



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE LOS HONGOS
Kabatiella zae y *Exserohilum turcicum*, PATÓGENOS DE MAÍZ (*Zea mays*).
CARACTERIZACIÓN DE LAS ESTRATEGIAS PATOGÉNICAS Y DE
SOBREVIVENCIA COMO UN APORTE AL CONOCIMIENTO DE SUS CICLOS
BIOLÓGICOS

Ing. Agr. ÁNGELA NORMA FORMENTO

TRABAJO DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO DOCTOR EN CIENCIAS AGRARIAS

DIRECTOR: Dr. LEONARDO DANIEL PLOPER

CO-DIRECTORA: Dra. ROSANNA N. PIOLI

AÑO 2018

**IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE LOS HONGOS *Kabatellia zae*
y *Exserohilum turcicum*, PATÓGENOS DE MAÍZ (*Zea mays*).
CARACTERIZACIÓN DE LAS ESTRATEGIAS PATOGENICAS Y DE
SOBREVIVENCIA COMO UN APORTE AL CONOCIMIENTO DE SUS CICLOS
BIOLÓGICOS**

Ángela Norma Formento
Ingeniera Agrónoma – Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Nacional de Entre Ríos

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado académico de Doctora en Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Rosario y no ha sido previamente presentada para la obtención de otro título en ésta u otra Universidad. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones realizadas durante el período comprendido entre diciembre de 2010 y diciembre de 2016, bajo la dirección del Dr. Leonardo Daniel Ploper.

Nombre y firma del Doctorando Á. Norma Formento



Nombre y firma del Director L. Daniel Ploper



Nombre y firma de la Co-Directora Rosanna N. Pioli



Defendida: **26 de octubre de 2018**

AGRADECIMIENTOS

A mis Directores Daniel y Rosanna, quienes entendieron la necesidad de transitar el camino emprendido y me dieron siempre su apoyo incondicional.

A mis compañeros de cada día Juan Carlos Velázquez, Rubén Darío Velázquez y Gervasio Figoni por colaborar como parte de su trabajo, en las innumerables actividades que se realizaron para la obtención de datos a campo, invernáculo y laboratorio.

A mis colegas de la EEA Paraná: Osvaldo Papparotti, Santiago Cabada, Ricardo Melchiori y Oscar Valentinuz en cuyos ensayos de maíz pude visualizar tempranamente la problemática sanitaria de este maravilloso cereal.

A Norberto Álvarez que siempre facilitó las actividades en la redes de híbridos en el campo experimental de la EEA Paraná.

A mi colega y compañera Adriana Saluso por su contención de cada día en lo laboral y emocional.

DEDICATORIA

A mis padres que me acompañan desde el cielo

A mis hermanos

A mi hijo Gustavo, a Erika y mis nietos Valentina y Juan Bautista que son pura luz y energía para mi vida

A Luciano y Priscilla, mis pequeños sobrinos nietos

A Doris Barreto que nos acompaña desde algún lugar muy luminoso como ella, y a Mercedes Scandiani, quienes junto a Rosanna me dieron la fortaleza de enfrentar este desafío otoñal en mi carrera

A Roberto de Rossi, Lucrecia Couretot y Liliana Parisi que siempre acompañaron y colaboraron sin restricciones ni mezquindades

A Marcelo Carmona por su presencia permanente

A Victoria González por su energía positiva permanente

A todos mis colegas amigos que son muchos y a quienes les demuestro mi afecto de muchas maneras cada día a través de la Fitopatología

A mis amigas y amigos de esta vida, que siempre me alentaron a seguir, a pesar de todo los escollos propios y ajenos

A todos, simplemente muchas gracias, porque sin todos ustedes no hubiera podido llegar

PUBLICACIONES Y PRESENTACIONES A CONGRESOS

CONGRESOS

a. INTERNACIONALES

Sautua F., Scandiani M., Gordó M., Carmona M., **Formento N.**, Tartabini M., Luque A. **2018**. Seed-borne fungal pathogens infecting maize seeds in Argentina from 2009 to 2017. 8th ISTA Seed Health Symposium 2018. 4 to 7 September 2018 in Poznań, Poland.

b. NACIONALES

Formento A.N., Velázquez P.D., Carmona M.A., Scandiani M.M. **2012**. Manifestación de las enfermedades foliares del maíz (*Zea mays*) según diferentes ambientes durante el ciclo agrícola 2011/12. XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Potrero de los Funes, San Luis. 03 al 05 de octubre de 2012. F-131. ISBN 978-950-609-073-9. [CD-ROM].

Díaz C.G., De Rossi R., Couretot L., Sillon M., **Formento A.N.**, González V. **2012**. Prevalencia y distribución de enfermedades del maíz en Argentina. XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Aguas de Lindoia (SP), Brasil. 26 al 30 de agosto de 2012.

Formento A.N. 2014. Enfoque actual de las enfermedades del maíz, trigo, cebada, sorgo y arroz en Argentina. Mesa Redonda: Enfoque actual de las enfermedades en granos. Libro de Resúmenes del 3er Congreso Argentino de Fitopatología. p. 125. Tucumán, 4 al 6 de junio de 2014.

Formento A.N., Pioli R.N., Ploper L.D. **2014**. Caracterización de la mancha ocular del maíz y de su organismo causal *Kabatiella zae*. Libro de Resúmenes del 3er Congreso Argentino de Fitopatología. O-10. p. 508. Tucumán, 4 al 6 de junio de 2014.

Formento A.N., Velazquez P.D., Pioli R.N., Ploper L.D. **2014**. Efectos de la intensificación agrícola en la incidencia de la mancha ocular del maíz (*Kabatiella zae*). Libro de Resúmenes del 3er Congreso Argentino de Fitopatología. Ep-HyS-9. p. 264. Tucumán, 4 al 6 de junio de 2014.

Formento A.N., Novelli L.E., Pioli R.N., Ploper L.D. **2014**. Comportamiento de híbridos de maíz a la mancha ocular (*Kabatiella zae*) y al tizón foliar común (*Exserohilum turcicum*). X Congreso Nacional de Maíz. Maíz HD. p. 88-89. 3 al 5 de septiembre. Rosario, Argentina.

Formento A.N., Pioli R.N., Ploper L.D. **2014**. Importancia de las plantas voluntarias de maíz como reservorio de *Exserohilum turcicum* (tizón foliar común) y *Kabatiella zae*

- (mancha ocular). X Congreso Nacional de Maíz. Maíz HD. p. 88. 3 al 5 de septiembre. Rosario, Argentina.
- Velazquez P.D., **Formento A.N.** 2014. Caracterización, incidencia y severidad del lunar blanco del maíz. X Congreso Nacional de Maíz. Maíz HD. p. 99. 3 al 5 de septiembre. Rosario, Argentina.
- Velazquez P.D., **Formento A.N.**, CABADA S. 2014. Comportamiento de maíces tardíos frente al tizón foliar común (*Exserohilum turcicum*) en Entre Ríos. Ciclo agrícola 2013/14. X Congreso Nacional de Maíz. Maíz HD. p. 100. 3 al 5 de septiembre. Rosario, Argentina.
- Joris G., Aragarañá M., **Formento Á.N.**, Lurá M.C., Latorre Rapela M. 2014. Utilización de herramientas moleculares para la caracterización molecular de *Kabatiella zea* aisladas de plantas de maíz. AF 38, p. 182. Lilloa 51 (Suplemento): XIII Congreso Argentino de Micología. XXIII Jornadas Argentinas de Micología. 24 al 27 de agosto de 2014. CABA, Argentina.
- De Rossi R., Couretot L., **Formento A.N.**, Parisi L. 2016. Integración de investigadores de enfermedades de maíz. Relevamiento de los principales problemas sanitarios del cultivo. Primer Congreso de Maíz Tardío. Pilar, Buenos Aires. **20 de septiembre de 2016.**
- Formento A.N.**, Couretot L., Parisi L., Scandiani M.M. 2017. Detección de *Stenocarpella maydis* en rastrojo, base del tallo y semillas de maíz. Libro de Resúmenes. A2-041. p. 222. 4to Congreso Argentino de Fitopatología. Mendoza. **19 al 21 de abril de 2017.**
- Maumary R., Carmona M., **Formento A.N.**, Fernández L., Favaro A. 2017. Avance regional de la mancha blanca del maíz. Estudio sobre su posible agente causal *Phaeosphaeria maydis*. XIII Encuentro Nacional de Monitoreo. Exposición de trabajos científicos y tecnológicos de Manejo de problemas sanitarios de cultivos extensivos. Córdoba. Argentina. **28 y 29 de Junio de 2017.**

REVISTAS NACIONALES

- Formento A.N.**, Velazquez P. 2013. Comportamiento de híbridos de maíz a tizón foliar común (*Exserohilum turcicum*) en siembra de segunda en el norte entrerriano. Ciclo agrícola 2012/13. Jornada Regional de Cultivos de Verano. INTA-EEA Paraná. Serie Extensión n°69. ISSN 0325-8874. p. 63-66.
- Velazquez P.D., **Formento A.N.**, Penco R. 2014. Comportamiento de híbridos de maíz en

siembra tardía a enfermedades foliares. Ciclo agrícola 2013/14. Revista Técnica Siembra Directa Maíz. AAPRESID. p. 76-79. Julio 2014.

Los Alertas, Boletines e Informes fitopatológicos permitieron realizar trabajos de campo relacionados con la Tesis, en el marco del Proyecto Nacional N°1135022: **Identificación y desarrollo de protocolos para la detección de patógenos de importancia agrícola.** Actividad: **Caracterización e identificación de las especies de los géneros Kabatiella, Exserohilum y Cercospora que afectan al maíz (Zea mays) y sus estrategias de sobrevivencia y diseminación.**

Formento A.N. 2014. La importancia del perfil sanitario de los híbridos del maíz. Forratec: Información Técnica. <http://forratec.com.ar/newsletter/fls-2014-08-30.html>
30 de agosto de 2014.

Formento A.N. 2015. Alerta sanitario para tizón foliar y roya común del maíz N°1. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 639.
<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=701> **08 de enero de 2015.**

Formento A.N. 2015. Alerta sanitario para tizón foliar y roya común del maíz N°2. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 640.
<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=700> **15 de enero de 2015.**

Formento A.N. 2015. Alerta sanitario para tizón foliar y roya común del maíz N°3. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 641.
<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=701> **22 de enero de 2015.**

Formento A.N. 2015. Alerta sanitario para tizón foliar y roya común del maíz N°4. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 642.
<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=704> **29 de enero de 2015.**

Formento A.N. 2015. Alerta sanitario para tizón foliar y roya común del maíz N°5. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 643.
<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=707> **05 de febrero de 2015.**

Formento A.N. 2015. Alerta sanitario para tizón foliar y roya común del maíz N°7. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 646.
<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=711> **24 de febrero de 2015.**

Formento A.N. 2015. Alerta sanitario para tizón foliar y roya común del maíz N°7. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 647.
<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=712> **05- 03- 2015.**

Formento A.N. 2016. Alerta en Maíces Tardíos.

<http://inta.gob.ar/noticias/alerta-en-maices-tardios> **15 de enero de 2016.**

Formento A.N. 2016. Alerta Sanitario N°1. Maíces tardíos. Bolsa de Cereales de Entre Ríos. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 693.

<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=791> **21 de enero de 2016.**

Formento A.N. 2016. Alerta Sanitario N°2. Maíces tardíos. Bolsa de Cereales de Entre Ríos. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 694.

<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=794> **28 de enero de 2016.**

Formento A.N. 2016. Alerta Sanitario N°3. Maíces tardíos. Bolsa de Cereales de Entre Ríos. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 695.

<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=795> **11 de febrero de 2016.**

Formento A.N. 2016. Alerta Sanitario N°4. Maíces tardíos. Bolsa de Cereales de Entre Ríos. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 696.

<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=797> **18 de febrero de 2016.**

Formento A.N. 2016. Alerta Sanitario N°5. Maíces tardíos. Bolsa de Cereales de Entre Ríos. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 697.

<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=799> **25 de febrero de 2016.**

Formento A.N. 2016. Alerta Sanitario N°6. Maíces tardíos. Bolsa de Cereales de Entre Ríos. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 698.

<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=800#link6791> **03 de marzo de 2016.**

Formento A.N. 2016. Alerta Sanitario N°7. Maíces tardíos. Bolsa de Cereales de Entre Ríos. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 699.

<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=800#link6791> **10 de marzo de 2016.**

Formento A.N. 2016. Alerta Sanitario N°8. Maíces tardíos. Bolsa de Cereales de Entre Ríos. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 700.

<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=800#link6791> **17 de marzo de 2016.**

Formento A.N. 2016. Alerta Sanitario N°9. Maíces tardíos. Bolsa de Cereales de Entre Ríos. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 701.

<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=802> **25 de marzo de 2016.**

Formento A.N. 2017. Alerta Sanitario N°2. Maíces tardíos. Bolsa de Cereales de Entre Ríos. Proyecto SIBER - Informe Semanal n° 694.

<http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=794>. **28 de enero de 2017.**

Formento Á.N. 2017. Boletín Fitopatológico N°4 – Maíz.

<http://inta.gob.ar/documentos/boletin-fitopatologico-no4-maiz> **20 de marzo de 2017.**

ÍNDICE	Pág.
Portada	
Título de la Tesis	1
Agradecimientos	2
Dedicatoria	3
Publicaciones y Presentaciones en Congresos	4
Índice	9
Abreviaturas	12
Tablas	16
Figuras	20
Gráficos	25
Resumen	28
Abstract	30
SECCIÓN I. INTRODUCTORIA	
Introducción	33
Hospedante: maíz	34
Ambiente: cambio climático	36
Hombre: nuevos escenarios productivos	37
Patógenos: los hongos <i>Kabatiella zae</i> y <i>Exserohilum turcicum</i> (hongos)	39
Planteo y relevancia del problema	43
Hipótesis	48
Objetivos	49
SECCIÓN II. ESTUDIOS DE LA FASE PARASÍTICA DE LA INTERACCIÓN PLANTA – PATÓGENO – AMBIENTE. ESTUDIOS EN CONDICIONES DE CAMPO (INFECCIONES NATURALES)	
Capítulo 1. Objetivo 1. Determinación de la prevalencia e importancia de la mancha ar oca (<i>Kabatiella zae</i>) y del tizón foliar (<i>Exserohilum turcicum</i>) en la región maicera núcleo y en la provincia de Entre Ríos	
Introducción	51
Materiales y métodos	52
Resultados	54
Discusión	57
Conclusiones	59
Capítulo 2. Objetivo 2. Descripción de mancha ocular (<i>Kabatiella zae</i>) y de tizón foliar (<i>Exserohilum turcicum</i>) en infecciones naturales	

2.1. <i>Kabatiella zea</i>	
Introducción	61
Materiales y métodos	61
Resultados	63
Discusión	71
Conclusiones	73
2.2 <i>Exserohilum turcicum</i>	
Introducción	74
Materiales y métodos	74
Resultados	75
Discusión	89
Conclusiones	92
Capítulo 3. Objetivo 3. Comportamiento de híbridos o líneas avanzadas de maíz a mancha ocular (<i>Kabatiella zea</i>) y tizón foliar (<i>Exserohilum turcicum</i>)	
Introducción	94
Materiales y métodos	96
Resultados	100
Discusión	115
Conclusiones	119
SECCIÓN III. ESTUDIOS DE LA FASE PARASÍTICA DE LA INTERACCIÓN PLANTA – PATÓGENO – AMBIENTE. ESTUDIOS EN LABORATORIO E INFECCIONES ARTIFICIALES	
Capítulo 4. Objetivo 4. Caracterización de <i>Kabatiella zea</i> y <i>Exserohilum turcicum</i>	
4.1 Aislamiento, multiplicación y conservación de <i>Kabatiella zea</i> y <i>Exserohilum turcicum</i>	
Introducción	121
Materiales y métodos	124
Resultados	127
Discusión	132
Conclusión	134
4.2 Macromorfología, micromorfología y caracterización molecular de <i>Kabatiella zea</i> y <i>Exserohilum turcicum</i>	
Introducción	134
Materiales y métodos	137
Resultados	140
Discusión	155

Conclusiones	160
4.3 Pruebas de patogenicidad.	
Introducción	160
Materiales y métodos	161
Resultados	164
Discusión	168
Conclusiones	170
SECCIÓN IV: ESTUDIOS DE LA FASE SAPROFÍTICA DE <i>Kabatiella zae</i> Y <i>Exserohilum turcicum</i>. ESTRATEGIAS DE SOBREVIVENCIA	
Capítulo 5. Objetivo 5. Función de la semilla como sustrato de sobrevivencia de <i>Kabatiella zae</i> y <i>Exserohilum turcicum</i>	
Introducción	173
Materiales y métodos	177
Resultados	180
Discusión	188
Conclusiones	192
Capítulo 6. Objetivo 6. Función del rastrojo y plantas voluntarias de maíz en la sobrevivencia de <i>Kabatiella zae</i> y <i>Exserohilum turcicum</i>	
Introducción	194
6.1. Rastrojo	
Materiales y métodos	198
Resultados	201
Discusión	210
6.2. Plantas voluntarias	
Materiales y métodos	216
Resultados	217
Discusión	223
Conclusiones	225
SECCIÓN V: CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	
Conclusiones	230
Perspectivas	232
BIBLIOGRAFÍA	233
ANEXO	264

ABREVIATURAS	
A	Ancho
AA	Agar agua
AC	Antes de Cristo
AC	Agar colza
ACV	Agar caldo de verduras
AD	Agua destilada
ADE	Agua destilada estéril
AND	Ácido desoxirribonucleico
AET	Agar extracto de tomate
AHM	Agar harina de maíz
AL	Agar lenteja
AM	Agar malta
ANOVA	Análisis de la varianza
APG	Agar papa glucosado
APHIS	Animal and Plant Health Inspection Service
AOSA	Association of Official Seed Analysts
ARN	Ácido ribonucleico
AV8	Agar jugo de 8 vegetales
BCA	Bloques completos aleatorizados
BCER	Bolsa de Cereales de Entre Ríos
BCR	Bolsa de Cereales de Rosario
Bt	<i>Bacillus thuringiensis</i>
CABI	Commonwealth Agricultural Bureaux Internacional (UK)
CAI	Corn Agronomic Information
CCS	<i>Corn stunt Spiroplasma</i>
C/D	Con desinfección
CIMMYT	Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo
CGIAR	Consultative Group on International Agricultural Research
ClONa	Hipoclorito de sodio
CN	Centro norte
CO	Centro oeste
CO₂	Dióxido de carbono
COI	Cytochrome c Oxidase subunit 1
CS	Centro sur
CV	Coefficiente de variación
Ct1	Crecimiento en el primer intervalo de tiempo
Ct2	Crecimiento en el segundo intervalo de tiempo
DCA	Diseño completamente aleatorizado
dds	Días después de la siembra
ddi	Días después de la inoculación
DI	Densidad de inóculo

DON	Deoxinivelanol
Dpto.	Departamento
ECR	Ensayo comparativo de rendimiento
EEA	Estación Experimental Agropecuaria
EE.UU.	Estados Unidos de América
EF	Estado fenológico
Ej.	Ejemplo
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EPPO	European Plant Protection Organization
ER	Entre Ríos
Ha	Hectárea
HCL MG	Tolerancia a imidazolinonas e insectos
HE	Hoja de la espiga
HE⁺¹	Hoja inmediata superior a la hoja de la espiga
HE⁻¹	Hoja inmediata inferior a la hoja de la espiga
H	Hora
I	Incidencia
IICA	Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura
ICAR	International Conference on Antimicrobial Research
IMO	Incidencia de mancha ocular
INRA	French National Institute for Agricultural Research
ISTA	International Seed Testing Association
ITF	Incidencia del tizón foliar
ITS	Internal transcribed spacer
IGS	Internal intergeneric spacer
L	Longitud
LC	Labranza convencional
LCHA	Lactosa caseína hidrolizada agar
LM	Labranza mínima
LN	Latitud norte
LS	Latitud sur
LSD	Diferencias mínimas significativas (Least Significant Differences)
M	Metro
m²	Metro cuadrado
Mha	Millones de hectáreas
MI	Mililitro
MAT	Genes de compatibilidad sexual en hongos heterotálicos
MG	Mancha gris
MLC	Medio líquido usado para <i>Colletotrichum</i>
MO	Mancha ocular
Mo	Materia orgánica
Mpa	Presión osmótica

