

**Susceptibilidad a *Fusarium verticillioides*, *Gibberella zeae* y *Diplodia maydis* en
líneas e híbridos pre-comerciales de maíces templados y tropicales**

Trabajo final presentado para optar al título de
Especialista en Mejoramiento Genético Vegetal

de la

Escuela para Graduados *Alberto Soriano*

Facultad de Agronomía UBA

María Belén Buchaca

Ingeniera Agrónoma
Universidad de Buenos Aires (2008)

Ing. Agr. Dr Marcelo Melani

Tutor

Ing. Agr. Dr. Daniel J. Miralles

Jurado

Ing. Agr. Dra Alicia Basso

Jurado

Fecha de defensa:

INDICE

Resumen.....	4
Introducción.....	5
Materiales y Métodos.....	7
Resultados.....	9
Discusión.....	20
Conclusiones.....	22
Bibliografía.....	22

RESUMEN

Las podredumbres de espiga (causada por *Fusarium verticillioides* y *Gibberella zeae*) y tallo (causada por *F.verticillioides*) provocan importantes pérdidas de rendimiento y calidad del grano en maíz (*Zea mays* L.), por lo que es importante mantener actualizado el conocimiento sobre la variabilidad genotípica de la especie para la tolerancia a las mismas así como la posible relación entre la presencia de una y otra podredumbre. Con estos objetivos se evaluaron (i) 438 líneas y 84 híbridos precomerciales de origen templado para resistencia a ambas podredumbres, y (ii) 84 líneas de origen templado y tropical para resistencia a podredumbre de la espiga por *Diplodia maydis*. Ambos ensayos fueron conducidos en un DBCA en Fontezuela (33.9 °S, 60.47° O), Argentina, durante 2009-2010. Los tratamientos empleados fueron inoculación artificial e infección natural. Se encontraron diferencias significativas entre ambas para incidencia (I: porcentaje de plantas afectadas en el surco), Severidad (S: porcentaje promedio de podredumbre de las espigas sobre el total de espigas afectadas) y SxI, tanto para híbridos como para líneas. Existió una correlación positiva entre el tratamiento control sin inocular y el inoculado para todas las enfermedades. Se detectó una pequeña influencia de los caracteres morfológicos de la espiga y el grano sobre la resistencia a podredumbre de espiga por *F.verticillioides* y *D. maydis*, respectivamente. No se encontró *G. zeae* en el control, por lo que no pudieron realizarse los análisis correspondientes para esta enfermedad. La asociación entre el tratamiento inoculado con fusariosis de espiga y el control para fusariosis de tallo, y viceversa, nunca fue consistente, por lo tanto puede emplearse un tratamiento como control del otro. Los materiales de origen tropical fueron más resistentes a *D. maydis* que los templados, aunque las diferencias entre grupos heteróticos no resultaron altamente significativas. Se determinó que la inoculación artificial empleando infección natural como control es una práctica recomendable en el mejoramiento de maíz por resistencia a enfermedades. La inoculación artificial puede generar mayor variación en las respuestas, permitiendo observar y comparar el comportamiento de distintos materiales frente a la infección de patógenos.

Palabras claves: *Zea mays* * *Fusarium verticillioides* * *Gibberella zeae* * *Diplodia maydis* * resistencia a enfermedades * variabilidad genotípica *

INTRODUCCIÓN

Fusarium verticillioides, (Saccardo) Nirenberg [(= *F. moniliforme* (Sheldon), teleomorfo *Gibberella moniliformis* (Wineland) (= *G. fujikuroi* (Sawada Ito en Ito & Kimura,)), *F. graminearum* (Schwabe) [teleomorph *G. zaeae* (Schwein.) Petch] y *Stenocarpella maydis* (Berk.) B. Sutton (= *Diplodia maydicola*, *Diplodia maydis*, *Diplodia zaeae*, *Diplodia zaeae-maydis*, *Hendersonia zaeae*, *Macrodiplodia zaeae*.) se encuentran entre los patógenos más importantes que causan pudriciones de espiga y base del tallo en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.). Estas pudriciones resultan en pérdidas de rendimiento y, en el caso de las que afectan espigas, en reducción de la calidad del grano (Gevers, 1988) y problemas micotoxicológicos (Rheeder, J. P., et al 1993), como es la contaminación con micotoxinas como las fumonisinas producidas por *F. verticillioides*, el deoxinivalenol (DON) y la zearalenona (ZEA), producidos por *F. graminearum*, y la diplodiatoxina producida por *Diplodia maydis*.

La pudrición de espiga por *F. verticillioides* se caracteriza por presentar dos tipos de síntomas. El primero es el crecimiento de un moho algodonoso blanco-rosado en granos, generalmente en sectores de la espiga que poseen daños causados por insectos, granizo, o aves. La segunda es la coloración rosada de aquellos granos que no fueron dañados. *Gibberella zea*, en cambio, se identifica fácilmente por el color rosa o rojizo del moho, aunque en ciertas ocasiones aparece de color blanco. Usualmente comienza por la punta de la espiga, tomando en algunos casos la espiga completa. Estos hongos a menudo infectan granos sin desarrollar síntomas visibles (Flett et al., 1996). La infección asintomática en plantas dificulta la selección por resistencia, basada en evaluaciones visuales (Duvick 2001; Giorda y Peiretti, 2006). Por último, los síntomas generados por *D.maydis* se pueden observar durante el desarrollo temprano de la espiga, que resulta en un color amarillento y el secado de las brácteas infectadas en una planta de maíz verde. Comienza con el crecimiento de un micelio blanco en la base pudiendo afectar la espiga completa. La podredumbre basal del tallo, a su vez, es una de las enfermedades más importantes del maíz en la Argentina por su difusión, incidencia y severidad (Laguna et al., 2011). Genera una disminución en el rendimiento al afectar directamente la actividad fisiológica de la planta, provocando finalmente el vuelco de la misma, siendo ésta la principal causa de pérdidas económicas. Diferentes condiciones de estrés que afectan la fotosíntesis (e.g., sequía, alta densidad de plantas y enfermedades foliares), al igual que la presencia de barrenador del tallo, favorecen la podredumbre de la caña (Dodd, 1983).

La susceptibilidad diferencial de los genotipos de maíz al ataque de estos hongos se conoce a nivel de cultivares inscriptos (Presello et al., 2005), pero es fundamental establecer la variabilidad que existe dentro de cada población cuando ésta debe ser sometida al proceso de selección. Sin embargo, la amplia diversidad de ambientes, patógenos y plantas afectan la ocurrencia y expresión de los síntomas, lo que hace difícil la detección de la resistencia. Esto, además, es especialmente crítico en la evaluación de un gran número de genotipos, pues suelen diferir en ciclo y consecuentemente en las condiciones predisponentes durante las etapas más sensibles para la infestación, tornando muchas veces inválidas las comparaciones de infestación por vías naturales. Por este motivo, varios autores (Russell, 1961; Hooker, 1973; Hooker y Draganic, 1980) recomiendan la infección artificial en estudios orientados al mejoramiento para resistencia a enfermedades.

Además de la respuesta a enfermedades atribuible a factores genéticos propiamente dichos, resulta necesario establecer las posibles interrelaciones entre los distintos grados de susceptibilidad genotípica y la variación en su expresión atribuible al efecto indirecto de caracteres de la espiga y del grano, en particular el nivel de compactación de las brácteas y su longitud. La prolongación de las brácteas en más de 5 cm de la punta de la espiga ha sido reportada como una característica asociada con la prevención del desarrollo de la podredumbre de espiga (Mejía Contrera et al., 1983). Por otro lado, Farrar y Davis (1991) destacan que la incidencia de la podredumbre de espiga causada por *Fusarium* está correlacionada con un bajo nivel de compactación de las chalas en el estadio de 'barba madura' durante el desarrollo de la espiga. Hesseltine y Bothast (1977), por su parte, sugirieron que esta característica de las chalas facilita la entrada de insectos y, por consiguiente, la contaminación fúngica. En cuanto a caracteres del grano, es importante analizar la interrelación entre el tipo de endosperma y la susceptibilidad a podredumbres de espigas. Existen evidencias de que maíces con endosperma flint y maíces pisingallo son más resistentes a la infección con podredumbre de espiga que maíces con endosperma de menor grado de dureza.

