

Efecto de diferentes concentraciones y
épocas de Inoculación con Diplodia maydis
(Berk) en la Base de la Mazorca de Maíz

LICRISIS:	1526
FECHA:	23/01/91
ENCARGADO:	UARGAS

P O R

Guillermo Ramón Cerritos Joya

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PREVIO A LA
OBTENCION DEL TITULO DE

INGENIERO AGRONOMO

BIBLIOTECA WILSON FOPENDE
ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA
APARTADO 23
TEGUCIGALPA HONDURAS

ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA

Abril, 1990

DEDICATORIA

A Dios
y
a mis padres
Ramón y Reina
Por su apoyo y cariño

A mis hermanos
Rosa y Pablo por
nuestra unión y fraternidad

A mis amigos
Julio y Maritza por su
amistad y a sus hijos Julio,
Claudia y Dulce por su cariño

A mi novia y futura
esposa Luz Amalia por su
amor y comprensión

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Jacobo Cáceres por su valiosa ayuda y colaboración como consejero principal en la realización de esta investigación.

Al Dr. Leonardo Corral y al Ing. Luis del Río por ser parte importante en la finalización del presente trabajo. Muchas gracias a ustedes.

A la Señorita Olga Benavides y su hermana Bertha Benavides por ser tan buenas y amables en ayudarme para la obtención de este éxito académico. Muchas gracias.

A todos mis compañeros de estudio y de una manera especial a Ramiro, Pedro, Mauricio y demás amigos, Muchas gracias por su amistad. Muchas gracias colegas.

INDICE

	Pag.
/Título.....	i
· Derechos de Autor.....	ii
· Dedicatoria.....	iii
/Agradecimientos.....	iv
, Índice.....	v
/Índice de Cuadros.....	vi
· Índice de anexos.....	vii
· Resumen	viii
· I Introducción.....	1
· II Revisión de Literatura.....	4
, III Materiales y Métodos.....	18
· IV Resultados y Discusión.....	24
· V Conclusiones.....	30
· VI Recomendaciones.....	31
· VII Literatura Citada.....	32
· Datos Biográficos del Autor.....	35
· Aprobación.....	36
· Anexos.....	37

INDICE DE CUADROS

	Pag.
CUADRO 1. Resultados obtenidos del análisis de varianza para la variable pudrición de la mazorca.....	26
CUADRO 2. Promedios de pudrición de la mazorca resultantes al inocular la base de la mazorca con tres diferentes concentraciones de conidias/ml de <u>D. maydis</u>	27
CUADRO 3. Promedios de pudrición de la mazorca resultantes de las interacciones épocas X concentraciones de inoculaciones en la base de la mazorca con <u>D. maydis</u>	29

INDICE DE ANEXOS

	Pag.
Anexo 1. Datos de precipitación mensual, El Zamorano 1989.....	38
Anexo 2. Promedio de temperatura y humedad relativa El Zamorano, 1989.....	39

RESUMEN

Se evaluó el efecto de la aspersión de tres diferentes concentraciones de conidias de Diplodia maydis (Berk.) y tres fechas de inoculación sobre la base de la mazorca de maíz. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial de 4x3 y cuatro repeticiones. En el valle de El Zamorano, Honduras. El método de inoculación fue aspersión a la base de la mazorca, asperjando un mililitro de esporas en suspensión.

Las evaluaciones se realizaron al momento de la cosecha tomando la incidencia y la severidad de la enfermedad. La severidad fue determinada por una escala lineal de 1-100 (1= 0-1%, 10= 1-10%, 25= 10-25%, 50= 25-50%, 100= 50-100% de pudrición de la mazorca). los datos fueron transformados, al logaritmo natural de las medias log. ((promedio de pudrición x 10) + 1) para su análisis.

Las épocas de inoculación (al momento de la floración, 7 y 14 días después) no fueron significativamente diferentes, sin embargo se observó una respuesta lineal decreciente para la pudrición de la mazorca.

Los tratamientos de concentraciones fueron: 5×10^2 , 5×10^3 y 5×10^4 conidias/mililitro comparados con tratamientos testigos que sólo recibieron agua.

El ADEVA para la variable pudrición de la mazorca mostró diferencias entre los tratamientos; las concentraciones de 5×10^2 , 5×10^3 y el testigo no fueron diferentes entre si; sin embargo, 5×10^4 fue significativamente diferente a 5×10^2 y el testigo, pero no fue distinta a 5×10^3 . La concentración de 5×10^4 inoculada al inicio de la floración, fue la que causó mayor pudrición de la mazorca y fue distinta a todos los tratamientos excepto a la concentración de 5×10^3 inoculada siete días después de la floración. Las concentraciones mostraron una respuesta lineal ascendente para la pudrición de la mazorca.

I. INTRODUCCION

El maíz (Zea mays, L.) es la base de la dieta alimenticia de la mayoría de la población en Honduras, pero el maíz es susceptible a varias pudriciones de la mazorca y del grano, algunas de las cuales se hallan ampliamente distribuidas. Estas pudriciones provocan considerables daños en áreas bastante húmedas desde la época de emergencia de los estigmas hasta la cosecha. Como consecuencia de las pudriciones se reduce la producción, la calidad y el valor alimenticio del grano (Castaño, 1987).

El problema de la pudrición de la mazorca del maíz llamada en Honduras "maíz muerto" se reportó en 1986 cuando causó pérdidas considerables en la zona de Taulabé, Comayagua. Los productores reportaron pérdidas hasta de un 27% mientras que el cálculo obtenido por los técnicos en relación a la producción fue de un 19.3% de pérdidas, pero se consideró que era necesario repetir el trabajo a fin de obtener una información más confiable. De acuerdo a esto los resultados obtenidos en el estudio de campo demostraron que los patógenos asociados con el complejo "maíz muerto" en Taulabé son Fusarium moniliforme y Diplodia spp. significando para los agricultores una pérdida de aproximadamente 20.69% de su producción, y observándose que el inóculo se encuentra presente en toda el área de Taulabé. El mayor porcentaje de

pérdida se reportó en los lotes donde el agricultor había sembrado por más tiempo. Las pérdidas reales en el campo fueron un 25% del rendimiento total de la producción (López et al., 1987).

Paniagua et al., (1987) estimaron que los rendimientos de maíz en las zonas productoras de Honduras alcanzan niveles aceptables: 3.9 a 5.2 TM/ha. Sin embargo, estos rendimientos no son estables y en algunos años bajan considerablemente debido al hongo Diplodia maydis, conocido comúnmente como "maíz muerto". Las producciones de los años 81-82 y 86-87 fueron las más afectadas por este hongo, habiéndose registrado pérdidas de más o menos 50%. En estos años se presentaron sequías muy marcadas durante las etapas de pre-floración y floración seguidas por épocas lluviosas prolongadas. (Paniagua, 1987).