Msnm	Metros sobre el nivel del mar
Mt	Millones de toneladas
N	Norte
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NBCT	National Center for Biotechnology
NIR	Luz cercana al infrarrojo
Nm	Nanómetro
NOA	Noroeste argentino
NO	Noroeste
nov. comb.	<i>Combinatio nova</i> . Nueva combinación taxon
NSHS	National Seed Health System
NUV	Luz cercana a la ultravioleta
O₂	Oxígeno
OMAFRA	Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs
P	Prevalencia
PC	Período crítico
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PCR-tiempo real	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real
PG	Poder germinativo
Ph	Grado de acidez o basicidad de una solución acuosa
PH	Prevalencia por híbridos
PL	Prevalencia por lote
PMO	Prevalencia de mancha ocular
Ppm	Partes por millón
PTF	Prevalencia de tizón foliar
PV	Planta voluntaria
PV/m²	Planta voluntaria por metro cuadrado
Rarn	Ácido ribonucleico ribosomal
RAPD	Random amplified polymorphic DNA
R²	Coeficiente de determinación
R2	Grano ampolla o “blíster” (estado fenológico de maíz)
R4	Grano pastoso (estado fenológico de maíz)
R5	Grano dentado (estado fenológico de maíz)
RC	Roya común
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RH	Reacción de hipersensibilidad
RP	Roya polisora
RR	Resistente a RoundUp (glifosato)
S	Severidad
S	Sur
SD	Siembra directa
S/D	Sin desinfección

SE	Sur este
SENASA	Servicio Nacional de Sanidad Agraria de Perú
SIBER	Sistema Integrado de Bolsa Cereales de Entre Ríos
SMO	Severidad de la mancha ocular
SMS	Síndrome de la muerte súbita de la soja
Spp	Especie
STF	Severidad del tizón foliar
STV	Síndrome del tallo verde
T°	Temperatura
T	Tonelada
T	Intervalo de tiempo considerado
TF	Tizón foliar
UDA	Umbral de acción
UE	Unión Europea
UFC	Unidades formadoras de colonias
UK	Reino Unido (United Kingdom)
UPGMA	Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages
USDA	United States Department of Agriculture
V	Vigor
V3	Tercera hoja desplegada (estado fenológico de maíz)
V4	Cuarta hoja desplegada (estado fenológico de maíz)
V5	Quinta hoja desplegada (estado fenológico de maíz)
V7	Séptima hoja desplegada (estado fenológico de maíz)
V8	Octava hoja desplegada (estado fenológico de maíz)
V9	Novena hoja desplegada (estado fenológico de maíz)
V11	Undécima hoja desplegada (estado fenológico de maíz)
V12	Duodécima hoja desplegada (estado fenológico de maíz)
V_{mc}	Velocidad media de crecimiento
V_t	Panojamiento (estado fenológico de maíz)
VT3Pro	Víptera Triple Pro, tolerancia a insectos y herbicidas
μm	Micrones
YGCA	Agar extracto de levadura más cloranfenicol

TABLAS		
N°		Pág.
Tabla 1	Superficie sembrada, rendimiento promedio y producción de maíz en Argentina	35
Tabla 2	Evolución del cultivo de maíz en Entre Ríos	35
Tabla 3	Importancia del maíz de 1era y maíz tardío en Entre Ríos. Ciclo agrícola 2015/16	38
Tabla 4	Metas productivas 2020 de la cadena de maíz en Argentina	43
Tabla 5	Evaluaciones de maíz en diferentes ciclos agrícolas y provincias de Argentina	53
Tabla 6	Prevalencia de mancha ocular (MO) y tizón foliar (TF) en redes de híbridos en el ciclo agrícola 2011/12	56
Tabla 7	Prevalencia de mancha ocular (MO) y tizón foliar (TF) según híbridos en el ciclo 2012/13	56
Tabla 8	Prevalencia de mancha ocular (MO) y tizón foliar (TF) según híbridos en el ciclo 2013/14	56
Tabla 9	Prevalencia de mancha ocular (MO) y tizón foliar (TF) según híbridos en el ciclo agrícola 2014/15	57
Tabla 10	Dimensiones de mancha ocular (<i>Kabatiella zae</i>) según ubicación, edad y forma	66
Tabla 11	Medidas de conidios de <i>Kabatiella zae</i> en agar papa glucosado (APG) y agar malta (AM)	70
Tabla 12	Longitud y ancho de conidios de <i>Kabatiella zae</i>	73
Tabla 13	Tamaño promedio de lesiones de <i>Exserohilum turcicum</i> en diferentes híbridos de maíz	78
Tabla 14	Dimensiones de tizones ocasionados por <i>Exserohilum turcicum</i> en híbridos de maíz de Entre Ríos y Córdoba	79
Tabla 15	Comparación de tizones ocasionados por <i>Exserohilum turcicum</i> en maíz, sorgo y sorgo de Alepo	81
Tabla 16	Tamaño de conidióforos y conidios de <i>Exserohilum turcicum</i> sobre tejido foliar y en APG	82
Tabla 17	Tamaño de conidióforos y conidios de <i>Exserohilum turcicum</i> aislados de Paraná (Entre Ríos) y Monte Cristo (Córdoba)	83
Tabla 18	Tamaño de conidios de <i>Exserohilum turcicum</i> aislados de maíz, sorgo y sorgo de Alepo	87
Tabla 19	Medidas de referencia de conidios y conidióforos de <i>Exserohilum turcicum</i> de maíz de diversos autores	87
Tabla 20	Tamaño de conidios y conidióforos de <i>Exserohilum turcicum</i> obtenido de tizones en sorgo	87
Tabla 21	Incidencia (I) y Severidad (S) de Tizón Foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadios fenológicos (EF) vegetativos de híbridos de maíz en siembra de 1era. Villaguay (Entre Ríos)	101
Tabla 22	Incidencia (I) de mancha ocular (MO) ocasionada por <i>Kabatiella zae</i> , Incidencia (I) y Severidad (S) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadios fenológicos (EF)	

	vegetativos del maíz. Siembra de 1era, Paraná (Entre Ríos).	101
Tabla 23	Incidencia (I) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadios fenológicos (EF) reproductivos de híbridos de maíz. Siembra de 1era, Paraná (Entre Ríos).	102
Tabla 24	Incidencia (I) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadios fenológicos (EF) vegetativos de híbridos de maíz. Siembra de 1era en Victoria (Entre Ríos).	102
Tabla 25	Incidencia (I) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadios fenológicos (EF) reproductivos de híbridos de maíz. Siembra de 1era, Victoria (Entre Ríos).	103
Tabla 26	Incidencia (I) de mancha ocular (MO) ocasionada por <i>Kabatiella zaeae</i> , Incidencia (I) y Severidad (S) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadios fenológicos (EF) vegetativos de híbridos de maíz. Siembra de 1era, Fontezuela (Buenos Aires).	104
Tabla 27	Incidencia (I) de mancha ocular (MO) ocasionada por <i>Kabatiella zaeae</i> , Incidencia (I) y Severidad (S) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadios fenológicos (EF) vegetativos de híbridos de maíz. Siembra de 1era, Corral de Bustos (Córdoba).	104
Tabla 28	Incidencia (I) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadios fenológicos (EF) vegetativos de híbridos de maíz. Siembra de 1era, Venado Tuerto (Santa Fe).	105
Tabla 29	Incidencia (I) y Severidad (S) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadios fenológicos (EF) reproductivos de híbridos de maíz. Siembra de 2da, Victoria (Entre Ríos).	106
Tabla 30	Incidencia (I) y Severidad (S) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadio fenológico (EF) reproductivo R4 de híbridos de maíz. Siembra de 1era, Paraná (Entre Ríos).	106
Tabla 31	Evolución de la Severidad (S) del tizón foliar (TF) por <i>Exserohilum turcicum</i> en híbridos de maíz en estadios fenológicos (EF) vegetativos y reproductivos. Siembra de 1era, Paraná (Entre Ríos).	107
Tabla 32	Incidencia (I) y Severidad (S) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadio fenológico (EF) reproductivo R4 de híbridos de maíz. Siembra de 2da, Paraná (Entre Ríos).	108
Tabla 33	Incidencia (I) y Severidad (S) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadio fenológico (EF) reproductivo (R4) de híbridos de maíz. Siembra de 2da, La Paz (Entre Ríos).	108
Tabla 34	Incidencia (I) y Severidad (S) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en el estadio fenológico (EF) reproductivo (R4) de híbridos de maíz. Siembra de 2da, Colonia Ensayo, Diamante (Entre Ríos).	109
Tabla 35	Incidencia (I) y Severidad (S) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadios fenológicos (EF) reproductivos (R4) de híbridos de maíz. Siembra de 2da, San Gustavo, La Paz (Entre Ríos).	110

Tabla 36	Incidencia (I) y Severidad (S) de mancha ocular (MO) ocasionada por <i>Kabatiella zea</i> , Incidencia (I) y Severidad (S) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadios fenológicos (EF) reproductivo R4 de híbridos de maíz. Siembra de 2da, Oro Verde, Paraná (Entre Ríos).	110
Tabla 37	Incidencia (I) y Severidad (S) de mancha ocular (MO) ocasionada por <i>Kabatiella zea</i> , Incidencia (I) y Severidad (S) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadio fenológico (EF) reproductivo (R4) de híbridos de maíz. Siembra de 2da, Pajonal, Victoria (Entre Ríos).	111
Tabla 38	Incidencia (I) y Severidad (S) de tizón foliar (TF) causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en el estadio fenológico (EF) reproductivo R4 de híbridos de maíz. Siembra de 2da, Ombú, La Paz (Entre Ríos).	111
Tabla 39	Severidad (S) de mancha ocular (MO) ocasionada por <i>Kabatiella zea</i> en el estadio fenológico (EF) reproductivo R4 de híbridos de maíz. Siembra de 2da, La Picada, Paraná (Entre Ríos)	112
Tabla 40	Severidad (STF) de tizón foliar causado por <i>Exserohilum turcicum</i> en el estadio fenológico (EF) R4. Siembra de 2da, La Picada, Paraná (Entre Ríos)	113
Tabla 41	Severidad (SMO) de mancha ocular por <i>Kabatiella zea</i> en el estadio fenológico (EF) R4. Siembra de 2da, Colonia Ensayo, Diamante (Entre Ríos)	113
Tabla 42	Incidencia (ITF) y severidad (STF) de tizón foliar por <i>Exserohilum turcicum</i> en el estadio fenológico (EF) R4. Siembra de 2da en Colonia Ensayo, Diamante (Entre Ríos)	114
Tabla 43	Incidencia (IMO) y Severidad (SMO) de mancha ocular por <i>Kabatiella zea</i> ; incidencia (ITF) y severidad (STF) de tizón foliar por <i>Exserohilum turcicum</i> en estadio fenológico (EF) R4. Siembra de 2da, Pajonal, Victoria (Entre Ríos)	114
Tabla 44	Prevalencia de mancha ocular por <i>Kabatiella zea</i> y tizón foliar por <i>Exserohilum turcicum</i> en los diferentes ciclos agrícolas en siembra tempranas y tardías	116
Tabla 45	Comportamiento de híbridos de maíz a mancha ocular (<i>Kabatiella zea</i>) y tizón foliar (<i>Exserohilum turcicum</i>) en diversos ciclos agrícolas y fechas de siembra	118
Tabla 46	Aislados de <i>Exserohilum turcicum</i> usados en los estudios moleculares	139
Tabla 47	Morfología de colonias de <i>Kabatiella zea</i> en medios de cultivo	140
Tabla 48	Crecimiento de colonias de <i>Kabatiella zea</i> en medios de cultivo	143
Tabla 49	Crecimiento de aislados de <i>Kabatiella zea</i> en agar papa glucosado (APG) acidificado	144
Tabla 50	Abundancia y tamaño de conidios de un aislado de <i>Kabatiella zea</i> en medios de cultivo	147
Tabla 51	Medidas de referencias de conidios de <i>Kabatiella zea</i> de maíz	147

Tabla 52	Cantidad de conidios de <i>Kabatiella zae</i> obtenidos en diferentes medios de cultivo	148
Tabla 53	Macromorfología de colonias de <i>Exserohilum turcicum</i> en medios de cultivo.	152
Tabla 54	Crecimiento del diámetro de colonias de <i>Exserohilum turcicum</i> en medios de cultivo.	153
Tabla 55	Incidencia (I%) de hongos en semillas de maíz en agar extracto de levadura y cloranfenicol (YGCA), agar papa glucosado (APG), agar malta (AM), agar colza (AC) y agar extracto de tomate (AET).	182
Tabla 56	Incidencia (%) de hongos en semillas de maíz en agar papa glucosado (APG), en APG más granos de maíz y APG más granos de colza.	182
Tabla 57	Plantas voluntarias, incidencia de mancha ocular (IMO), severidad de mancha ocular (SMO), incidencia de tizón foliar (ITF) y severidad de tizón foliar (ITF) en Entre Ríos. Año 2015.	223
Tabla 58	Importancia de la mancha ocular y tizón foliar en plantas voluntarias de maíz durante los años 2013, 2014 y 2015.	223

FIGURAS		
N°		Pág.
Figura 1	Distribución mundial de <i>Kabatiella zea</i>	40
Figura 2	Distribución mundial de <i>Exserohilum turcicum</i>	43
Figura 3	Tizón foliar del maíz (<i>Exserohilum turcicum</i>) en Argentina desde 2008/09 a 2011/12	45
Figura 4	Sitios de evaluación de cultivos de maíz en Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe y Entre Ríos desde 2011 a 2015	53
Figura 5	Hojas inferiores (izq.) y superiores (der.) con mancha ocular (MO) del maíz (<i>Kabatiella zea</i>)	61
Figura 6	Manchas iniciales (izq.) y lesiones avanzadas (der.) de mancha ocular (MO) causadas por <i>Kabatiella zea</i>	63
Figura 7	Mancha ocular (MO) causada por <i>K. zea</i> en hojas superiores de maíz en estado reproductivo avanzado	63
Figura 8	Primeros síntomas y lesiones avanzadas de mancha ocular (MO) causadas por <i>Kabatiella zea</i>	64
Figura 9	Manchas típicas ocasionadas por <i>Kabatiella zea</i> en un híbrido susceptible	64
Figura 10	Mancha ocular (MO) del maíz producida por <i>Kabatiella zea</i> , vista a trasluz	65
Figura 11	Márgenes violáceos o púrpuras de mancha ocular (MO) en algunos híbridos de maíz	65
Figura 12	Manchas atípicas, positivas para mancha ocular (MO)	65
Figura 13	Estromas y conidios típicos del hongo <i>Kabatiella zea</i> sobre tejido foliar muerto de maíz	67
Figura 14a	Colonia miceliar de <i>Kabatiella zea</i>	67
Figura 14b	Colonia levaduriforme de <i>Kabatiella zea</i>	67
Figura 14c	Colonia estromática compacta con conidióforos y conidios de <i>Kabatiella zea</i>	68
Figura 14d	Colonia mixta con hifas dispersas y masas levaduriformes con conidios de <i>Kabatiella zea</i>	68
Figura 15	Colonias de <i>Kabatiella zea</i> de distinta coloración obtenidas de un mismo tejido enfermo en agar caldo de verduras (ACV) (der.) y grises oscuras sobre agar lenteja (AL) (izq.)	68
Figura 16	Variabilidad morfológica de colonias de <i>Kabatiella zea</i>	68
Figura 17	Hifas de <i>Kabatiella zea</i> a las 48 h sobre agar papa glucosado (APG) acidificado	69
Figura 18	Conidióforos cortos y conidio del hongo <i>Kabatiella zea</i>	69
Figura 19	Conidios solitarios o en grupos de <i>Kabatiella zea</i> a las 72 h en agar papa glucosado (APG) acidificado	69
Figura 20	Conidios de <i>Kabatiella zea</i> formados por brotación (blastosporas)	69
Figura 21	Conidióforo similar a un basidio (flecha roja) y conidios sobre conidióforo corto a partir de una hifa tabicada (flecha	

	amarilla) de <i>Kabatiella zae</i>	70
Figura 22	Síntomas típicos de ancho constante (izq.) y lesiones ensanchadas en el sector medio ocasionadas por <i>Exserohilum turcicum</i> (der.) en maíz	75
Figura 23	Lesiones de <i>Exserohilum turcicum</i> con márgenes acuosos	75
Figura 24	Tizones esporulantes ocasionados por <i>Exserohilum turcicum</i>	77
Figura 25	Tizón en maíz con rasgadura central longitudinal en hoja inferior (izq.) y en hoja superior (der.) causado por <i>Exserohilum turcicum</i>	77
Figura 26	Lesión hipersensible (“bandeado) ocasionada por <i>Exserohilum turcicum</i>	77
Figura 27	Reacción hipersensible (izq.) y reacción mixta (der.) producida por <i>Exserohilum turcicum</i> en maíz	77
Figura 28	Tizón (<i>Exserohilum turcicum</i>) en brácteas foliáceas de maíz	78
Figura 29	Lesiones típicas de <i>Exserohilum turcicum</i> en sorgo	80
Figura 30	Lesiones jóvenes producidas por <i>Exserohilum turcicum</i> en sorgo	80
Figura 31	Esporulación de <i>Exserohilum turcicum</i> en el envés de hojas de sorgo	80
Figura 32	Lesiones producidas por <i>Exserohilum turcicum</i> en sorgo de Alepo (Paraná, noviembre de 2011)	81
Figura 33	Colonias de <i>Exserohilum turcicum</i> en agar papa glucosado (APG) a las 48 h (izq.) y a los 4 días (der.) aisladas de maíz	82
Figura 34	Colonia joven de <i>Exserohilum turcicum</i> a los 3 (izq.) y 10 días (der.) en agar papa glucosado (APG) aislada de maíz	82
Figura 35	Conidióforos con cicatrices donde se originan los conidios de <i>Exserohilum turcicum</i> aislado de maíz	83
Figura 36	Hifas y apresorios (izq.) y formación de conidióforos (der.) de <i>Exserohilum turcicum</i>	83
Figura 37	Conidios jóvenes, célula distal oscura (izq.); conidio maduro, célula distal clara (der.) de <i>Exserohilum turcicum</i>	84
Figura 38	Conidios con hilo protuberante (izq.), distoseptas (centro) y germinación bipolar (der.) de <i>Exserohilum turcicum</i>	84
Figura 39	Germinación uni y bipolar de conidios de <i>Exserohilum turcicum</i> aislado de maíz	85
Figura 40	Conidióforos y conidios de <i>Exserohilum turcicum</i> aislado de sorgo	86
Figura 41	Conidióforos y conidios de <i>Exserohilum turcicum</i> aislados de tizones de sorgo de Alepo	86
Figura 42	Germinación de conidios de <i>Exserohilum turcicum</i> aislado de sorgo de Alepo	86
Figura 43	Germinación unipolar y bipolar de <i>Exserohilum turcicum</i> obtenido de tizones en sorgo de Alepo	86
Figura 44	Escala de Severidad de mancha ocular (MO) por <i>Kabatiella zae</i> . Fuente: Camochena et al. (2008)	97

