

# PRODUCCION DE PICNIDIOS DE Stenocarpella maydis (= Diplodia maydis Berk.) Sutton EN TEJIDOS VEGETALES Y MEDIOS SEMISINTETICOS<sup>1</sup>

Jairo Castaño-Zapata, Ph.D.<sup>2</sup>  
Nolvia Ramos<sup>2</sup>

## RESUMEN

*Stenocarpella maydis* (= *Diplodia maydis*), hongo causante de la pudrición de mazorcas de maíz en Centroamérica ha sido tradicionalmente cultivado en medios naturales a base de avena y agar. El alto costo del agar y la dificultad de conseguirlo motivaron la realización del presente estudio. Se evaluó el desarrollo y producción de conidias de *S. maydis* sobre tallos y hojas de maíz verdes y secas, brácteas secas, salvado y zuro secos de maíz, hojas de sorgo, pasto guinea y banano secos y sobre medios desarrollados a base de extractos de estos tejidos con agar y con dextrosa.

De los medios naturales el mejor fue el de hojas de sorgo secas, donde *S. maydis* produjo 18 picnidios/cm<sup>2</sup> de superficie.

Los medios a base de extractos de estos tejidos y agar no resultaron apropiados, pues el promedio de producción de picnidios apenas alcanzó 5 picnidios/cm<sup>2</sup> en el mejor de los casos. La adición de dextrosa a estos extractos incrementó significativamente la producción de picnidios, aunque estos no fueron tan abundantes como en los casos donde se usó el sustrato natural. Se comprobó que a nivel de laboratorio *S. maydis* puede desarrollarse en otros tipos de tejido, lo cual deja abierta

<sup>1</sup> Publicación DPV/EAP #506

<sup>2</sup> Fitopatólogo y Asistente de Laboratorio. Departamento de Protección Vegetal, Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Apartado 93, Tegucigalpa, Honduras.

la posibilidad que el patógeno pueda sobrevivir en otros hospedantes además del maíz.

## INTRODUCCION

*Stenocarpella maydis* (= *Diplodia maydis*) es un hongo ampliamente distribuido a través de las áreas maiceras del mundo provocando pudrición del tallo y de la mazorca del maíz (*Zea mays* L.).

En Centroamérica, especialmente en Honduras, Costa Rica y Guatemala, la pudrición de la mazorca se ha considerado la enfermedad más importante del maíz (Córdova, 1990). En Honduras, por ejemplo la pudrición de la mazorca ha provocado pérdidas superiores al 20% (López et al., 1990). Información reciente (13 de octubre de 1993) obtenida de la agencia de extensión de la Secretaría de Recursos Naturales de Danlí, Departamento de El Paraíso, indica que esta enfermedad está provocando pérdidas en el campo hasta del 85%.

Para realizar estudios de laboratorio o de campo con enfermedades fungosas provocadas por parásitos facultativos, como *S. maydis*, es necesario cultivar a los agentes causales en medios de cultivo. Estos pueden ser de tres tipos: medios sintéticos, semisintéticos y naturales (Castaño-Zapata, 1986).

Los medios sintéticos son de composición conocida, los medios semisintéticos están constituidos en parte por materiales de composición desconocida, y los medios naturales están compuestos por materiales de composición desconocida como partes esterilizadas de tejidos vegetales.

Los componentes de medios sintéticos y semisintéticos con frecuencia son difíciles de conseguir en países en vía de desarrollo, de ahí la dificultad de usarlos en trabajos rutinarios de laboratorio. Por otro lado, los medios naturales, además de conseguirse fácilmente, son muy económicos.

El presente estudio tuvo por objetivo principal identificar medios naturales adecuados para obtener abundantes picnidios de *S. maydis*.

## MATERIALES Y METODOS

**Tejidos Vegetales.** Se seleccionaron los siguientes tejidos vegetales de maíz: Tallos secos y verdes, hojas secas y verdes, brácteas secas de mazorca, salvado y zuro. Asimismo, se seleccionaron hojas secas de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench.], pasto Guinea (*Panicum maximum* Jacq.) y banano (*Musa* sp.). Las hojas de pasto Guinea se cortaron en pedazos de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup>. Las hojas de sorgo, banano y maíz, incluyendo las brácteas de mazorca, se cortaron en círculos de 64 cm<sup>2</sup>, los cuales cubrían el fondo de las cajas Petri. Se prepararon tres círculos por tejido. Los tallos y zuro de maíz se seccionaron en pedazos de aproximadamente 4 x 2 cm. De cada uno de estos últimos tejidos, incluyendo el salvado de maíz, se pesaron 30 g, los cuales se distribuyeron en tres cajas Petri (10 g/caja). A cada caja se le agregaron 12 ml de agua. Las cajas se esterilizaron en un autoclave marca Market Forge (Modelo STM-E Tipo E) a una temperatura de 121°C y 6.8 kg/6.5 cm<sup>2</sup> de presión, durante 20 min. Después de la esterilización se eliminó el exceso de agua en cada caja. Al día siguiente se procedió a inocular el centro de cada caja con un sacabocado (5 mm de diámetro) de un cultivo puro de *S. maydis* de dos semanas de edad creciendo en medio de avena-agar (20 g avena y 20 g de agar por litro de agua). El diseño del experimento fue completamente aleatorizado con tres repeticiones. Las cajas se trasladaron a una incubadora marca Precision Scientific, General Electric (Modelo 805) calibrada a 28°C. Allí permanecieron durante 21 días, al cabo de los cuales se procedió a contar el número de picnidios de *S. maydis* producidos/cm<sup>2</sup>. Para tal fin se marcó sobre un círculo de plástico transparente 4 cuadrículas equidistantes una de otra de 1 cm<sup>2</sup>. En el centro de las cuadrículas se marcó un área adicional también de 1 cm<sup>2</sup>. El círculo de plástico con las cinco cuadrículas se colocó sobre los tejidos y se procedió a contar el número de picnidios producidos/cm<sup>2</sup>.