Paz y Pereira (1988) realizaron un estudio en la zona sur oriental en el valle de Jamastrán, El Paraíso, con el propósito de cuantificar pérdidas en el rendimiento causadas por "maíz muerto". El promedio del rendimiento fue de 5.1 TM/ha y el rendimiento perdido por causa de Diplodia spp. fue 1.81 TM/ha que en porcentaje representa un 23%, con rangos de pérdidas de 0.42-3.51 TM/ha.

Ullstrup (1948) indica que el único método factible para controlar la enfermedad es mediante mejoramiento genético para resistencia. Además es necesario desarrollar un método satisfactorio para producir epidemias de D. maydis

artificialmente, ya que esto puede ser útil adjunto a un programa de mejoramiento en maíz donde la resistencia de éste es incorporada en líneas puras.

Objetivos

El presente trabajo pretende evaluar el efecto de tres diferentes concentraciones de inóculo de *D. maydis* y su interacción con cada una de las tres épocas de inoculación. También, evaluar una técnica de inoculación que consiste en la aspersion de inóculo sobre la base de la mazorca de maíz, para ser utilizada en programas de mejoramiento de la resistencia a la pudrición de la mazorca.

Hipótesis

Nuestra hipótesis es: Que la severidad e incidencia de la enfermedad no se incrementará al aumentar la concentración de esporas en la suspensión inoculada a la base de la mazorca de maíz. También, que inoculaciones hechas en floración y posteriores a esta, es decir, una a dos semanas más tarde de floración provocarán igual cantidad de pudrición de la mazorca.

II. REVISION DE LITERATURA

A. Pudrición de la Mazorca del Maíz (Zea mays, L.)

Organismo causal: Diplodia maydis (Berk.) Sacc.

Sinónimo: Diplodia zeae (Schw.) Lev.

B. Clasificación Taxonómica

Este organismo pertenece al Reino: Plantae; División: Mycota; Subdivisión: Eumycotina; Clase: Deuteromycetes; Orden: Sphaeropsidales (Phomales); Familia: Sphaeropsidaceae; Género: Diplodia; Especie: maydis (Castaño, 1986)

C. Etiología

Las pudriciones de la mazorca causadas por Diplodia maydis y Diplodia macrospora aparecen comúnmente en zonas cálidas y húmedas (De León, 1984). La enfermedad y los perjuicios causados, por lo general son más benignos en las regiones más secas y más frías (Murillo, 1970). Agrios (1978) indica que esta enfermedad muestra una mayor severidad en plantas afectadas por patógenos de las hojas, insectos, una fertilización desequilibrada o por los climas secos a

principios de la estación de crecimiento, seguidos de dos a tres semanas de climas húmedos en el momento que se produjo la maduración del maíz o después de ésta.

D. Descripción y Sintomatología

Este hongo se desarrolla saprofiticamente sobre tejidos muertos de maíz, en los que produce abundante inóculo (Murillo, 1970).

El hongo *D. maydis* sólo produce conidias en pequeños picnidios negros en forma piriforme, sin embargo, estas conidias pueden ser de dos tipos, las más comunes son esporas de largas dimensiones 6x28 micras, constituidas por un par de células y de color pardo-olivo, mientras que las menos comunes son esporas largas en forma de filamentos, angostas, incoloradas y de un tamaño de 1.5x30 micras (Agrios, 1978).

Los síntomas provocados por *D. maydis* son similares a los causados por *D. macrospora* (Castaño, 1987). Según Karasas y Van Der Westhuizen (1979) la diferencia fundamental radica en que las conidias de *D. macrospora* son dos a tres veces más largas y una a dos veces más anchas (6-11 x 55-106 micras) que los de *D. maydis* (5-6 x 15-37 micras). Ambos también observaron que las colonias de *D. macrospora* sobre papa-dextrosa-agar (PDA) tienden a permanecer blancas mucho más tiempo hasta desarrollar un color amarillento distintivo; en cambio las de *D. maydis* llegan a ser de color olivaceo-gris

y cambian a pardo-oscuro. También los picnidios de D. maydis crecen más rápido que los de D. macrospora.

Asociada a la pudrición causada por D. maydis se ha encontrado F. moniliforme (Schieber s.f, citado por Castaño, 1987). Una manera de diferenciar ambos patógenos en el campo es que D. maydis ataca toda la mazorca en cambio F. moniliforme sólo se localiza en parches laterales (Castaño, 1987)

* Durrel (1933) y Durrel y Porter (1924) citados por Clayton (1927) reportaron que D. maydis ataca las mazorcas como también tallo y nudos de la planta de maíz. Un signo característico de ataque al tallo, es la presencia de picnidios subepidérmicos pequeños, de color oscuro y agrupados cerca de los nudos. (Helad, 1933).

Diplodia inverna en forma de conidias contenidas en picnidios sobre restos infectados del tallo del maíz y en forma de micelio o conidias sobre las semillas (Aguirre, 1978).

Mora y Moreno (1984) en estudios de la influencia del manejo del suelo y sucesión de cultivos sobre el tizón de la hoja del maíz causado por D. macrospora y otras enfermedades, indicaron que la mayor cantidad de tejido de maíz afectado resultó en los tratamientos en los que se dejó los residuos de la cosecha anterior sobre la superficie del suelo, y aquellos tratamientos en que se limpió la superficie del suelo se produjo plantas de maíz más sanas.

Eddins (1930) indica que el rango óptimo de temperatura para la germinación de las esporas y crecimiento del micelio

del organismo Diplodia es 25-32° C y el mínimo radica entre 5-8° C. Las esporas germinan a 39° C pero no hay crecimiento de micelio.

Ullstrup (1964) sugiere que severas epidemias de Diplodia son probablemente limitadas en su expansión, con una disminución rápida de la prevalencia a medida que la distancia de la fuente de inóculo se va alejando. Clayton (1927) indica que las esporas de los hongos que causan pudriciones de la mazorca son acarreadas completamente por el viento. Murillo (1970) reportó que la infección ocurre cuando las esporas acarreadas por el viento son depositadas en las partes susceptibles de la planta, tales como la región axilar de las hojas mal unidas a la caña y las mazorcas no completamente cubiertas por las brácteas.

Por lo común, el hongo ataca las plantas de maíz a nivel de la corona y se propaga a una cierta distancia en el tallo y las raíces. Aun cuando puede atacar a los nudos comprendidos entre la corona y la mazorca, la infección de esta última casi nunca se debe al hongo que crece sobre el tallo, sino a las esporas que se han depositado directamente sobre ella (Agris, 1978).

Koehler (1959) reporta que un temprano síntoma de infección es que toda o parte de las brácteas pueden premadurar y decolorarse de verde a un color pajizo; esto algunas veces es seguido por la aparición de un área color grisáceo con un borde pardo-oscuro. Al abrir las brácteas, aparecen mazorcas

sin granos y de color amarillento, con un crecimiento algodonoso blanco entre los granos atrofiados (De León, 1984).