Figura 45	Escala de Severidad de mancha ocular (MO) por <i>Kabatiella zae</i> . Fuente: EPPO (2011)	97
Figura 46	Escala de Severidad de tizón foliar (TF) del maíz causada por <i>Exserohilum turcicum</i> . Fuente: Bleicher (1988)	98
Figura 47	Sitios de evaluación de mancha ocular (MO) y de tizón foliar (TF) del maíz entre los ciclos 2011/12 al 2014/15 en siembras tempranas (círculos amarillos) y siembras tardías (círculos verdes)	115
Figura 48	Frascos San Luis con granos de trigo (izq.) y de sorgo (der.) para incremento de hongos	125
Figura 49	Tejido enfermo de maíz y cepillo de cerdas finas para recolectar conidios de <i>Exserohilum turcicum</i>	126
Figura 50	Tubos estría (izq.), crioviales con agua destilada (centro) y con método del papel de filtro (der.)	126
Figura 51	Método del papel de filtro para la conservación de hongos	127
Figura 52	Estromas (flecha amarilla) de <i>Kabatiella zae</i> en tejidos necrosados de maíz	127
Figura 53	Colonia de <i>Kabatiella zae</i> de aspecto cerebriforme, rosada con abundante producción de conidios	127
Figura 54	Abundante producción de conidios de <i>Kabatiella zae</i> en granos de sorgo en frascos San Luis	128
Figura 55	Método del papel de filtro para la conservación del hongo <i>Kabatiella zae</i>	128
Figura 56	Colonias de <i>Exserohilum turcicum</i> aisladas de maíz (izq.) y de sorgo de Alepo (der.) con el método del pincel en agar papa glucosado (APG) acidificado	130
Figura 57	Conidios oscuros de <i>Exserohilum turcicum</i> aislado de sorgo de Alepo en medio de Sachs	130
Figura 58	Colonias de <i>Exserohilum turcicum</i> sobre granos de trigo	131
Figura 59	Esporulación abundante de <i>Exserohilum turcicum</i> de maíz (verde claro) y de sorgo de Alepo (verde oscuro casi negro) en medio agar papa glucosado (APG) acidificado (izq.) y en medio de Sachs (der.)	131
Figura 60	Conservación de <i>Exserohilum turcicum</i> en tubos estría (izq.) y en papel de filtro (der.)	131
Figura 61	Morfología de colonias de <i>Kabatiella zae</i> en diferentes medios de cultivo	140
Figura 62	Características de diferentes aislados de <i>Kabatiella zae</i> en agar papa glucosado (APG) acidificado	146
Figura 63	Colonia mixta de <i>Kabatiella zae</i> en agar lenteja (AL). Masa de conidios (flecha roja) e hifas esporulantes (flecha amarilla)	146
Figura 64	Bandas de <i>Kabatiella zae</i> según método de extracción de ADN (CP=caja de Petri), Pell (pellets) y Ck=cepa patrón (<i>Cercospora kikuchii</i>)	148
Figura 65	Bandas de <i>Kabatiella zae</i> obtenidas por electroforesis de ADN con GACA4 y marcador 100 en 100 pb	149
Figura 66	Morfología de anverso y reverso de colonias de <i>Exserohilum</i>	

	<i>turcicum</i> en diversos medios de cultivo	150
Figura 67	Bandas polimórficas obtenidas a partir del ADN de 15 aislados de <i>Exserohilum turcicum</i>	154
Figura 68	Cámara húmeda de plantas inoculadas con <i>Kabatiella zeae</i> con suspensión de conidios	162
Figura 69	Síntomas de <i>Kabatiella zeae</i> en hoja de maíz inoculado (izq.) a las 72 h y hojas testigo sin lesiones (der.)	162
Figura 70	Reaislamiento de <i>Kabatiella zeae</i> a partir de síntomas de hojas inoculadas	163
Figura 71	Inoculación de maíz por aspersión de suspensión de conidios de <i>Exserohilum turcicum</i>	164
Figura 72	Inoculación del cogollo de maíz con gasa estéril embebidas en suspensión de conidios de <i>Exserohilum turcicum</i>	164
Figura 73	Síntoma de <i>Exserohilum turcicum</i> en maíz a los cuatro días después de la inoculación	165
Figura 74	Síntoma de <i>Exserohilum turcicum</i> en maíz a los 12 días después de la inoculación	165
Figura 75	Inoculación del cogollo con suspensión de conidios de <i>Exserohilum turcicum</i>	166
Figura 76	Plántulas de maíz de 13 días y hoja elegida para la inoculación (flechas rojas)	166
Figura 77	Síntomas en maíz a los 8 (izq.) y 12 días después de la inoculación (ddi) (der.) con el aislado RN12 La Paz de <i>Exserohilum turcicum</i>	167
Figura 78	Síntomas en los híbridos de maíz DOW 510 y AVALON PW inoculados con el aislado RN 12 La Paz de <i>Exserohilum turcicum</i>	167
Figura 79	Síntomas severos del aislado SA1 de sorgo de Alepo sobre plántulas de maíz	168
Figura 80	Síntomas del aislado RN 12 La Paz de maíz sobre hojas de sorgo de Alepo	168
Figura 81	<i>Fusarium</i> spp. en semillas de maíz en diferentes medios de cultivo	182
Figura 82	<i>Stenocarpella maydis</i> de semillas de maíz. Colonia en APG más granos de maíz (izq.), picnidios sobre tegumento (centro izq.), conidios emergiendo del picnidio (centro der.) y conidios (der.)	183
Figura 83	Semillas de maíz con micelio y peritecios de <i>Fusarium</i> spp.	187
Figura 84	Alta incidencia de <i>Fusarium</i> spp. en semillas de maíz en <i>blotter test</i> y frío	188
Figura 85	Aislamiento de hongos y bacterias de rastrojo de maíz recolectado en el Dpto. Nogoyá (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado	200
Figura 86	Haz y envés de colonias de <i>Bipolaris</i> (más oscuras casi negras) y similares a <i>Exserohilum</i> (gris verdosas)	201
Figura 87	Conidióforos y conidios de <i>Bipolaris</i> spp. (izq.) y <i>Drechslera</i> spp. (der.), aislados de rastrojo de maíz de Crespo, Dpto. Paraná (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado	201

Figura 88	Conidios de <i>Bipolaris</i> spp., aislados de rastrojo de maíz	203
Figura 89	Hongo dematiaceo no identificado aislado de rastrojo de maíz del Dpto. Tala (ER)	203
Figura 90	Colonia miceliar de <i>Kabatiella zea</i> con escasos conidios típicos	204
Figura 91	Peritecios de <i>Sordaria</i> spp., aislados de rastrojo de maíz	204
Figura 92	<i>Drechslera</i> spp. (izq.), <i>Curvularia</i> spp. (centro) y <i>Nigrospora</i> spp. (der.), aislados de rastrojo de maíz	206
Figura 93	Colonias mixtas de <i>Kabatiella zea</i> aisladas de rastrojo de monocultivo de maíz en agar harina de maíz (AHM) más antibióticos y carbendazim. EEA Paraná, Oro Verde (ER)	207
Figura 94	Conidios típicos de <i>Kabatiella zea</i> , otros engrosados con formación de conidios terminales (izq.), conidio con brotación lateral (centro) y clamidosporas (der.)	208
Figura 95	Estudios de tallos de maíz (rastrojo) para determinar la presencia de hongos	209
Figura 96	Prueba del rastrojo superficial en macetas con híbridos susceptibles a mancha ocular (MO) - <i>Kabatiella zea</i> y a tizón foliar (TF) - <i>Exserohilum turcicum</i>	209
Figura 97	Híbridos susceptibles a mancha ocular (MO) y tizón foliar (TF), sin síntomas en la prueba de rastrojo superficial en macetas.	210
Figura 98	Plantas voluntarias (PV) de maíz en lotes del Dpto. Paraná (ER). Año 2011	216
Figura 99	Plantas voluntarias de maíz en lotes evaluados en la provincia de Entre Ríos	217
Figura 100	Síntomas severos de mancha ocular (MO) (flechas amarillas) y de tizón foliar (TF) (flechas rojas) en hojas de plantas voluntarias (PV) de maíz	221
Figura 101	Ciclo biológico de <i>Kabatiella zea</i> , organismo causal de mancha ocular (MO) del maíz	227
Figura 102	Ciclo biológico de <i>Exserohilum turcicum</i> , organismo causal del tizón foliar (TF) del maíz	228

GRÁFICOS		
N°	Descripción	Pág.
Gráfico 1	Prevalencia de mancha ocular causada por <i>Kabatiella zeae</i> en los ciclos agrícolas 2011/12, 2012/13, 2013/14 y 2014/15	54
Gráfico 2	Prevalencia de tizón foliar causada por <i>Exserohilum turcicum</i> en los ciclos agrícolas 2011/12, 2012/13, 2013/14 y 2014/15	55
Gráfico 3	Frecuencia relativa de la longitud y el ancho de las lesiones ocasionadas por <i>Kabatiella zeae</i> en hojas inferiores	66
Gráfico 4	Frecuencia relativa de la longitud y el ancho de las lesiones ocasionadas por <i>Kabatiella zeae</i> en hojas superiores	66
Gráfico 5	Diámetro más frecuente de manchas circulares ocasionadas por <i>Kabatiella zeae</i> en hojas superiores	67
Gráfico 6	Longitud y ancho más frecuente de conidios de <i>Kabatiella zeae</i> en agar papa glucosado (APG)	70
Gráfico 7	Longitud y ancho más frecuente de conidios de <i>Kabatiella zeae</i> en agar malta (AM)	70
Gráfico 8	Frecuencia relativa de la longitud y ancho de tizones (<i>Exserohilum turcicum</i>) de hojas de maíz recolectadas en Paraná (izq.) y en Córdoba (der.)	79
Gráfico 9	Frecuencia relativa de la longitud y ancho de tizones (<i>Exserohilum turcicum</i>) en sorgo de Alepo	81
Gráfico 10	Efecto de la luz sobre la germinación de conidios de <i>Exserohilum turcicum</i> aislado de maíz	85
Gráfico 11	Tipos de germinación de los conidios de <i>Exserohilum turcicum</i> aislado de maíz	85
Gráfico 12	Evaluaciones de Ensayos Comparativos de Rendimientos (ECR) en siembras tempranas y tardías en los ciclos agrícolas 2011/12, 2012/13, 2013/14 y 2014/15	115
Gráfico 13	Prevalencia de mancha ocular (MO) y tizón foliar (TF) según los estadios fenológicos en los ciclos agrícolas 2011/12, 2012/13, 2013/14 y 2014/15 en distintas regiones de Argentina	117
Gráfico 14	Crecimiento (cm) de <i>Kabatiella zeae</i> en diferentes medios de cultivo	143
Gráfico 15	Velocidad media del crecimiento (cm/día) de <i>Kabatiella zeae</i> en diferentes medios de cultivo	144
Gráfico 16	Crecimiento (cm) de diferentes aislados de <i>Kabatiella zeae</i> en agar papa glucosado (APG) acidificado	145
Gráfico 17	Velocidad media de crecimiento (cm/día) de diferentes aislados de <i>Kabatiella zeae</i> en agar papa glucosado (APG) acidificado	145
Gráfico 18	Fenograma de similitud de aislados de <i>Kabatiella zeae</i> de diferentes orígenes (Buenos Aires, Córdoba y Entre Ríos)	150
Gráfico 19	Crecimiento (cm) de <i>Exserohilum turcicum</i> en diferentes medios de cultivo	153
Gráfico 20	Velocidad media de crecimiento (cm/día) de <i>Exserohilum turcicum</i> en diferentes medios de cultivo	154
Gráfico 21	Fenograma de similitud de aislados de <i>Exserohilum turcicum</i> de	

	diversos orígenes geográficos de Entre Ríos	155
Gráfico 22	Incidencia (%) de hongos en semillas de maíz sin y con desinfección en agar papa glucosado (APG) acidificado	181
Gráfico 23	Incidencia (%) de hongos en semillas de maíz en agar papa glucosado (APG), agar jugo V8 (AV8), agar harina de maíz (AHM) y agar papa glucosado (APG) acidificado	181
Gráfico 24	Incidencia (%) de hongos en semillas de maíz en agar malta (AM)	183
Gráfico 25	Incidencia (%) de hongos en semillas de 26 híbridos de maíz en agar papa glucosado (APG) acidificado	184
Gráfico 26	Incidencia (%) de hongos en semillas de maíz en medio agar lactosa caseína hidrolizada (LCHA)	185
Gráfico 27	Incidencia (%) de hongos en semillas de maíz en placas con agar extracto de tomate (AET)	185
Gráfico 28	Incidencia (%) de hongos en semillas de maíz en agar malta (AM) y agar harina de maíz (AHM)	186
Gráfico 29	Incidencia (I%) de hongos en semillas de maíz en <i>blotter test</i> con restricción hídrica	186
Gráfico 30	Incidencia (%) de hongos en semillas de maíz con método de papel y <i>freezer</i>	187
Gráfico 31	Incidencia (%) de hongos aislados de rastrojo de maíz del Dpto. Nogoyá (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado	202
Gráfico 32	Incidencia (%) de hongos de rastrojo de maíz de Crespo, Dpto. Paraná (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado	202
Gráfico 33	Incidencia (%) de hongos aislados de rastrojo de maíz de Gdor. Sola, Dpto. Tala (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado	204
Gráfico 34	Incidencia (%) de hongos de rastrojo de maíz de Altamirano Sur, Dpto. Tala (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado	205
Gráfico 35	Incidencia (%) de hongos aislados de rastrojo de maíz de Ramírez, Dpto. Diamante (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado	205
Gráfico 36	Incidencia (%) de hongos de rastrojo de maíz de Hasenkamp, Dpto. Paraná (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado.	206
Gráfico 37	Incidencia (%) de hongos de rastrojo de maíz de Oro Verde, Dpto. Paraná (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado más antibióticos y carbendazim	207
Gráfico 38	Incidencia (%) de hongos de rastrojo de maíz de Oro Verde, Dpto. Paraná (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado más antibióticos y carbendazim	207
Gráfico 39	Incidencia (%) de hongos de rastrojo de maíz de Oro Verde, Dpto. Paraná (ER) en agar harina de maíz (AHM) más antibióticos y carbendazim	208
Gráfico 40	Incidencia (%) de <i>Exserohilum turcicum</i> en rastrojo de maíz del Dpto. Paraná (ER) en agar lactosa caseína hidrolizada (LCHA) más antibióticos y carbendazim	210
Gráfico 41	Estadios fenológicos de las plantas voluntarias (PV) recolectadas en los Dptos. Paraná y La Paz en el año 2013	218
Gráfico 42	Número de plantas voluntarias totales (PVT) promedio por lote y	

	de plantas voluntarias por m ² (PV/m ²) promedio, en los Dptos. Paraná y la Paz en el año 2013	218
Gráfico 43	Prevalencia de mancha ocular (PMO) y de tizón foliar (PTF) en plantas voluntarias (PV) de maíz en los Dptos. Paraná y la Paz (Entre Ríos) en el año 2013	219
Gráfico 44	Estadios fenológicos (EF) de plantas voluntarias (PV) de maíz recolectadas en Entre Ríos en el año 2014	219
Gráfico 45	Número promedio de plantas voluntarias (PV) de maíz por m ² en Entre Ríos en el año 2014	220
Gráfico 46	Importancia de la mancha ocular (MO) y tizón foliar (TF) en plantas voluntarias (PV) de maíz recolectadas en Entre Ríos en el año 2014	220
Gráfico 47	Incidencia (I) y Severidad (S) de la mancha ocular (MO) y tizón foliar (TF) en plantas voluntarias (PV) en Entre Ríos en el año 2014	221
Gráfico 48	Estadios fenológicos (EF) de las plantas voluntarias (PV) de maíz recolectadas en Entre Ríos en el año 2015	229
Gráfico 49	Número promedio de plantas voluntarias (PV/m ²) en lotes de maíz en Entre Ríos en el año 2015	229

RESUMEN

En Argentina, el desarrollo y adopción de nuevas tecnologías productivas agrícolas, como la incorporación masiva de sistemas de labranza conservacionista, son factores fundamentales en la aparición de nuevas enfermedades que afectan a los cultivos extensivos, entre ellos a maíz (*Zea mays* L.). Estos sistemas permiten la presencia de rastrojo en superficie y de plantas voluntarias, los que en general son sustratos de sobrevivencia de patógenos necrotróficos. Por otro lado, las siembras tardías de maíz estabilizan el rendimiento, reducen los costos de producción, sin embargo las condiciones climáticas favorecen la emergencia y re-emergencia de enfermedades, las cuales causan pérdidas relevantes que pueden afectar la economía y seguridad alimentaria de un país. El estudio de aspectos morfológicos, genéticos y epidemiológicos de *Kabatiella zeae* y *Exserohilum turcicum*, hongos causales de la mancha ocular (MO) y tizón foliar (TF) del maíz respectivamente, permitirán conocer aspectos poco estudiados de ambos ciclos biológicos como una condición básica para el manejo integrado de ambas enfermedades. Las giras de prospección de enfermedades por la región núcleo maicera (Córdoba, Buenos Aires y Santa Fe) y la provincia de Entre Ríos confirmaron la presencia de las dos enfermedades, con distinta prevalencia e intensidad. La MO (*K. zeae*) resultó una enfermedad de frecuencia relativa y severidad leve a moderada; en siembras de primera y tardías. Por el contrario, el TF (*E. turcicum*) se caracterizó por ser una enfermedad prevalente y de incidencia alta en lotes de producción e híbridos más sembrados; la severidad alcanzó valores altos en híbridos susceptibles. En la mayoría de los ciclos agrícolas, las siembras tardías de diciembre y enero fueron favorables para la ocurrencia de ambas enfermedades foliares, principalmente del TF. La descripción de los síntomas y signos de *K. zeae* en maíz y de *E. turcicum* en maíz, sorgo (*Sorghum bicolor*) y sorgo de Alepo (*S. halepense*) contribuyeron a un conocimiento detallado de la MO y TF en infecciones naturales de campo. Los ensayos comparativos de rendimientos (ECR) de maíz que determinan la estabilidad agronómica de los híbridos en diferentes ambientes de las regiones maiceras, permitieron diferenciar el comportamiento de los materiales frente a las dos enfermedades. Se registraron híbridos susceptibles a MO y resistentes a TF y viceversa, así como susceptibles o resistentes a ambas enfermedades. Además, la cuantificación de ambas enfermedades con escalas diagramáticas específicas bajo un protocolo de evaluación que consideró un número mínimo de surcos y de plantas, con evaluaciones en la hoja de la espiga (HE), hoja inmediata inferior (HE-1) y hoja inmediata superior (HE+1), fue una instancia superadora a la simple estimación visual. Por otro lado, la

utilización de diversos métodos experimentales permitió aislar, multiplicar y conservar *K. zeae* y *E. turcicum* para su posterior utilización en los estudios de variabilidad morfológica y genética, pruebas de patogenicidad y mantenimiento de aislados de diversos orígenes geográficos por más de 600 días. El hongo *K. zeae* a diferencia de *E. turcicum*, mostró una marcada variabilidad cultural, y ambos, una gran diversidad genética. Estos patógenos no se observaron en semillas por lo cual es necesario continuar con otro tipo de estudios específicos y hasta el presente no constituyen una estrategia preferencial de sobrevivencia. Sin embargo, se comprobó y confirmó que el rastrojo, las plantas voluntarias de maíz y el sorgo de Alepo constituyen una fuente de inóculo primario. La contribución al conocimiento del ciclo biológico de ambos patógenos es de gran importancia epidemiológica y permitirá delinear técnicas de manejo con un abordaje integral a nivel de agroecosistema.

