

EVALUACION DE METODOS Y FECHAS DE INOCULACION DE *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton A DIFERENTES CONCENTRACIONES¹

Luis del Río²
Tito Zúniga²
Jaime Torres²
Guillermo Cerritos²
Jacobó Cáceres²

INTRODUCCION

El maíz muerto o pudrición seca de la mazorca, causado por *Stenocarpella maydis* es considerada como una de las principales enfermedades fungosas que afectan este cultivo en Centroamérica. Estimaciones de pérdidas realizadas en algunos departamentos productores de maíz de Honduras indican que éstas pueden llegar a 100% (del Río, 1990). Todos los híbridos y variedades sembrados comercialmente en Honduras son susceptibles a este patógeno (Ferrera, 1983). Actualmente no hay indicios del desarrollo de variedades de maíz con resistencia a la enfermedad.

La herencia de la resistencia al maíz muerto es de carácter aditivo y no dominante (Das *et al.*, 1984), es decir, está gobernada por varios genes y cada uno aporta una pequeña porción de resistencia, razón por

¹ Publicación DPV-EAP #374

² Escuela Agrícola Panamericana. Departamento de Protección Vegetal. El Zamorano. Apartado Postal 93, Tegucigalpa, Honduras.

la cual se expresa en forma de un gradiente con diversos niveles de resistencia.

El uso de métodos de inoculación muy drásticos en programas de fitomejoramiento, como la inyección de esporas o el uso de un palillo impregnado de inóculo, ha impedido detectar diferencias pequeñas en resistencia entre materiales promisorios. La aspersión de una suspensión de esporas sobre las mazorcas durante la floración femenina facilita esta diferenciación (Ullstrup, 1970).

Generalmente la emergencia de los pistilos no es uniforme, lo que implica tener parcelas experimentales grandes o efectuar varias inoculaciones en cada una con el fin de aprovechar la mayor cantidad de plantas. Al mismo tiempo, si se hace una sola inoculación, el área expuesta al inóculo sería diferente entre plantas, pudiendo provocar grandes diferencias en la cantidad de inóculo que llega a cada una y por ende en su respuesta a la enfermedad. La aspersión del inóculo en la base de la mazorca puede minimizar algunas de estas desventajas y al mismo tiempo proveer un ambiente más favorable para el desarrollo del hongo antes de iniciar el ataque a la mazorca.

Se sabe que la inoculación más eficiente, en términos de mayor proporción de mazorcas enfermas, es aquella que se hace en los primeros 14 días después de iniciada la floración (Ullstrup, 1949); sin embargo, no se sabe si esto es igual cuando se inocula en la base de las mazorcas. Considerando lo anterior, se realizó el presente trabajo, cuyo objetivo principal fue comparar el efecto de la inoculación de cuatro concentraciones de *S. maydis* en los pistilos y la base de la mazorca en tres fechas.

MATERIALES Y METODOS

El estudio fue conducido como dos experimentos independientes que recibieron el mismo manejo agronómico en un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial de 4 x 3 y cuatro repeticiones. En ambos estudios se evaluó el efecto de la inoculación de 1 ml de una suspensión conteniendo 0, 5×10^2 , 5×10^3 y 5×10^4 esporas de *S. maydis* asperjada 1, 7 y 14 días después del inicio de la floración femenina. Se consideró como inicio de floración el momento en que 50% de la población de plantas tenía pistilos visibles. En ambos estudios se seleccionaron 20 mazorcas por tratamiento para ser inoculadas; el criterio de selección fue el tamaño de los pistilos, los cuales debían presentar al menos 4 cm visibles en la punta de las mazorcas. Los datos

fueron analizados por separado (Cerritos, 1990; Torres, 1990). Para comparar el efecto del factor sitio de inoculación, se hizo un análisis combinado de ambos estudios considerando este factor como localidad y manteniendo el diseño original. Las parcelas experimentales fueron sembradas a finales de junio de 1989, en terrenos de la Escuela Agrícola Panamericana (EAP) ubicada a una altura de 800 msnm, con una temperatura promedio anual de 24°C y una precipitación total de 860 mm, para el período durante el estudio. El terreno fue preparado mediante una aradura y dos pases de rastra. Se utilizó semilla del híbrido H-27, la cual fue tratada con 2 g de metalaxyl/kg de semilla. Las semillas se sembraron a 0.2 m entre plantas y a 0.9 m entre surcos. La población final fue de 55,000 plantas/ha.