El objetivo de este trabajo fue cuantificar y caracterizar la variabilidad genética de caracteres de la espiga y su relación con la susceptibilidad al desarrollo de la podredumbre de la misma ocasionada por *Fusarium verticillioides* y *Gibberella zeae*, y de caracteres del grano y su relación con la susceptibilidad a podredumbre de espiga causada por *Diplodia maydis*. La inoculación con esta última enfermedad también tuvo como finalidad analizar las diferencias en respuestas a la infección entre distintos grupos heteróticos y lugares de origen. Otro objetivo planteado fue establecer asociaciones entre la inoculación de la espiga y la manifestación de podredumbre de tallo y viceversa. Con el fin de estimar la eficacia de la inoculación artificial se

analizó la correlación entre las respuestas al tratamiento control y al inoculado. Se emplearon líneas estabilizadas e híbridos pre-comerciales como material base de selección en proyectos de mejora genética.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos fueron conducidos en Fontezuela (33.9 °S, 60.47° O), en la estación experimental de Monsanto sita en el partido de Pergamino, durante la campaña 2009/2010. El diseño experimental fue siempre DBCA, empleándose parcelas de 5 m de largo con una distancia de 52 cm entre surcos. Para la evaluación de podredumbre de espiga, causada por *F.verticillioides* y *Gibberella zea*, y de tallo, causada por *F. verticillioides*, se utilizaron 84 híbridos y parcelas de dos surcos, con dos repeticiones. La primera mitad de uno de los surcos fue inoculada artificialmente para podredumbre de espiga y la segunda mitad para podredumbre de tallo. En el surco adyacente, una mitad fue inoculada con *Gibberella zea* para podredumbre de espiga y la otra mitad no fue inoculada. Esta última constituyó un control general. Además, se evaluaron 438 líneas para podredumbre de espiga y tallo causada por *F.verticillioides*. En este último caso el ensayo constó de parcelas de un surco sin repeticiones, inoculándose artificialmente la primera mitad del surco para podredumbre de espiga y la segunda para podredumbre del tallo, empleándose una como control de la otra. El estudio referido a *Diplodia maydis* constó de un set de 84 líneas (61 templadas y 23 tropicales) ubicadas en parcelas de 1 surco y cuatro bloques. Tres fueron inoculados artificialmente y uno fue empleado como control para referencia del nivel de infestación natural.

Las inoculaciones con *F.verticillioides* y *G.zea* para podredumbre de espiga fueron realizadas con una jeringa graduada, inyectando 3 ml de una solución de esporas de concentración conocida a la porción expuesta de los estigmas, 10 a 12 días luego del 50% de floración femenina. La infección en tallo se llevó a cabo en el segundo entrenudo elongado unos 12 a 14 días después del 50% de floración femenina, utilizando un cilindro de bronce con una aguja en el extremo y empleándose la misma dosis y concentración que en la infección de la espiga. La producción del inóculo fue desarrollada a través de su aislamiento, cultivo y reproducción en laboratorio, dos meses antes de la inoculación. Para ello se emplearon placas de petri con medio Agar Papa glucosado y posterior repique a granos de sorgo en cámara de crecimiento, bajo condiciones controladas de temperatura y fotoperíodo.

Para la determinación de los caracteres morfológicos de las brácteas asociados a la infección, tales como el nivel de compactación y extensión, se realizó una primera lectura a los

20 días después del 50% de floración femenina y una segunda medición 20 días después, obteniéndose para cada variable un promedio de ambas determinaciones. Para el caso de la extensión se utilizó la siguiente escala: 1) espiga muy expuesta (más de un tercio de la espiga visible); 2) espiga expuesta (hasta un tercio de la espiga visible); 3) punta de la espiga expuesta pero menos de un tercio del total; 4) chalas casi cubriendo la punta de la espiga (se podía ver la punta de la espiga, pero no sobresalía por entre las chalas); 5) espiga cubierta pero sin espacio entre su punta y las chalas; 6) chalas 5-8 cm más largas que la punta de la espiga; 7) chalas 8-10 cm más largas que la punta de la espiga; y 8) chalas 10 cm más largas que la punta de la espiga. La escala empleada para nivel de compactación fue la siguiente: 1) chalas muy sueltas (suficientemente separadas como para distinguir cada chala individualmente); 2) chalas sueltas (ninguna resistencia a la remoción, pero no se distinguen todas las chalas individuales); 3) chalas compactadas (adheridas a la espiga, dificultando levemente su remoción); 4) chalas muy compactadas (firmemente adheridas a la espiga, siendo muy dificultosa su remoción).

En el experimento correspondiente a *Diplodia maydis*, la inoculación se llevó a cabo empleando también una jeringa graduada, conteniendo una dosis de 1 ml de una solución de concentración conocida de esporas que fue inyectada en la base de la espiga 15 a 20 días luego de 50% de floración femenina. Se caracterizó el tipo de endosperma de los genotipos utilizados en: 1) dentado, 2) semidentado y 3) flint.

En todos los casos, las variables de respuesta medidas fueron (i) incidencia (I), como proporción de plantas afectadas en el surco (en %), (ii) severidad (S), como proporción promedio de podredumbre de las espigas o tallos sobre el total de espigas o tallos afectadas (en %) y (iii) el índice severidad x incidencia ($S \times I$, en %). Para la cuantificación de la respuesta a *Diplodia maydis*, se llevó a cabo además una medición basada en el peso de los granos ($GI/GT = \text{peso de granos infectados} / \text{peso de granos total}$), efectuándose posteriormente una asociación entre ambos métodos (el tradicional basado en el índice $S \times I$ y el aquí propuesto basado en GI/GT).

Se realizó análisis de varianza para determinar la existencia de diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos y prueba de comparación de medias por método de Tukey mediante el programa estadístico INFOSTAT. La relación entre diferentes métodos de análisis (inoculado vs control o $S \times I$ vs GI/GT) se evaluó mediante análisis de correlación. También se analizó la distribución de frecuencias mediante prueba de normalidad de Shapiro – Wilks.

RESULTADOS

1- Podredumbre de espiga por *Fusarium verticillioides*

Se encontraron diferencias significativas entre infección natural y artificial en Incidencia (Fig. 1), Severidad (Fig. 2) y SxI, tanto para líneas como para híbridos (Fig. 3). Los valores de todos los índices resultaron mayores en las primeras que en los segundos. Los híbridos mostraron una distribución normal en su respuesta al tratamiento inoculado para el índice de Incidencia de esta enfermedad, pero no para el resto de los índices. Para Severidad y SxI de los inoculados y para de todos los índices en el caso de los controles, se verificó una respuesta sesgada hacia valores menores de los índices. Para las líneas, la distribución de los genotipos fue similar en ambos tratamientos (inoculado y control) y sesgada hacia valores mayores de Incidencia, pero no de Severidad y SxI.

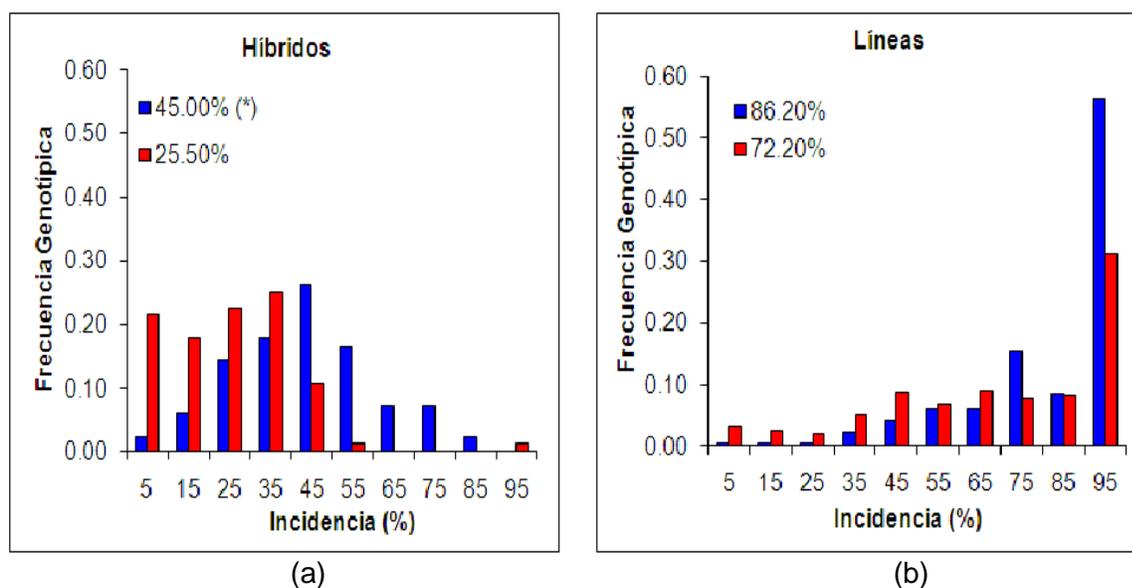


Figura 1. Distribución de frecuencias de Incidencia de podredumbre de espiga causado por *F. verticillioides* para híbridos (a) y líneas (b) de tratamientos inoculado (azul) y control (rojo). Se indican los valores medios de cada uno y los casos en que se cumple la condición de distribución normal (*)

