed harvested from plants infected with this fungus, in 2003 an experiment was set up in Montecillo, State of México, under irrigated field conditions. Twenty-four cold tolerant genotypes (hybrids, parental lines, and the variety VA-110) were assessed with three inoculation treatments: 1) injection of the pathogen in suspension (5×10^4 conidia mL⁻¹); 2) injection with sterile water; 3) absolute control, without inoculum or injection, in a complete randomized blocks design with three replications. Harvested seed was assessed based on physiological quality (germination of normal and abnormal seedlings, dead seeds, vigor, and seedling dry matter production), physical quality (100-seed weight, volumetric weight, and number of seeds per gram), and sanitary quality (frequency of diseased seedlings). Also, tests were conducted to confirm the presence of *F. verticillioides* as the source of inoculum and transmission by seed. The seed harvested from the group of hybrids exhibited better physical quality characteristics than the groups of parents and VA-110, but these advantages were not reflected in better characteristics in terms of physiological or sanitary quality variables. The characteristics of seed quality of the group of hybrids were more similar to the group of male parents than to the group of female parents. As an average of the 24 genotypes, the seed harvested from plants inoculated artificially with *F. verticillioides* exhibited lower germination rate, vigor and 100-seed weight than those from the control plants, but there was no effect in seedling dry matter production or in percentage of diseased seedling. Artificial inoculation and injection with water had similar effects on most of the characteristics related to harvested seed quality. In the Central High Valleys of México, *F. verticillioides* and *F. oxysporum* are the causal agents of this disease in sorghum.

Key words: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium verticillioides*, *Sorghum bicolor*, seed quality, phytopathology, cold tolerance.

Recibido: Enero, 2006. Aprobado: Enero, 2007.
Publicado como ARTÍCULO en Agrociencia 41: 405-415. 2007.

Palabras clave: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium verticillioides*, *Sorghum bicolor*, calidad de semillas, fitopatología, tolerancia al frío.

INTRODUCCIÓN

Las condiciones ambientales que prevalecen en los Valles Altos Centrales de México favorecen la incidencia natural de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg, hongo responsable de la enfermedad conocida como tizón del tallo o de la panoja del sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). En esta región, se dispone de un nuevo grupo de híbridos y progenitores experimentales de sorgo a los cuales se ha incorporado un mayor peso de semilla y tolerancia a este patógeno, razón por la cual se estableció una serie de experimentos para evaluar las características de calidad de la semilla inicial y su relación con el establecimiento de plántulas en el campo (Cisneros-López *et al.*, 2007a) y el efecto del patógeno en el rendimiento de semilla y en sus componentes (Cisneros-López *et al.*, 2007b) de los nuevos genotipos.

F. verticillioides puede infectar la semilla en el campo (Oren y Bass, 1978) y se aloja más frecuentemente en el endospermo que en el pericarpio o en el embrión (Singh, 1983), por lo que puede transmitirse por semilla (McGee, 1988). Otros géneros que también pueden presentarse en semillas almacenadas de sorgo, son: *Phoma*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Curvularia*, *Colletotrichum* y *Helminthosporium* (Moreno, 1993).

En el Bajío, Narro *et al.* (1992) encontraron que la frecuencia de *F. moniliforme* (= *F. verticillioides*) varió entre 1 y 5% en los granos de híbridos comerciales de sorgo. Sin embargo, Morrison (1999) señala que incluso la baja incidencia de un patógeno en la semilla representa una fuente potencial para la infección y desarrollo de una epidemia en el campo, pues la semilla es uno de los medios más eficientes de dispersión de patógenos (Warham, 1984). Así, es necesario usar semilla certificada, donde las inspecciones de campo incluyen evaluaciones sanitarias del cultivo, y hay control fitosanitario durante el beneficio de la semilla.

La mayoría de las especies de *Fusarium* son parásitos facultativos y pueden permanecer en forma saprofita en el suelo o rastrojo, pero cuando las condiciones ambientales son favorables se constituyen en fuente de inóculo, iniciándose una interacción con el hospedero durante el ciclo del cultivo y causar enfermedades severas en genotipos susceptibles (Little, 2000). Maude (1996) señala que los patógenos sistémicos, como *F. verticillioides*, se movilizan por el sistema vascular hacia la semilla y Kucharek (2000) indica que el crecimiento del micelio induce cambios en la coloración de las florecillas y del grano, llegando incluso a los tejidos

INTRODUCTION

Environmental conditions prevailing in the Central High Valleys of México favor natural incidence of *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg, the fungus responsible for the disease known as stem and head blight in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). In this region, a new group of sorghum hybrids and experimental parental lines have been bred for heavier seed and tolerance to this pathogen. For this reason a series of experiments were set up to assess the quality characteristics of the seed and their relationship with seedling establishment in the field (Cisneros-López *et al.*, 2007a) and the effect of the pathogen on seed yield and its components (Cisneros López *et al.*, 2007b) of the new genotypes.

F. verticillioides can infect the seed in the field (Oren and Bass, 1978) and resides more frequently in the endosperm than in the pericarp or embryo (Singh, 1983), so that it can be transmitted through seed (McGee, 1988). Other genera that can also be present in stored sorghum seed are *Phoma*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Curvularia*, *Colletotrichum* and *Helminthosporium* (Moreno, 1993).

In the Bajío Region, Narro *et al.* (1992) found that the frequency of *F. moniliforme* (= *F. verticillioides*) varied between 1 and 5% in commercial sorghum hybrid grain. However, Morrison (1999) reports that even a low incidence of a pathogen in a seed is potentially a source of infection and development of an outbreak in the field since seed is one of the most efficient means of pathogen dispersion (Warham, 1984). Thus, it is necessary to use certified seed for which field inspections include sanitary assessment of the crop and phytosanitary control is conducted during seed processing.