Al momento de la siembra se aplicaron 32 kg de N (urea 46%), 36 kg de P y 10 kg de carbofuran/ha. Treinta y cinco días después de la siembra se realizó una aplicación suplementaria de 20 kg de N/ha. Para el control de malezas se aplicaron 1.5 kg de alachlor y 2.0 kg de atrazina/ha en pre-emergencia; además, se realizó una limpia con azadón 40 días después de la siembra.

El inóculo de *S. maydis*, obtenido de cañas de maíz colectadas en la EAP, fue aislado, purificado y cultivado en cajas de Petri conteniendo agar avena. Las cajas se incubaron durante dos semanas a temperatura ambiente (aprox. 26°C). La suspensión de esporas se obtuvo licuando el contenido de varias cajas de Petri durante un minuto y filtrándola a través de una gasa para eliminar las partículas más gruesas. Las concentraciones usadas, 0, 5×10^2 , 5×10^3 y 5×10^4 conidias/ml, fueron estimadas con la ayuda de un hemacitómetro. La inoculación se realizó asperjando 1 ml de cada concentración en los pistilos o en la base de 20 mazorcas. Las inoculaciones se iniciaron al momento de la floración femenina y 7 y 14 días después.

Ciento treinta días después de la siembra se cosecharon y clasificaron las mazorcas de acuerdo con la siguiente escala lineal: 1 = 0-1%, 10 = 1-10%, 25 = 10-25%, 50 = 25- 50% y 100 = 50-100% del área de la mazorca dañada. Esta información fue utilizada para obtener un índice de la enfermedad como estimación de la severidad de la infección. Previo a su análisis, el índice fue transformado a logaritmo natural a fin de normalizar la población de datos (Gulya *et al.*, 1980). Al mismo tiempo se cuantificó la incidencia, es decir el número de mazorcas enfermas. Con los datos así obtenidos se realizó un análisis de varianza y separación de medias utilizando el procedimiento de diferencia mínima significativa.

RESULTADOS Y DISCUSION

Independientemente de la concentración y fecha de inoculación, la aspersión de *S. maydis* fue más efectiva ($P < 0.002$) cuando se depositó el inóculo en los pistilos que en la base de la mazorca. Esta efectividad se expresó en la duplicación de la incidencia y en un incremento del 30% ($P < 0.09$) en la severidad (Cuadro 1). La incidencia no fue superior a 10%, debido en parte a que durante la época de floración, el clima estuvo bastante seco y con escasa precipitación, lo cual contribuyó a que el inóculo fuera relativamente poco eficiente (Figura 1).

Cuadro 1. Incidencia y severidad del ataque de *S. maydis* inoculado en los pistilos y la base de mazorcas de maíz. El Zamorano, Honduras, 1990.

Inoculación	Incidencia (%)	Indice de Severidad
En pistilos	4.5	2.6
En la base	8.0	3.4
Significancia	0.002	0.09

Independientemente del sitio en que se depositó el inóculo, no se observó un efecto significativo de las fechas de inoculación en la incidencia ni en la severidad de la enfermedad, resultado que concuerda con lo observado por Ullstrup (1949) y Chambers (1988) con *Stenocarpella* (= *Diplodia*) y por Boling *et al.* (1963) con *Fusarium*. Los promedios de incidencia fueron 7.2, 6.4 y 5.2% y de severidad 3.5, 3.2 y 2.4 para la inoculación al momento de la floración, a los 7 y 14 días después del inicio de la floración, respectivamente.