D. zeae puede causar infección en la mazorca en cualquier momento desde floración hasta que las mazorcas llegan a secarse (Koehler, 1959). Generalmente las mazorcas enfermas se mantienen erectas y pesan muy poco, debido a que el micelio del hongo se desarrolla entre las brácteas así como entre la mazorca y la tusa; estas últimas se mantienen estrechamente unidas. En la base de la tusa y a los costados de los granos aparecen picnidios negros (Agris, 1978).

Según Koehler (1959) las mazorcas son más susceptibles durante el estado lechoso.

Según Agris (1978) la infección de la mazorca que se produce con mayor frecuencia en las primeras dos a tres semanas después de la maduración de la mazorca, casi siempre se inicia en la base de ésta y avanza hacia la punta. En algunos casos, se produce la germinación prematura de los granos.

Clayton (1927) observó que en mazorcas infectadas tarde durante la estación, el moho no es visible y en consecuencia frecuentemente las mazorcas son seleccionadas para semilla y cuando esta se siembra, resulta en un pobre establecimiento y una correspondiente reducción en el rendimiento, al compararse con semillas provenientes de mazorcas sanas.

Koehler (1959) sugirió los siguientes factores como los más importantes en el desarrollo de la pudrición de la mazorca:

- a. Precipitación pluvial. La cantidad de lluvia caída durante agosto, septiembre y octubre puede ser el factor más importante que influye en la pudrición de la mazorca. Correlaciones hechas entre pudrición de la mazorca y precipitación para cada uno de los tres meses, demostraron que septiembre fue el mes más importante, los otros dos meses se mantuvieron casi iguales y la más alta significancia en correlaciones se obtuvo cuando se usó el promedio para los tres meses.
- b. Secuencia de cosechas. A más intensivas y continuas las cosechas de maíz, mayor es el porcentaje de pudrición causado por Diplodia.
- c. Posición de la mazorca y cobertura. Mazorcas en una posición declinada durante la madurez y mazorcas bien cubiertas por las brácteas presentan menos pudrición en relación a mazorcas que están rectas. La prevalencia de toda pudrición de mazorcas fue grandemente incrementada cuando las brácteas se abrieron manualmente a los diez días o más, luego el incremento en pudrición fue bajando progresivamente.
- d. Daño físico por gusanos de la mazorca. El daño físico causado por gusanos de la mazorca de maíz fue seguido por un incremento en la pudrición causada por Fusarium moniliforme y Penicillium spp.

e. Acame de plantas. Cuando las plantas se acaman tanto que las mazorcas tocan el suelo, las pudriciones por varias causas se incrementan.

F. Control de la Enfermedad

Al respecto Agrios (1978) sugiere principalmente el uso de híbridos y variedades resistentes, el uso de semilla libre de la enfermedad, una fertilización balanceada con nitrógeno y potasio, un espaciamiento amplio de las plantas, una cosecha precoz y almacenamiento adecuado de las mazorcas y de los granos.

Según Castaño (1988) las mazorcas deben ser almacenadas con menos de 18% de humedad y 15% de humedad para grano, también sugiere el tratamiento químico de la semilla con Dichlone o Captan en polvo en dosis de 0.8 gramos de i.a./kg de semilla, rotación de cultivos y destrucción de residuos de cosecha.

G. Inoculaciones de Mazorcas de Maíz con *Diplodia maydis*

Experimentos de inoculación de la mazorca de maíz han sido realizados con el objetivo primario de encontrar métodos para obtener mejor diferenciación entre líneas e híbridos susceptibles y resistentes. Las inoculaciones fueron hechas con diferentes hongos en varias épocas o intervalos de tiempo

después de la floración, en varios lugares sobre o cerca de la mazorca y por varios métodos de aplicación de suspensiones de esporas o micelio del hongo (Koehler, 1959). El mismo Koehler reportó que D. zeae fue el patógeno más agresivo entre los usados. Inoculaciones satisfactorias fueron las hechas en el lapso de 2-60 días después de la floración. También, éste fue el único hongo que causó significativamente la pudrición de mazorcas cuando el inóculo fue aplicado con un aspersor sin abrir las brácteas. Además este fue el único hongo que incrementó la pudrición de la mazorca cuando la inoculación se realizó en el tallo, próximo a los nudos de la base. Todos los híbridos fueron altamente susceptibles a Diplodia cuando la suspensión de esporas fue aplicada sobre la punta de la mazorca utilizando una jeringa, en el espacio de 20 días después de floración, sin embargo, inoculaciones hechas 30 ó 40 días después de floración mostraron diferencias en cantidad de pudrición entre variedades resistentes y susceptibles.

↙ Según Koehler(1959), la ventaja de hacer inoculaciones artificiales es que ello asegura la pudrición de la mazorca y hace posible aumentar la precisión en pequeñas poblaciones de plantas. También observó que la reducción en la concentración de esporas en suspensión consistentemente causó un decrecimiento en el porcentaje de daño por pudrición de la mazorca. Prolongando el tiempo después de la floración también tuvo un pronunciado efecto sobre la diferenciación entre

susceptibles y resistentes.

Ullstrup (1948), utilizó un compresor de aire con una capacidad de 9.5 L suficiente para inocular 200-300 plantas con una suspensión de esporas. El mismo autor observó que el mayor aumento de infección y clara diferenciación entre híbridos fue mostrada en las parcelas inoculadas de una a dos semanas después de la floración.

Ullstrup (1970) comparó tres métodos de inoculación de mazorcas con Gibberella zeae y D. maydis sobre líneas endogámicas y cruces simples. Los resultados mostraron que la aspersión de una suspensión de esporas en las mazorcas facilita la diferenciación de hospedantes resistentes y susceptibles en comparación con la inserción de palillos de dientes con micelio e inyección de esporas con jeringa. La pudrición por G. zeae con aspersiones de inóculo sobre la mazorca fue esencialmente igual cuando la concentración de esporas fue de 4.5×10^5 esporas/ml o 450 esporas/ml. La aspersión de esporas sobre la punta de la mazorca simula una inoculación natural ya que el hospedante no es herido. El método de palillo y el de inyección de esporas no permitieron diferenciar genotipos para resistencia a G. zeae al causar pudriciones muy severas. El porcentaje de mazorcas podridas estuvo correlacionado positivamente con el índice de enfermedad causada con el método de inoculación con aspersión. La correlación no resultó tan bien definida en los otros métodos. El porcentaje de la enfermedad en las mazorcas se