Most of the *Fusarium* species are facultative parasites and can remain in the soil or residues as saprophytes, but when environmental conditions are favorable they become a source of inoculum, initiating an interaction with the host during the crop cycle to cause severe disease in susceptible genotypes (Little, 2000). Maude (1996) state that systemic pathogens such as *F. verticillioides* move through the vascular system to the seed, and Kucharek (2000) points out that mycelium growth induces changes in flower and grain coloring, reaching internal tissue of the rachis and rachillae. When the disease is severe and occurs in early phases of the grain filling period, it can detain seed development, discolor the pericarp, degrade the endosperm, decrease volumetric weight, diminish germination and vigor, and contaminate with mycotoxins (Menkir *et al.*, 1996). Castor and Frederiksen (1980) found that the higher the natural incidence of head blight, the higher the frequency of small grains.

internos de las raquillas y raquis. Cuando la enfermedad es severa y ocurre en fases tempranas del llenado de grano, puede detener el desarrollo de la semilla, decolorar del pericarpio, degradar el endospermo, reducir el peso volumétrico de la semilla, disminuir la germinación y el vigor, y contaminar por micotoxinas (Menkir *et al.*, 1996). Castor y Frederiksen (1980) encontraron que a mayor incidencia natural del tizón de la panoja hubo mayor frecuencia de granos pequeños.

En los Valles Altos Centrales de México, la infección originada por la inoculación artificial con *F. verticillioides* causó una respuesta diferencial en el peso de 100 semillas y en el rendimiento de grano de sorgos tolerantes al frío (Mendoza-Onofre *et al.*, 1998). En otros casos, aunque no se menciona el grado de infección natural en campo, las plantas enfermas produjeron semillas con menor capacidad germinativa (Rodríguez *et al.*, 2002), un aumento de plántulas anormales y de semillas muertas, y reducciones de hasta 50% del crecimiento de radícula y plúmula, como consecuencia de la producción de metabolitos tóxicos (Gopinath y Shetty, 1985) y pérdidas de hasta 40% en el peso de 100 semillas (Somani e Indira, 1998). En genotipos de sorgo infectados por *F. moniliforme* en el campo, se redujo la germinación y altura promedio de las plantas producidas en la siguiente generación (Vidhyasekaran, 1983).

En México no se conoce el efecto de inoculaciones artificiales de *F. verticillioides* sobre las características de la progenie en sorgo. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la actividad patogénica causada por este hongo en la calidad física, fisiológica y sanitaria de la semilla de híbridos de sorgo tolerantes al frío y sus progenitores, a los cuales se había incorporado tolerancia a este patógeno, bajo la hipótesis de que el tipo de infección y las características de los genotipos influyen en la respuesta física, fisiológica y sanitaria de la semilla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Experimento de campo

En Montecillo, Estado de México, en mayo de 2003 se estableció un experimento con 24 genotipos (12 híbridos, algunos progenitores y la variedad VA-110) (Cuadro 1), todos ellos tolerantes al frío, combinados con tres tratamientos de inoculación: 1) inyección de 5 mL de una suspensión de 5×10^4 conidios mL^{-1} de *F. verticillioides* (Narro *et al.*, 1992); 2) inyección de 5 mL de solamente agua destilada estéril; 3) sin inyección ni inoculación (testigo absoluto). Se usaron cinco plantas por tratamiento, en un factorial de 24×3 distribuidos en un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. La inyección se aplicó al inicio de la antesis, en el pedúnculo (a 5 cm de la base de la panoja). La cosecha se efectuó en

In the Central High Valleys of México, infection by artificial inoculation with *F. verticillioides* caused differential responses in 100-seed weight and grain yield in cold tolerant sorghum (Mendoza-Onofre *et al.*, 1998). In other cases, although the degree of natural infection in the field is not mentioned, the diseased plants produced seeds with lower germinating capacity (Rodríguez *et al.*, 2002), an increase in abnormal seedlings and dead seeds, and reductions of up to 50% in radicle and plumule growth, consequences of the production of toxic metabolites (Gopinath and Shetty, 1985), and losses of up to 40% in 100-seed weight (Somani and Indira, 1998). In sorghum genotypes naturally infected by *F. moniliforme* in the field a reduction in germination and average height of seedlings produced in the following generation was observed (Vidhyasekaran, 1983).

In México the effect of artificial inoculations of *F. verticillioides* on characteristics of sorghum progeny is unknown. Therefore, this study was conducted to assess the effects of pathogenic activity caused by this fungus on the physical, physiological and sanitary quality of cold tolerant hybrid and parental sorghum seed, which were bred for tolerance to this pathogen, under the hypothesis that the type of infection and characteristics of the genotypes affect the physical, physiological and sanitary responses of the seed.

MATERIALS AND METHODS

Field experiment

In Montecillo, State of México, in May 2003 an experiment was set up with 24 cold tolerant genotypes (12 hybrids, parental lines, and the variety VA-110) (Table 1), combined with three inoculation treatments: 1) injection of 5 mL of a suspension of 5×10^4 *F. verticillioides* conidia mL^{-1} (Narro *et al.*, 1992); 2) injection of 5 mL of only sterile distilled water; 3) absolute control with no injection or inoculation. Five plants per treatment were used in a factorial of 24×3 distributed in a complete randomized blocks design with three replications. The injection was applied on the peduncle (5 cm from the base of the panicle) at the beginning of anthesis. Harvest was in October of that year when the seed reached 12 to 14% moisture. All of the seed harvested from the five plants of each treatment comprised a compound sample in each replication.

Quality assessment of harvested seed

Assessment was performed in the Laboratorio de Manejo de Enfermedades y Cultivos of the Colegio de Postgraduados from January to May 2004, following the criteria and definitions approved by ISTA (1999).

In a sample of 120 g per replication, three replications, physical quality was assessed by 100-seeds weight (PS) in grams and volumetric weight (PV), or specific density, in kg hL^{-1} .

octubre de ese año, cuando la semilla tenía 12 a 14% de humedad. La semilla total cosechada de las cinco plantas de cada tratamiento constituyó una muestra compuesta en cada repetición.

Evaluación de la calidad de la semilla cosechada

La evaluación se efectuó en el Laboratorio de Manejo de Enfermedades y Cultivos del Colegio de Postgraduados, de enero a mayo de 2004, aplicando los criterios y definiciones aprobados por ISTA (1999).

En una muestra de 120 g por repetición y tres repeticiones, se evaluó la calidad física mediante el peso de 100 semillas (PS), en gramos, y el peso volumétrico (PV) o densidad específica, en kg hL⁻¹.