ABSTRACT

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF THE FUNGI *Kabatiella zae* AND *Exserohilum turcicum*, CORN (*Zea mays*) PATHOGENS. CHARACTERIZATION OF PATHOGENIC AND SURVIVAL STRATEGIES AS A CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF THEIR BIOLOGICAL CYCLES

The development and adoption of new technologies in agricultural production in Argentina, like the massive incorporation of conservation tillage systems, are key factors in the emergence of new diseases that affect crops, such as corn (*Zea mays* L.). These systems allow the presence of stubble on the surface and volunteer plants, usual substrates for the survival of necrotrophic pathogens. Late sowings of corn stabilize yield, reduce production costs, but the climatic conditions favor the emergence of diseases which cause losses and may affect the economy of a country and its food security. Study of morphological, genetic and epidemiological aspects of the fungi *Kabatiella zae* and *Exserohilum turcicum*, causal agents of eyespot and northern corn leaf blight (NCLB), respectively, will contribute to the knowledge of the biological cycles of both pathogens, necessary information for their integrated management. Disease surveys in the main corn production area (Córdoba, Buenos Aires y Santa Fe) and in Entre Ríos province confirmed the presence of both diseases with different prevalence and intensity. Eyespot was a disease of relative frequency and low to moderate severity; in contrast, NCLB showed high prevalence and incidence in production fields and most planted hybrids, respectively; severity reached high levels in susceptible hybrids. In most crop seasons, late plantings (December or January) were highly favorable for both foliar diseases, mainly for NCLB. Description of symptoms and signs of *K. zae* in corn and *E. turcicum* in corn, sorghum (*Sorghum bicolor*) and johnsongrass (*S. halepense*) contributed to a more detailed knowledge of both diseases in field under natural infections. Comparative trials yields allowed not only to establish the stability of the hybrids in different environments, but also to differentiate responses to diseases. Some were susceptible to eyespot and resistant to NCLB and viceversa, or susceptible or resistant to both diseases. In addition, quantification of both diseases with specific diagrammatic scales under an assessment protocol which takes into account a minimum number of rows and plants as the assessment ear leaf, immediate lower and upper ear leaf, represented an improvement to using just a simple visual estimation. Different experimental methods do it possible to isolate, increase and preserve *K. zae* and *E. turcicum* for later use of

morphological and genetic variability studies, pathogenicity tests and maintenance of isolates from diverse geographic origins for more than 600 days. *K. zaeae*, unlike *E. turcicum*, showed high levels of cultural variability, and both, high levels of diversity. Both fungi were not observed in the seeds for which we must continue the specific studies and they would not constitute a preferred strategy of survival. However, it was confirmed that stubble, volunteer plants of corn, and johnsongrass plants constitute the source of primary inoculum. The contribution to the knowledge of the biological cycle of both pathogens is of great epidemiological importance and allows to define management techniques with a comprehensive approach at the agroecosystem level.

SECCIÓN I

INTRODUCTORIA

INTRODUCCIÓN

HIPÓTESIS

OBJETIVOS

SECCIÓN I. INTRODUCTORIA

Introducción

Las enfermedades de las plantas son de gran importancia para la humanidad porque ocasionan severas pérdidas que pueden afectar su alimento, vestimenta, muebles, ambiente y muchas veces, su alojamiento. Millones de seres humanos en el mundo dependen de la producción vegetal para su sobrevivencia y las enfermedades de las plantas pueden establecer la diferencia entre la vida y la muerte. Por ejemplo, en Irlanda el hambre y la separación de familias fue el resultado de la epidemia de tizón tardío de la papa (*Phytophthora infestans*); valiosos recursos genéticos se perdieron por la virtual eliminación del castaño americano por el cancro (*Cryphonectria parasitica*) y la pérdida económica de aproximadamente un billón de dólares de los productores de maíz por el tizón foliar ocasionado por *Cochliobolus maydis* (anamorfo: *Bipolaris maydis*). A nivel mundial, otras enfermedades causan pérdidas anuales menores pero que son considerables para los agricultores a nivel local o regional. Por ello, el manejo de las enfermedades de las plantas tiene como finalidad reducir el daño económico con un enfoque multifacético donde las prácticas se basan en anticipar la incidencia y actuar sobre los puntos vulnerables o más sensibles del ciclo infectivo. Para ello, se requiere un diagnóstico adecuado de la enfermedad, un conocimiento preciso de su ciclo y la identificación del patógeno. Una serie de eventos ligeramente diferentes y sucesivos, conducen al desarrollo de la enfermedad y posterior sobrevivencia del patógeno. Esta cadena de eventos se denomina **ciclo de la enfermedad** e incluye dos fases alternantes, la **fase parasítica** y la **saprofítica** o de sobrevivencia. La estacionalidad de la producción de los cultivos anuales y del clima son los principales factores que contribuyen a la naturaleza cíclica de las enfermedades de las plantas. Para definir los elementos de un ciclo de infección no existen reglas absolutas; aquellos que se incluyen o no, dependen principalmente de la visión conceptual que un investigador tiene del patosistema en estudio, de sus objetivos y en menor medida, de la disponibilidad o dificultad para obtener los datos (Bergamin Filho y Amorim, 1996; Agrios 2005, Maloy, 2005).

Una fitoenfermedad causada por un agente biótico resulta de la interacción de un hospedante susceptible, un patógeno agresivo y un ambiente favorable (triángulo de la enfermedad). La incorporación de uno o más actores como el hombre y organismos vectores (áfidos, nematodos, etc.) convierten el triángulo en un tetraedro de la enfermedad. El factor humano es relevante en agricultura y se relaciona con las prácticas de siembra, la

manipulación genética del hospedante (mejoramiento e ingeniería genética), grandes áreas con poblaciones genéticamente similares, uso de riego, etc., que afectan el ciclo de vida del patógeno. Todos los factores mencionados pueden influir marcadamente en la ocurrencia y severidad de una determinada enfermedad (Campbell y Madden, 1990; Francl, 2001; Agrios, 2005).

Hospedante: maíz

El maíz (*Zea mays* L.) es una especie anual de la familia *Poaceae*, subfamilia *Panicoideae* y tribu *Andropogoneae*, cuya domesticación se ubica entre los años 5.000 - 10.000 AC. La evidencia más antigua del uso del maíz en la alimentación humana se halló en México, cumpliendo además, un papel fundamental en las creencias religiosas de las civilizaciones indígenas. El centro de origen, aunque controversial, podría ser el valle del Alto Magdalena (Colombia) y posiblemente introducido en Europa por Cristóbal Colón. Es el cereal más importante a nivel mundial y su producción supera a la de trigo (*Triticum aestivum*) y arroz (*Oryza sativa*). Es el logro más importante del mejoramiento vegetal en la historia del hombre y aun cuando se originó y evolucionó en regiones tropicales y subtropicales, actualmente se siembra desde los 58°LN en Canadá y Rusia hasta los 38°LS en Argentina y Chile; además crece en las planicies del Mar Caspio y hasta los 3.800 msnm en la cordillera de los Andes (Perú y Bolivia). Se produce en 135 países y se comercializan más de 90 millones de t en el mercado internacional, un 90% de maíz amarillo y un 10% de maíz blanco destinado a la alimentación humana. Es el único cereal que puede ser utilizado como alimento en distintas etapas del desarrollo de la planta y se conocen más de 1.000 productos derivados como tortillas, arepas, harinas, cereales, espesantes, pastas, jarabes, endulzantes, whisky y otros; además, es un elemento básico de la industria textil, aceitera, del papel, cosmética, etc. El maíz sembrado en áreas con climas diversos, en suelos muy diferentes, de ciclo corto, fácil almacenamiento y conservación por largo tiempo, constituye un bien estratégico mundial y el 70% de la población de escasos recursos que vive en zonas rurales depende del maíz y del trigo (Paliwal, 2001; Shiferaw et al., 2011).

La producción mundial de maíz estimada para el ciclo 2017/18 alcanzaría 1031,86 Mt (USDA, 2017), sin embargo en el año 2020, para satisfacer los requerimientos alimenticios de los países en desarrollo se necesitarían 368 Mt más de maíz y de trigo que la producción actual. EEUU, China, UE, Brasil, México, Argentina e India son los principales productores y existe una demanda internacional sostenida de los productos obtenidos de la transformación del maíz como carne vacuna, porcina, lácteos, pollos, huevos; productos de la molienda

húmeda (biocombustibles) y de la molienda seca (almidón). Argentina es el único país que podría incrementar significativamente su producción (Paliwal, 2001; Passarella y Savin, 2003; MAIZAR, 2008; FENALCE, 2010).

En Argentina, la producción de maíz en el ciclo agrícola 2016/17 fue de 36,4 Mt obtenida en una superficie de 5,83 Mha con un rendimiento promedio de 7.333 kg/ha. Las principales provincias productoras son Córdoba, Buenos Aires, Santa Fe, La Pampa y Entre Ríos (**Tabla 1**) con rendimientos variables (MAGyP, 2017).

Tabla 1. Superficie sembrada, rendimiento promedio y producción de maíz en Argentina. Fuente: MAGyP, 2017

PROVINCIA	SUP. SEMBRADA (Mha)	REND. PROMEDIO (kg/ha)	PRODUCCIÓN (Mt)
Córdoba	1,88	8.480	14,6
Buenos Aires	1,48	7.850	8,8
Santa Fe	0,64	9.000	4,8
La Pampa	0,38	5.700	1,2
Entre Ríos	0,25	7.400	1,6
Otras provincias	1,2	5.570	5,4
Total	5,83	7.333	36,4

En Entre Ríos, en el ciclo agrícola 2016/17 se sembraron 308.000 ha, la mayor superficie de la última década con un rendimiento promedio de 6.439 kg/ha y una producción superior a 1,8 Mt. La evolución del cultivo en el último decenio (**Tabla 2**) marca un crecimiento sostenido con rendimientos variables (BCER, 2017).

Tabla 2. Evolución del cultivo de maíz en Entre Ríos. Fuente: BCER, 2017

CICLO AGRÍCOLA	SUP. SEMBRADA (Mha)	REND. PROMEDIO (kg/ha)	PRODUCCIÓN (Mt)
2007/08	0,19	5.073	0,9
2008/09	0,15	2.358	0,2
2009/10	0,14	8.360	1,0
2010/11	0,19	5.054	0,8
2011/12	0,21	4.676	0,9
2012/13	0,24	6.261	1,3
2013/14	0,26	5.222	1,2
2014/15	0,25	6.699	1,5
2015/16	0,21	6.547	1,2
2016/17	0,30	6.439	1,8

Ambiente: cambio climático

Las enfermedades de las plantas son un componente importante de la producción agrícola porque reducen significativamente el rendimiento alcanzable de los cultivos, determinada por su naturaleza, etiología, fisiología y ecología. Estimaciones recientes indican que la reducción del rendimiento alcanzaría un promedio del 12-13% de la cosecha alcanzable en los ocho cultivos de mayor importancia (arroz, trigo, papa, maíz, soja, algodón, cebada y café) para la alimentación y la industria, los que conjuntamente ocupan más de la mitad de la superficie cultivada mundial (Oerke et al., 1999; Oerke, 2006; Donatelli et al., 2017). Algunas enfermedades emergentes han causado ataques devastadores asociadas con determinados cambios ambientales y tecnológicos en la producción de cultivos durante la última década, incluso en países con la mejor tecnología agrícola. Son la consecuencia de procesos interactivos complejos entre un agente primario y una planta susceptible en el marco de un ambiente adecuado, denominados triángulo etiológico. Éste, incluye componentes bióticos como la microbiota no patogénica, microorganismos habitantes del suelo y de las superficies vegetales o vectores que contribuyen en la dispersión e infección de la planta. Sin embargo, generalmente son los de naturaleza abiótica como exceso o insuficiencia de agua, humedad relativa, nutrientes, temperaturas desfavorables, concentración insuficiente de O₂, exceso de CO₂, etc., los factores ambientales de mayor impacto. Variaciones extremas en los factores climáticos han determinado epidemias devastadoras; las relaciones entre factores climáticos y los ciclos de los patógenos, o entre aquéllos y el desarrollo de las enfermedades se utilizan habitualmente para la predicción de epidemias y su control. Los impactos potenciales del cambio climático sobre la sanidad de los cultivos y sus rendimientos pueden ser complejos, negativos, positivos o neutros, según la naturaleza específica de los patosistemas. Esta complejidad, unida a la inherente a la interacción planta y patógeno, dificulta notablemente la predicción del impacto, debido a modificaciones en las variables climáticas, como también para delinear la estrategia adecuada para su manejo. Los avances en la investigación epidemiológica permitirán el desarrollo de modelos cuantitativos que permitan explorar simultáneamente escenarios múltiples e interacciones complejas entre variables climáticas y parámetros epidémicos. Dichas investigaciones deberían llevarse a cabo independientemente de las convicciones que pudieran existir sobre las certidumbres e incertidumbres del cambio climático, porque mejorarían la comprensión acerca del desarrollo de una enfermedad en las condiciones climáticas actuales (Jiménez Díaz, 2008).

La actividad humana altera la concentración de gases con efecto invernadero en la

atmósfera, causando el cambio climático y, en un futuro cercano será el responsable de las modificaciones del escenario fitosanitario. El impacto ambiental puede disminuir, aumentar o no afectar las enfermedades, influir sobre las plantas y organismos, al igual que otros componentes del agroecosistema (Ghini et al., 2008).

En algunos patosistemas se estudió el efecto del cambio climático sobre el desarrollo y tasa de sobrevivencia del patógeno y sobre la susceptibilidad del hospedante. Estos cambios pueden diferir con el patosistema y la región geográfica, modificar las condiciones óptimas para la infección, la especificidad del hospedante y los mecanismos de infección. Son relevantes los cambios de temperatura, concentraciones de CO₂ y ozono, precipitaciones y condiciones de sequía sobre la biología de los patógenos, la habilidad de infectar plantas y de sobrevivir en ambientes naturales y agrícolas. Además, pueden resultar afectadas las comunidades microbianas del suelo y de la canopia. Severas alteraciones pueden modificar la magnitud y distribución geográfica de una enfermedad en particular, su importancia económica en un área definida y es esperable la aparición de un nuevo grupo de enfermedades emergentes o re-emergentes en los diferentes cultivos. Estos cambios podrían modificar también las técnicas que usan los productores y la eficiencia del manejo de las enfermedades (Elad y Pertot, 2014).

Existen conocimientos e hipótesis sobre cambios en la importancia de las enfermedades del maíz debido al cambio climático global, especialmente en relación con los hongos; la mayoría de los estudios se asocian a especies de los hongos *Aspergillus* y *Fusarium* que causan podredumbres de espiga con alto riesgo de micotoxinas en granos que afectan la salud humana y animal (Juroszek y von Tiedemann, 2013). Por otro lado, en Argentina, las condiciones climáticas son marcadamente diferentes cuando la siembra del maíz se realiza en fechas distintas a las tradicionales de fines de agosto o septiembre. Los maíces de siembra tardía de diciembre o enero están expuestos a una mayor presión de adversidades por alta temperatura y humedad, entre ellas el tizón foliar (TF) ocasionado por *Exserohilum turcicum* (Bert y Satorre, 2012).

Hombre: nuevos escenarios productivos

Un aspecto relevante de los últimos años en el cultivo de maíz en las provincias de la región pampeana de Argentina, es la distinción de dos sistemas productivos diferentes. Por un lado, el sistema tradicional denominado “maíz temprano” o de “1era” donde la siembra se realiza desde fines de invierno a comienzos de primavera y, por otro, el sistema conocido como “maíz tardío”, de “2da” o “fecha tardía” donde la siembra se realiza desde mediados

de noviembre a comienzos de enero. Además de estas alternativas, es posible ubicar al maíz como cultivo de 2da después de un cultivo de cosecha fina como trigo, colza o cebada o bien luego de un cultivo de cosecha gruesa, denominado “maíz de 3era” (Bert y Satorre, 2012). Para toda la región maicera, incluida la provincia de Entre Ríos, la siembra tardía es una excelente alternativa cuando existen pronósticos de escasez de precipitaciones en el mes de diciembre, etapa de floración de los maíces tempranos. Las proporciones entre el maíz de 1era y tardíos es variable, por ejemplo, en el ciclo agrícola 2016/17 (BCER, 2017) el maíz de 1era ocupó el 84,7% del área sembrada y el maíz tardío el 15,3% (**Tabla 3**).

Tabla 3. Importancia del maíz de 1era y maíz tardío en Entre Ríos. Ciclo agrícola 2016/17. Fuente: BCER, 2017

CICLO AGRÍCOLA	SUP. SEMBRADA (Mha)	REND. PROMEDIO (kg/ha)	PRODUCCIÓN (Mt)
2016/17			
Maíz de 1era	2,6	6.607	1,6
Maíz tardío	0,5	5.526	0,2

La siembra tardía del maíz fue posible a partir del desarrollo de híbridos Bt (*Bacillus thuringiensis*) resistentes a insectos (ArgenBio, 2007) que reducen el impacto de *Diatraea sacharalis* (barrenador del tallo), *Spodoptera frugiperda* (oruga cogollera) y *Heliothis zea* (oruga de la espiga) y, además permiten disminuir el número de aplicaciones con insecticidas (Otegui et al., 2002; Papucci et al., 2016).

Gran parte de los sistemas de producción de la región pampeana registraron en la década del 90, un cambio hacia una agricultura continua donde se utilizaron nuevas áreas ocupadas con montes o bosques, debido a posibilidades ecológicas y aspectos económicos favorables. Ocurrió un fuerte aumento en la producción de granos, carne, leche y otros productos, que en general no fue acompañado con rotaciones y fertilización de los cultivos, factor fundamental para mantener la alta fertilidad y capacidad productiva original de los suelos. Esto produjo un deterioro de los parámetros físicos, químicos y biológicos, consumiéndose anualmente los nutrientes almacenados (Fontanetto y Keller, 2006). La disponibilidad de nutrientes incide sobre la predisposición a la infección del hospedante afectando el vigor de las plantas, sus características anatómicas, histológicas, reacciones fisiológicas y eficiencia de uso del agua. En relación con el patógeno, los nutrientes afectan (i) la velocidad de penetración, colonización y reproducción, (ii) la velocidad de crecimiento del patógeno y la de otros microorganismos y (iii) la viabilidad de algunos de ellos por efecto tóxico directo de algunos fertilizantes. Diversos estudios muestran los efectos de la fertilización y el uso de fungicidas en el manejo de enfermedades (Velasco, 1999; Díaz

Zorita, 2004). En Argentina, la fertilización con nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) indujo resistencia sistémica a TF (*E. turcicum*) y a roya común (RC) ocasionada por *Puccinia sorghi* que se expresó como una disminución del número y tamaño de los tizones como de pústulas esporulantes de roya (Reuveni et al., 1993).

Otra tecnología actual es la siembra de híbridos con resistencia a herbicidas como las imidazolinonas, glufosinato de amonio y glifosato, característica que asociada a una deficiente cosecha promueve la existencia de gran cantidad de maíces voluntarios procedentes de la germinación natural de poscosecha. Éstos, constituyen verdaderos “puentes verdes” que aseguran la persistencia de los patógenos como también la creciente población de malezas poáceas con resistencia o tolerancia a glifosato que posiblemente sean reservorios de patógenos de cultivos extensivos (Formento, 2010). Otros aspectos, dentro de los nuevos escenarios productivos, que pueden generar ambientes macro y microclimáticos favorables para el desarrollo de diversas enfermedades son la reducción de la distancia entre los surcos y el aumento de la densidad de plantas, sin embargo estas técnicas siempre se estudian en relación con la productividad del cultivo de maíz y no a sus efectos adversos (Cirilo et al., 2010).