determinó utilizando un índice de enfermedad el cual refleja la severidad de infección en las mazorcas. La escala utilizada para calcular esto fue asignando un valor arbitrario a cada clase de daño: sana = 0, 1/4 podrida = 0.2, 1/2 podrida = 0.5, 3/4 de podrida = 0.7 y completamente podrida = 1.0. Luego el número de mazorcas en cada una de las clases fue multiplicado por el respectivo valor de la clase de daño correspondiente y la suma de estos productos fue dividida por el total de mazorcas en la parcela. El producto fue multiplicado por 100 para obtener el índice de enfermedad, por ejemplo un índice de enfermedad de 30 indicaba un tercio de la mazorca visiblemente dañado, un índice de 100 indicaba una mazorca completamente podrida. Los resultados de este experimento de inoculación con *D. maydis* indicaron que la inoculación es satisfactoria desde pocos días después de floración hasta dos a tres semanas después. Dichos resultados confirmaron esta tendencia observada en otros experimentos (Ullstrup, 1970). Se reportó que la prevalencia y severidad de *D. maydis* gradualmente declinó en inoculaciones hechas después del período de floración hasta 19-24 días después. También se determinó el efecto de dilución del inóculo sobre la cantidad de pudrición utilizando diferentes concentraciones de esporas del hongo lo que demostró una correlación positiva entre prevalencia y severidad de pudrición de mazorcas y la concentración de esporas en el inóculo. De esta manera, usando una concentración de inóculo 1.2×10^6 esporas/ml (1X)

hubo 81.5% de mazorcas enfermas en líneas susceptibles, 1.2×10^5 (0.1X) de concentración causó 48.6%, 1.2×10^4 (0.01X) causó 39.5% y 1.2×10^3 (0.001X) causó 9.1% de mazorcas enfermas. Genotipos resistentes al igual que Genotipos susceptibles mostraron la misma relación con la concentración de esporas en el inóculo (Ullstrup, 1970).

Michaelson (1959) y Hooker (1957) estudiaron el efecto del tiempo de inoculación en el desarrollo de la pudrición del tallo. Michaelson (1959) estableció que el maíz puede ser susceptible desde varias semanas antes de la caída del polen hasta el estado pastoso-duro del grano, reportando que las inoculaciones no son tan severas si son hechas tarde. Hooker (1959) no obstante, concluye que el tiempo de inoculación tiene poco efecto en la tasa de desarrollo de la enfermedad.

Según Chambers (1988), pocos esfuerzos se han realizado para determinar el efecto de la pudrición de la mazorca en la disminución de rendimiento con relación a la fecha de inoculación. El realizó estudios sobre el efecto del tiempo en la inoculación del tallo y mazorcas de maíz con *D. maydis* con la severidad de la infección. No encontró diferencias significativas entre las tasas obtenidas de pudrición del tallo resultantes de inoculaciones desde floración hasta 18 días más tarde y similarmente no existió diferencia significativa en pérdidas de rendimiento.

Chambers (1988) reporta que el porcentaje de mazorcas podridas decreció no linealmente con el incremento en días de

la fecha de inoculación a partir de media floración y muestra una correlación significativa ($r = -0.977$) con el peso del grano por planta. El contenido de azúcares muestra un rápido incremento según aumenta la fecha de inoculación, pero esta variable no estuvo correlacionada significativamente con porcentaje de mazorcas podridas. Almidones por otra parte aumentaron constantemente según aumentó la época de inoculación y estuvo correlacionado significativamente con el porcentaje de mazorcas podridas ($r = 0.854$). La humedad del grano al igual que la pudrición de la mazorca decrece con el tiempo de inoculación y está correlacionada significativamente con el porcentaje de mazorcas podridas. Las mazorcas de maíz fueron más susceptibles a *D. maydis* de mediados de floración hasta aproximadamente 24 días más tarde; esto corresponde a un nivel de humedad del grano en el rango de más de 90% a 75.4%.

Koehler citado por Katsanos *et al.*, (1971) reportó que las mazorcas son más susceptibles 10-20 días después de mediados de floración, pero son resistentes después que la humedad del grano ha declinado a cerca de 22%.

En un programa para obtener resistencia para pudrición de la mazorca, el tiempo para la evaluación de germoplasma es crítico. Desde un rápido descenso en la humedad del grano a los 20 días después de mediados de floración. La inoculación de mazorcas podría ser hecha inmediatamente o brevemente después de este periodo. La inoculación en este tiempo podría

mostrar mejores diferencias en resistencia y susceptibilidad de germoplasma; sin embargo, inoculaciones en el tallo en programas de mejoramiento pueden ser hechas en algún tiempo de mediados de floración hasta aproximadamente 18 días después (Chambers, 1988).

Gulya *et al.* (1980) evaluaron dos técnicas de inoculación comúnmente utilizadas (pinchado y aspersion de inóculo) y estas fueron comparadas por su eficacia en tamizar resistencia para pudrición de la mazorca provocadas por Fusarium moniliforme. La severidad de pudrición de la mazorca por Fusarium fue más fácilmente distinguida cuando líneas endogámicas de maíz fueron inoculadas por el método de pinchar la mazorca, comparado con la técnica de aspersion de inóculo sobre los pistilos. En ambas técnicas la inoculación se realizó diez días después de la floración completa.

También compararon dos métodos (escalas) para evaluar la severidad de pudrición de la mazorca. El primero fue una modificación de la escala Horsfall-Barrett citada por Gulya, *et al.* (1980), que consiste en clasificar la pudrición de la mazorca sobre una escala no lineal de 1-5; 1 = 0%, 2 = 1-10%, 3 = 10-25%, 4 = 25-50, 5 = 50-100 de pudrición de la mazorca. El segundo método consistió en clasificar la pudrición de la mazorca sobre una escala lineal de 1-100; 1 = 0-1%, 10 = 1-10%, 25 = 10-25%, 50 = 25-50%, 100 = 50-100% de pudrición de la mazorca. Seguidamente corrigieron los datos mediante la transformación a logaritmo natural de las medias Log. N

$((\text{promedio de pudrición} \times 10) + 1)$. Esta escala corrige efectivamente el sesgo hacia una distribución normal. En conclusión, el segundo método de clasificación basado en una escala lineal fue más eficiente y estadísticamente más válido que la evaluación subjetiva de pudrición sobre una escala no lineal.

III. MATERIALES Y METODOS

A. Localización del Estudio

El estudio se realizó en la terraza II del Departamento de Agronomía de la Escuela Agrícola Panamericana (EAP), ubicada en el valle de Yeguaré, 14°00' Latitud Norte y 87°02' Longitud Oeste, a una altitud de 800 msnm. En 1989 se observó una temperatura promedio anual de 24°C y una precipitación total anual de 1073.2 mm.

B. Preparación del Terreno

La preparación del terreno se realizó en forma mecanizada, con un pase de arado y dos de rastra.

C. Siembra

La siembra se realizó en forma manual en el mes de junio. Las distancias de siembra empleadas fueron: 0.9 m entre surcos y 0.20 m entre plantas, para una densidad de 55,000 plantas por hectárea.

D. Material Vegetal

El material utilizado fue el híbrido de maíz H-27, considerado susceptible a la pudrición de la mazorca causada por D. maydis. La semilla se trató con Metalaxil (2 gramos de i.a./ha) por existir inóculo de Peronosclerospora sorghi

(Weston y Uppal) en el lote.