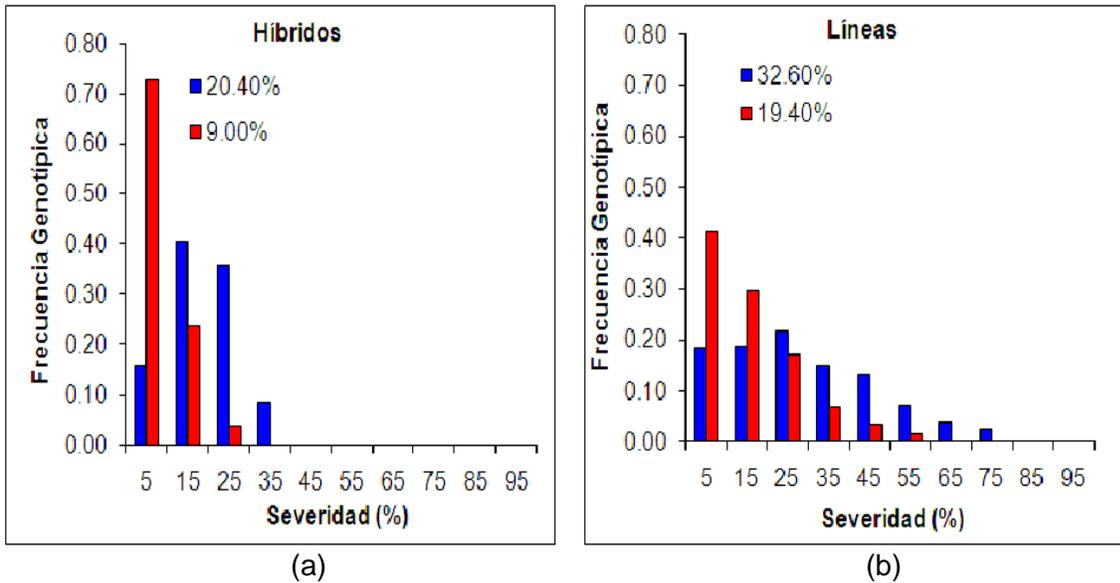


Figura 2. Distribución de frecuencias de Severidad de *F. verticillioides* para híbridos (a) y líneas (b). Símbolos como en Fig. 1.

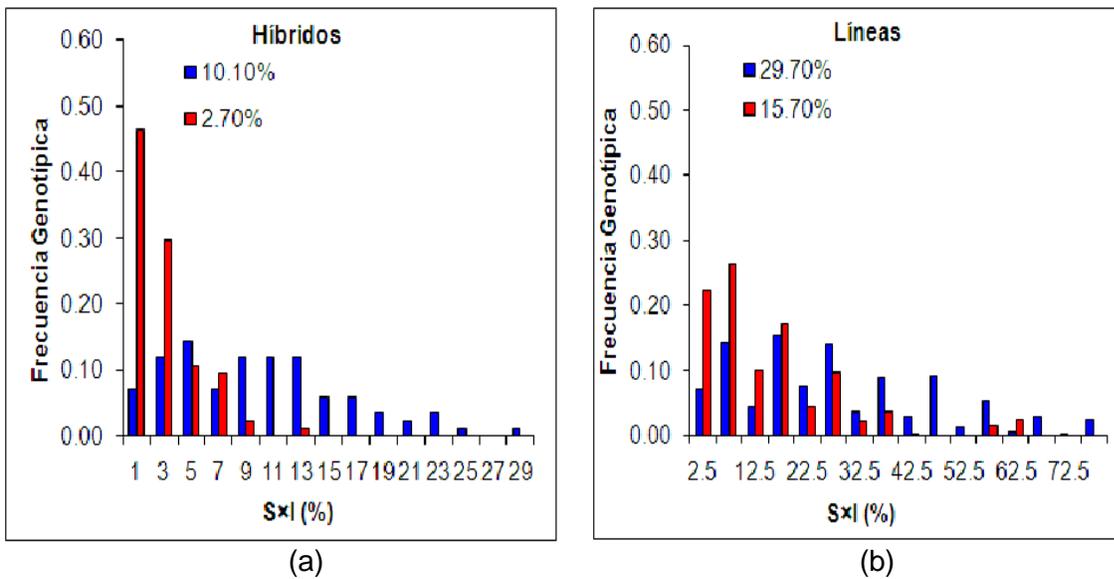


Figura 3. Distribución de frecuencias de SxI para *F. verticillioides* en híbridos (a) y líneas (b). Símbolos como en Fig. 1.

La correlación entre los tratamientos control e inoculado fue positiva y significativa ($P < 0.001$) tanto para líneas como para híbridos (Figura 4).

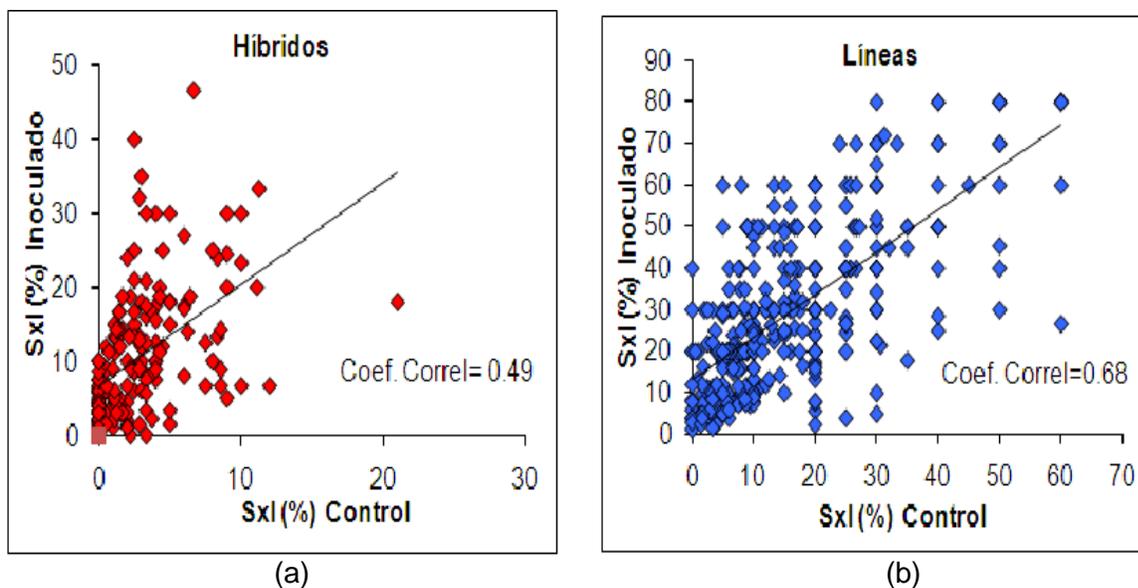


Figura 4. Asociación entre los tratamientos con inoculación artificial y control de *F. verticillioides* para el índice SxI (%) en (a) híbridos ($P < 0.001$) y (b) líneas ($P < 0.001$).

La correlación entre la extensión de las brácteas y la incidencia de *Fusarium verticillioides* mostró una tendencia siempre negativa ($P < 0.05$) y resultó un poco más alta para híbridos que para líneas (Figura 5). La misma tendencia se verificó para la compactación ($P < 0.05$; Figura 6).

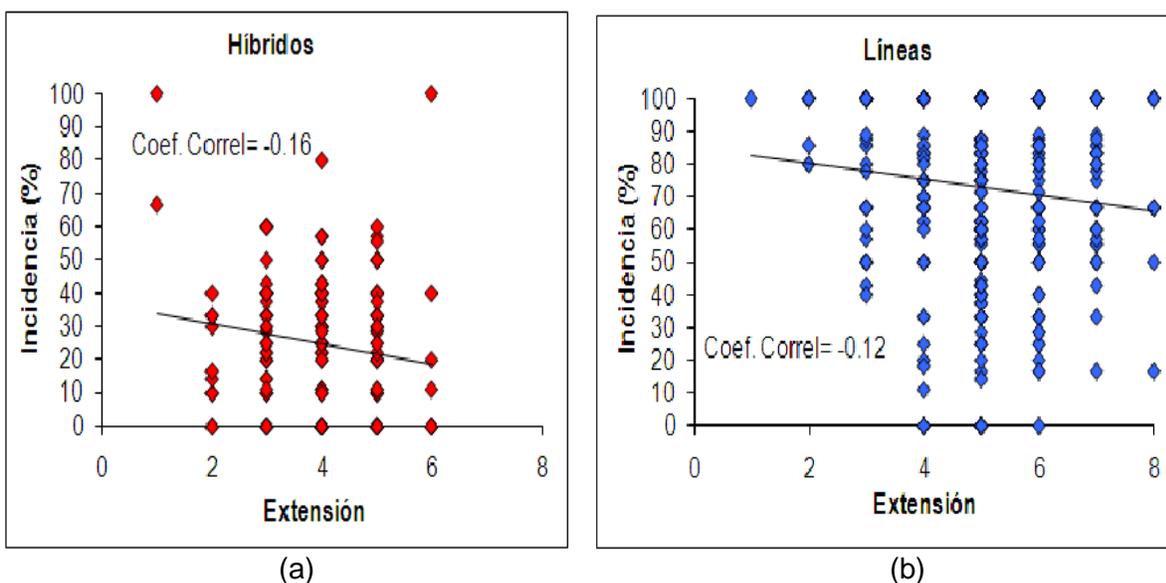


Figura 5. Correlación entre incidencia de *F. verticillioides* y extensión de brácteas para (a) híbridos ($P < 0.05$) y (b) líneas ($P < 0.05$).