**Extractos de tejidos-agar y extractos de tejidos-dextrosa-agar.** De cada tejido utilizado en el tratamiento anterior se pesó 10 g a los cuales se les adicionó 200 ml de agua en un erlenmeyer. Esta mezcla se coció en el autoclave a una temperatura de 121°C durante 40 min. Se filtró y se ajustó con agua el volumen a 200 ml, los cuales se dividieron en dos volúmenes de 100 ml. A uno de los erlenmeyers conteniendo 100 ml de extracto de tejido se le adicionó 2 g de agar, y al otro, 2 g de dextrosa y 2 g de agar. Luego se esterilizaron a 121°C y 6.8 kg/6.5 cm<sup>2</sup> durante 20 min. Después de la esterilización y cuando los medios estaban a una temperatura de aproximadamente 45°C se procedió a verter unos 15 ml de medio por caja Petri. Se prepararon tres cajas por tratamiento. Al

día siguiente, se inocularon las cajas en el centro con un sacabocado (5 mm de diámetro) conteniendo un cultivo puro de *S. maydis* de dos semanas de edad. Se siguió un diseño experimental completamente aleatorizado con tres repeticiones. Las cajas se colocaron en una incubadora Precision Scientific, General Electric (Modelo 805) calibrada a 28°C. Allí se dejaron por 21 días, al cabo de los cuales se contó el número de picnidios producidos/cm<sup>2</sup>. Como en el tratamiento anterior, se usó un círculo de plástico marcado con cinco cuadrículas, las cuales se sobrepusieron sobre la base y parte externa de las cajas por donde se pudo contar fácilmente los picnidios embebidos en los medios.

## RESULTADOS

Los análisis de varianza indicaron que hubieron diferencias altamente significativas entre tratamientos al nivel de probabilidad  $P = 0.01$ .

**Tejidos Vegetales.** En todos los tejidos usados se produjeron picnidios de *S. maydis*. La mayor cantidad de picnidios se produjo en hojas secas de sorgo, seguido por hojas secas de pasto Guinea y hojas y tallos secos de maíz, con una producción de 18, 12, 11 y 11 picnidios/cm<sup>2</sup>, respectivamente (Cuadro 1)

Cuadro 1.- Producción de picnidios de *S. maydis* en tejidos vegetales después de 21 días a 28°C.

Sustrato	Replicación			Promedio
	I	II	III	
Hojas secas de sorgo	19 <sup>1</sup>	17	18	18 a <sup>2</sup>
Hojas secas de pasto Guinea	8	9	9	12 b
Hojas secas de maíz	8	11	15	11 b
Tallos secos de maíz	10	9	9	11 b
Hojas secas de banano	10	9	9	8 b c
Brácteas secas de mazorca	8	6	6	6 cd
Salvado de maíz	8	4	5	6 cd
Tallos verdes de maíz	7	6	6	6 cd
Hojas verdes de maíz	2	3	4	3 d
Zuro de maíz	3	1	3	2 d

<sup>1</sup> Promedio de cinco cuadrículas de 1 cm<sup>2</sup> cada una.

<sup>2</sup> Promedios con letras diferentes difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Duncan ( $P = 0.05$ )

**Extractos de tejidos-agar.** Como en el experimento anterior, se produjeron picnidios de *S. maydis* en todos los extractos de tejidos empleados. La mayor cantidad de picnidios se produjo en extractos de tejido de maíz, siendo mayor la producción en extractos de tallos secos seguido por tallos verdes y hojas verdes con una producción de 14, 12 y 9 picnidios/cm<sup>2</sup>, respectivamente (Cuadro 2).