E. Fertilización

Al momento de la siembra se aplicó 32 kg de N/ha y 36 kg de P/ha en una fórmula de 18-46-0. Se efectuó una aplicación suplementaria de 20 kg de N/ha (Urea, 46%N) a los 35 días después de la siembra.

F. Control de Malezas

Control Químico: Se realizó mediante una aplicación preemergente de 1.5 kg de i.a./ha de Alachlor + 2.0 kg de i.a./ha de Atrazina.

Control Mecánico: Se realizó una limpia con azadón a los 40 días después de la siembra.

G. Control de Plagas

Al momento de la siembra se aplicó al suelo, Furadan 10G en una dosis de 10 kg de i.a./ha para controlar plagas del suelo.

El control de insectos se basó en muestreos semanales, para maíz de grano. Solamente se aplicó Lorsban 4EC en una dosis de 1 L de i.a./ha para control de gusano cogollero Spodoptera frugiperda (Smith).

H. Diseño Experimental

El ensayo fue conducido con un diseño de bloques completos al azar (BCA), con un arreglo factorial 4 x 3 con cuatro repeticiones.

I. Parcela Experimental

La parcela experimental estuvo formada por cinco surcos, con una longitud de 5 m x 4.5 m de ancho resultando un área de 22.5 m².

J. Parcela Util

La parcela útil constituyó los tres surcos centrales de la parcela experimental, dejando un surco de borde a ambos lados y 50cm de cada uno de los bordes de los tres surcos centrales. El área experimental sembrada fue de 1080 m².

K. Factores y Niveles

1. Época de inoculación.
 - a. Floración (etapa R1)
 - b. Siete días después de la floración.
 - c. Catorce días después de la floración.
2. Concentración de inóculo.
 - a. Testigo (sólo agua).
 - b. 5×10^2 conidias/ml.
 - c. 5×10^3 conidias/ml.
 - d. 5×10^4 conidias/ml.

L. Obtención de Inóculo

El aislamiento de D. maydis se obtuvo de la sección de Fitopatología, Departamento de Protección Vegetal, E A P. Los medios de cultivo utilizados fueron: Papa-Dextrosa-Agar (PDA) y Avena Agar (AA, 30g avena y 20g de agar en un litro de agua). El primero se uso para el crecimiento rápido de micelio (a temperatura y luz ambiente). Posteriormente se tomó una porción del medio PDA con hifas de D. maydis en crecimiento activo y se sembró en Platos Petri con medio AA. A continuación se sellaron con cinta parafinada y luego fueron expuestas a condiciones de temperatura y luz ambiente, hasta la formación de picnidios, más o menos 15-20 días después de resembradas.

M. Preparación de Suspensión Madre y Diluciones de Inóculo

El mismo día que se realizó cada inoculación, se preparó una solución madre, utilizando platos con medio AA, con abundante cantidad de picnidios. Estas platos fueron licuados con agua corriente hasta obtener una suspensión de color grisáceo-pardo. La concentración (conidias/mililitros) se determinó con ayuda del hemacitómetro. A partir de la suspensión madre se procedió a preparar las diluciones de 5×10^2 , 5×10^3 y 5×10^4 conidias/ml.

N. Técnica de Inoculación

Se utilizó un aspersor plástico manual, asperjando un mililitro en la base de la mazorca.

Las mazorcas a inocular fueron seleccionadas y marcadas en los tres surcos centrales de la parcela experimental. El tamaño de la muestra fue de 20 mazorcas en igual etapa de desarrollo. La selección se realizó en la misma fecha para todos los tratamientos, para asegurarnos que solamente variará la época y la concentración de inoculación; el tratamiento testigo solamente recibió agua.

R. Colección de Datos

La colección de datos se realizó al momento de la cosecha a los 130 días después de la siembra. Se cosecharon las 20 mazorcas inoculadas en cada tratamiento y fueron evaluadas en los siguientes aspectos:

1. Incidencia = Número de mazorcas podridas de la muestra.
2. Severidad = Reflejada por la clase de daño, utilizando la escala lineal usada por Gulya *et al.*, (1980):
 $1 = 0-1\%$, $10 = 1-10\%$, $25 = 10-25\%$, $50 = 25-50\%$ y $100 = 50-100\%$.

Con Base en lo anterior se calculó el promedio de pudrición de la mazorca, multiplicando cada una de las categorías de daño de la escala por el número de mazorcas encontradas en cada una, luego se suman y el total se divide

entre el número total de mazorcas. Este promedio obtenido fue corregido para todos los tratamientos con la transformación: $\text{Log } N ((X+10) + 1)$, para asegurar su validez estadística, ya que corrige efectivamente la asimetría hacia una distribución normal.

La evaluación de daño se efectuó observando la presencia de síntomas característicos de la enfermedad como la presencia de micelio blanco entre las hileras de granos. Las mazorcas dudosas se probaron sembrando granos podridos en los medios de cultivo PDA y AA y observando al microscopio la colonia y las esporas producidas. En la identificación se utilizó las características morfológicas de las esporas como: tamaño, color y forma para determinar si era *D. maydis*. Las mazorcas enfermas por otros hongos no se tomaron en consideración para el cálculo de los promedios de pudrición de la mazorca.

O. Análisis Estadístico

La significación de los resultados fue medida por medio del análisis de varianza (ADEVA) con un diseño BCA con arreglo factorial. Si nos resultaban significativas la interacción AxB y los efectos principales de los factores se procedía a separar las medias de los tratamientos con la prueba de Duncan para interpretar mejor los resultados.

Todos los análisis se realizaron con ayuda del Programa para microcomputadoras MSTAT desarrollado por la Universidad Estatal de Michigan y sus subprogramas Factor, Calc y Range.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

A. Efecto de la Época de Inoculación con Esporas de *Diplodia maydis* en la Base de la mazorca de Maíz.

El efecto del factor época sobre la pudrición del maíz fue estudiado en tres niveles diferentes. La primera época fue en el estado de floración (etapa R1) según la clasificación de Ritchie y Hanwey (1984) cuando en la población total de las plantas han emergido los estigmas y poseen un tamaño de 3-4 cm de longitud. las épocas siguientes fueron espaciadas 7 y 14 días después de floración, respectivamente. El Análisis de Varianza (Cuadro 1), para la variable Pudrición de la mazorca, muestra que no existió ninguna diferencia significativa entre las épocas ($P \geq 0.13$, C.V= 25%), pero si resultó significativo para la respuesta lineal con una tendencia descendente, lo que nos indica que a medida que alargamos la época de inoculación, decrece la severidad de la enfermedad en inoculaciones con *D. maydis* hechas entre el inicio de la floración y 14 días después de éstas. El residuo no fue significativo lo que indica la ausencia de una respuesta cuadrática para el factor época de inoculación. Estos resultados mostraron igual tendencia que otros estudios. Ullstrup (1948) reportó que inoculaciones con *D. maydis*, fueron satisfactorias desde pocos días después de floración hasta dos o tres semanas después.