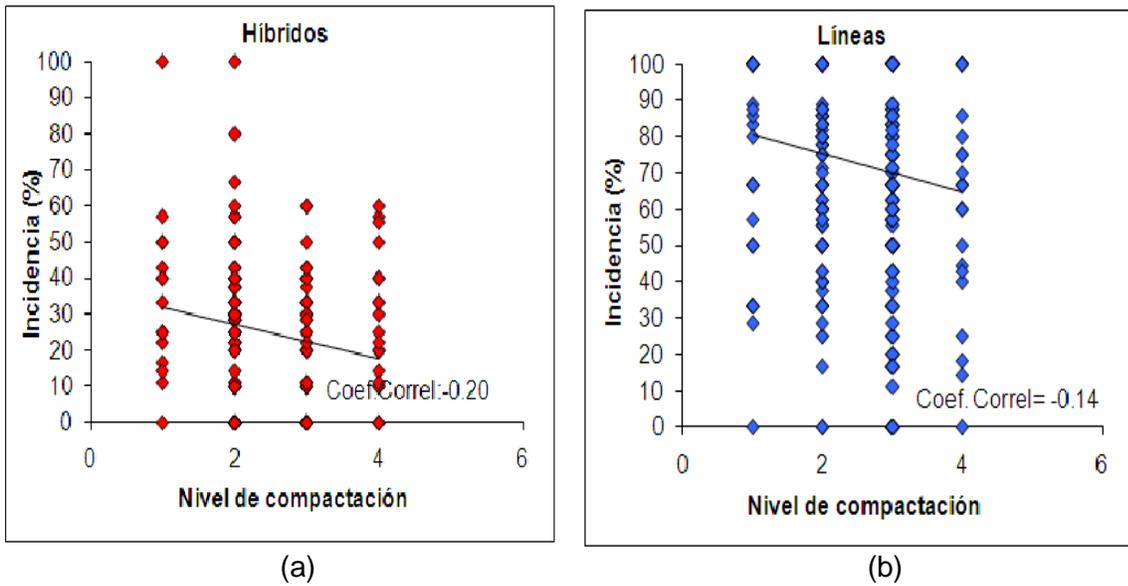


Figura 6. Correlación entre incidencia de *F. verticillioides* y el nivel de compactación de las chalas en (a) híbridos ($P < 0.05$) y (b) líneas ($P < 0.05$)

2- Podredumbre de espiga por *Gibberella zeae*:

La evaluación en híbridos de los niveles de Incidencia, Severidad y SxI de *G.zeae* fueron menores que para *F. verticillioides* (Figuras 7 y 8). La enfermedad no fue detectada en el control.

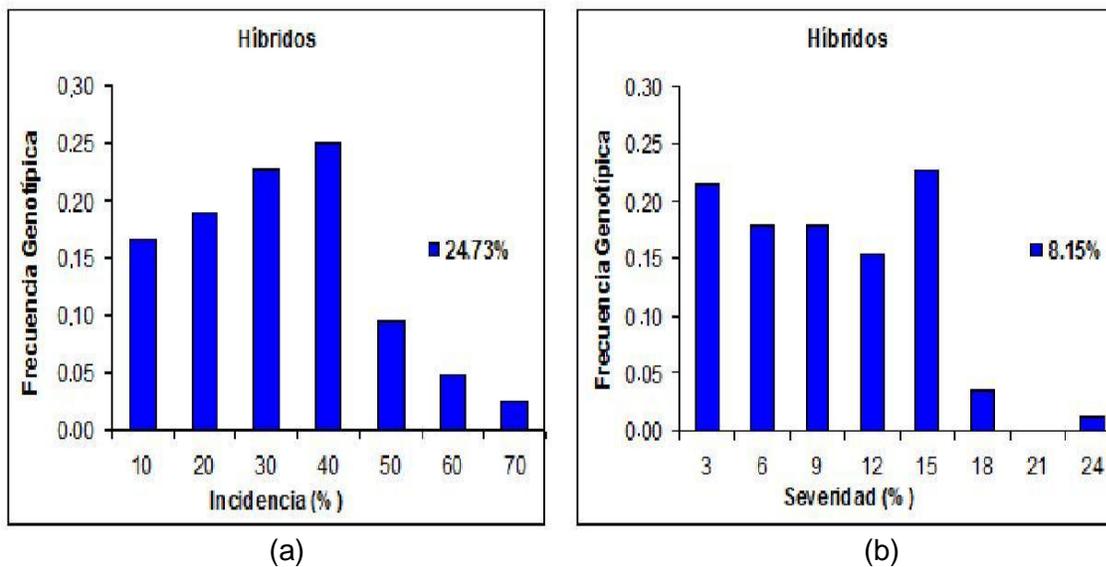


Figura 7: Distribución de frecuencias de Incidencia (a) y Severidad (b) en plantas inoculadas para evaluación de *Gibberella zeae*.

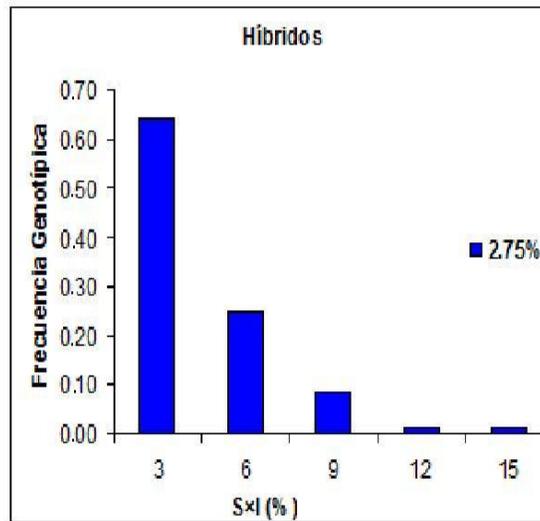
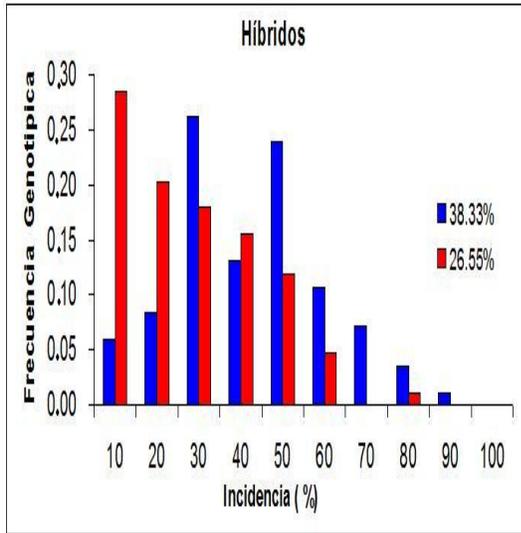


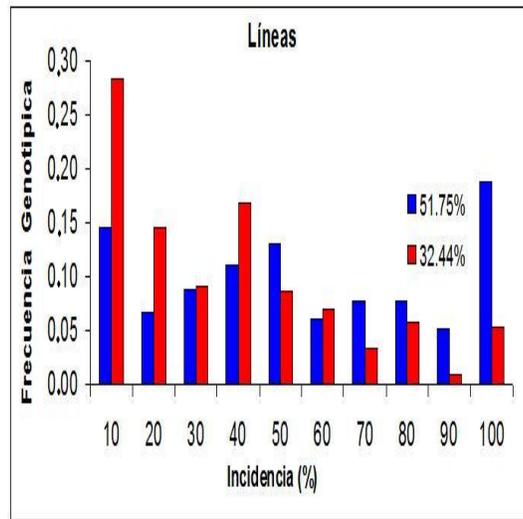
Figura 8: Distribución de frecuencias de SxI en plantas inoculadas para evaluación de *Gibberella zeae*.

3- Podredumbre de tallo por *Fusarium verticillioides*:

Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos control e inoculado para *F. verticillioides* en Incidencia, Severidad y SxI en híbridos y líneas (Figuras 9, 10 y 11). Aunque la severidad fue levemente mayor en los híbridos que en las líneas (Fig. 10), tanto la incidencia (Figura 9) como el índice SxI (Figura 11) fueron mayores en las líneas. Esto último se verificó tanto en los controles como en los inoculados. Las diferencias entre tratamientos control e inoculado fueron mayores en las líneas en cuanto a la Incidencia y SxI. Para el caso de la Severidad, casi no existió diferencia entre controles e inoculados (Figura 10).