Al analizar el efecto de las concentraciones, independiente del sitio y fecha de inoculación, se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$), tanto en la incidencia como en la severidad del ataque, especialmente entre las concentraciones altas (5×10^3 y 5×10^4 esporas/ml) y entre éstas y el testigo (Cuadro 2). La relación entre la concentración y la severidad de la infección fue positiva, es decir, a medida que se aumentó la concentración del inóculo la intensidad de la enfermedad también aumentó (Figura 2), lo cual concuerda con los resultados obtenidos por otros investigadores (Koehler, 1959; Ullstrup, 1970).

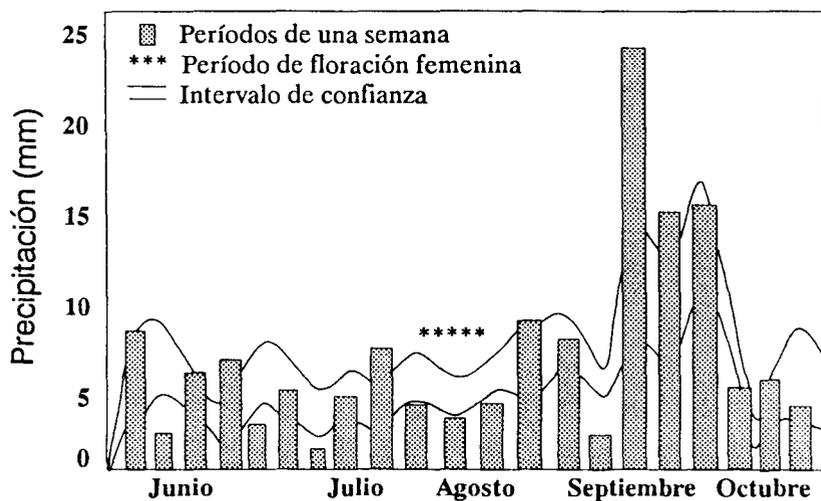


FIGURA 1. Precipitación semanal e intervalos de confianza de precipitación al 90% de probabilidad durante el ciclo de maíz entre junio y octubre de 1989 en El Zamorano, Honduras.

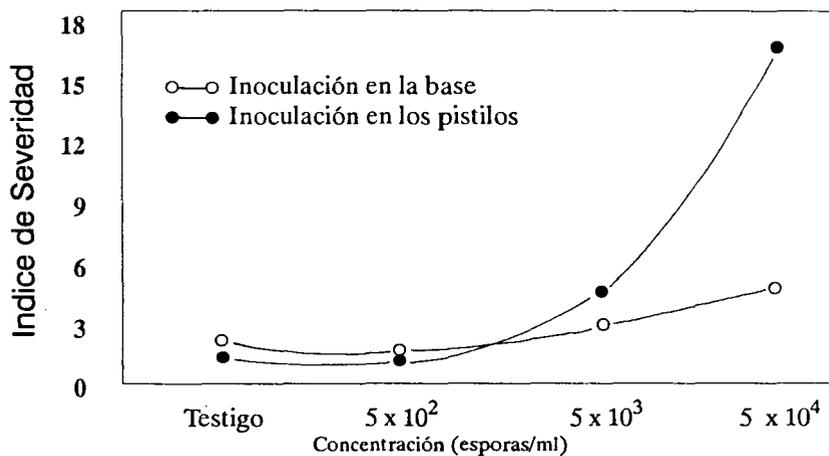


FIGURA 2. Relación entre severidad del maíz muerto y concentración de inoculación de *S. maydis* en la base y los pistilos de mazorcas de maíz en El Zamorano, Honduras, 1989.

Cuadro 2. Efecto de la concentración de *S. maydis* en la incidencia y la severidad del maíz muerto. El Zamorano, Honduras, 1990.