También reportó que la enfermedad declinó en inoculaciones hechas 19-24 días después del período de floración.

Hooker (1957) concluye que el tiempo de inoculación tiene poco efecto en la tasa de infección de la enfermedad. Michaelson (1957), afirma que el maíz puede ser susceptible desde varias semanas antes de la caída del polen, hasta el estado pastoso-duro del grano. Chambers (1988), reportó que las mazorcas de maíz son más susceptibles a D. maydis desde floración hasta aproximadamente 24 días más tarde. Todo lo anterior nos indica que el período óptimo para la inoculación es desde la floración hasta dos a tres semanas después de esta.

Latterell y Rossi (1983) en investigaciones realizadas sobre la pudrición del tallo y la mazorca causadas por Stenocarpella maydis (=Diplodia maydis) reportó que mazorcas y tallos son resistentes a S. maydis desde varias semanas después de la floración, o desde que se encuentra en su estado blando pastoso. Además reportó que el hongo ataca los tallos desde el inicio de la elongación hasta 3 semanas después de la floración y las mazorcas durante la emergencia de los pistilos.

Cuadro 1. Resultados Obtenidos del Análisis de Varianza para la Variable Pudrición de la Mazorca por D. maydis

F.V	S.C	G.L	C.M	F
Repetición	0.10	3	0.034	.05 ns
Epocas (A)	2.94	2	1.468	2.16 ns
R.Lineal	2.93	1	2.930	4.30 *
Residuo	0.01	1	0.010	< 1 ns
Concent. (B)	7.46	3	2.487	3.65 *
R.Lineal	5.76	1	5.760	8.46 **
Residuo	1.70	2	0.850	1.25 ns
A x B	11.56	6	1.927	2.83 *
Error	22.48	33	0.681	-----

*, **, ns : $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$ y no significativo respectivamente.

C.V 25%

B. Efecto de Inoculaciones a la base de la mazorca con Diferentes Concentraciones de Inóculo de Diplodia maydis.

El factor concentración de inóculo fue estudiado en cuatro niveles diferentes: sólo agua, 5×10^2 , 5×10^3 , y 5×10^4 conidias/ml. El análisis de varianza para la variable pudrición de la mazorca, demostró que existieron diferencias significativas entre las concentraciones ($P \leq 0.02$, C.V 25%). El factor concentración mostró una respuesta lineal ascendente lo que significa que al aumentar la concentración de inóculo en la suspensión, aumentó la severidad de la pudrición de la mazorca; el residuo fue significativo lo que indica la ausencia de una respuesta cuadrática para el factor concentración de inóculo (Cuadro 1).

La Prueba de Duncan demostró que no existían diferencias entre las concentraciones de 5×10^2 , 5×10^3 y el testigo comparados entre sí. Sin embargo, la concentración 5×10^4 fue significativamente diferente a la concentración 5×10^2 y el testigo, pero no fue distinta a la concentración de 5×10^3 (Cuadro 2).

Cuadro 2. Promedios de pudrición de la mazorca resultantes al inocular la base de la mazorca con tres diferentes concentraciones de conidias/ml de *D. maydis*.

Concentración (conidias/ml)	Promedio de pudrición de la mazorca ^a
5×10^4	3.89 A ^b
5×10^3	3.45 A B
5×10^2	2.85 B
Testigo	3.08 B

^a Tratamientos con una misma letra no son diferentes entre sí con una probabilidad de 0.05% y C.V= 25%.

^b Basados en la escala de 1-100 y corregidos por la transformación logarítmica.

La tendencia mostrada por los resultados anteriores es similar a las obtenidas por otros investigadores, es el caso de Koehler (1959) y Ullstrup (1970) quienes observaron una fuerte correlación positiva entre la concentración de esporas en la suspensión y el daño por pudrición de la mazorca.

Las plantas que sirvieron de testigo posiblemente se infectaron por causa de las esporas traídas por el viento desde las plantas inoculadas en la misma fecha.

C. Efecto de la Combinación Época x Concentración en Inoculaciones en la Base de la Mazorca de Maíz.

La combinación de las épocas de inoculación y las concentraciones de inóculo nos resultó en doce tratamientos incluyendo los testigos.

El Análisis de Varianza para la variable, pudrición de la mazorca, indicó que existieron diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0.024$, C.V 25%), lo que significa que existió interacción entre la época y la concentración de inóculo que se use (Cuadro 1).

Las medias de los tratamientos fueron separadas mediante la Prueba de Duncan, utilizando el promedio de pudrición de la mazorca, los resultados mostraron que la concentración de 5×10^4 inoculada en el inicio de la floración (R1), fue la que causó la mayor cantidad de pudrición en la mazorca y fue significativamente diferente a todos los tratamientos excepto a la concentración de 5×10^3 inoculada siete días después de la floración (Cuadro 3).

Cuadro 3. Promedios de pudrición de las mazorcas resultantes de las interacciones épocas x concentraciones de inoculaciones en la base de la mazorca con D. maydis.

EPOCA	CONCENTRACION*			
	0	500	5000	50000
Floración	2.58 bc ^b	3.67 bc	3.24 bc	4.97 a
7 ddf ^c	3.67 bc	2.39 c	3.84 ab	3.40 bc
14 ddf	3.00 bc	2.48 bc	3.26 bc	3.30 bc

* Conidias/ml

^b Tratamientos con una misma letra no son diferentes entre sí con una probabilidad de 0.05 y C.V. = 25%

^c ddf = Días Después De floración.

La concentración de 5×10^2 inoculada siete días después de la floración, causó la menor cantidad de pudrición de la mazorca y únicamente fue diferente con las concentración 5×10^4 inoculada en floración (R1) y 5×10^3 inoculada siete días después de la floración, pero no para los tratamientos restantes (Cuadro 3).

V. CONCLUSIONES

1. Si existe una respuesta lineal decreciente para el factor época, cuando las inoculaciones con D. maydis son hechas entre la floración y 14 días después de ésta.
2. La concentración de 5×10^4 inoculada en el inicio de la floración causó la mayor cantidad de pudrición en la mazorca.
3. No existió ninguna diferencia en la pudrición de la mazorca con inoculaciones en la base de la mazorca con concentraciones desde 5×10^2 a 5×10^3 conidias/ml y estas no fueron diferentes comparadas con el testigo, aunque sí provocó mayor pudrición la concentración de 5×10^3 que el testigo.
4. Los resultados de inoculaciones sobre la base de la mazorca indican que posiblemente es un sitio de entrada para el hongo D. maydis.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar investigaciones que incluyan mas épocas de inoculación para determinar cuanto tiempo después de la floración empieza a decrecer la infección de la enfermedad.
2. Realizar estudios para comprobar la efectividad de la concentración que causó la mayor cantidad de pudrición en este presente estudio, para ser utilizada en la evaluación de germoplasma.
3. Se recomienda en estudios similares a éste, incluir tratamientos testigos y asperjar agua sobre la base de la mazorca, pero cubrir antes los estigmas, para determinar si la base de la mazorca es un sitio de entrada del hongo.