Patógenos: los hongos *Kabatiella zae* y *Exserohilum turcicum*

Las pérdidas potenciales en maíz por factores bióticos podrían alcanzar el 31% (Oerke, 2006) entre los que se citan 75 enfermedades fúngicas, 11 bacteriosis, 46 virosis, tres causadas por mollicutes y una planta parásita (Malaguti, 1993; Oliveira Sábato et al., 2013; Munkvold y White, 2016). Las hojas pueden ser afectadas por royas, tizones, manchas, antracnosis y mildiu, enfermedades que se asocian a determinados estados fenológicos y condiciones ambientales, cuya evolución dependerá de la interacción entre la agresividad del patógeno, el híbrido susceptible, ambiente y presencia de vectores (González, 2007; Botta y González, 2010).

La mancha ocular (MO), enfermedad fúngica causada por *Kabatiella zae*, y el TF, por el hongo *Exserohilum turcicum*, se determinaron en el 3% y 100% de los lotes de producción en las principales zonas productoras de maíz de Argentina, respectivamente (Díaz et al., 2012). Los hongos causales de las manchas foliares del maíz pueden ser necrótrofos o hemibiótrofos, en general sobreviven en el rastrojo que son de lenta descomposición, aporta materia orgánica (Mo) al suelo, modifica el ambiente para los patógenos y las plantas, y puede ser fuente de inóculo primario (Teyssandier, 2005).

La primera descripción de MO a nivel mundial se realizó en Japón en 1959 (Arny et

al., 1971), posteriormente se citó en EEUU (1968/69) y, en 1971 en Canadá, Alemania y Nueva Zelanda (Dingley, 1973). Se diseminó rápidamente en el CN de EE.UU, Francia, Argentina, Hungría, Yugoslavia, Polonia y Sudáfrica (Reifschneider y Arny, 1983; Chiang et al., 1990; Munkvold y Martinson, 2001; CABI, 2006). En China se registró en 1980 (Ford et al., 1981) y en Gran Bretaña se introdujo posiblemente por semillas en 1998 (Jones y Baker, 2007). Se consideró la enfermedad más importante del maíz en Europa Central (Alemania, Países Bajos, República Checa, Austria, Francia y Polonia) en los años 2012 y 2013 (Ramos Romero et al., 2015).

En América, fue reportada en Brasil (Mato Grosso do Sul) en 1982/83 (Esteves, 1984) y 20 años después, fue identificada en Santa Catarina y Paraná en el ciclo 2004/05, (dos Santos et al., 2007; Camochena et al., 2008). La MO es considerada una enfermedad secundaria que adquiere importancia en híbridos susceptibles (Camochena et al., 2010) cuyos síntomas son similares a los ocasionados por *Phyllosticta maydis*, *Curvularia* spp., y *Ascochyta* spp. (Pereira et al., 2005). Actualmente, posee una amplia distribución mundial (**Figura 1**) según CABI (2012).

En Argentina, la MO se identificó en la década del 70 en Entre Ríos, Córdoba, Santa Fe, Buenos Aires, Chaco, Formosa y Corrientes en híbridos comerciales (Linares y Martínez, 1971; Frezzi, 1972). Fue la enfermedad más frecuente en Buenos Aires, después de la RC (*P. sorghi*) cuando se evaluaron 1.273 plantas correspondientes a 37 líneas endocriadas de maíz (Corcuera y Sandoval, 1998), se citó en el NOA y en la región pampeana (Laguna et al., 2010). En Paraná (Entre Ríos) se la determinó en 2005 (Formento y Vicentin, 2005a) en siembras tardías para silos y en 2006, sobre plantas voluntarias de maíz en lotes con rastrojo (Formento et al., 2014a).

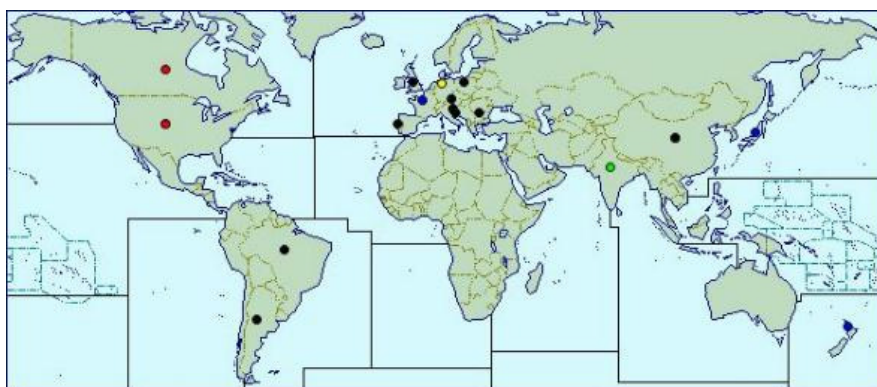


Figura 1. Distribución mundial de *Kabatiella zeae*.

Referencias: Círculo negro (presente); azul (ampliamente distribuida); rojo (localizada); amarillo (ocasional) y verde (regional). **Fuente:** CABI, 2012.

Kabatiella zae Narita & Y. Hirats [Syn. *Aureobasidium zae* (Narita & Hiratsuka) J.M. Dingley] pertenece al Dominio Eukaryota, Reino Fungi, Filum Ascomycota, Subfilum Pezizomycotina, Clase Dothideomycetes, Subclase Dothideomycetidae, Orden Dothideales y Familia Dothioraceae (CABI, 2012; Index Fungorum, 2017). También fue ubicado en la Familia Moniliaceae por poseer conidióforos y conidios hialinos o ligeramente coloreados formando esporodoquios o coremios. *Kabatiella* posee conidios continuos (unicelulares) solitarios o agrupados en “manojos” sobre conidióforos cortos no ramificados (Fernández Valiela, 1979).

La ubicación taxonómica de *Kabatiella* fue controversial durante muchos años y sus legitimadores Narita e Hiratsuka hallaron características morfológicas muy similares a *Kabatiella caulivora* (Kirchn.) Karakulin que produce la antracnosis del trébol rojo (*Trifolium pratense*). *K. zae* se ubicó en la Familia Melanconiaceae, separándola de otros géneros según la formación de los conidios. Los conidios de *Kabatiella* emergen simultáneamente en gran número de las células conidiógenas terminales y nunca se forman en cadena según Vassiljevsky y Karakulin (1950). Como sinónimos se mencionaron los géneros *Pachybasidiella* Bubak & Sydow, *Polyspora* Lafferty, *Protocoronospora* Atkinson & Edgerton y *Exobasidiopsis* Karakulin. Por otro lado, estos hongos eran similares a *Aureobasidium pullulans* (De Bary) Arnaud (Syn. *Pullularia pullulans*) [De Bary (Berth)] porque en medios de cultivo siempre formaban colonias “levaduriformes” (Cooke, 1962).

Von Arx (1970) clasificó a las especies encontradas en material vivo como *Microstroma* Niessl., y a las halladas sobre material senescente o muerto, como *Aureobasidium* Viala y Boyer; *Microstroma* se puede diferenciar de *Kabatiella* porque produce hipertrofia y estimula la formación de “escoba de brujas”, además los conidióforos se proyectan por encima de los tejidos vegetales en forma de sinnematas. Por el contrario, *Kabatiella* causa necrosis de los tejidos invadidos y forma acérvulas típicas. Según Dingley (1973) debería ser llamado *Aureobasidium zae* (Narita & Hiratsuka) nov. comb.; *Aureobasidium* y *Hormonema* poseen colonias rosadas de rápido crecimiento que se tornan viscosas por la producción de células levaduriformes y se vuelven oscuras por la formación de clamidosporas. La diferenciación de los dos géneros se realizó en base a la conidiogénesis, sincrónica en *Aureobasidium* y percurrente en *Hormonema*. Sin embargo, con este criterio se reclasificó a *Kabatiella* que produce esporodoquios en sustrato natural (Hoog y Yurlova, 1994).

Por otro lado, *Exserohilum turcicum* K.J. Leonard & Suggs [Syn. *Bipolaris turcica* (Pass.) Shoemaker, *Drechslera turcica* (Pass.) Subram. & B.L. Jain, *Helminthosporium inconspicuum* Cooke & Ellis (1878), *Helminthosporium turcicum* Pass. (1876) pertenece al

Reino Fungi, División Ascomycota, Subdivisión Pezizomycotina, Clase Dothideomycetes, Subclase Pleosporomycetidae, Orden Pleosporales y Familia Pleosporaceae. Su teleomorfo o estado sexual *Setosphaeria turcica* (Luttr.) K.J. Leonard & Suggs (1974) [syn. *Keissleriella turcica* (Luttr.) Arx, Gen. (1970), *Luttrellia turcica* (Pass.) Khokhr., *Trichometasphaeria turcica* Luttr (1958)] (NCBI, 2015) es un ascomicete raramente observado en la naturaleza (Bunkoed et al., 2014). Es un hongo hemibiotrófico (Ohm et al., 2012; Hurni et al., 2015; Sucher et al., 2016) que forma parte de un grupo de patógenos de monocotiledóneas, genéticamente relacionado con *Cochliobolus heterostrophus* (anamorfo *Bipolaris maydis*) patógeno de maíz, *Pyrenophora tritici-repentis* y *Mycosphaerella graminicola*, ambos patógenos de trigo.

Recientemente, se secuenció el aislamiento Et28A (raza 23N) que proporciona una oportunidad para conocer mejor la virulencia y los requerimientos del hongo a su hospedante maíz (Xue et al., 2013). Todos los *Exserohilum* hallados fueron ubicados sexualmente en el género *Setosphaeria*, que posee un ascoma globoso a elíptico, generalmente setoso sobre la mitad superior con un cuello corto. Los ascos son ampliamente clavados y las ascosporas largas, multiseptadas transversalmente rodeadas por una delgada vaina mucilaginosa; primero hialinas, luego amarillas pálidas a marrones, lisas y raramente verrugosas. Esta forma es poco observada en la naturaleza, pero puede obtenerse en medios de cultivo enfrentando aislamientos compatibles (Ramathani, 2010).

E. turcicum fue descrito por Passerini en Italia en 1876, posteriormente en el cinturón maicero de EE.UU en la década de 1940 ocasionando grandes pérdidas cuando las variedades de polinización abierta fueron reemplazadas por híbridos susceptibles, en 1978 en New Jersey y en 1989 en Connecticut (Jordan et al., 1983). En India se registró en 1907 y actualmente es la enfermedad más importante de maíz (Dong et al., 2008; Singh et al., 2012; Reddy et al., 2014). En España, esta enfermedad se incrementó desde 2002 (González y González-Varela, 2007), en Letonia entre 2008 y 2012. El TF produjo 50% de pérdidas en maíz sembrado para forraje y obtención de biogás (Gulbis y Bankina, 2016; Treikale et al., 2014). También, se determinaron diversas razas del agente causal en Uganda y Tanzania (Ramathani et al., 2011; Nwanosike et al., 2015).

En América del Sur se encuentra distribuido en Argentina, Colombia, Perú, Uruguay y Brasil (Fernández Valiela, 1979; Sarasola y Sarasola, 1981; Pereira et al., 2005; De Rossi, 2012).

En Argentina, según Bruni (1975), existe desde hace mucho tiempo citado por Merck (1913), Lindquist (1928), Marchionatto (1929), Carrera y Marengo (1932), Grodsinsky

(1937), Godoy (1938) y Campi (1939). En el N de Buenos Aires se registraron ataques intensos en los ciclos 1942/43, 1950/51, 1955/56, 1957/58, 1960/61 y 1961/62 y en años con clima favorable fue detectado en la zona central maicera y en otras provincias como Entre Ríos, Corrientes, Chaco, Formosa, Tucumán y Salta.

Actualmente, el TF se encuentra ampliamente difundido (**Figura 2**) en todo el mundo (CABI, 2008).

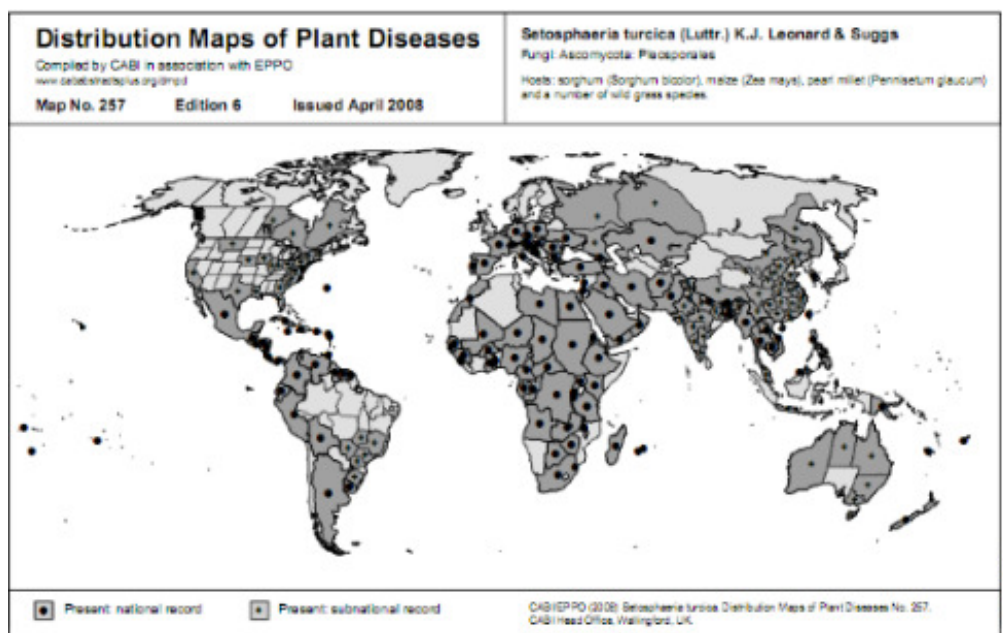


Figura 2. Distribución mundial de *Exserohilum turcicum*. Fuente: CABI, 2008.

PLANTEO Y RELEVANCIA DEL PROBLEMA

Argentina se propuso alcanzar diversas metas productivas para el año 2020 (**Tabla 4**), a partir de una línea base de 2010, para lo cual será necesario minimizar las limitantes bióticas y abióticas del cultivo de maíz (MAIZAR, 2011).

Tabla 4. Metas productivas 2020 de la cadena de maíz en Argentina. Fuente: MAIZAR, 2011

MAÍZ	LÍNEA BASE 2010	METAS 2020
Superficie sembrada	3,7 Mha	5,7 Mha
Superficie cosechada	2,9 Mha	4,7 Mha
Producción	22,7 Mt	45,9 Mt
Rendimiento medio	7.810 kg/ha	9.700 kg/ha
Exportaciones	3.048 M U\$S	4.680 M U\$S

La emergencia de nuevas enfermedades o de otras ya conocidas es algo relativamente común por la existencia de nuevos vectores, selección y recombinación de

patógenos, introducción de parásitos en una nueva región sin sus hiperparásitos naturales y por los cambios que modifican la composición e interacción de especies que pueden incrementar la ocurrencia de eventos no esperados (FAO, 2008). Es un problema mundial creciente que acompaña al cambio ambiental global y es de mucho interés poder identificar los factores que controlan la aparición y diseminación de estas enfermedades. Se postula que las enfermedades emergentes son el resultado de la evolución de las especies y específicamente de la evolución ecológica, que es un fenómeno común en los patógenos fúngicos (Giraud et al., 2010).

En las dos últimas décadas se observó un incremento del número de enfermedades en poblaciones naturales o antrópicas. Un número sin precedentes de enfermedades fúngicas y pseudo-fúngicas ha causado extinciones en especies silvestres de animales y plantas que ponen en peligro la seguridad alimentaria. La actividad humana ha intensificado la diseminación de enfermedades fúngicas al modificar los entornos naturales creando de esta manera nuevas oportunidades para la evolución. Las infecciones fúngicas emergentes causarán un cambio cada vez mayor de la biodiversidad, con implicancias más amplias para la salud humana y el ecosistema (Fisher et al., 2012; Ibatsam et al., 2014).

En Argentina, el desarrollo y adopción de nuevas tecnologías productivas agrícolas como la incorporación masiva de sistemas de labranza que conservan el suelo, el agua y reducen la erosión hídrica como la siembra directa (SD) y la labranza mínima (LM) es uno de los factores fundamentales en la aparición de nuevas enfermedades que afectan a los cultivos extensivos. Estos sistemas permiten la presencia de rastrojo en superficie, excelente sustrato de sobrevivencia de patógenos necrotróficos y de plantas voluntarias. En maíz como en otros cultivos extensivos, se incrementó el uso de fertilizantes y fitosanitarios como herbicidas, insecticidas y fungicidas; se efectuaron cambios en las fechas de siembra y los híbridos seleccionados en climas templados o en áreas tropicales y subtropicales se siembran en forma indistinta. Por otro lado, se redujo la distancia entre los surcos lo que modifica el microclima del cultivo y se liberan al mercado en forma continua, maíces con eventos transgénicos como aquellos con resistencia a glifosato e insectos (Teyssandier, 2005).

Por otro lado, la presencia de maíz voluntario, aquel que emerge después de la cosecha, se considera maleza cuando crece en la siguiente estación de crecimiento independientemente del cultivo implantado. Su presencia es el resultado de diversos factores, ya que cada año muchas semillas de maíz caen al suelo por el vuelco de la planta o desprendimiento de la espiga, ya sea inducido por el clima, insectos o una ineficiente

calidad de la cosecha. Los maíces RR (resistentes a glifosato) y a glufosinato de amonio son difíciles de controlar y permanecen en el campo, proveyendo en forma permanente un sustrato (“puente verde”) para la multiplicación y liberación de inóculo hasta la nueva estación de crecimiento del cultivo (Owen, 2005; Jeschke y Doerge, 2008; Shauck, 2011; Marquardt et al., 2013).

Las siembras tardías favorecen la aparición del TF aunque ocasionalmente también se registra en siembras tempranas. Durante cuatro ciclos agrícolas (2008/09 a 2011/12) las epifitias severas fueron esporádicas en siembras tardías (**Figura 3**) por una fuerte dependencia del ambiente y de los híbridos (Pioneer, 2013). Cuando la siembra se retrasa, las mayores temperaturas que experimenta el cultivo durante las etapas iniciales del crecimiento aceleran su desarrollo fenológico, acortan el período entre la siembra y la floración y se destaca la mayor incidencia de enfermedades y artrópodos (Cirilo, 2004).

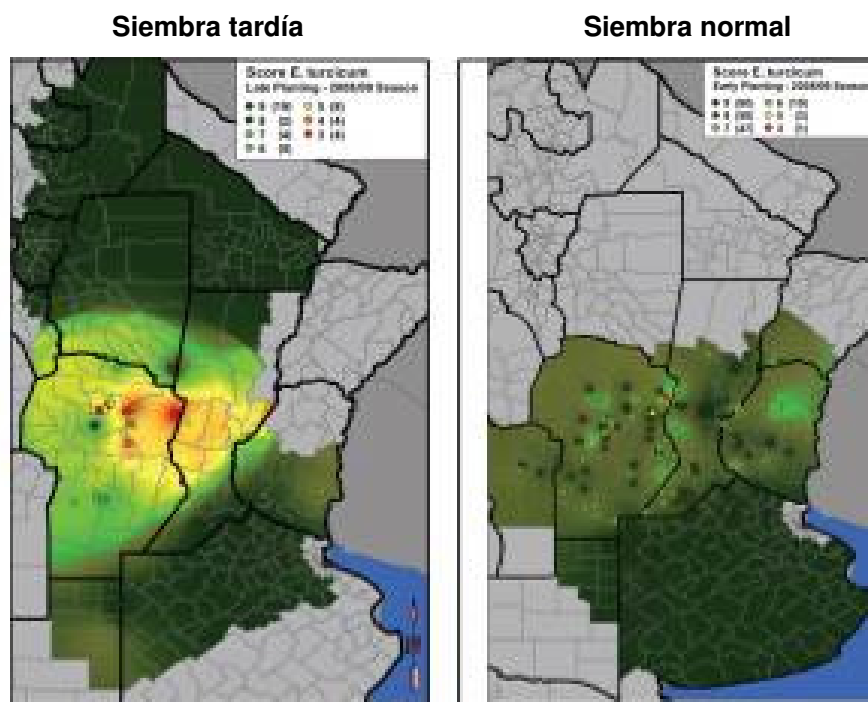


Figura 3. Tizón foliar del maíz (*E. turcicum*) en Argentina desde 2008/09 a 2011/12. **Referencias:** verde oscuro: sin enfermedad; verde claro: presencia; amarillo: severidad moderada; naranja-rojo: severidad alta. **Fuente:** Pioneer, 2013

Para la mayor parte de la región agrícola argentina, el atraso en la fecha de siembra de maíz es una técnica de alto impacto por una mayor estabilidad de los rendimientos y menor costo de producción. El balance hídrico desde prefloración a fin de llenado de granos

se estableció como el factor más importante que afecta el rendimiento (Calviño y Monzón, 2014), sin mencionarse el incremento de enfermedades. Los maíces tardíos son un paradigma en la búsqueda de estabilidad productiva y los de segunda, después de cultivos invernales, significan un avance en la intensificación productiva porque mantienen la superficie de cultivo en ambientes desfavorables, disminuyen costos y generan altos volúmenes de rastrojo (Ferrari y Couretot, 2014).