La calidad fisiológica se evaluó mediante la prueba de germinación estándar utilizando papel estéril (toallas sanitas®) como sustrato, con seis repeticiones de 50 semillas, en una cámara germinadora (Seedburo® Modelo 1000) calibrada a 25 °C. Al cuarto día se contó el porcentaje de plántulas normales (PGPN), que se considera como una prueba de vigor (V) ya que es una variable relacionada con la velocidad de crecimiento. Al término de la prueba (7 d) además del PGPN también se determinó el porcentaje de plántulas anormales (PGPA) y de semillas muertas (PSM). Un criterio adicional de vigor y una forma indirecta de evaluar la severidad del daño ocasionado por *Fusarium* spp. en el crecimiento de la plántula, fue la producción de materia seca (MS, g) de la plúmula (MSP), radícula (MSR) y total de la plántula (MST=MSP+MSR) en plántulas normales germinadas, después de secar los órganos respectivos en una estufa a 70 °C por 72 h (Moreno, 1984).

La calidad sanitaria se cuantificó como porcentaje de plántulas enfermas (PPE): las que presentaron necrosis o estrangulamientos en radícula o plúmula (Warham *et al.*, 1996; Munkvold y O'Mara, 2002).

El diseño experimental fue completamente al azar. Se efectuó un análisis de varianza (ANAVA) (GLM de SAS Institute, 1998) agrupando los genotipos en híbridos, sus tipos de progenitores (líneas A, líneas B, líneas R) y la variedad VA-110. Las variables expresadas en porcentaje se transformaron mediante la fórmula arcoseno [Yi]^{1/2}. La comparación de medias se basó en la prueba de DMS ($p \leq 0.05$) entre los grupos de interés.

Aislamiento del agente causal

Las muestras para aislar el agente causal provinieron de la semilla cosechada, efectuándose dos pruebas. En la primera se sembraron 10 semillas desinfectadas por caja *Petri* conteniendo medio PDA (papa-dextrosa-agar), por genotipo y por tratamiento de inoculación aplicada en campo, de los seis genotipos que presentaron los mayores valores de severidad en el área vascular y panoja en campo: dos líneas mantenedoras (B2 y B9), una línea androestéril (A5), dos restauradoras (R14 y R22), y VA-110. La segunda prueba se efectuó para tener información preliminar que permitiera identificar si el patógeno se ubica en la parte externa o interna de la semilla. Se seleccionó la línea B5 por ser el progenitor que mostró el mayor

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

Table 1. List of hybrids, parents and variety of cold tolerant sorghum.

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

Physiological quality was assessed with the standard germination test using sterile paper towels (Sanitas™) as the substrate, with six replications of 50 seeds in a germinating chamber (Seedburo™ Model 1000) calibrated to 25 °C. On day 4, the percentage of normal seedlings (PGNP) was calculated and considered as a test of vigor (V) since this is a variable related to growth rate. At the end of the test (7 d), besides PGPN, the percentage of abnormal seedlings (PGPA) and dead seeds (PSM) were determined. An additional criterion of vigor, and an indirect way of assessing severity of damage caused by *Fusarium* spp. in seedling growth, was dry matter production (DM, g) of: plumule (MSP), radicle (MSR) and total seedling dry matter (MST=MSP+(MSR) of normal germinated seedlings after drying the respective organs in an oven at 70 °C for 72 h (Moreno, 1984).

Sanitary quality was quantified as the percentage of diseased seedlings (PPE): those that exhibited necrosis or strangulation of the radicle or plumule (Warham *et al.*, 1996; Munkvold and O'Mara, 2002).

A completely randomized experimental design was used. An analysis of variance (ANOVA) (GLM, SAS Institute, 1998) was performed grouping the genotypes in hybrids, types of parents (lines A, lines B, lines R) and the variety VA-110. The variables expressed in percentage were transformed using the arcsine formula [Yi]^{1/2}. Comparison of means was based on the LSD test ($p \leq 0.05$) among groups of interest.

Isolation of the causal agent

The samples used to isolate the causal agent were taken from the harvested seed. Two tests were conducted. In the first test 10 seeds were selected by genotype and by field inoculation treatment from the six genotypes that had the highest values of severity in the vascular area and panicle: two maintainer lines (B2 and B9), one male-sterile line (A5), two restorer lines (R14 and R22), and VA-110.

daño de panoja y área vascular en el campo. En esta prueba se seleccionaron al azar 60 semillas las cuales se procesaron según lo descrito por Quilambaqui-Jara *et al.* (2004), en 30 semillas enteras (10 semillas por caja *Petri*), y en 30 semillas fraccionadas a la mitad (10 fracciones por caja *Petri*) por tratamiento de inoculación con dos repeticiones.

Con objeto de permitir un mayor lapso para la presentación de los síntomas, se tomaron muestras adicionales de la línea B5: 100 semillas de plantas inoculadas y 30 semillas de plantas de los otros dos tratamientos de inoculación. Las semillas se desinfectaron y se sembraron el 3 de mayo de 2004 en charolas germinadoras conteniendo suelo estéril. La prueba duró 20 d, o sea, 13 d más que la prueba de germinación estándar. La muestra para verificar y reaislar al agente causal, provino del tejido de las plántulas enfermas.

Las colonias fungosas desarrolladas sobre las muestras de semillas enteras, sus fracciones o de plántulas, se separaron y cultivaron en PDA. Los aislamientos se purificaron e incubaron a 25 °C. La identificación a nivel genérico o específico se basó en las claves de Nelson *et al.* (1983), Warham *et al.* (1996), y Leslie y Marasas (2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calidad de la semilla

En el Cuadro 2 se observa que en todas las variables hubo significancia para los grupos de genotipos como fuente de variación; que los tratamientos de inoculación causaron variación significativa en PS, NSG, PGPn, PGPA, PSM y V; y que en sólo dos casos (PS y NSG) hubo significancia para la interacción de grupos de genotipos con tratamientos de inoculación.