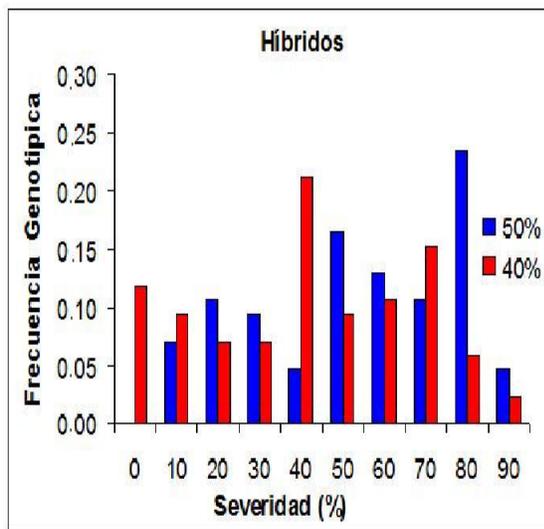


(a)

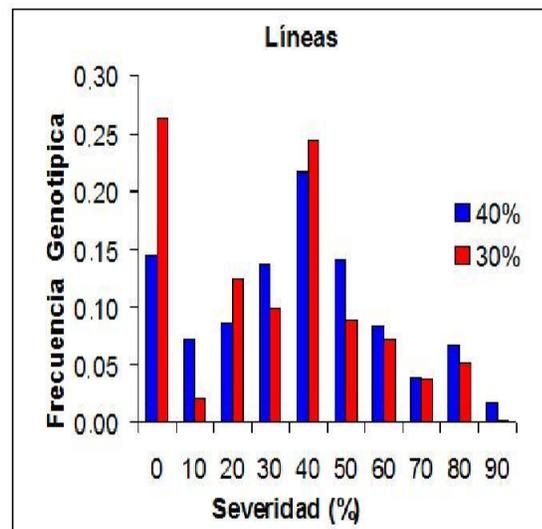


(b)

Figura 9: Distribución de frecuencias de Incidencia de podredumbre de tallo causado por *F. verticillioides* para híbridos (a) y líneas (b). Símbolos como en Fig. 1.

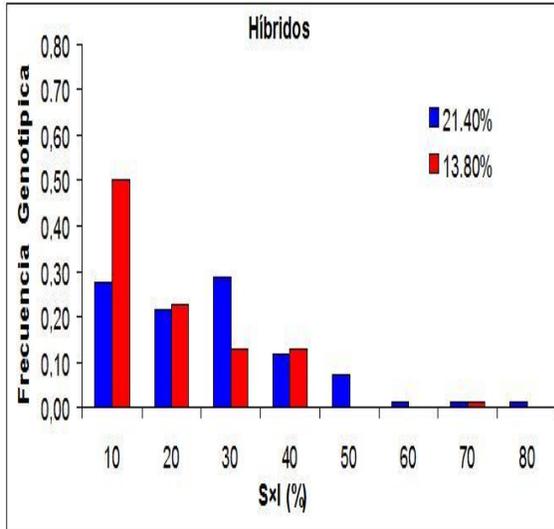


(a)

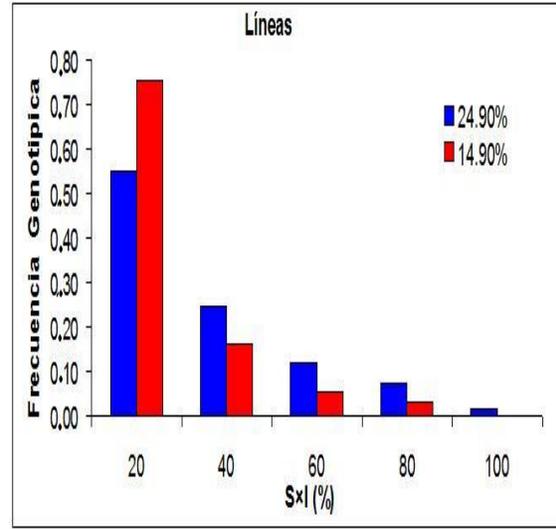


(b)

Figura 10: Distribución de frecuencias de Severidad (en unidades de ranking) para podredumbre de tallo para híbridos (a) y líneas (b). Símbolos como en Fig. 1.



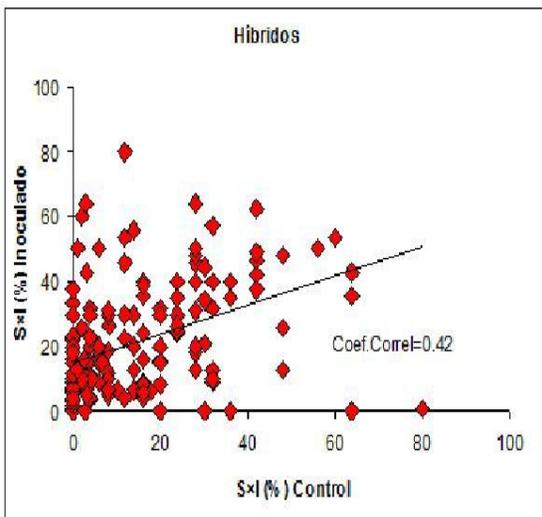
(a)



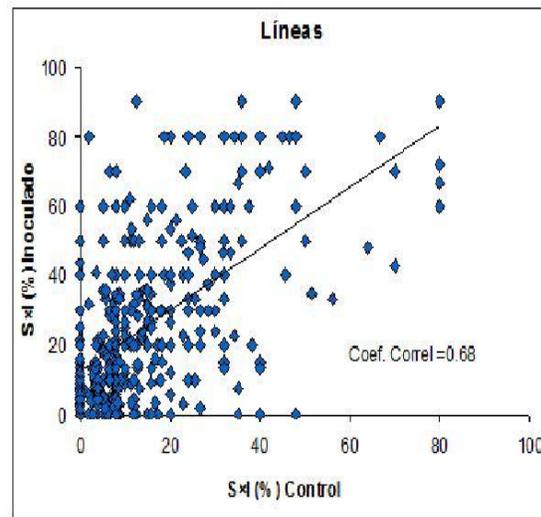
(b)

Figura 11: Distribución de frecuencias SxI de podredumbre de tallo para híbridos (a) y líneas (b). Símbolos como en Fig. 1.

La correlación entre los tratamientos control e inoculado fue positiva y altamente significativa ($P < 0.001$) para el índice SxI, tanto en híbridos como en líneas (Figura 12).



(a)



(b)

Figura 12: Asociación entre tratamientos control e inoculado correspondientes a podredumbre de tallo causado por *F. verticillioides* en híbridos para el índice SxI (%) en (a) híbridos ($P < 0.001$) y (b) líneas ($P < 0.001$).

Los resultados correspondientes a la correlación entre los valores de SxI (%) para el tratamiento inoculado en tallo y el control en espiga y para el tratamiento inoculado en espiga y el control en el tallo en híbridos resultaron positivos pero muy bajos y no significativos. Por el contrario, para el caso de las líneas, las tendencias fueron negativas pero también muy bajas y no significativas.

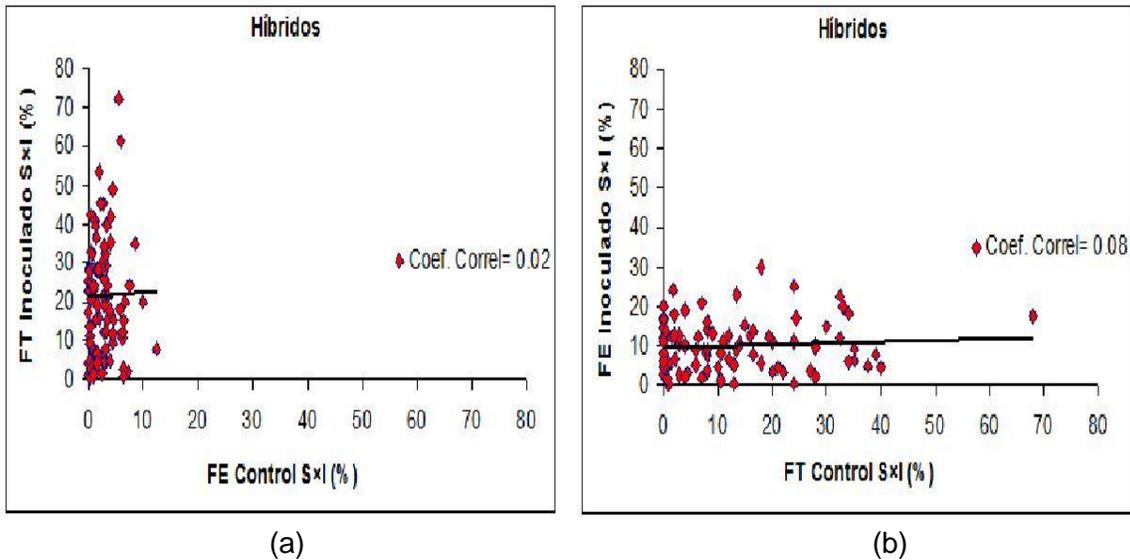


Figura 13: Asociación entre los valores de SxI (%) para el tratamiento inoculado en tallo y el control en espiga (a) (ns) y para el tratamiento inoculado en espiga y el control en el tallo (b) (ns) en híbridos.