VII. LITERATURA CITADA

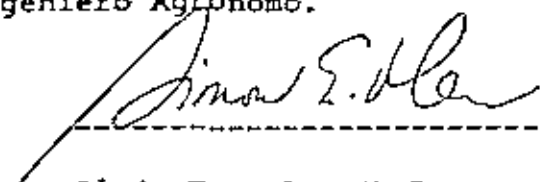
1. AGRIOS, G. 1978. Fitopatología. Traducido del inglés por Manuel Guzmán Ortiz. México, D.F. Limusa. 756 p.
2. CASTAÑO, J. 1986. Taxonomía de hongos, bacterias, virus y nemátodos fitopatógenos. Tegucigalpa, Honduras. Departamento de Protección Vegetal. Proyecto MIPH/EAP-USAID. Pub. No. 120. 17 p.
3. CASTAÑO, J. 1987. Seminario sobre últimos avances tecnológicas en la producción de maíz. Principales enfermedades del maíz y su control. Tegucigalpa, Honduras. Departamento de Protección Vegetal. Proyecto MIPH/EAP-USAID. Pub. No. 122. 14 p.
4. CHAMBERS, K. 1988. Effect of time of inoculation on Diplodia stalk and ear of maize in South Africa. *Plant Disease* 72:529-531.
5. CLAYTON, E. 1927. Diplodia ear-rot disease of corn. *Jour. of Agr. Res.* 34:357-371.
6. DE LEÓN, C. 1984. Enfermedades del maíz. Una guía para su identificación en el campo. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). 3era ed. México, D.F. 114 p.
7. EDDINS, A. 1930. Dry rot of corn caused by Diplodia macrospora Earle. *Phytopathology* 20:439-448.
8. GULYA, T., C. MARTINSON, y P. LOESCH. 1980. Evaluation of inoculation techniques and rating dates for Fusarium ear rot of Opaque-2 maize. *Phytopathology* 70:1116-1118.
9. HELAD, F. 1933. Manual of plant diseases. McGraw-Hill Book Co; Inc. New York and London.
10. HOOKER, A. 1957. Factors affecting the spread of Diplodia zeae in inoculated corn stalks. *Phytopathology* 47:196-199.
11. KATSANOS, R., A. PAPPELIS, J. BE MILLER, y J. IWEEDY, J. 1971. Parenchyma cell death in elongating corn cobs. *Crop Sc.* 11:458-459.

12. KOEHLER, B. 1959. Corn ear rots in Illinois. University of Illinois. Agricultural Experiment Station. Bulletin 639. 87 p.
13. LATTERELL, F. y A. ROSSI. 1983. Stenocarpella macrospora (= Diplodia macrospora) and S. maydis (= D. maydis) compared as pathogens of corn. Plant Disease 67:725-729.
14. LÓPEZ, J., E. PADILLA., E. SALVATIERRA, R. OCAMPO, A., COLINDRES, L. PINEDA., M. BUSTAMANTE. y D. MONTERROSO. 1987. Estimación de las pérdidas provocadas por la pudrición de la mazorca de maíz en Taulabé, Comayagua. Compendio de resúmenes de la XXXV Reunión Anual del PCCMCA. San Pedro Sula, Honduras. Sec. Rec. Nat. 153 p.
15. MARASAS, W. y G. VAN DER WESTHUIZEN. 1979. Diplodia macrospora: The cause of leaf blight and cob rot of maize. Phytophylactica 11:61-64.
16. MICHAELSON, M. 1957. Factors affecting development of stalk rot of corn caused by Diplodia zeae and Gibberella zeae. Phytopathology 43:479
17. MURILLO, E. 1970. Observación de enfermedades y plagas prevaletentes en 10 variedades de maíz (Zea mays, L.) en una fecha de siembra en Apodaca. Tesis Ing. Agr. Monterrey, México; Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. 76 p.
18. MORA, L. y R. MORENO. 1984. Cropping pattern and soil management influence on plant diseases. Turrialba 34:35-40.
19. PANIAGUA, O., J. CASTAÑO. J. HERRERA, J. ZEPEDA, y C. MOSCOSO. 1987. Daño de maíz muerto causado por Diplodia maydis (Berk.) según el sistema y época de cosecha del maíz. Departamento de Protección Vegetal. Proyecto MIPH/EAP-USAID. Pub. No. 87. 17 p.
20. PAZ, J. y T. PEREIRA. 1989. Situación actual de Diplodia spp. en el cultivo del maíz en la zona sur oriental. Compendio de Resúmenes de la XXXV Reunión Anual del PCCMCA. San Pedro Sula, Honduras. 153 p.

21. RITCHIE, S. y J. HANWEY. 1984. How a corn plant develops. Special Report No. 48. Iowa State University of Science and Technology Cooperative extension Service. Iowa, USA. 21 p.
22. ULLSTRUP, A. 1948. A method for producing artificial epidemics of *Diplodia* ear rot. *Phytopathology* 39:93-101.
23. ULLSTRUP, A. 1964. Observations on two epiphytotics of *Diplodia* ear rot of corn in Indiana. *Plant Disease Reporter* 48:414-415.
24. ULLSTRUP, A. 1970. Methods for inoculating corn ears with *Gibberella zeae* and *Diplodia maydis*. *Plant Disease Reporter* 54:658-662.

Esta tesis fue preparada bajo la dirección del consejero principal del Comité de Profesores que asesoró al candidato y ha sido aprobada por todos los miembros del mismo. Fue sometida a consideración del Jefe y Coordinador del Departamento, Decano y Director de la Escuela Agrícola Panamericana y fue presentada como requisito previo a la obtención del Título de Ingeniero Agrónomo.