Entre los años 2010 y 2015, en toda la región maicera argentina se registraron cambios en el panorama sanitario, con la ocurrencia de enfermedades emergentes y re-emergentes. El relevamiento de enfermedades del maíz en Entre Ríos, Santa Fe, Córdoba, La Pampa y Buenos Aires en el ciclo 2008/09 demostró la prevalencia de la RC, tizones foliares, podredumbres de espiga, de tallo y raíz; además se destaca la creciente importancia de otras enfermedades foliares (Couretot, 2009; Sillon, 2009; Formento, 2010; Laguna et al., 2010; Formento et al., 2012a y 2012b; Díaz et al., 2012; Couretot et al., 2013; Formento et al., 2013; Formento, 2015a y 2015b; Parisi et al., 2015a).

En Entre Ríos, la siembra tardía pareciera ser uno de los factores que en la última década, favoreció el desarrollo tanto de la MO y del TF. Desde el ciclo 1996/97, los ataques severos de TF en maíces tempranos fueron ocasionales, sin embargo, es un problema importante en siembras tardías, en SD y con riego por aspersión como ocurrió en Victoria (Entre Ríos) en el ciclo agrícola 2001/02 (Formento, datos no publicados).

El efecto detrimental de las enfermedades del maíz sobre el rendimiento se ha determinado para ciertos híbridos y enfermedades más relevantes como RC y TF. Como las hojas son los órganos más afectados, es importante considerar el aporte de las mismas a la formación y llenado de granos. Las enfermedades se evalúan principalmente en la hoja de la espiga (HE), la hoja inmediatamente superior (HE+1) e inferior (HE-1). Éstas constituyen entre un 33 y 40% del área foliar total de la planta y la destrucción del 25% del tercio superior próximo a floración puede reducir la producción de granos en un 32% (Casa et al., 2004).

En general, las pérdidas producidas por MO oscilaron entre 9 y 44% (Reinfschneider y Arny, 1983) y las ocasionadas por TF, entre 28 y 97%, en siembras tardías y en SD (Perkins y Pedersen, 1987; Formento, 2001; Wise, 2011; Kumar et al., 2012). Por cada 1% de aumento de la severidad de TF se determinaron pérdidas de 40 kg/ha (Couretot et al., 2012).

Las enfermedades emergentes o re-emergentes de los cultivos en los nuevos escenarios productivos deberían ser abordadas en forma urgente por las pérdidas globales

que pueden ocasionar en la economía y seguridad alimentaria de un determinado país (Lipps, 1998). En Argentina, enfermedades foliares como MO, TF y mancha gris (MG) causada por especies de *Cercospora*, son citadas con una frecuencia mayor y con elevada intensidad en los nuevos sistemas de producción como SD y fechas tardías de siembra (Formento et al., 2012a).

Existen más de 1,5 millones de especies fúngicas, la mayoría patógenas de plantas, de las cuales sólo se ha caracterizado un 5%. Independientemente de la importancia ecológica y económica de un fitopatógeno, muchos de ellos no se han estudiado en forma completa en sus aspectos biológicos y en particular, en la relación con su hospedante y su distribución geográfica (Dugan et al., 2009).

Muchas características como la sobrevivencia, fase fundamental en el ciclo de vida de un patógeno y en el ciclo de la enfermedad que ocasiona, en general, se da por entendida, según su condición de organismo necrótrofo o biótrofo ya sea en rastrojo o plantas voluntarias; sin embargo, son escasos los estudios realizados y publicados en la bibliografía mundial.

HIPÓTESIS

H1. Las enfermedades foliares, mancha ocular (*Kabatiella zae*) y tizón foliar (*Exserohilum turcicum*) aumentan su prevalencia en siembras tardías de maíz.

H2. Los hongos *Kabatiella zae* y *Exserohilum turcicum* poseen una marcada variabilidad morfológica y genética.

H3. Los diferentes genotipos de maíz muestran un comportamiento diferencial frente a la mancha ocular (*Kabatiella zae*) y al tizón foliar (*Exserohilum turcicum*).

H4. Las semillas, restos culturales, plantas voluntarias de maíz y otras poáceas son reservorio de *Kabatiella zae* y *Exserohilum turcicum*.

OBJETIVOS

Objetivo general

Conocer aspectos morfológicos, genéticos y epidemiológicos de los hongos *Kabatiella zeae* y *Exserohilum turcicum*, causales de la mancha ocular (MO) y tizón foliar (TF) del maíz respectivamente, como un aporte al conocimiento de sus ciclos biológicos para el manejo integrado de las enfermedades.

Objetivos específicos

Estudios de la fase parasítica de la interacción planta – patógeno – ambiente.

1. Determinar la prevalencia e importancia de mancha ocular (*K. zeae*) y tizón foliar (*E. turcicum*) en la región maicera núcleo y extra-pampeana (provincia de Entre Ríos).
2. Describir los síntomas y signos ocasionados por los hongos *K. zeae* y *E. turcicum* y reconocer ambas enfermedades en condiciones de infección natural (estudios a campo).
3. Evaluar el comportamiento de cultivares comerciales y/o líneas avanzadas de maíz a mancha ocular (*K. zeae*) y tizón foliar (*E. turcicum*).
4. Estudiar los hongos *K. zeae* y *E. turcicum* en condiciones de laboratorio e infecciones artificiales.
 - a. Determinar los medios nutritivos más eficientes para el aislamiento, incremento y conservación.
 - b. Describir aspectos macro, micromorfológicos y moleculares.
 - c. Efectuar pruebas de patogenicidad.

Estudios de la fase saprofítica. Estrategias de sobrevivencia de los hongos causales.

5. Determinar la importancia de las semillas como portadoras de los hongos *K. zeae* y *E. turcicum*.
6. Estudiar otras fuentes potenciales de inóculo o reservorios de los hongos *K. zeae* y *E. turcicum*.

SECCIÓN II

ESTUDIOS DE LA FASE PARASÍTICA DE LA INTERACCIÓN PLANTA – PATÓGENO – AMBIENTE. *ESTUDIOS EN CONDICIONES DE CAMPO (INFECCIONES NATURALES)*

CAPÍTULO 1

OBJETIVO 1

**DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA E
IMPORTANCIA DE LA MANCHA OCULAR
(*Kabatiella zae*) Y DEL TIZÓN FOLIAR
(*Exserohilum turcicum*) EN LA REGIÓN
MAICERA NÚCLEO Y EN LA PROVINCIA DE
ENTRE RÍOS**

SECCIÓN II. ESTUDIOS DE LA FASE PARASÍTICA DE LA INTERACCIÓN PLANTA – PATÓGENO – AMBIENTE. ESTUDIOS EN CONDICIONES DE CAMPO (INFECCIONES NATURALES)

CAPÍTULO 1. **OBJETIVO 1. DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA E IMPORTANCIA DE LA MANCHA OCULAR (*Kabatiella zae*) Y DEL TIZÓN FOLIAR (*Exserohilum turcicum*) EN LA REGIÓN MAICERA NÚCLEO Y EN LA PROVINCIA DE ENTRE RÍOS**

Introducción

Una de las formas más precisas de determinar la prevalencia e importancia de una enfermedad son las giras de prospección también denominadas epifitológicas, relevamientos o monitoreos de cultivos, que pueden tener una extensión local, provincial, regional, nacional o internacional. Los resultados se pueden utilizar para priorizar actividades de investigación, re-direccionar infraestructura, recursos financieros y humanos. Se realizan con un objetivo general o específico, requieren una cierta periodicidad y poseen un alto costo. Sin embargo, son relevantes en el caso de enfermedades emergentes graves donde se ve amenazada la seguridad alimentaria de una región, país o continente.

En la Argentina, durante más de 50 años se realizaron giras epifitológicas para evaluar la importancia de las royas del trigo (*Puccinia* spp.) en Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe, La Pampa y San Luis en las campañas 1982/83, 1983/84 y 1984/85 (IICA, 1986). También se emplearon para determinar las pérdidas del rendimiento de trigo debido a las royas en Santa Fe y Córdoba (Galich, 1987); además, permitieron definir la relevancia de la septoriosis de la hoja del trigo (*Septoria tritici*) en un período determinado en lotes comerciales de trigo pan en el CS de Buenos Aires (Kraan y Nisi, 1995).

La importancia del síndrome del tallo verde de la soja (STV) fue determinada según el porcentaje de lotes afectados en Entre Ríos y Santa Fe entre los años 2004 y 2008 (Formento et al., 2005b). De igual forma, la prevalencia del síndrome de la muerte súbita (SMS) de soja causada por diversas especies de *Fusarium* se estudió en giras georeferenciadas en el CN y CO de Entre Ríos (O'Donnell et al., 2010; Formento et al., 2015c).

La evolución de la roya marrón de la caña de azúcar (*Puccinia melanocephala*) en diferentes regiones cañeras de Tucumán se determinó con relevamientos en 2007, 2008 y 2009 y se identificaron las áreas de mayor riesgo de epidemias (Rago et al., 2010). El *Sugarcane yellow leaf virus* se evaluó en caña de azúcar en Tucumán, Salta y Jujuy

determinándose la importancia del virus y el comportamiento de las variedades (Asinari et al., 2015).

La prevalencia del marchitamiento vascular del tabaco (*Fusarium* spp.) se registró en Salta y Jujuy en los ciclos 2013/14 y 2014/15 para definir el manejo más adecuado de la enfermedad (Berruezo et al., 2015).

Las áreas de riesgo de una enfermedad causada por hongos necrotróficos se identifican en base a la reacción de genotipos susceptibles, severidad alcanzada en epifitias anteriores, probabilidad de ocurrencia de condiciones ambientales conductivas y adopción de de labranzas conservacionistas. Estas características fueron utilizadas para conocer las enfermedades más relevantes del maíz en el NOA (Díaz et al., 2007) o para definir que la mancha gris (MG) por *Cercospora zea-maydis* fue la enfermedad más importante en Buenos Aires, Santa Fe y Córdoba en el ciclo 2013/14 (Maurino et al., 2014). Además, con giras epifitiológicas se determinaron las podredumbres de espiga y sus organismos causales en Santiago del Estero, Córdoba, Santa Fe y Tucumán en 2012/13 y 2013/14 (Camiletti et al., 2015) y la prevalencia de roya polisora (*P. polysora*) en el N. de Buenos Aires y S. de Santa Fe en maíces tardíos (Parisi et al., 2015a y 2015b).

Las redes de híbridos de maíz, denominadas Ensayos Comparativos de Rendimiento (ECR) en el área núcleo y otras localidades se implantan para estudiar la interacción genotipo ambiente y definir la estabilidad agronómica de los híbridos. La ventaja de los ECR reside en conocer la identidad de los híbridos y en general, son de menor costo que las giras de prospección y según el objetivo, se pueden sembrar en fechas óptimas o tardías. Estas últimas, permiten detectar más enfermedades por condiciones climáticas conductivas (temperaturas más altas y mayor número de horas con mojado foliar).

El objetivo del trabajo fue determinar la importancia de la MO (*K. zeae*) y el TF (*E. turcicum*) del maíz en la zona núcleo maicera y en la provincia de Entre Ríos.

Materiales y métodos

Entre los años 2010 y 2015 se realizaron 28 giras de prospección de enfermedades; en 2011/12 se evaluaron ECR en Córdoba, Santa Fe, Buenos Aires y Entre Ríos (**Figura 4**) y en los ciclos posteriores, sólo se analizaron lotes o redes en la provincia de Entre Ríos.

En el ciclo 2011/12 se analizaron 402 híbridos en distintas localidades, fechas de siembra y estados fenológicos; en 2012/13, 192 híbridos; en 2013/14 y 2014/15 se evaluaron sólo siembras de 2da con 117 y 82 híbridos, respectivamente (**Tabla 5**).

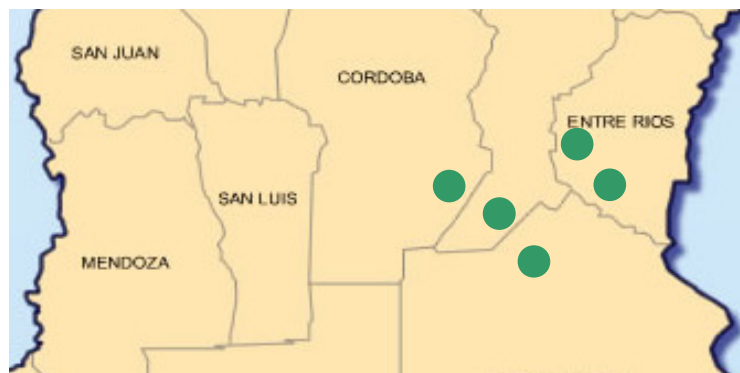


Figura 4. Localidades de evaluación de cultivos de maíz en Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe y Entre Ríos desde el año 2011 a 2015.

Tabla 5. Evaluaciones de maíz en diferentes ciclos agrícolas y provincias de la Argentina

CICLO AGRÍCOLA	LOCALIDAD	PROVINCIA	FECHA SIEMBRA	HÍBRIDOS (N°)
2011/12	Corral de Bustos	Córdoba	1era	65
	Corral de Bustos	Córdoba	1era	26
	Paraná	Entre Ríos	1era	56
	Paraná	Entre Ríos	1era	23
	Paraná	Entre Ríos	1era	23
	Paraná	Entre Ríos	1era	23
	Fontezuela	Buenos Aires	1era	23
	Fontezuela	Buenos Aires	1era	23
	Fontezuela	Buenos Aires	1era	23
	Venado Tuerto	Santa Fe	1era	27
	Venado Tuerto	Santa Fe	1era	27
	Victoria	Entre Ríos	1era	32
Victoria	Entre Ríos	2da	31	
2012/13	Paraná	Entre Ríos	1era	54
	Paraná	Entre Ríos	1era	20
	Paraná	Entre Ríos	1era	20
	Paraná	Entre Ríos	1era	20
	Paraná	Entre Ríos	2da	48
	Paraná	Entre Ríos	2da	4
	La Paz	Entre Ríos	2da	26
2013/14	La Paz	Entre Ríos	2da	30
	La Paz	Entre Ríos	2da	24
	Paraná	Entre Ríos	2da	24
	Victoria	Entre Ríos	2da	24
	Diamante	Entre Ríos	2da	15
2014/15	Paraná	Entre Ríos	2da	26
	Diamante	Entre Ríos	2da	26
	Victoria	Entre Ríos	2da	30

La evaluación de las enfermedades se realizó en estadios vegetativos desde V8 (8 hojas) a V12 (12 hojas) considerando sólo las hojas completamente desplegadas, mientras que en estadios reproductivos sólo se analizaron la hoja de la espiga (HE), la inmediata superior (HE+1) y la inmediata inferior (HE-1). Los estados fenológicos (EF) del maíz se determinaron con la escala de Ritchie et al. (1992).

La variable patométrica utilizada para evaluar la importancia de la MO y del TF fue la prevalencia (P). La misma se determinó por lote o sobre el total de híbridos dentro de cada lote (Campbell y Madden, 1990; Bergamin Filho y Amorin, 1996), analizándose entre 3 a 13 lotes por ciclo agrícola. Como lote se consideró cada una de las diferentes situaciones que incluyeron localidad x fecha de siembra x EF.

a. Prevalencia según lotes (PL)= [(número de lotes con presencia de la enfermedad / número de lotes evaluados) x 100].

b. Prevalencia según híbridos (PH)= [(número de híbridos enfermos en el lote / número total de híbridos en el lote) x 100].

Para la comparación de las medias de la P de MO y TF en los distintos lotes e híbridos se utilizó la prueba *t* de Student al 0,05%.

Resultados

Mancha ocular

En las giras de prospección la enfermedad se determinó en Córdoba, Buenos Aires y Entre Ríos, no así en la provincia de Santa Fe. En los tres primeros ciclos agrícolas la PL osciló entre 20 y 40% y en el ciclo 2014/15 en Entre Ríos, alcanzó el 100% (**Gráfico 1**).

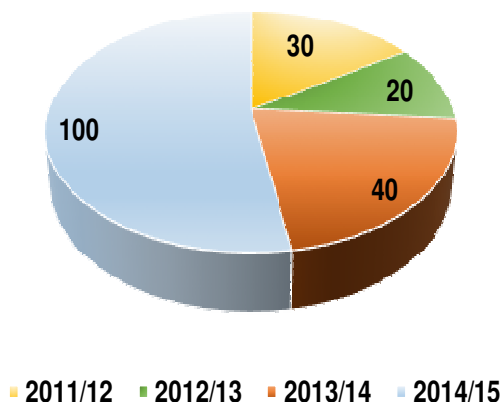


Gráfico 1. Prevalencia de mancha ocular (*K. zeae*) en los ciclos agrícolas 2011/12, 2012/13, 2013/14 y 2014/15.

En el ciclo 2011/12, MO se determinó en el 30% de 10 localidades, en 2012/13 en el 20% de cinco localidades, en 2013/14 en el 40% de cinco localidades y en el 100% de tres localidades en 2014/15. En relación con la fecha de siembra, sobre un total de 12 lotes de 1era, el 33,3% de las detecciones fueron positivas y en 11 con siembras de 2da, el 45,3%

de los casos fueron positivos. Cuando se evaluaron ECR en estados vegetativos en cinco lotes, el 80% presentó MO entre V9 y V11 (9 y 11 hojas completamente desarrolladas) y en 18 lotes en estadios reproductivos, sólo el 26,6%. La PH en el ciclo 2011/12 fue de 17, 39 y 100% en Buenos Aires, Córdoba y Entre Ríos, respectivamente, estableciéndose diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$) (**Tabla 6**). En 2012/13, la PH fue 3% en una sola localidad (**Tabla 7**), en 2013/14, 75 y 50% en dos localidades (**Tabla 8**) y en 2014/15, de 100, 100 y 75% en tres localidades (**Tabla 9**).

Tizón foliar

Se registró en todos los ciclos agrícolas y en todas las localidades de las cuatro provincias argentinas (Buenos Aires, Córdoba, Santa fe y Entre Ríos) en fechas de siembra de 1era y de 2da, ya sea en estados vegetativos como reproductivos (**Gráfico 2**).