En promedio (Cuadro 3), el grupo de híbridos tuvo mayor peso de 100 semillas y mayor peso volumétrico, y en consecuencia, menor número de semillas por gramo, que sus progenitores y VA-110. Es interesante destacar que tales ventajas relacionadas con la calidad física de la semilla (*i.e.*, mayor peso de la semilla) del grupo de híbridos no se reflejó en bondades de calidad fisiológica (*i.e.*, germinación con base en plántulas normales, vigor y producción de materia seca), en las que el grupo de híbridos fue igualado o superado por el grupo de líneas restauradoras (progenitores paternos) o por VA-110. Ésto ratifica que la calidad física puede ser independiente de la calidad fisiológica (Iguarta *et al.*, 1994; Cisneros-López *et al.*, 2007a). En cuanto a la frecuencia de plántulas enfermas, el grupo de híbridos tuvo 66% menos incidencia que VA-110, que ha sido reportada como susceptible a *Fusarium* (Mendoza-Onofre *et al.*, 1998) y confirma los resultados de Cisneros-López *et al.* (2007b) de que fue el genotipo con la mayor incidencia de la enfermedad. De manera similar a los resultados al evaluar las características de calidad de la semilla sembrada (Cisneros-

These seeds were disinfected and sown in Petri dishes containing PDA (potato-dextrose-agar) medium. The second test was conducted to have preliminary information that would enable determination of whether the pathogen was on the external or internal part of the seed. Line B5, which was the parent that showed the greatest damage in the panicle and vascular area in the field, was chosen. Sixty seeds were selected at random in this test. These were processed following the method described by Quilambaqui-Jara *et al.* (2004): thirty of the seeds were intact (10 seeds per Petri dish) and 30 were halved (10 halves per Petri dish). This was replicated twice for each inoculation treatment.

In order to allow a longer lapse of time for symptoms to become apparent, additional samples were taken from line B5: 100 seeds for inoculated plants and 30 seeds from plants of the other two inoculation treatments. The seeds were disinfected and sown on May 3, 2004, in germination trays containing sterile soil. The test lasted 20 d, that is, 13 d longer than the standard germination test. The sample used to verify and re-isolate the causal agent was taken from tissue of diseased seedlings.

Fungal colonies developing on the samples of intact seed, seed halves or seedlings were separated and cultured on PDA. The isolates were purified and incubated at 25 °C. Identification at the genus and species levels was based on the keys of Nelson *et al.* (1983), Warham *et al.* (1996), and Leslie and Marasas (2002).

RESULTS AND DISCUSSION

Seed quality

In Table 2, it can be observed that in all of the variables there was significance for the groups of genotypes as the source of variation; that the inoculation treatments caused significant variation in PS, NSG, PGPn, PGPS, PSM, and V; and that in only two cases (PS and NSG) was there significance for the interaction between genotype groups and inoculation treatments.

On average (Table 3), the hybrid group had higher 100-seed weight and volumetric weight and, consequently, a smaller number of seeds per gram than their parental lines or VA-110. It is interesting to note that the advantages related to physical seed quality (*i.e.*, higher seed weight) of the hybrid group were not reflected in positive physiological quality (*i.e.*, germination of normal seedlings, vigor, and dry matter production); the hybrids group was equaled or surpassed by the group of restoring lines (male parents) or by VA-110. This ratifies the idea that physical quality can be independent of physiological quality (Iguarta *et al.*, 1994; Cisneros-López *et al.*, 2007a). In terms of frequency of diseased seedlings, the hybrid group had an incidence 66% lower than VA-110, which has been reported to be susceptible to *Fusarium* (Mendoza-Onofre *et al.*, 1998) and confirms the results of Cisneros-López *et al.* (2007b), who reported that this genotype was

López *et al.*, 2007a), la presente información confirma la gran similitud en el comportamiento del grupo de híbridos y el grupo de sus progenitores paternos, y el alto vigor de la semilla de VA-110, a pesar de su menor peso de semilla. Cabe destacar que en las pruebas ahora reportadas, la semilla de todos los genotipos fue de la misma edad y no se cribó; sin embargo, las tendencias de los resultados fueron semejantes a las obtenidas por Cisneros-López *et al.* (2007a) donde hubo un año de diferencia en edades de las semillas usadas en la siembra, entre híbridos y progenitores, y las pruebas de germinación se hicieron en semilla cribada.

En cuanto al efecto promedio de los tratamientos de inoculación en variables relacionadas con la calidad de la semilla cosechada, se redujo el peso de 100 semillas, porcentaje de germinación de plántulas normales y vigor, pero aumentó la germinación de plántulas anormales y el porcentaje de semillas muertas debido a la inoculación artificial de *F. verticillioides* (Cuadro 4). Este efecto negativo de la inoculación artificial del hongo concuerda con resultados de incidencias naturales del patógeno reportados por Somani e Indira (1998), Mendoza-Onofre *et al.* (1998) y Rodríguez *et al.* (2002). En la mayoría de los casos no hubo diferencias significativas entre la inoculación artificial con *Fusarium* y la inyección sólo con agua, lo que confirma que basta una herida en el tallo para que el inóculo prevalente en el ambiente infecte e invada el tejido vascular y ocasiona daños a la semilla en desarrollo (Menkir *et al.*, 1996).

Interesantemente, no hubo cambios significativos en la producción de la biomasa de la plántula (plúmula, radícula y total), ni en el porcentaje de plántulas enfermas por efecto de la inoculación artificial (Cuadro 2), contrario a lo reportado por Gopinath y Shetty (1985). Esto pudo deberse a que las condiciones de la prueba de germinación estándar (entre papel) favorecieron un

Cuadro 2. Significancia de las fuentes de variación para variables de calidad de la semilla cosechada.

Table 2. Significance of the sources of variation for harvested seed quality variables.

Variables	Valores de F		
	GG	I	GG×I
Calidad física			
Peso de 100 semillas (PS)	65.73**	4.53*	2.43*
Peso volumétrico (PV)	12.63**	2.49 ns	0.49 ns
Número de semillas por gramo (NSG)	77.54**	13.91**	4.69*
Calidad fisiológica			
Porcentaje de germinación de plántulas normales (PGPN)	27.94**	23.93**	1.73 ns
Porcentaje de germinación de plántulas anormales (PGPA)	8.67**	10.29**	0.87 ns
Porcentaje de semillas muerta (PSM)	17.09**	6.57*	0.68 ns
Vigor (V)	8.93**	8.37*	1.23 ns
Materia seca de la plúmula (MSP)	19.72**	0.88 ns	0.19 ns
Materia seca de la radícula (MSR)	15.55**	0.80 ns	0.73 ns
Materia seca total de la plántula (MST)	21.79**	0.99 ns	0.29 ns
Calidad sanitaria			
Porcentaje de plántulas enfermas (PPE)	22.24**	1.55 ns	0.38 ns

Grupos de genotipos (GG); tratamientos de inoculación (I) e interacción (GG×I).