Concentración conidias/ml	Incidencia (%)	Índice de Severidad
0	1.8	1.6
5×10^2	1.6	1.4
5×10^3	6.3	3.8
5×10^4	15.3	9.0
DMS ¹ P < 0.05	3.1	1.6

¹ Diferencia Mínima Significativa

Debido a que no se observaron diferencias significativas en incidencia y severidad entre el testigo y la inoculación de 5×10^2 esporas/ml, se considera que bajo las condiciones en que se desarrolló este trabajo, esta es la concentración equivalente a la cantidad de esporas naturales que se depositó en las mazorcas. Es muy posible que este flujo de esporas haya provenido de parcelas aledañas al área de investigación. Con el objeto de reducir el error que este inóculo puede causar en la evaluación de las líneas o variedades de maíz, es conveniente dejar testigos de cada material sin inocular a fin de utilizarlos en los análisis estadísticos como los puntos de comparación o testigos.

Inocular 5×10^4 esporas/ml en los pistilos resultó en una incidencia 2.4 veces mayor que cuando se inoculó en la base (Cuadro 3); sin embargo, no hubo diferencia entre inocular esta concentración en la base y la inoculación de 5×10^3 esporas/ml en los pistilos. Estos resultados sugieren la posibilidad que en los pistilos existan mejores condiciones ambientales y de substrato, para el desarrollo del patógeno bajo inoculación artificial; aunque, en condiciones naturales la acumulación del inóculo en la base pueda ser mayor que en los pistilos debido al microclima que se crea en esta parte de las mazorcas.

Cuadro 3. Efecto de la concentración y sitio de inoculación de *S. maydis* sobre la incidencia de maíz muerto. El Zamorano, Honduras. 1990.

Concentración conidias/ml	Sitio de Inoculación	
	Base	Pistilos
	Incidencia (%)	
0	2.5	1.1
5×10^2	2.1	1.1
5×10^3	4.2	8.3
5×10^4	9.2	21.6
DMS ¹ P < 0.0001	4.4	

¹ Diferencia Mínima Significativa

La severidad fue 3.7 veces mayor ($P < 0.0007$) cuando se inoculó 5×10^4 esporas/ml en los pistilos que cuando se hizo en la base de las mazorcas (Cuadro 4). Este resultado refuerza la idea que en los pistilos se dan las mejores condiciones para que el inóculo progrese y que existe un nivel crítico mínimo para causar infección que en el presente estudio osciló alrededor de 5×10^2 esporas, pues no se observaron diferencias en la severidad del ataque entre el testigo y las concentraciones más bajas, independientemente del lugar donde fueron asperjadas.

Cuadro 4. Efecto de la concentración y sitio de inoculación de *S. maydis* sobre la severidad del maíz muerto. El Zamorano, Honduras. 1990.

Concentración conidias/ml	Sitio de Inoculación	
	Base	Pistilos
	Índice de Severidad	
0	2.1	1.3
5×10^2	1.6	1.3
5×10^3	3.0	4.9
5×10^4	4.7	17.2
DMS ¹ P < 0.0007	1.9	

¹ Diferencia Mínima Significativa

CONCLUSIONES

En general, la inoculación de *S. maydis* en los pistilos de las mazorcas causó mayor incidencia y severidad de ataque del patógeno que su inoculación en la base, siendo la mejor combinación la aspersión a los pistilos de 5×10^4 esporas/ml. El tiempo de inoculación no fue un factor de relevancia, dando lo mismo hacerlo al inicio de la floración femenina que 7 ó 14 días después. Si el factor limitante es la cantidad de material experimental disponible o el espacio para sembrarlo, se recomienda asperjar el inóculo en los pistilos a la concentración arriba indicada.

La concentración más eficaz fue 5×10^4 esporas/ml, aunque la ausencia de diferencias significativas entre la inoculación de 5×10^3 esporas/ml en los pistilos y 5×10^4 esporas/ml en la base indica que ambos métodos son igualmente efectivos para causar infección; al mismo tiempo sugiere que el patógeno puede penetrar por ambos tejidos, aunque lo hace más fácilmente por los pistilos.

Antes de hacer una recomendación definitiva sobre cual es el mejor método de inoculación, es conveniente exponer las mazorcas a concentraciones mayores que las usadas en este estudio para determinar si existe una concentración de inóculo que aplicado a la base resulte en una reacción equivalente a la obtenida al inocular 5×10^4 esporas/ml en los pistilos.