FUENTE DEL EXTRACTO	CON DEXTROSA				SIN DEXTROSA			
	I	II	III	P*	I	II	III	P*
Tallos secos de maíz	9 <sup>1</sup>	13	5	14a <sup>2</sup>	0	9	5	5A <sup>3</sup>
Tallos verdes de maíz	8	11	18	12a	0	0	0	0 b
Hojas verdes de maíz	8	10	9	9ab	0	0	0	0 b
Hojas secas de pasto Guinea	7	8	6	7bc	2	2	1	2ab
Hojas secas de banano	6	7	4	6bcd	3	1	1	2ab
Hojas secas de maíz	6	6	7	6bcd	0	0	0	0 b
Hojas secas de sorgo	3	7	4	5bcd	0	0	0	0 b
Salvado de maíz	6	3	4	4cd	2	1	2	2ab
Zuro de maíz	2	3	3	3cd	0	0	0	0 b
Brácteas secas de mazorca	3	2	2	2d	1	4	3	3a

P\* = Promedio

**Extractos de tejidos-dextrosa-agar.** De los 10 tejidos utilizados, sólo en cinco se produjeron picnidios de *S. maydis*. La mayor cantidad de picnidios se produjo en extractos de maíz, especialmente tallos secos y brácteas con una producción de 5 y 3 picnidios/cm<sup>2</sup>, respectivamente (Cuadro 2).

## DISCUSION

Es evidente la producción de picnidios de *S. maydis* tanto en tejidos vegetales como en extractos de éstos. En general, la mayor producción de picnidios se obtuvo en tejidos secos. La producción de picnidios se redujo significativamente en hojas y tallos verdes de maíz; sin embargo, en extractos de estos tejidos se aumentó significativamente. Esto indica que es probable que exista un factor inhibitorio en tejidos verdes, el cual se diluye con la cocción de los tejidos. Este factor parece no estar presente en salvado y zuro de maíz, ya que en estos tejidos se produjo consistentemente un número reducido de picnidios/cm<sup>2</sup>. La adición de azúcar en forma de dextrosa redujo significativamente la producción de picnidios, lo cual concuerda con Morant y Warren (1993), quienes demostraron que existe una correlación negativa entre la concentración de azúcar en forma de sacarosa en el medio de cultivo y la esporulación. Aunque los extractos de tejidos de maíz, especialmente de tallos secos y verdes y hojas verdes, producen una buena cantidad de picnidios de *S. maydis*/cm<sup>2</sup>, sería más ventajoso utilizar directamente tejidos de gramíneas como el sorgo, pasto Guinea y aún las mismas hojas y tallos secos de maíz, ya que además de obviarse el uso del agar, conservan las características morfológicas de las picnidiosporas del hongo el cual es un parásito fuertemente facultativo. La habilidad saprofítica de *S. maydis* ha sido demostrada por Castaño-Zapata y Ramos (1992, datos no publicados). Estos investigadores al inocular *S. maydis* sobre granos de maíz sanos y deteriorados, demostraron que el hongo produce abundantes picnidios sobre granos deteriorados o malos, pero no sobre granos sanos, en los cuales se desarrolla sólo micelio del hongo.

Los resultados de este estudio comprueban claramente que el hongo puede sobrevivir en otras gramíneas como el sorgo y pasto Guinea, y aún en hojas de banano, lo cual no concuerda con la literatura que menciona que *S. maydis* sólo sobrevive como picnidiosporas en picnidios sobre residuos de cosecha y granos de maíz (Shurtleff, 1980) y que sólo se le conoce al maíz y al teosinte como hospedantes (Christensen y Wilcoxson, 1966; Commonwealth Mycological Institute, 1966, citado por Morant y Warren, 1993). Desde el punto de vista epidemiológico, la sobrevivencia del hongo en otros hospedantes diferentes al maíz, es de gran importancia, ya que indica que el *S. maydis* tiene en la naturaleza otros hospedantes alternos para sobrevivir, lo cual es importante considerar cuando se trata de implementar medidas de control del hongo en el campo.

## LITERATURA CITADA

- Castaño-Zapata, J. 1986. Prácticas de laboratorio de Fitopatología. Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Protección Vegetal. Proyecto AID/Honduras No. 522-0222, Publicación MIPH-EAP No. 95. 45p.
- Christensen, J.J. and R.D. Wilcoxson, 1966. Stalk rot of corn. Monograph 3 American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
- Córdova, H. 1990. Estabilidad del rendimiento de 36 híbridos de maíz (*Zea mays* L.) en 14 ambientes de Centroamérica, Panamá y México. Memorias de la XXXVI reunión anual del PCCMCA. San Salvador, El Salvador, 26-30 de marzo, 1990. Vol. I. 97-112.
- López, J., R. Padilla, E. Salvatierra, R. Ocampo, A. Colindres, L. Pineda, M. Bustamante y D. Monterroso, 1990. Estimación de las pérdidas provocadas por la pudrición de la mazorca del maíz en Taulabé, Comayagua, 1987. CEIBA, 31 (1) 9-14.
- Morant, M.A. and H.L. Warren. 1993. A synthetic medium for mass production of pycnidiospores of *Stenocarpella* species. Plant Disease. 77 (4): 424-426.
- Shurtleff, M.C. (ed.) 1980. Compendium of corn diseases. Second Edition. American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. pp. 105