*, **: Significativo al 0.05 y 0.01; ns: No significativo.

that of greatest incidence of the disease. Like the results of the assessment of quality characteristics of the sown

Cuadro 3. Comparación entre grupos de genotipos de sorgo para variables relacionadas con la calidad de la semilla cosechada. Promedios de tres tratamientos de inoculación con *F. verticillioides*.

Table 3. Comparison of sorghum genotype groups for variables related to harvested seed quality. Averages of three inoculation treatments with *F. verticillioides*.

GG	PS (g)	PV (kg hL ⁻¹)	NSG	PGPN (%)	PGPA (%)	PSM (%)	V (%)	MSP (g)	MSR (g)	MST (g)	PPE (%)
A	1.998 b	73.7 b	43 b	83 b	11 a	6 b	68.0 b	0.389 a	0.103 a	0.495 a	17.5 b
B	1.796 b	70.7 b	56 a	79 c	10 a	11 a	65.1 b	0.258 b	0.055 b	0.313 b	10.9 c
H	2.610 a	78.3 a	38 c	86 a	9 a	5 b	70.0 bc	0.420 a	0.122 a	0.542 a	16.4 b
R	2.145 bc	70.3 b	40 b	90 a	6 b	4 b	76.3 a	0.407 a	0.120 a	0.528 a	11.1 c
VA-110	1.638 cd	68.8 b	57 a	89 a	2 b	9 b	74.0 a	0.505 a	0.132 a	0.637 a	54.8 a

GG: Grupo de genotipos; A: líneas androestériles; B: líneas mantenedoras; R: líneas restauradoras; H: híbridos; PS: peso de 100 semillas; PV: peso volumétrico; NSG: número de semillas por gramo; PGPN: porcentaje de germinación con base en plántulas normales; PGPA: porcentaje de germinación con base en plántulas anormales; PSM: porcentaje de semillas muertas; V: vigor; MSP: producción de materia seca en la plúmula, en la radícula (MSR) y total de plántula (MST=MSP+MSR); PPE: porcentaje de plántulas enfermas. Valores con diferente letra son diferentes estadísticamente (DMS, $p \leq 0.05$).

crecimiento rápido y uniforme de plántulas y una dispersión veloz del inóculo entre plántulas enfermas y sanas, impidiendo al final de los 7 d distinguir las diferencias. Al respecto, nótese los altos valores de germinación (producción de plántulas normales), superiores a la norma para sorgo (80%) establecida por el SNICS (1983).

Finalmente, en el Cuadro 5 se presentan los valores mínimos, máximos, y las desviaciones estándar de los grupos de genotipos, en promedio de los tres tratamientos de inoculación, para las variables significativas para ese factor. Con base en los valores máximos de los grupos de genotipos, se observa que existen progenitores con mayor peso volumétrico aunque con vigor semejante a VA-110. Para germinación con base en plántulas normales y para vigor, los híbridos presentan similitud con alguno de sus progenitores, especialmente con los valores máximos de los progenitores paternos, o sea, las líneas restauradoras, lo que indicaría una escasa frecuencia de valores significativos de heterosis y de heterobeltiosis, de manera similar a los resultados de Cisneros-López *et al.* (2007a). La cuantificación del tipo de herencia de caracteres involucrados en la calidad de semilla en estos sorgos merece precisarse en futuros estudios genéticos.

Agente causal

En las semillas de las líneas A, B, R y VA-110 incubadas en medio PDA se presentó la siguiente frecuencia de géneros fúngicos: *Fusarium* (23%), *Alternaria* (19%), *Aspergillus* (3%) y *Penicillium* (3%), considerados como patógenos en semillas de sorgo (Bandyopadhyay *et al.*, 2002; Moreno, 1993); así como *Cladosporium* (10%) y *Epicoccum* (5%), considerados como saprofitos. No hubo predominio de *Fusarium* en los seis genotipos de sorgo. En el caso de *Fusarium* se identificaron *F. oxysporum* (62%) y *F. verticillioides* (38%). Aunque *F. verticillioides* fue menos frecuente que *F. oxysporum*, su incidencia en la semilla fue

seed (Cisneros-López *et al.*, 2007a), our study confirms that the behavior of the hybrids group is highly similar to the group of their male parents and that the VA-110 seed is vigorous, in spite of its low seed weight. It is important to mention that in the tests now reported the seed of all of the genotypes were of the same age and was not screened; however, the trends were similar to the results obtained by Cisneros-López *et al.* (2007a), who used hybrids and parental seed with a one-year difference in age as well as screened seed in the germination tests.

Regarding the average effect of the inoculation treatments on variables related to harvested seed quality, 100-seed weight, percentage of germination of normal seedlings, and vigor decreased, but germination of abnormal seedlings and percent of dead seeds increased due to artificial inoculation of *F. verticillioides* (Table 4). This negative effect of artificial inoculation of the fungus coincide with results of natural incidence of the pathogen reported by Soman and Indira (1998), Mendoza-Onofre *et al.* (1998) and Rodríguez *et al.* (2002). In most of the cases there were no significant differences between artificial inoculation with *Fusarium* and injection of only water, confirming that a lesion in the stem is enough to allow the inoculum prevailing in the environment to infect and invade vascular tissue and cause damage to developing seeds (Menkir *et al.*, 1996).

It is interesting that there were no significant changes in the production of seedling biomass (plumule, radicle and total) or in the percentage of diseased seedlings due to artificial inoculation (Table 2), in contrast with the results of Gopinath and Shetty (1985). This could be due to the fact that the conditions of the standard germination test (on paper substrate) favored a rapid, uniform seedling growth and a fast dispersion of the inoculum between the diseased and healthy seedlings, making it impossible to distinguish differences at the end of the 7 d period. Note the high values for germination (production of normal seedlings), above the norm for sorghum (80%) established by SNICS (1983).