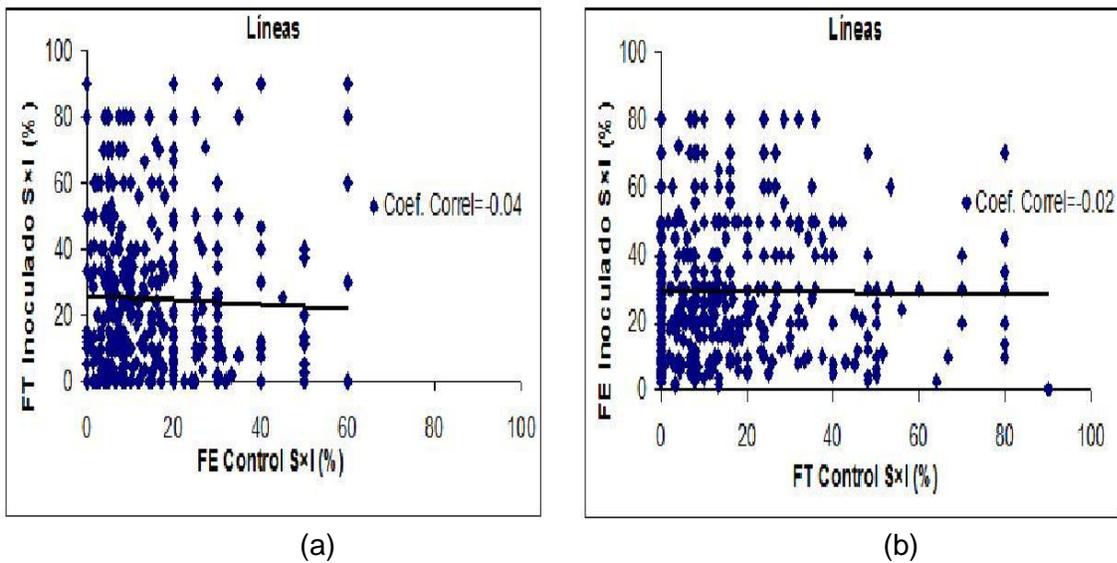


Figura 14: Asociación entre los valores de SxI (%) para el tratamiento inoculado en tallo y el control en espiga (a) (ns) y para el tratamiento inoculado en espiga y el control en el tallo (b) (ns) en líneas.

4- Podredumbre de espiga por *Diplodia maydis*

Se encontraron diferencias genotípicas significativas para ambos tratamientos (inoculado y control) en todos los índices evaluados, tanto en la evaluación de espigas enteras (Figuras 15 y 16) como de granos (Figura 18).

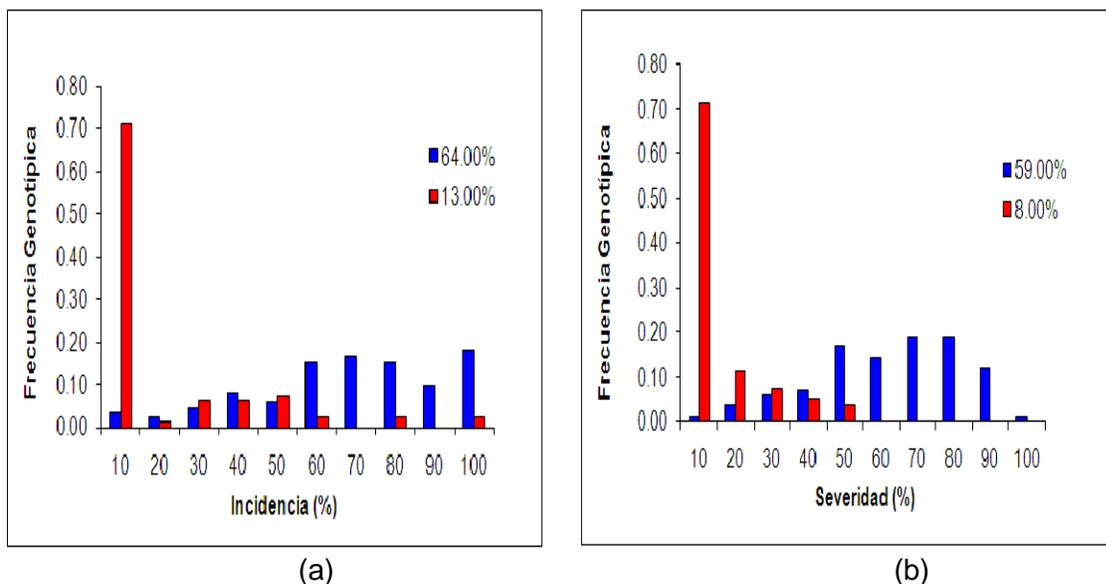


Figura 15: Distribución de frecuencias de *Diplodia maydis* para (a) incidencia y (b) severidad, evaluadas en espigas de líneas endocriadas de maíz. Símbolos como en la Fig. 1.

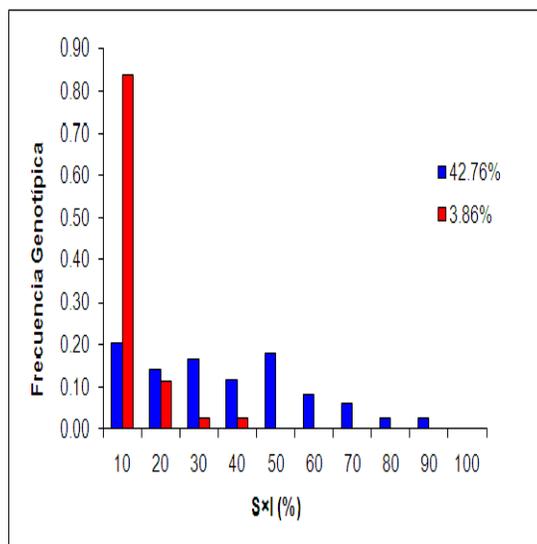


Figura 16: Distribución de frecuencia para SxI por ataque de *Diplodia maydis* evaluada en líneas endocriadas de maíz. Símbolos como en la Fig. 1.

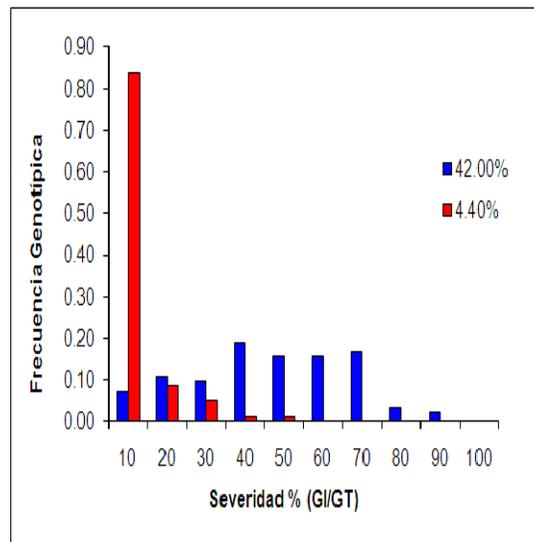


Figura 17. Distribución de frecuencia para Severidad evaluada en granos infestados por *Diplodia maydis* respecto de granos totales (GI/GT). Símbolos como en la Fig. 1.

La correlación Control-Inoculado para Incidencia en espiga (Fig. 18a) fue positiva y significativa ($P < 0.05$). Para el caso de GI/GT (Fig. 18b) también fue positiva, pero sólo se detectó una tendencia ($P < 0.10$).

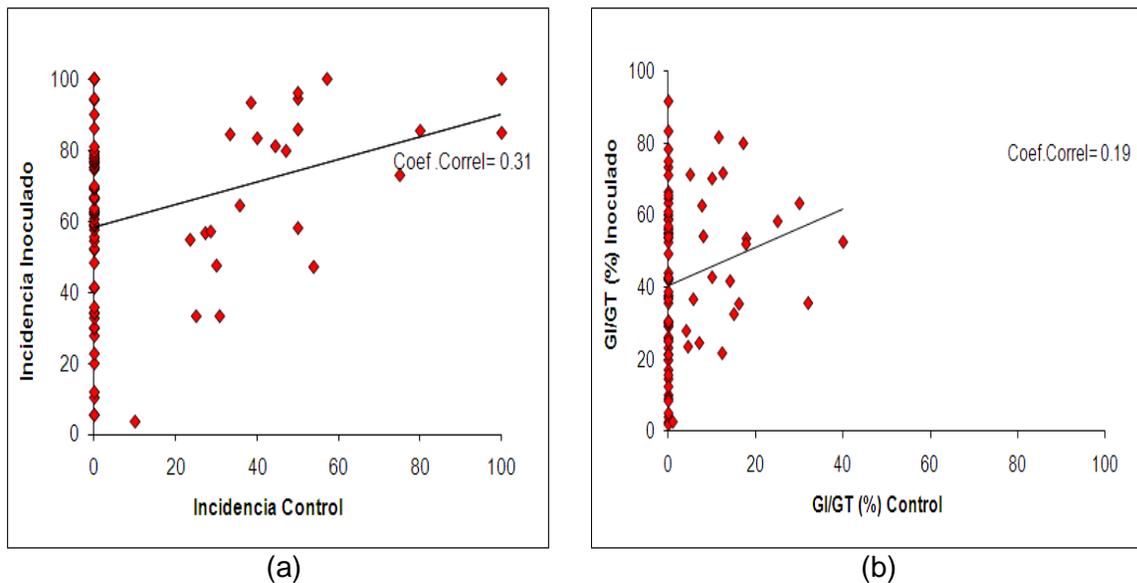


Figura 18: Asociación entre tratamiento control e inoculado con *Diplodia maydis* para (a) Incidencia en espiga ($P < 0.01$) y (b) granos infestados respecto de granos totales (GI/GT; $P < 0.10$).