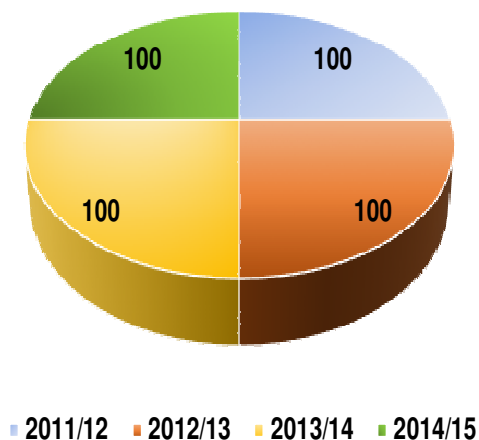


Gráfico 2. Prevalencia de tizón foliar (*E. turcicum*) en los ciclos agrícolas 2011/12, 2012/13, 2013/14 y 2014/15.

Todos los híbridos sembrados en fechas de 1era presentaron una PH entre 1 y 83% hallándose los porcentajes más bajos (8 - 13%) en el S de Santa Fe (Venado Tuerto) y NO de Buenos Aires (Fontezuela) y los más altos (42 y 100%) en Córdoba (Corral de Bustos) y Entre Ríos (Paraná) determinándose diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$). En siembras de 2da, la PH fue de 26 y 100%. En estadios vegetativos, la PH alcanzó valores entre 1 y 83% y en estadios reproductivos, entre 8 y 100% (**Tablas 6, 7, 8 y 9**).

Tabla 6. Prevalencia de mancha ocular (PMO) y tizón foliar (PTF) en redes de híbridos en el ciclo agrícola 2011/12

LOCALIDAD	SIEMBRA	HÍBRIDOS (N°)	EF	PMO (%)		PTF (%)	
Corral de Bustos (CÓRDOBA)	1era	31	V9-V10	39	b	42	d
Venado Tuerto (SANTA FE)	1era	37	V9-V11	0	d	11	f
Venado Tuerto (SANTA FE)	1era	37	R3	0	d	8	f
Fontezuela (BUENOS AIRES)	1era	23	V9-V11	17	c	13	f
Fontezuela (BUENOS AIRES)	1era	23	R4-R5	0	d	13	f
Paraná (ENTRE RÍOS)	1era	23	V9-V11	100	a	83	b
Paraná (ENTRE RÍOS)	1era	23	R4-R5	0	d	30	e
Paraná (ENTRE RÍOS)	1era	56	R3-R4	0	d	48	d
Victoria (ENTRE RÍOS)	1era	32	VT-R3	0	d	62,5	c
Victoria (ENTRE RÍOS)	2da	32	R3-R4	0	d	100	a

Letras iguales indican diferencias no significativas ($p \leq 0,05$).

EF: estado fenológico; PMO: prevalencia de mancha ocular; PTF: prevalencia de tizón foliar.

Tabla 7. Prevalencia de mancha ocular (PMO) y tizón foliar (PTF) en redes de híbridos en el ciclo agrícola 2012/13

LOCALIDAD	SIEMBRA	HÍBRIDOS (N°)	EF	PMO (%)		PTF (%)	
Paraná (Entre Ríos)	1era	24	V9-V11	3	a	1	d
Paraná (Entre Ríos)	1era	54	R4	0	a	3	d
Paraná (Entre Ríos)	1era	24	R4	0	a	8	c
Paraná (Entre Ríos)	2da	48	R4	0	a	26	b
La Paz (Entre Ríos)	2da	26	R4	0	a	100	a

Letras iguales indican diferencias no significativas ($p \leq 0,05$).

EF: estado fenológico; PMO: prevalencia de mancha ocular; PTF: prevalencia de tizón foliar.

Tabla 8. Prevalencia de mancha ocular (PMO) y tizón foliar (PTF) en redes de híbridos en el ciclo agrícola 2013/14

LOCALIDAD	SIEMBRA	HÍBRIDOS (N°)	EF	PMO (%)		PTF (%)	
Diamante (Entre Ríos)	2da	15	R4	0	c	100	a
La Paz (Entre Ríos)	2da	30	R4	0	c	97	a
La Paz (Entre Ríos)	2da	24	R4	0	c	100	a
Paraná (Entre Ríos)	2da	24	R4	75	a	100	a
Victoria (Entre Ríos)	2da	24	R4	50	b	100	a

Letras iguales indican diferencias no significativas ($p \leq 0,05$).

EF: estado fenológico; PMO: prevalencia de mancha ocular; PTF: prevalencia de tizón foliar.

Tabla 9. Prevalencia de mancha ocular (PMO) y tizón foliar (PTF) en redes de híbridos en el ciclo agrícola 2014/15

LOCALIDAD	SIEMBRA	HÍBRIDOS (N°)	EF	PMO (%)	PTF (%)
Paraná (Entre Ríos)	2da	26	R2	100	96
Diamante (Entre Ríos)	2da	24	R4	100	100
Victoria (Entre Ríos)	2da	31	R4	55	100

Letras iguales indican diferencias no significativas ($p \leq 0,05$).

EF: estado fenológico; PMO: prevalencia de mancha ocular; PTF: prevalencia de tizón foliar.

Discusión

El análisis global de los cuatro ciclos agrícolas consecutivos (entre 2011/12 y 2014/15) en distintas provincias argentinas permitió establecer que la MO ocasionada (*K. zeae*) fue detectada todos los años. Las giras de prospección permitieron confirmar la existencia e importancia actual en Entre Ríos, Córdoba y Buenos Aires. Si bien no se la registró en Santa Fe, en abril de 2012 (datos no presentados) fue determinada en hojas procedentes de Gálvez (dpto. San Jerónimo) en siembras de 2da. La enfermedad había sido citada previamente en el CN santafesino (Sillon, 2011).

La primera cita de la enfermedad, en principio denominada “mancha anillada”, correspondió a las localidades de Acevedo, Balcarce y 9 de Julio (Buenos Aires), Vera y Reconquista (Santa Fe), Roque Saenz Peña (Chaco), El Colorado (Formosa), Corrientes y Goya (Corrientes) y a Paraná y La Paz (Entre Ríos) en siembras tardías (Linares y Martínez, 1971; Frezzi, 1972). Además, fue mencionada en La Plata (Buenos Aires) en 1997 (Corcuera y Sandoval, 1998), en Córdoba (Botta, 2001) y en maíz para silo en Paraná (Entre Ríos) (Formento y Vicentin, 2005a). Recientemente se registró en cultivos del NO de Argentina (Díaz, 2010), en Entre Ríos (Formento, 2010), en Marcos Juárez (Córdoba) en abril de 2011 en híbridos sembrados en forma tardía (Formento, datos no presentados), en Mercedes y Curuzú Cuatiá (Corrientes) en 2011 (Namtz et al., 2012) y en el N de Buenos Aires (Couretot, 2009 y 2011; Parisi et al., 2015a). El aumento de las publicaciones que mencionan la presencia de MO desde 2010 hasta el presente podría ser un indicador de la reemergencia de la enfermedad bajo ciertos escenarios productivos en todas las regiones maiceras de Argentina.

En relación con la fecha de siembra se registraron porcentajes similares ya sea en fechas de 1era como de 2da, sin embargo, en los ciclos agrícolas 2009/10, 2010/11 y 2011/12 en el N de Bs As, MO se determinó en el 20% de lotes con siembras de 1era y en el

100% de lotes con siembras tardías, hacia fines del ciclo del cultivo (Parisi et al., 2012).

La P general de MO (39%) fue inferior a la de TF (100%) y coincide con los resultados obtenidos por Díaz et al. (2012). Estos autores hallaron una P de MO del 3%, y de TF del 100% sobre un total de 59 lotes comerciales entre 2009 y 2011 ubicados entre el paralelo 32°S (Entre Ríos) y N de Argentina (Tucumán y Salta), con climas diferentes, distintas alturas sobre el nivel del mar (entre 77 a 480 m.s.n.m), entre 18 y 22°C de T° medias y lluvias entre 813 y 1000 mm.

Los criaderos y semilleros de Argentina consideran a la MO una enfermedad menor por lo cual no caracterizan el comportamiento de sus híbridos o líneas experimentales (com. personal) y tampoco las empresas químicas registran moléculas fungicidas para su control. Sin embargo, desde hace muchos años se la considera una enfermedad de relevancia económica, altamente peligrosa y de potencial destructivo similar al TF (Reifschneider y Arny, 1983), como uno de los patógenos más importantes de Europa (INRA, 2005; Ramos Romero et al., 2015) y de EE.UU (Carson, 2004; Robertson 2009a y 2009b; Robertson y Mueller, 2009). La reemergencia de la enfermedad también se confirmó en Brasil (dos Santos et al., 2007; Camochena et al., 2008).

La P de TF en los ciclos 2011/12 y 2012/13 fue variable, alta en Corral de Bustos (Córdoba) y localidades de Entre Ríos y baja en Santa Fe y Buenos Aires. En los ciclos 2013/14 y 2014/15 la P fue alta sin diferencias estadísticas entre localidades de Entre Ríos.

En el CN de Córdoba donde el 80% del maíz se siembra en fecha tardía, en los ciclos 2007/08, 2008/09 y 2009/10 (De Rossi et al., 2010a y 2010b) la P es alta; además, se registra en la zona núcleo en el N de Buenos Aires (Couretot et al., 2013) desde el ciclo 2008/09. En el ciclo 2012/13, el 62% de los híbridos fueron afectados (Parisi et al., 2015c). En el CO de Santa Fe en el ciclo 2014/15, 15 híbridos sembrados en fecha tardía mostraron una P alta y el 34% de los híbridos fueron susceptibles (Galli et al., 2015).

En el 1er Taller de Enfermedades de Maíz realizado en Córdoba en el año 2013, los nuevos escenarios productivos que amplían las fechas de siembra, la diversificación de ambientes y el monitoreo del cultivo como práctica esencial en los últimos años, se definió la importancia de diferentes patologías que parecían ser de escasa relevancia. A nivel país, el 8% de las detecciones correspondió a MO y el 40% a TF (Couretot, 2013).

Como el maíz se siembra desde el S de Buenos Aires al N de Salta y Jujuy con climas templado serrano, templado pampeano húmedo, tropical serrano y subtropical con estación seca, existe la posibilidad, principalmente en las regiones centro y núcleo, de tener dos períodos de siembra en un mismo año, en general después de un cultivo de soja. La

amplitud de regiones, épocas y clima expone a las plantas en sus diferentes EF a macro y microclimas favorables a enfermedades. Esta información a nivel regional es fundamental para la toma de decisiones en la elección de los híbridos más adaptados, para la priorización de la/las enfermedades que serán consideradas en los programas de mejoramiento y para conocer la presión de cada patógeno en las diferentes regiones donde serán seleccionados los nuevos materiales (Díaz, 2010; Díaz et al., 2012).

Conclusiones

La mancha ocular producida por el hongo *Kabatiella zea* y tizón foliar ocasionado por *Exserohilum turcicum* del maíz están presentes en las principales regiones maiceras de Argentina, tanto en siembras de 1era como de 2da.

La mancha ocular (*K. zea*) presenta una importancia menor por su menor frecuencia y pequeños síntomas foliares que el tizón foliar (*E. turcicum*) del maíz, más frecuente y síntomas foliares de gran tamaño.

SECCIÓN II

ESTUDIOS DE LA FASE PARASÍTICA DE LA INTERACCIÓN PLANTA – PATÓGENO – AMBIENTE. *ESTUDIOS EN CONDICIONES DE CAMPO (INFECCIONES NATURALES)*

CAPÍTULO 2

OBJETIVO 2

DESCRIPCIÓN DE MANCHA OCULAR (*Kabatiella zae*) Y TIZÓN FOLIAR (*Exserohilum turcicum*) A PARTIR DE INFECCIONES NATURALES

**SECCIÓN II. ESTUDIOS DE LA FASE PARASÍTICA DE LA INTERACCIÓN
PLANTA – PATÓGENO – AMBIENTE. ESTUDIOS EN CONDICIONES DE CAMPO
(INFECCIONES NATURALES)**

**CAPÍTULO 2. Objetivo 2. DESCRIPCIÓN DE MANCHA OCULAR (*Kabatiella zae*) Y
TIZÓN FOLIAR (*Exserohilum turcicum*) A PARTIR DE INFECCIONES NATURALES**

2.1 *Kabatiella zae*

Introducción

La emergencia y desarrollo de enfermedades bajo las nuevas condiciones climáticas, hace que los síntomas visuales puedan cambiar de color, forma y tamaño como resultado de su avance en tejidos vegetales (Riley et al., 2002; Agrios, 2005; Camargo y Smith, 2009). Es muy importante conocer los síntomas y signos de una enfermedad en una planta, en sus distintos órganos e incluso en variedades o híbridos de una misma especie botánica.

El objetivo de este trabajo fue describir los síntomas y signos de MO como resultado de la infección natural a campo.

Materiales y métodos

Hojas enfermas de maíz, sorgo y sorgo de Alepo se recolectaron en las giras de prospección en las diferentes áreas de producción. La caracterización de las lesiones en hojas *in vivo* se realizaron con microscopio estereoscópico (50X) utilizando hojas inferiores de plantas en V3 (3 hojas) y V4 (4 hojas) y hojas del tercio superior en R4 (grano en madurez pastosa) de maíces tardíos (**Figura 5**).



Figura 5. Hojas inferiores (izq.) y superiores (der.) con mancha ocular (*Kabatiella zae*) del maíz.

La caracterización y mediciones se realizaron sobre 60 manchas de hojas jóvenes recolectadas a campo (enero de 2012) en Paraná (ER) y sobre 60 manchas de hojas en estado reproductivo avanzado (30 de forma circular y 30 de forma oval) de un maíz tardío, obtenidas a campo (abril de 2014) en Diamante (ER). Los estadísticos descriptivos de las medidas se obtuvieron con el uso del software Infostat versión 2016e (Di Rienzo et al., 2016).

Para la identificación del organismo causal se utilizaron técnicas básicas de estudios en patología vegetal (French y Hebert, 1980; FAO, 1985) como cámaras húmedas, aislamientos, estudios morfométricos y uso de claves taxonómicas (Barnett y Hunter, 1998).

Las cámaras húmedas se realizaron en placas de Petri acondicionadas con una fina capa de algodón humedecida con agua destilada estéril (ADE), luego se colocó un disco de papel absorbente estéril y, sobre éste un vidrio esterilizado en estufa con calor seco. Sobre éste, se ubicaron los tejidos enfermos sin o con desinfección. Los tejidos se desinfectan en alcohol 70° durante 30 segundos, ClONa 1% durante 1 minuto y uno o dos enjuagues con ADE. Posteriormente, el material desinfectado se dejó secar sobre papel absorbente estéril dentro de la cámara de flujo laminar para eliminar excesos de agua, que pueden promover el crecimiento de bacterias.

Los aislamientos se efectuaron en agar papa glucosado (APG) 2%, APG 2% acidificado (con una solución de ácido láctico al 0,25%), agar caldo de verduras (ACV) o agar lenteja (AL).

Los microcultivos se obtuvieron utilizando placas de Petri con un disco de papel de filtro, un soporte de vidrio, un portaobjeto y un cubreobjeto limpio con alcohol 70° en su interior. La placa se envolvió con papel de estrasa y esterilizó en autoclave a 2 atm durante 20 minutos. Dentro de cámara de flujo laminar, sobre el portaobjeto se colocó un bloque de APG acidificado de 1 cm² cortado con una espátula y en el centro de cada una de las cuatro aristas, se sembró lo obtenido con el toque de aguja histológica; posteriormente se aplicó el cubreobjeto sin dejar oxígeno entre éste y el agar. Este preparado se apoyó en el soporte de vidrio y al papel de filtro de la base se le agregó una solución de agua y glicerina para mantener condiciones de alta humedad. La incubación se realizó en estufa a 25±2°C y oscuridad; a las 24 h se retiró el cubreobjeto con una pinza estéril y se montó en una gota de agua en un portaobjeto para observar bajo microscopio óptico (400X). Este cubreobjeto se mantuvo en condiciones de alta humedad para las observaciones que se realizaron 36 y 72 h después.

Para caracterizar la morfometría se observaron y midieron bajo microscopio óptico

(400X) un total de 50 conidióforos y 100 conidios obtenidos de colonias de 5 días en APG 2% y otras, de tres días en AM (agar malta) 2% incubadas a 25 ± 1 °C y oscuridad durante 48 h; posteriormente se mantuvieron entre 18 y 24 °C con un régimen de 10 h de luz y 14 h de oscuridad.

Resultados

La distribución de las manchas en la lámina foliar fue aleatoria, sin embargo frecuentemente se las observó ubicadas en los márgenes, primero solitarias y luego coalescentes formando áreas grandes cloróticas y sectores de tejido muerto (**Figura 6**).



Figura 6. Manchas iniciales (izq.) y lesiones avanzadas (der.) de mancha ocular (*Kabatiella zeae*) del maíz.

En híbridos susceptibles en estados reproductivos avanzados, las manchas fueron muy numerosas en las hojas superiores (**Figura 7**).



Figura 7. Mancha ocular (*Kabatiella zeae*) en hojas superiores de maíz en estado reproductivo avanzado.

El síntoma típico de MO inicia con un punto clorótico, con un halo tenue y un anillo verdoso de aspecto acuoso, circular, oval o elíptico. La lesión en su avance, se tornó más circular, con un centro claro y un halo marrón o púrpura definido, dentro de un área húmeda. Posteriormente, las manchas se unieron formando lesiones más grandes y cuando el área se necrosó, adquirió un color blanco sobre un tejido pajizo, las que pudieron diferenciarse claramente bajo microscopio estereoscópico pero con dificultad a “ojo desnudo” (**Figura 8**). En general, las manchas se ubican entre las nervaduras y los márgenes o bordes podían tener diferente ancho (**Figura 9**).

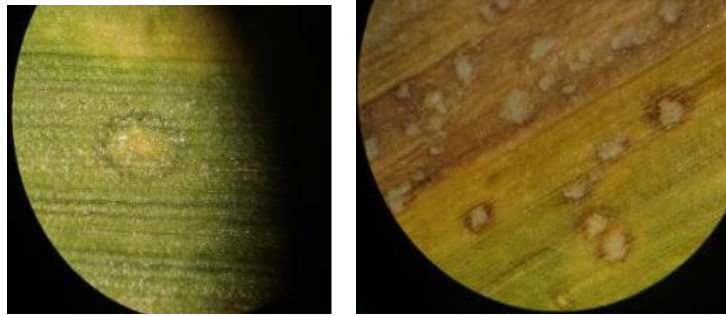


Figura 8. Síntomas iniciales y lesiones avanzadas de mancha ocular (*Kabatiella zea*).

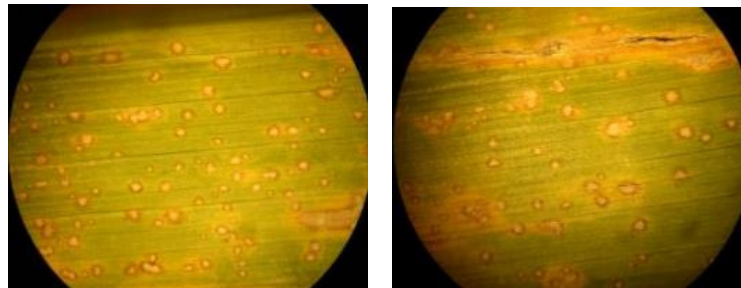


Figura 9. Manchas típicas ocasionadas por *Kabatiella zea* en un híbrido susceptible.

Las manchas observadas a trasluz se definieron claramente y contrariamente a lo observado en forma directa o bajo microscopio estereoscópico, se detectó un centro oscuro (necrosis) con márgenes verde-amarillento difusos o “estrellados” (**Figura 10**). En algunos híbridos, las manchas presentaron un margen marcado de color violáceo (**Figura 11**). En hojas de maíz al estado R2 (grano ampolla o “blister”) se observaron lesiones muy grandes con un diámetro superior a los 6 mm (**Figura 12**) diferentes a las normalmente observadas.