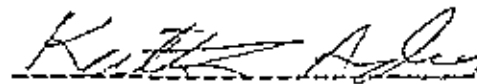
Abril de 1990



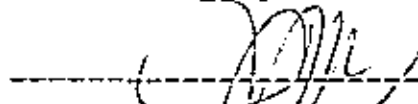
Simón E. Malo, Ph.D.
Director



Jorge Román, Ph.D.
Decano




Keith L. Andrews, Ph.D.
Jefe del Departamento de
Protección Vegetal

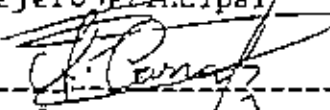


Jacobo Cáceres C. Ph.D.
Coordinador del Departamento de
Protección Vegetal

Comité de Profesores:



Jacobo Cáceres C. Ph.D.
Consejero Principal



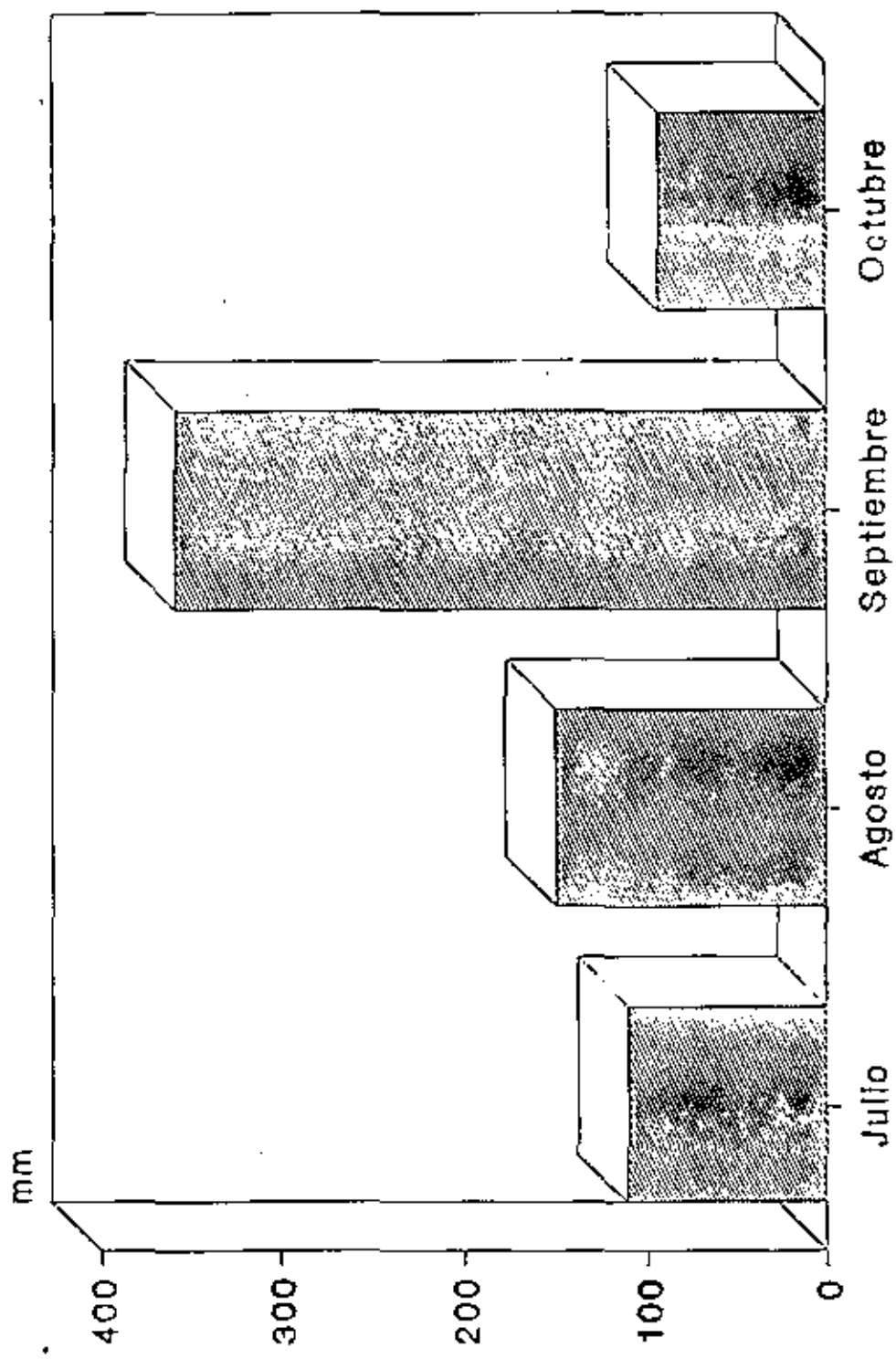
Leonardo Corral, Ph.D.
Asesor



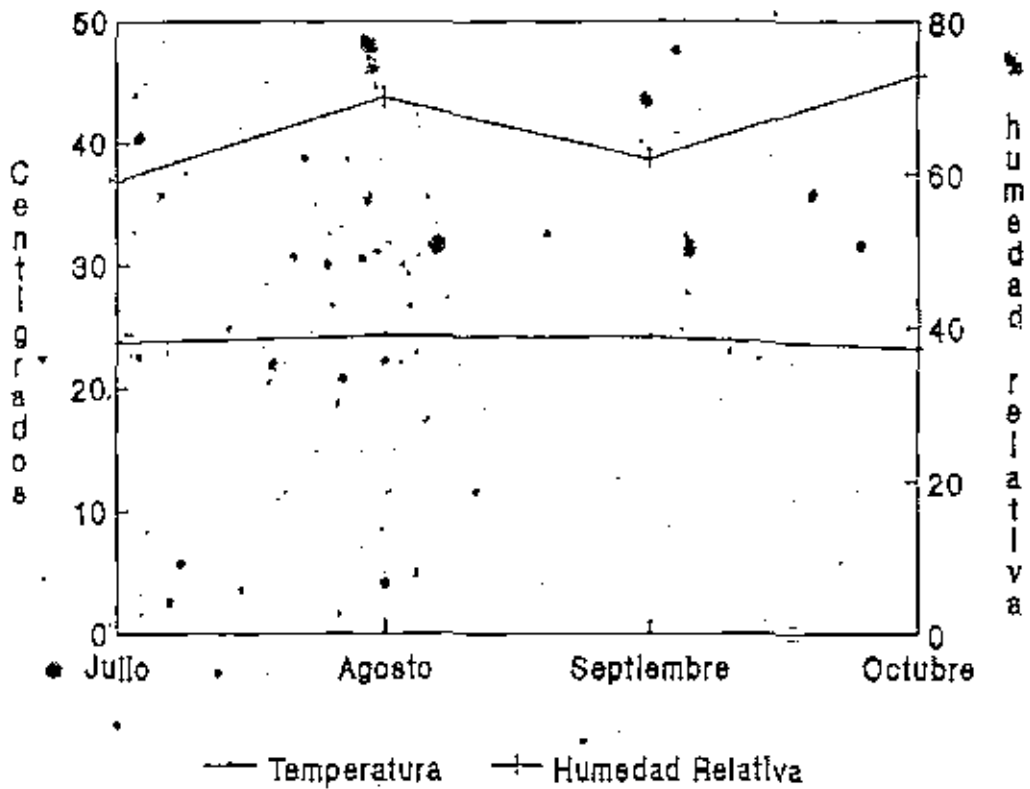
Luis del Río M.Sc.
Asesor

ANEXOS

BIBLIOTECA WILSON POPENDE
ESUELA AGRICOLA PANAMERICANA
APR 1963
TERRACALPA HONDURAS



Anexo 1. Datos de precipitación mensual. El Zamorano 1989.



Anexo 2. Promedio de temperatura y humedad relativa, El Zamorano 1989