La respuesta del GI/GT al tipo de endosperma (Figura 19) fue negativa y altamente significativa ($P < 0.001$), decreciendo la presencia del patógeno con el aumento de la proporción de endosperma duro (flint) respecto a dentado. Dentro del grupo templado, las líneas usadas

como *hembras* resultaron más resistentes que las empleadas como *macho*, contrariamente a lo ocurrido en el grupo tropical. En este último las líneas *hembra* se mostraron más susceptibles que las líneas *macho* ($P < 0.05$). Estas tendencias se sostuvieron al analizar los tratamientos control e inoculados (Figura 20).

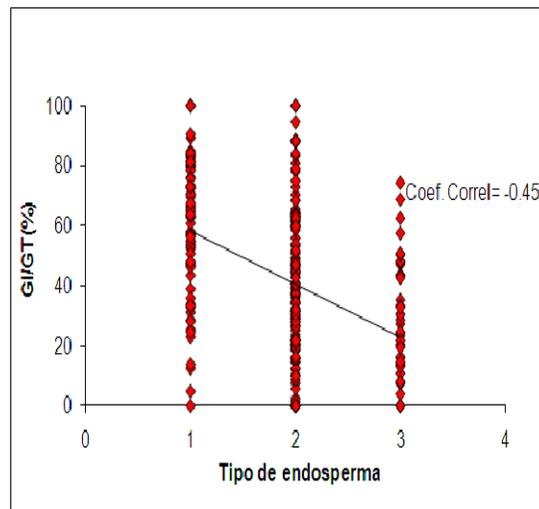


Figura 19: Asociación entre tipo de endosperma y GI/GT ($P < 0.001$). 1: dentado o blando, 2: semidentado o semiduro, 3: flint o duro.

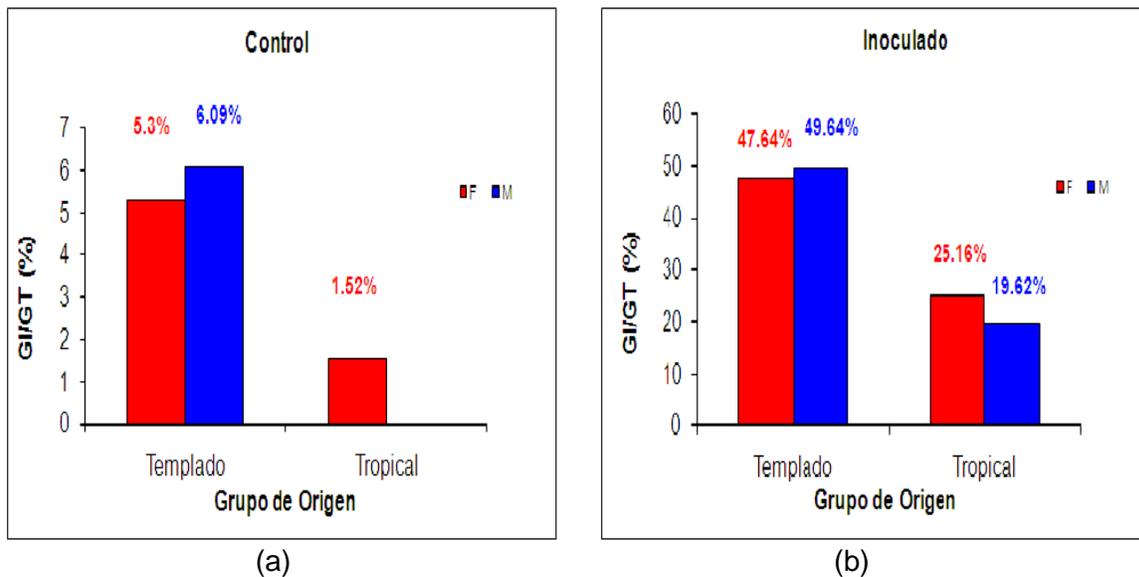


Figura 20: Comparación de medias para el carácter GI/GT (%) entre líneas templadas y tropicales para el tratamiento control (a) y el inoculado (b). Las diferencias entre grupos de germoplasma fueron siempre significativas ($P < 0.05$). F: líneas *hembra*; M: líneas *macho*.

La correlación entre el método tradicional de evaluación (basado en el índice SxI) y el basado en el peso de los granos infectados sobre el peso total (GI/GT) fue positiva y altamente significativa ($P < 0.001$; Figura 21)

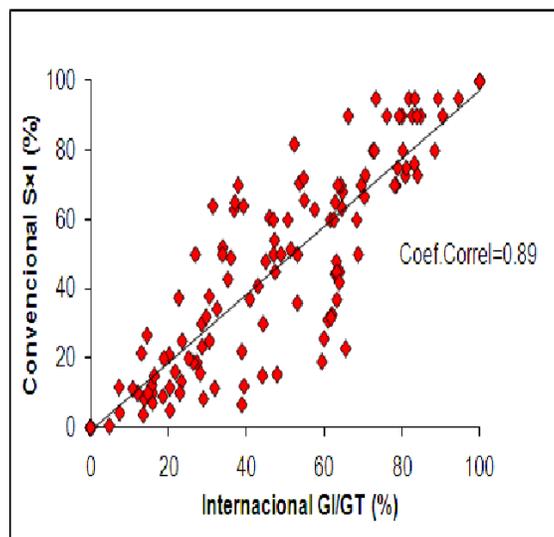


Figura 21: Correlación entre métodos de evaluación.

DISCUSIÓN

La correlación entre los tratamientos control e inoculado fue positiva en todos los casos. Por un lado esto demuestra la eficacia de la inoculación artificial. Por otro lado, garantiza la correcta discriminación del comportamiento de los materiales en respuesta a la presencia inducida de los patógenos. La infección natural genera escasa variación en las respuestas de los genotipos, lo cual puede causar rankings erráticos e inconsistentes de los distintos materiales (Ledenčan, T. et al 2003). En ciertas ocasiones en que la presión natural del patógeno resulta baja, la dosis de inóculo no es la apropiada o el inóculo poco infectivo, es difícil establecer una correlación entre ambos tratamientos. El método de infección artificial aplicado correctamente (inóculo viable y dosis y momento de aplicación adecuados) permite garantizar la presencia del patógeno cuando el nivel de infestación natural es bajo y, además, hacerlo uniformemente para todos los genotipos. Consecuentemente, uno con ello espera una mejor evaluación siempre.

Por otro lado, las asociaciones entre el tratamiento inoculado con fusariosis de espiga y el control para fusariosis de tallo, y viceversa, nunca fueron consistentes ni significativas. Es decir, el inóculo aplicado en la espiga pareciera no manifestarse en el tallo y aquel aplicado en el tallo no tendría efecto en la espiga. Por lo tanto, podría emplearse un tratamiento como control del otro.

Los resultados obtenidos para *F.verticillioides* muestran una pequeña influencia de los caracteres morfológicos de la espiga en la resistencia a la incidencia del patógeno. La longitud de las brácteas por encima del extremo distal de la espiga así como un alto nivel de compactación de las mismas han mostrado tener una correlación negativa con la susceptibilidad al desarrollo de enfermedades de espiga. Ambos caracteres actuarían como una barrera para la entrada del hongo disminuyendo la incidencia de la enfermedad, aspecto ya considerado en algunos estudios previos (Mejía Contrera et al. 1983; Farrar y Davis 1991; Hesseltine y Bothast 1977)..