Cuadro 4. Comparación de los tratamientos de inoculación para las variables cuyo efecto resultó significativo para esa fuente de variación. Promedios de 24 genotipos.

Table 4. Comparison of the inoculation treatments for the variables whose effect was significant for that source of variation. Averages over 24 genotypes.

Tratamientos de inoculación	PS (g)	NSG (%)	PGPN (%)	PGPA (%)	PSM (%)	V
Inyección con <i>F. verticillioides</i>	2.170 b	46.0 a	81.0 a	10.0 a	9.0 a	67.0 b
Inyección con agua estéril	2.303 a	43.0 b	84.0 a	9.0 a	7.0 a	69.6 b
Testigo	2.323 a	41.0 c	88.0 b	7.0 b	5.0 b	72.7 a

PS: peso de 100 semillas; NSG: número de semillas por gramo; PGPN: porcentaje de germinación de plántulas normales; PGPA: porcentaje de germinación de plántulas anormales; PSM: porcentaje de semillas muertas; V: vigor (V); Valores con diferente letra son diferentes estadísticamente (DMS, $p \leq 0.05$).

mayor que la presente de manera natural en granos de sorgos comerciales en el Bajío (Narro *et al.*, 1992). Estos autores también detectaron la presencia de *F. oxysporum* en estructuras vegetativas de la planta pero no en la semilla. Aunque no se hicieron cortes histopatológicos, en 66% de las semilla fraccionadas a la mitad el hongo se localizó en los tejidos internos y en 33% de las semillas enteras se ubicó en el pericarpio. Ésto se considera consecuencia de la forma sistémica de propagación de este hongo en los tejidos de la planta (Singh, 1983).

La frecuencia promedio de *F. oxysporum* y *F. verticillioides* en la semilla cosechada de las plantas sometidas a los tres tratamientos de inoculación en campo, fue: para plantas inoculadas artificialmente, 31 y 100%; inyección con sólo agua, 46 y 0%; y en el testigo absoluto, 23 y 0%. Esto significa que *F. oxysporum* infectó en forma natural en campo a través de las heridas artificiales y que *F. verticillioides* no es el principal agente causal del tizón de la panoja y del deterioro de la semilla de sorgo en Montecillo, Estado de México.

Finally, minimums, maximums, and standard deviations of the groups of genotypes, averaged over the three inoculation treatments, for the significant variables are shown in Table 5. Based on maximum values of the genotype groups, it can be observed that there are parental lines with higher volumetric weight than VA-110, although with similar vigor. For germination of normal seedlings and for vigor, the hybrids are similar to one of their parents, especially with maximum values of their male parents, that is, the restorer lines, indicating very low frequency of significant values for heterosis and heterobeltiosis, similar to the results of Cisneros-López *et al.* (2007a). Quantification of the type of trait inheritance involved in seed quality in these sorghums deserves attention in further genetic studies.

Causal agent

In the seeds of lines A, B, R, and VA-110 incubated in PDA medium the following fungal genera were present: *Fusarium* (23%), *Alternaria* (19%), *Aspergillus*

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 and maximum values, mean, and standard deviation within each group for the most representative variables and corresponding genotypes of the study.

Valores	Líneas mantenedoras	Líneas restauradoras	Híbridos	VA-110
Peso volumétrico				
Mín	66.8 (B5)	66.3 R(14)	72.0 (A5XR14)	
Máx	77.2 (B6)	72.4 R(22)	85.5 (A1XR17)	
Med±S	70.6 ± 7.0	70.2 ± 7.2	78.2 ± 8.6	68.7±2.5
Porcentaje de germinación con base en plántulas normales				
Mín	74.0 (B3) (B2)	85.0 (R17)	82.0 (A9XR14); (A9XR19)	
Máx	85.0 (B6)	93.0 (R14)	91.0 (A5XR14)	
Med±S	77.9 ± 8.2	89.9 ± 4.8	85.7 ± 5.0	90.0±2.9
Porcentaje de germinación con base en plántulas anormales				
Mín	8.0 (B6) (B3)	4.0 (R14)	5.0 (A9XR17)	
Máx	11.0 (B2) (B5)	9.0 (R17)	13.0 (A9XR19)	
Med±S	10.4 ± 4.0	6.1 ± 3.0	9.0 ± 4.2	6.0±3.3
Porcentaje de semillas muertas				
Mín	8.0 (B6)	3.0 (R14); (R22)	3.0 (A3XR17); (A5XR14)	
Máx	17.0 (B3)	6.0 (R17)	11.0 (A9XR17)	
Med±S	12.0 ± 6.7	4.0 ± 4.2	5.5 ± 4.3	4.0±3.7
Vigor				
Mín	61.4 (B9)	69.1 (R17)	65.6 (A9XR19)	
Máx	74.6 (B6)	80.8 (R14)	77.8 (A5XR14)	
Med±S	65.2 ± 8.5	76.3 ± 7.7	70.1 ± 8.7	73.8±4.6

Cabe mencionar que las condiciones ambientales de temperatura, humedad relativa y precipitación en campo desde agosto (19.8 °C, 72.8% HR y 143.3 mm) y septiembre (20.3 °C, 73.9% HR y 86.7 mm), cuando se aplicó la inoculación artificial, hasta la etapa de madurez fisiológica y cosecha realizada en octubre (17.8 °C, 71.9% HR y 30.7 mm), se ubican dentro del intervalo de prevalencia reportado para *F. oxysporum*, que se distribuye en una amplia gama de ambientes (templado y subtropical) con valores de temperatura óptima para su crecimiento de 12 a 28 °C y una HR óptima de 87%. *F. verticillioides* es un patógeno que predomina en climas templados y tropicales con temperaturas óptimas para su crecimiento entre 22 a 28 °C y 87% de HR mínima (Lacey, 1989; Backhouse, 2001). En México no se dispone de información acerca de las condiciones ambientales de campo óptimas para el desarrollo y crecimiento de estas dos especies fúngicas.