La inoculación de 5×10^2 esporas/ml resultó en una reacción similar a la observada en el testigo, lo cual indicó la presencia de inóculo natural en el ambiente, que podría interferir con las evaluaciones, especialmente si dicho inóculo aumenta en años con climas favorables para el desarrollo del patógeno. Por esta razón se recomienda dejar siempre testigos con inóculo natural en cada uno de los materiales a evaluar.

LITERATURA CITADA

- BOLING, M., C. O. Grogan y W. Broyles. 1963. A new method for artificially producing epiphytotics of *Fusarium* ear rot of maize. Plant Disease Reporter 47:315-316.
- CERRITOS, G. R. 1990. Efecto de diferentes concentraciones y épocas de inoculación con *Diplodia maydis* Berk. en la base de la mazorca de maíz. Tesis Ing. Agrónomo. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano, Honduras. 36 p.

- CHAMBERS, K. 1988. Effect of time of inoculation on *Diplodia* stalk and ear rot of maize in South Africa. *Plant Disease* 72:529-531.
- DAS, S. N., S. B. Chattopadhyay y S.L. Basak. 1984. Inheritance of resistance to *Diplodia* ear rot of maize. *Sabrao Journal* 16:149-152.
- DEL RIO, L. E. 1990. "Maíz muerto" en Honduras provocado por el complejo *Diplodia* y *Fusarium*. *Manejo Integrado de Plagas* 18:42-53.
- FERRERA, E. 1983. Protección al ataque de *Diplodia* (*Diplodia maydis*) a la mazorca de maíz mediante prácticas culturales. En: Secretaría de Recursos Naturales, Departamento de Investigación Agrícola, 1984. Programa de Maíz. Memoria Técnica Anual, 1983. Tegucigalpa, Honduras.
- GULYA, T., C. Martinson, y P. Loesch. 1980. Evaluation of techniques and rating dates for *Fusarium* ear rot of opaque-2 maize. *Phytopathology* 70:1116-1118.
- KOEHLER, B. 1959. Corn ear rots in Illinois. University of Illinois. Agric. Exp. Sta. Bulletin 639. 87 p.
- TORRES, J.U. 1990. Efecto de diferentes concentraciones y épocas de inoculación en el pistilo de mazorcas de maíz con *Diplodia maydis* (Berk.) Tesis Ing. Agrónomo. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano, Honduras. 41 p.
- ULLSTRUP, A. 1949. A method for producing artificial epidemics of *Diplodia* ear rot. *Phytopathology* 39:93-101.
- ULLSTRUP, A. 1970. Methods for inoculating corn ears with *Gibberella zeae* and *Diplodia maydis*. *Plant Disease Reporter* 54:658-662.

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la inoculación de 1 ml de una suspensión de $0, 5 \times 10^2$, 5×10^3 y 5×10^4 esporas/ml de *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton sobre los pistilos y la base de mazorcas de maíz a 1, 7 y 14 días después de iniciada la floración femenina. El estudio se realizó en la Escuela Agrícola Panamericana como dos experimentos independientes cada uno de los cuales evaluó un tipo de inoculación. Ambos experimentos fueron establecidos utilizando un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial de 4×3 y cuatro repeticiones. En el análisis estadístico los sitios de inoculación fueron considerados como localidades.

La inoculación en los pistilos de las mazorcas resultó más eficiente para producir infección que la inoculación en la base, presentando mayor incidencia y severidad de maíz muerto. Sin embargo, la respuesta de las mazorcas a la inoculación de 5×10^3 esporas en los pistilos y 5×10^4 esporas en la base fue similar; por esta razón se recomienda utilizar la aspersión en los pistilos, especialmente si queremos asegurar la infección o contamos con poco material experimental. El patógeno puede penetrar a la mazorca por cualquiera de los lugares inoculados, aunque lo hace más fácilmente por los pistilos. La ausencia de diferencias significativas entre la concentración más baja y el testigo indica la presencia de inóculo en el ambiente cuyo efecto debe ser evitado dejando testigos de cada material evaluado en condiciones de infección natural.