Teniendo en cuenta que algunos materiales, particularmente ciertas líneas, bajo infección natural alcanzaron niveles de incidencia altos y semejantes a los obtenidos en otros bajo

inoculación artificial (Figuras 1 a y b), podría afirmarse que, más allá de su nivel de resistencia/susceptibilidad, las condiciones ambientales preponderantes cercanas a floración tales como: tiempo húmedo y cálido, en especial lluvias abundantes desde el período de formación de la espiga hasta la cosecha (Maize Program, CIMMYT. 2004), resultaron altamente favorables para la manifestación de *Fusarium verticillioides*. En contraposición, algunos genotipos presentaron valores de incidencia bajos a nulos independientemente del nivel de extensión o compactación de sus brácteas. La explicación para el caso de las líneas sería que las mismas tuvieron una fecha de floración tardía, coincidiendo con períodos de bajas precipitaciones, temperatura y humedad relativa, desfavorables para el desarrollo del patógeno. En cuanto a los híbridos, debido a que la mayoría de ellos florecieron uniformemente en forma temprana, los bajos valores de incidencia podrían ser atribuidos a que algunos de ellos presentan determinados eventos de resistencia a lepidópteros, cuyo daño en la espiga favorece el ingreso del patógeno (Hesseltine y Bothast 1977). En este sentido, los maíces con eventos BT, han demostrado ser efectivos para *F. verticillioides* (Iglesias y Presello 2008).

Los resultados obtenidos para *Diplodia maydis* muestran una influencia del tipo de endosperma sobre la susceptibilidad a podredumbre de espiga. Los maíces Flint, serían más resistentes que los dentados. (Iglesias y Presello 2008) La dureza de su endosperma actuaría como un impedimento mecánico para el avance del hongo, disminuyendo la severidad de los síntomas. Los materiales de origen tropical demostraron ser más resistentes, lo cual destaca la selección en contra de esta enfermedad llevada a cabo en su lugar de origen. Ello puede deberse a que el 96% de estas líneas presentan endosperma Flint. En contraposición, el 70% de las templadas resultaron ser dent y semi-dent.

En cuanto a las diferencias entre grupos heteróticos, estas resultaron significativas ($P < 0.05$) para los diferentes grupos de origen. El hecho de que dentro del grupo templado, las líneas usadas como *hembras* resultaran más resistentes que las empleadas como *macho* tanto en el tratamiento control como en el inoculado, podría ser atribuido a que un mayor porcentaje de *hembras* presenta endosperma semi-dent a flint respecto al de *machos*: 65% y 48% respectivamente. Los resultados opuestos ocurridos en el grupo tropical, en el cual las líneas *hembra* se mostraron más susceptibles que las líneas *macho* ($P < 0.05$) no pueden ser analizados a este nivel ya que todo el grupo posee endosperma semi-dent a flint y sólo una línea es utilizada como *macho* la cual presentó un índice GI/GT (%) de 0% para el control y 19.62% para el tratamiento inoculado (Figuras 20 a y b).

La correlación entre el tratamiento inoculado y control fue positiva pero menor al correspondiente a *F. verticillioides*, debido probablemente a que la presión natural del patógeno fue baja, generando poca variación en las respuestas en el tratamiento control.

Finalmente, teniendo en cuenta la experiencia alcanzada en este trabajo, para el caso particular de *Diplodia maydis* se podría asegurar que la alta correlación entre el método tradicional de evaluación y el basado en el peso de los granos brinda confiabilidad a la metodología convencional, la cual además resulta de mayor practicidad y menor demanda de tiempo. Este resultado es esperable para esta enfermedad ya que los síntomas se manifiestan uniformemente desde la base hacia la punta de la espiga facilitando y volviendo más exacta la estimación del índice de severidad de la espiga empleado en el método tradicional expresado como proporción de la espiga infectada. Otros serían los resultados esperables para podredumbre de espiga ocasionada por *F. verticillioides* ya que contrariamente a lo manifestado por *D. maydis*, los síntomas aparecen y se desarrollan en forma aislada por toda la espiga y hacia todas direcciones lo cual dificulta la evaluación de la severidad de la enfermedad con el método tradicional. Por lo tanto, es probable que para esta enfermedad, la metodología de evaluación basada en el peso de los granos resulte más confiable. Ello podría comprobarse llevando a cabo un análisis comparado de resultados entre ambos métodos similar al desarrollado en el presente trabajo para el caso de *D. maydis*.

CONCLUSIONES

La infección por métodos artificiales combinada con infección natural como control es una práctica recomendable en el mejoramiento de maíz por resistencia a enfermedades. La inoculación artificial permite una mejor discriminación del comportamiento de los genotipos frente a la infección de patógenos facilitando la selección de aquellos que presenten mejor comportamiento.

Aunque los resultados obtenidos deberían ser confirmados con estudios más amplios e intensos empleando un mayor número de ambientes, materiales y años, podría concluirse que los caracteres morfológicos de la espiga y del grano tienen una pequeña influencia sobre la resistencia/susceptibilidad del maíz a los patógenos evaluados. Los estudios futuros deberían centrarse en la confirmación y aseveración de los resultados actuales y la búsqueda de materiales más resistentes a las podredumbres de espiga y tallo.

Bibliografía

Dodd J.L. 1983. Corn stalk rot: Accounting for annual changes. In: Proc. 38th Annual Corn and Sorghum Res. Conf., 71–79.

Duvick, J. 2001. Prospects for reducing fumonisin contamination of maize through genetic modification. *Environmental health perspectives* 109(2):337-342.

Farrar, J. J., y Davis, R.M. 1991. Relationships among ear morphology, western flower thrips, and Fusarium ear rot of corn. *Phytopathology* 81:661-666.

Flett, B. C., Bensch, M. J., Smit, E., and Fourie, H. 1996. A field guide for identification of maize diseases in South Africa. Pages 16-19 in: ARC - Grain Crops Institute, Potchefstroom.

Gevers, H. O. 1988. The ear rot epidemic. Proceedings of the 8th South African maize breeding symposium, Potchefstroom. Pages 77-80 in: Technical Communication No. 238. Department of Agriculture and Water Supply.

Giorda, L.; Peiretti, D. 2006. Respuesta de germoplasma de maíz a infecciones por *Fusarium verticillioides* y contaminación con fumonisinas. In: Rubinstein, H.R. ed. Micotoxinas: Impacto en la producción y salud humana y animal. Cap. 5. Universidad Nacional de Córdoba. p. 125-138.

Hesseltine, C.W., and Bothast, R.J. 1977. Mold development in ears from tasseling to harvest. *Mycologia* 69:328-340.

Hooker, A.L. 1973. New developments in the corn leaf and stalk disease picture. In: Proc. 28th Annu. Corn and Sorghum Res. Conf., 62–71.

Hooker, A.L., and Draganic, M. 1980. Maize stalk rot ratings and predicting hybrid reaction from parental inbred reaction. *Genetika*, 12: 319–330.

Iglesias, J., Presello, D.A., Fauguel, C. M., Botta, G.L. 2008. Micotoxinas: ¿Debemos preocuparnos? En: 3ra. Jornada de actualización técnica de maíz, INTA, AIANBA, MAIZAR. 17 de Julio de 2008. Pergamino, Buenos, Aires.

Laguna, I.G.; Nome, C.; Conci, L.; Conforto, C.; Eyherabide, G.; Giménez Pecci, M.D.P.; González, M.; Guzmán, F.; Incremona, M.; Lenardon, S.; Marino de Remes Lenicov, A.M.; Pérez, B.A.; Presello, D.; Rodríguez Pardina, P.; Sagadin, M.; Sillón, M.; Truol, G.; Cópia, P.; Botta, G. 2011. Enfermedades de *Zea mays* L. (maíz). En: Atlas fitopatológico argentino. Vol. 4, Nº 1. Marzo 2011. Eds: Nome, S.F.; Docampo, D.M.; Conci, L.R. y Pérez, B.A. Córdoba, Argentina.

Ledenčan, T., Šimič, D., Brkič, I., Jambrovič, A., Zdunič, Z. 2003. Resistance of Maize Inbreds and their Hybrids to *Fusarium* Stalk Rot. Czech J. Genet. Plant.Breed, 39: 15–20.

Maize Program, CIMMYT. 2004.

Peiretti-Uzal, D.A., Nazar-Lovera, M. C., Biasutti-Valenzano C. A., Giorda-Lerda.L.M. 2007. Susceptibilidad a *Fusarium verticillioides* (SACC.) NIRENBERG en la población de maíz MPB-FCA 856. Agronomía Mesoamericana 18(2): 171-176.

Presello, D.; Botta, G.; Iglesias, J.; Eyherabide, G. 2005. Efecto de la severidad de síntomas de podredumbre de espiga causada por *Fusarium verticillioides* sobre el rendimiento y la conservación de fumonisinás en grano. In INTA – MAÍZ: Resultado Incidence of *Fusarium* and *Diplodia* species in naturally infected grain de experiencias 2004-2005. p. 99-102.

Rheeder, J. P., Marasas, W. F. O., and Van Schalkwyk, D. J. 1993. of South African maize cultivars: A follow up study. *Phytophylactica* 25:43-48.

Russel W.A. 1961. A comparison of five types of testers in evaluating the relationship of stalk rot resistance in corn inbred lines and stalks strength of the lines in hybrid combinations. *Crop Sci.*, 1:393–397.

Warfield, C.Y., Davis R.M. 1996. Importance of the husk covering on the susceptibility of corn hybrids to *Fusarium* ear rot. *Plant Dis.* 80:208-210.