En la prueba sanitaria efectuada en suelo estéril, hubo pudriciones en el cuello de la plúmula y estrangulamientos en diferentes sitios de la radícula. El porcentaje promedio de plántulas enfermas provenientes de la semilla cosechada de plantas inoculadas en campo fue 30% cuando se inyectó *F. verticillioides*, 15% al inyectar sólo agua y 10% en el testigo absoluto. En los aislamientos, el género predominante fue *Fusarium* (32.5%) y las frecuencias de *F. oxysporum* y *F. verticillioides* fueron 26 y 7% cuando se inyectó el patógeno; 7 y 13% al inyectar sólo agua; y 25 y 37% en el testigo absoluto. Ésto evidencia que: 1) la semilla efectivamente fue portadora del inóculo (Warham, 1984; McGee, 1988; Morrison, 1999); 2) el hongo fue patógeno; 3) hubo desarrollo de síntomas en la siguiente generación de plántulas, aún en el testigo absoluto. Esto en parte se debe a la elevada prevalencia del inóculo en Valles Altos, como Hernández y Mendoza (1988) y Mendoza-Onofre *et al.* (1998) lo habían constatado.

CONCLUSIONES

En promedio de los tres tratamientos de inoculación, la semilla cosechada del grupo de híbridos presentó mejores características de calidad física que la semilla de los grupos de progenitores, pero tales ventajas no se reflejaron en mejores características de calidad fisiológica ni sanitaria. La inoculación artificial de *F. verticillioides* disminuyó la germinación, el vigor y el peso de 100 semillas, pero no la producción de materia seca de plúmula, radícula, ni total. La inoculación artificial y la inyección con sólo agua tuvieron un efecto similar en la mayoría de las características de calidad de la semilla cosechada. *F. verticillioides*

(3%), and *Penicillium* (3%). These are considered pathogens in sorghum seeds (Bandyopadhyay *et al.*, 2002; Moreno, 1993). *Cladosporium* (10%) and *Epicoccum* (85%), considered saprophytes, were also found. *Fusarium* was not predominant in the six sorghum genotypes. In the case of *Fusarium*, *F. oxysporum* (62%) and *F. verticillioides* (38%) were identified. Although *F. verticillioides* was less frequent than *F. oxysporum*, its incidence was greater than would be found naturally in commercial sorghum seed in the Bajío Region (Narro *et al.*, 1992). These authors also detected *F. oxysporum* in vegetative structures of the plant, but not in the seed. Although histopathological sectioning was not performed, in 66% of the seed halves, the fungus was located in the internal tissues, and in 33% of the intact seeds it was found in the pericarp. This is considered a consequence of the systemic propagation of this fungus in plant tissues (Singh, 1983).

The average frequency of *F. oxysporum* and *F. verticillioides* in the harvested seed of the plants subjected to the three inoculation treatments in the field was 31 and 100% in plants inoculated artificially, 46 and 0% in plants injected with only water, and 23 and 0% in the absolute control. This suggests that *F. oxysporum* infected seedling naturally in the field through the lesions, and that *F. verticillioides* is not the main causal agent of head blight and of deterioration of sorghum seed in Montecillo, State of México.

It is important to mention that temperature, relative humidity, and rainfall in the field in August (19.8 °C, 72.8% RH, and 143.3 mm) and September (20.3 °C, 73.9% RH, and 86.7 mm), when seedlings were inoculated artificially, to the stage of physiological maturity and harvest in October (17.8 °C, 71.9%, and 30.7 mm), are within the prevailing ranges reported for *F. oxysporum*, which is distributed over a wide range of climates (temperate and subtropical) with optimum growing temperatures between 12 and 28 °C and an optimum RH of 87%. *F. verticillioides* is a pathogen that predominates in temperate and tropical climates with optimum growing temperatures between 22 and 28 °C and minimum RH of 87% (Lacey, 1989; Backhouse, 2001). In México no information is available on optimum field environmental conditions for the development and growth of these two fungus species.

In the sanitary test performed in sterile soil, rotting occurred in the neck of the plumule and strangulation at different points of the radicle. The average percentage of diseased seedlings from seed harvested from inoculated plants in the field was 30% when *F. verticillioides* was injected, 15% when only water was injected and 10% in the absolute control. In isolates, the predominant genus was *Fusarium* (32.5%) and the

y *F. oxysporum* son los principales agentes causales de síntomas del tizón del tallo y de la panoja en la semilla de sorgos tolerantes al frío.

LITERATURA CITADA

- Backhouse, D., L. W. Burgess, and B. A. Summerell. 2001. Biogeography of *Fusarium*. In: Summerell, B. A. (ed). *Fusarium*. APS Press. St. Paul Minn. USA. pp: 122-123.
- Bandyopadhyay, R., C. R. Little, R. D. Waniska, and D. R. Butler. 2002. Sorghum grain mold: Through the 1990s into the new millennium. In: Leslie, J. F. (ed). *Sorghum and Millets Diseases*. Iowa State Press. Ames, IO, USA. pp: 173-181.
- Castor, L. L., and R. A. Frederiksen. 1980. *Fusarium* head blight occurrence and effects on sorghum yield and grain characteristics in Texas. *Plant Dis.* 64: 1017-1019.
- Cisneros-López, M. E., L. E. Mendoza-Onofre, G. Mora-Aguilera, L. Córdova-Téllez, y M. Livera-Muñoz. 2007a. Híbridos y progenitores de sorgo tolerantes al frío. I: Calidad de la semilla y su influencia en el establecimiento de plántulas. *Agrociencia* 41: 45-55.
- Cisneros-López, M. E., L. E. Mendoza-Onofre, G. Mora-Aguilera, L. Córdova-Téllez y M. Livera-Muñoz. 2007b. 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. *Agrociencia* 41: 283-294.
- Gopinath, A., and H. S. Shetty. 1985. Occurrence and location of *Fusarium* species in Indian sorghum seed. *Seed Sci. & Technol.* 13: 521-528.
- 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. I: Efecto en el rendimiento de grano y sus componentes. *Rev. Mex. Fitopat.* 6: 137-150.
- Igartua, E., M. P. Gracia, and J. M. Lasa. 1994. Characterisation and genetic control of germination-emergence responses of grain sorghum to salinity. *Euphytica* 76: 185-193.
- ISTA. 1999. International Rules for Seed Testing. Int. Seed Testing Ass. (ed). Zurich, Switzerland. 321 p.
- Kucharek, T. 2000. Foliar and head diseases of sorghum in Florida. Florida Coop. Ext. Serv. Inst. Food and Agric. Sci. (ed). Circ. No. 1073. 10 p.
- Lacey, L. 1989. Pre and post harvest ecology of fungi causing spoiling of foods and other stored products. *J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl.* pp: 11-25.
- Leslie, J. F., and F. O. Marasas. 2002. Will the real "*Fusarium moniliforme*" please stand up! In: Leslie, J. F. (ed). *Sorghum and Millets Diseases*. Iowa State Press. Ames, IO, USA. pp: 201-211.
- Little, C. R. 2000. Plant responses to early infection events in sorghum grain mold interactions. In: Chandrashekar, A., R. Bandyopadhyay, and A. J. Hall (eds). *Technical and Institutional Options for Sorghum Grain Mold Management*. Proc. Int. Consultation 18-19 May 2000. ICRISAT. Patancheru, India. pp: 169-182.
- Maude, R. B. 1996. *Seedborne Diseases and Their Control: Principles and Practice*. CABI. Wallingford, UK. 280 p.
- McGee, D. C. 1988. Patología de semillas. In: Curso Internacional de Capacitación sobre Tecnología de Producción de Semillas. CIMMYT. El Batán, México. pp: 30-40.
- Mendoza-Onofre, L. E., V. A. González-Hernández, I. Aburto-Rizo, and S. Osada-Kawase. 1998. Response of cold tolerant sorghum lines to *Fusarium moniliforme* (Sheldon). *Agrociencia* 32: 233-239.
- Menkir, A., G. Ejeta, L. Butler, A. Melakeberhan, and H. L. Warren. 1996. Fungal invasion of kernel and grain mold damage frequencies of *F. oxysporum* and *F. verticillioides* were 26 and 7% when the pathogen was injected, 7 and 13% when only water was injected, and 25 and 37% in the absolute control. This gives evidence that 1) the seed was actually an inoculum carrier (Warham, 1984; McGee, 1988; Morrison, 1999); 2) the fungus was pathogenic; 3) symptoms developed in the following generation of seedlings, even in the absolute control. This is due in part to the prevalence of the inoculum in the High Valleys, as Hernández and Mendoza (1988) and Mendoza-Onofre *et al.* (1998) have verified.

CONCLUSIONS

On average of the three inoculation treatments, seed harvested from the group of hybrids showed better physical quality than the seed from the groups of parental lines. The advantages, however, were not reflected in better physiological or sanitary quality. Artificial inoculation with *F. verticillioides* reduced germination, vigor and 100 seed weight, but not plumule, radicle or total dry matter production. Artificial inoculation and injection with only water had similar effects on most of the final seed quality characteristics. *F. verticillioides* and *F. oxysporum* are the main causal agents of symptoms of stem and head blight in cold tolerant sorghum.

—End of the English version—



assessment in diverse sorghum germplasm. *Plant Dis.* 80: 1399-1402.

- Moreno M., E. 1984. Análisis Físico y Biológico de Semillas Agrícolas. Instituto de Biología. UNAM. México, D.F. 379 p.
- Moreno M., E. 1993. Tratamiento Químico de las Semillas para el Combate de los Hongos. Unidad de Investigación en Grano y Semillas. UNAM-INIFAP (Eds). Inst. Biología. México, D.F. 66 p.
- Morrison, R. H. 1999. Sampling in seed health testing. *Phytopathology* 89: 1084-1087.
- Munkvold, G. P. 1997. Influence of inoculation method on systematic *Fusarium moniliforme* infection of maize plants grown from infected seeds. *Plant Dis.* 81: 211-216.
- Munkvold, G. P., and J. K. O'Mara. 2002. Laboratory and growth chamber evaluation of fungicidal seed treatments for maize seedling blight caused by *Fusarium* species. *Plant Dis.* 82: 143-150.
- 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. The Pennsylvania State Univ. Press. University Park, PA, USA. 193 p.
- Oren, L. J., and L. N. Bass. 1978. Principles and Practices of Seed Storage. USDA. Washington, DC. Agric. Handbook 506: 81-89.

- Quilambaqui-Jara, M., E. Zavaleta-Mejía, G. Mora-Aguilera, F. Delgadillo-Sánchez, y A. Marín-Jarillo. 2004. Patogenicidad de tres especies de *Fusarium* asociadas con el declinamiento del espárrago (*Asparagus officinalis* L.) en Guanajuato, México. *Rev. Mex. Fitopat.* 22: 30-36.
- Rodríguez, R., R. A. Frederiksen, W. L. Rooney, W. E. H. Omer, I. Kollo, A. Quero, C. N. Aguilar, and L. Reyes-Vega. 2002. Grain molding fungi association in food type sorghum kernels and effects in germination. *In: 2002 Annual Meeting and Food Expo.* Anaheim, California, USA. 60 p.
- SAS Institute. 1998. SAS/SAT User's Guide. Version 6.09. SAS Inst., Cary, NC, USA. pp: 100-120.
- SNICS (Servicio de Inspección y Certificación de Semillas). 1983. Normas para la Certificación de Semillas. SAG. México, D. F. 81 p.
- Singh, D. 1983. Histopathology of some seed-borne infections: A review of recent investigations. *Seed Sci. & Technol.* 11: 651-663.
- Somani, R. B., and S. Indira. 1998. Electrical conductivity of seed leaches in sorghum. *Int. Sorghum and Millets Newsletter* 39: 109-110.
- Vidhyasekaran, P. 1983. Control of *Fusarium moniliforme* infection in sorghum seed. *Seed Sci. & Technol.* 11: 435-439.
- Warham, E. J. 1984. Prueba de sanidad en la semilla. *In: Memorias del III Curso de Actualización de Semillas.* Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coah., México. pp: 121-135.
- Warham, E. J., L. D. Buttler y B. C. Sutton. 1996. Ensayos para la Semilla de Maíz y de Trigo. Manual de Laboratorio. CIMMYT. El Batán, México. 83 p.