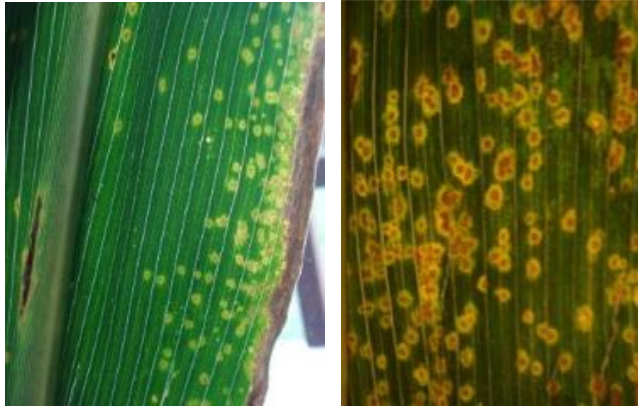


Figura 10. Mancha ocular (*Kabatiella zeae*) del maíz vista a trasluz.



Figura 11. Márgenes violáceos o púrpuras de mancha ocular (*Kabatiella zeae*) en algunos híbridos de maíz.

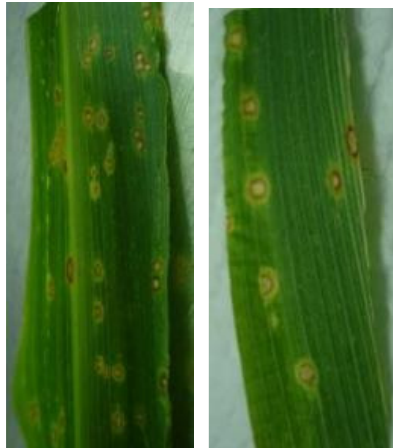


Figura 12. Manchas atípicas de *Kabatiella zeae*.

Las manchas de hojas inferiores jóvenes fueron marcadamente más pequeñas y variables con un mayor coeficiente de variación (CV), que las manchas en las hojas superiores y maduras (**Tabla 10**).

Tabla 10. Dimensiones de mancha ocular (*Kabatiella zeae*) según ubicación, edad y forma

	Hojas superiores maduras				
	Hojas inferiores jóvenes		Circulares	Elípticas	
	L (mm)	A (mm)	Diámetro (mm)	L (mm)	A (mm)
Media	1,4	1,0	2,1	3,8	2,0
Mínimo	0,8	0,6	2,0	3,0	1,5
Máximo	2,0	1,5	3,0	5,0	2,5
Mediana	1,3	1,0	2,0	4,0	2,0
DE	0,3	0,2	0,3	0,7	0,2
CV (%)	20,1	21,7	13,7	18,4	9,3

Referencias: L. longitud. A. ancho

En las hojas inferiores, la longitud y el ancho de las manchas más frecuentes oscilaron entre 1,16 y 1,40 mm y 0,87 y 1,05 mm, respectivamente (**Gráfico 3**).

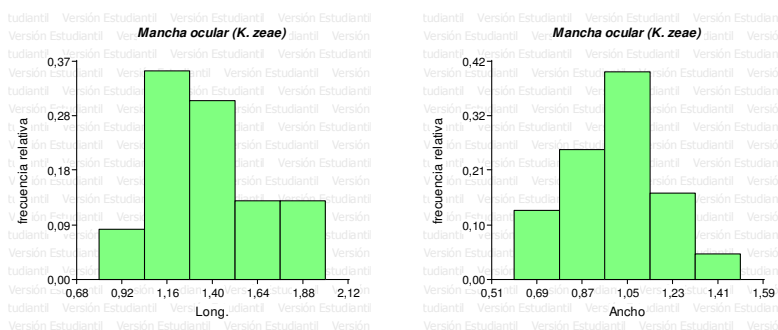


Gráfico 3. Frecuencia relativa de la longitud y el ancho de las lesiones ocasionadas por *Kabatiella zeae* en hojas inferiores de maíz.

En hojas superiores, la longitud más frecuente de las manchas osciló entre 3,25 y 3,75 mm por 1,88 mm de ancho en las lesiones ovales (**Gráfico 4**); en manchas circulares, el diámetro más frecuente fue 2,13 mm (**Gráfico 5**); las ubicadas en hojas superiores fueron marcadamente más grandes que las de hojas inferiores.

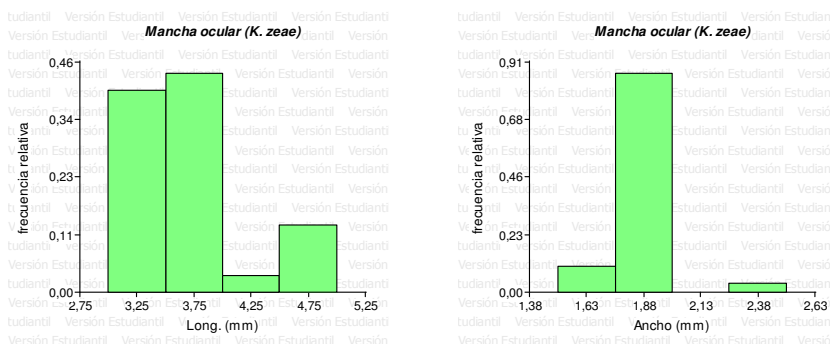


Gráfico 4. Frecuencia relativa de la longitud y el ancho de las lesiones ocasionadas por *Kabatiella zeae* en hojas superiores de maíz.

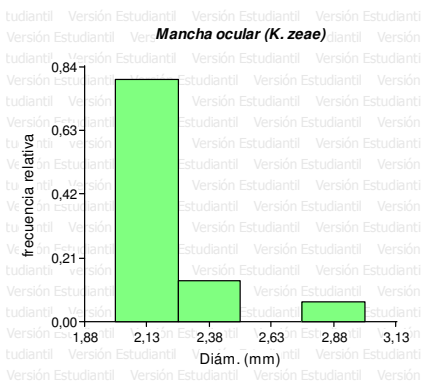


Gráfico 5. Diámetros más frecuentes de manchas circulares ocasionadas por *Kabatiella zeae* en hojas superiores de maíz.

En cámaras húmedas, las estructuras de reproducción o conidiomatas fueron muy difíciles de observar. Sobre tejidos completamente necróticos después de una incubación superior a siete días, se detectaron fácilmente masas blancas con tonalidad rosa y aspecto de pequeñas “coronas”. Con aguja histológica se tomaron conidios que se suspendieron en una gota de agua estéril para su observación (**Figura 13**).



Figura 13. Estromas y conidios típicos del hongo *Kabatiella zeae* sobre tejido enfermo de maíz.

A las 48–72 h se desarrollaron colonias que presentaron diferentes aspectos: miceliar con hifas gruesas (**Figura 14a**), mucosas o “levaduriformes” con abundantes conidios (**14b**), compactas con esporoquios (**14c**) y mixtas, con sectores mucosos o “levaduriformes” y miceliar con hifas escasas (**14d**).

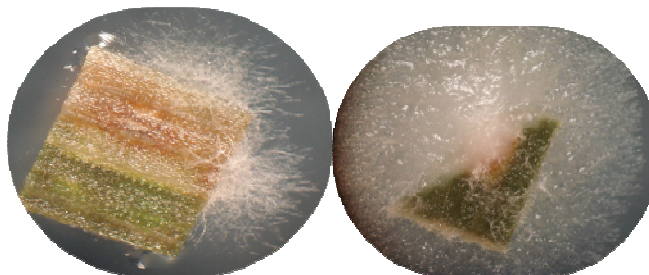
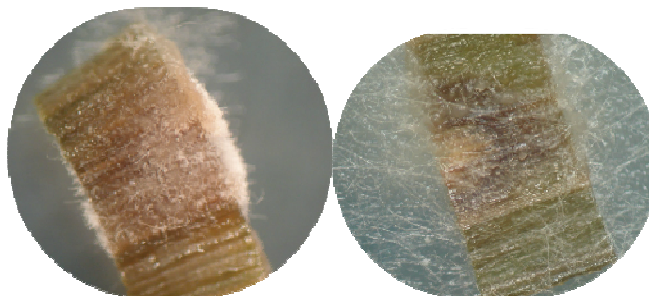


Figura 14a. Colonia miceliar (izq.), **14b.** colonia levaduriforme (der.).



14c. Colonia estromática compacta con conidióforos y conidios (izq.), **14d.** Colonia mixta con hifas dispersas y masas levaduriformes con conidios de *Kabatiella zeae* (der.).

En un medio de cultivo determinado, segmentos de un mismo tejido enfermo dieron colonias de diferente coloración o bastante similares en forma, tamaño y color (**Figura 15**).

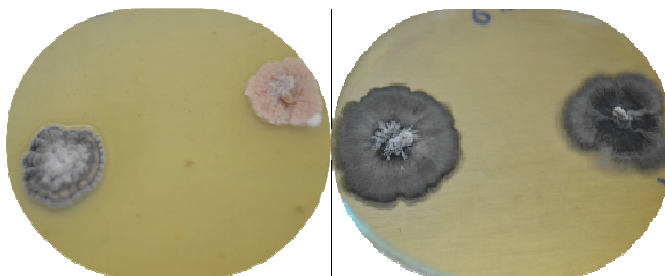


Figura 15. Colonias de *Kabatiella zeae* de distinta coloración obtenidas de un mismo tejido en agar caldo de verduras (ACV) (der.) y grises oscuras sobre agar lenteja (AL) (izq.).

La variabilidad morfológica de las colonias de *K. zeae* fue muy marcada en tipo, forma y también en la coloración que puede ser rosa, salmón, ocre o gris a negro (**Figura 16**).

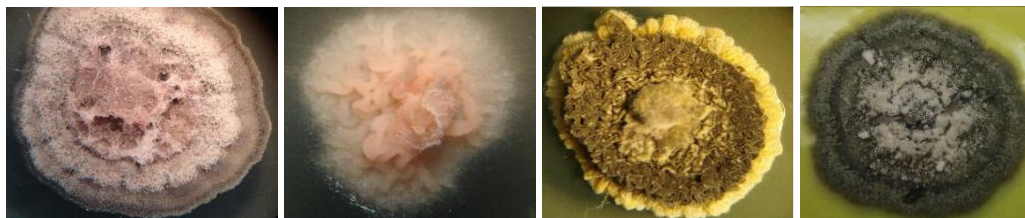


Figura 16. Variabilidad morfológica de colonias de *Kabatiella zeae*.

En microcultivos se observó que las hifas a las 24 h (**Figura 17**) eran anchas, ramificadas, tabicadas con una ligera constricción en las septas o tabiques, hialinas o ligeramente coloreadas grisáceas. La medición de 25 segmentos de hifa mostró un ancho variable entre 5,1 y 8,2 μm (promedio 6,6 μm). A las 72 h, la esporulación fue abundante y los conidios se presentaban solitarios sobre conidióforos cortos a lo largo de la hifa principal (**Figura 18**) o en grupos en el extremo de una célula conidiógena (**Figura 19**). A los cinco días, la esporulación se observó en toda la superficie del cubreobjeto. Los microcultivos

permitieron observar la generación de un conidio a partir de otro por brotación (blastosporas), nunca en cadenas (**Figura 20**).

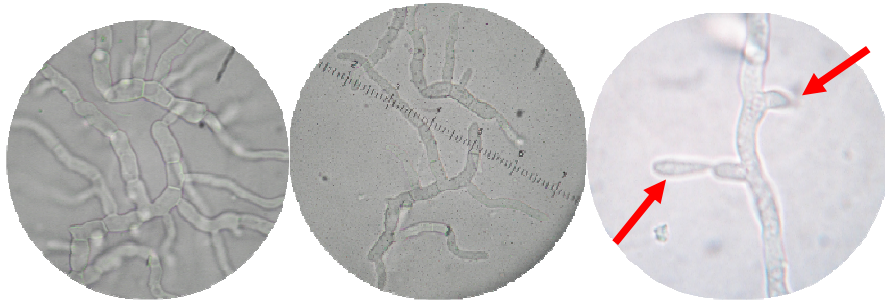


Figura 17. Hifas de *Kabatiella zae* a las 48 h sobre agar papa glucosado acidificado.

Figura 18. Conidióforos cortos y conidios del hongo *Kabatiella zae*.



Figura 19. Conidios solitarios o en grupos de *Kabatiella zae* a las 72 h en agar papa glucosado acidificado.



Figura 20. Conidios de *Kabatiella zae* formados por brotación (blastosporas).

Los conidióforos gruesos, algo ensanchados en su extremo terminal similares a basidios se observaron con generación de conidios; estos se caracterizaron por ser unicelulares, derechos o ligeramente curvados, extremos aguzados y ligeramente coloreados, grisáceos; algunos poseían forma de hoz, luna o “guadaña” (**Figura 21**). Los conidióforos y conidios obtenidos de colonias en APG fueron más grandes que los logrados en AM (**Tabla 11**) similares a los hallados por otros autores (**Tabla 12**). Los conidios midieron 38,6 x 2,7 μm en APG (**Gráfico 6**) y, 30 x 2,6 μm , en AM (**Gráfico 7**).



Figura 21. Conidióforo similar a un basidio (flecha roja) y conidios sobre conidióforo corto a partir de una hifa tabicada (flecha amarilla) de *Kabatiella zae*.

Tabla 11. Tamaño de conidios de *Kabatiella zae* en agar papa glucosado y agar malta

	Conidios de <i>Kabatiella zae</i>			
	APG 2%		AM 2%	
	Long. (µm)	Ancho (µm)	Long. (µm)	Ancho (µm)
Media	38,58	2,68	30,02	2,48
DE	5,99	0,37	4,45	0,29
CV	15,53	13,76	14,83	11,51
Mínimo	25,60	2,56	16,64	1,28
Máximo	53,76	3,84	40,96	2,82
Mediana	38,40	2,56	30,72	2,56

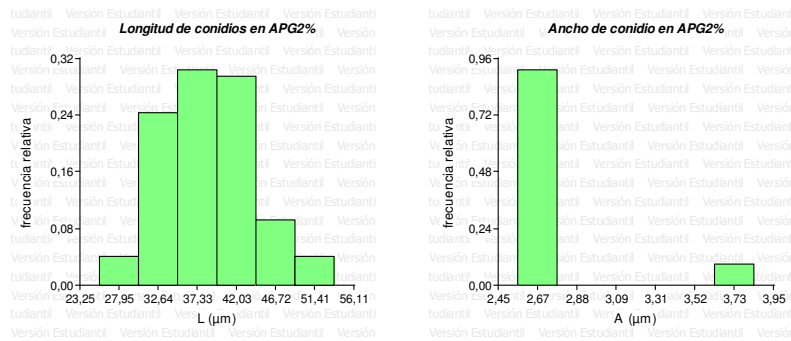


Gráfico 6. Longitud y ancho más frecuente de conidios de *Kabatiella zae* en agar papa glucosado (APG).

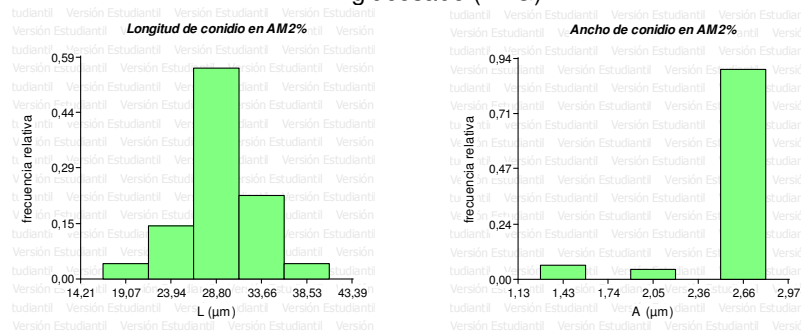


Gráfico 7. Longitud y ancho más frecuente de conidios de *Kabatiella zae* en agar malta (AM).

Discusión

Las manchas poseen una distribución ascendente, desde las hojas inferiores hacia arriba en estados vegetativos. En otras ocasiones, se observaron dispuestas al azar o concentradas en hojas superiores, posiblemente como consecuencia de la recepción de esporas infectivas procedentes de lotes vecinos por el aire. La existencia de manchas en bandas transversales sobre la lámina, indicarían la llegada de inóculo cuando las hojas se hallaban en el cogollo (hojas aun no expandidas) con alta humedad ambiental. A menudo, se observaron concentradas en los márgenes y ápices foliares y las hojas muy afectadas, se secaban. El desarrollo de síntomas por encima de la HE se detectó con períodos prolongados de bajas T° a diferencia de lo observado en este trabajo, Jackson y Ziems (2009) indicaron que ataques severos en etapas tempranas del cultivo pueden causar la muerte de plantas.

Los síntomas descritos en hojas fueron coincidentes con los hallados por otros autores (Gates y Mortimore, 1969; Arny et al., 1971; Frezzi, 1972; Dingley, 1973; Kirby, 1998; Lipps y Mills, 2001; INRA, 2005, dos Santos et al., 2007; Robertson, 2009a, Camochena et al., 2010; Smith, 2015). Otros autores la denominaron mancha anillada (Linares y Martínez, 1971; Fernández Valiela, 1979).

En este estudio se describieron algunas particularidades antes no descritas como: manchas anormalmente grandes, con halo púrpura o violeta y lesiones de centro claro rodeadas de un anillo de color variable (negro a púrpura), circundado por un halo amarillo de ancho variable siempre confirmado por aislamientos (Formento et al., 2014b). Otros investigadores indican que la MO se puede confundir con manchas de origen genético, fisiológico, con síntomas de *Curvularia* spp., heridas de insectos, lesiones iniciales de TF o MG o la mancha Holcus causada por *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Arny et al., 1971; Fernández Valiela, 1978; Munkvold y Martinson, 2001, Munkvold y Flynn, 2002, CIMMYT, 2004; CAI, 2005; Formento y Vicentin, 2005; dos Santos et al., 2007). Una mancha foliar similar es causada por *Alternaria tenuis*, la que se diferencia de MO por un punto rojizo en el centro de la lesión (Oliveira Sábato et al., 2013).

Los estreses abióticos (a menudo en conjunción con el genotipo) pueden producir fenotipos superficialmente similares a síntomas de enfermedades. Los niveles de variabilidad en la expresión de síntomas observados en cultivos son causados por la variación en la severidad de la infección y por un gran número de factores fisiológicos, epidemiológicos y ambientales (Looseley y Newton, 2014). La humedad y la T° pueden

afectar el desarrollo de una enfermedad por cambios en la susceptibilidad del hospedante a la infección y/o incrementar el nivel de expresión de los síntomas (Elad y Pertot, 2014).

En relación con el hongo, los estromas observados fueron similares a otros descritos en CABI (2012) y podrían constituir una forma de sobrevivencia. Estos se formarían en plantas infectadas de maíz al final de la estación de crecimiento y a partir de ellos se producirían los conidios para iniciar las infecciones, siendo la fuente de inóculo primario. Sin embargo, los estromas se observaron en escasas oportunidades en tejido totalmente necrosado. Esta característica también se observó en el hongo *Ramularia collo-cygni*, que produce el salpicado necrótico de la cebada (*Hordeum vulgare*). Éste, sólo esporula sobre tejido necrótico (Sutton y Waller, 1988; Walters et al., 2008). Al igual que en este trabajo, Gates y Mortimore (1969) describieron que los conidióforos de *K. zeae* emergen en grupos a través de los estomas y producen conidios típicos e inconfundibles.

La observación de *K. zeae* sobre tejidos enfermos en cámaras húmedas fue poco común a las 24 h o excepcionalmente hasta las 72 h ya que éstos, aún desinfectados, fueron invadidos por saprófitos de los géneros *Alternaria*, *Epicoccum* y *Cladosporium*. Por el contrario, Arny et al. (1971) indicaron la facilidad de observar conidios típicos en cámara húmeda a las 24 h y la dificultad de aislar, por la abundancia de saprófitos en hojas maduras. Sin embargo, en el presente trabajo los aislamientos a partir de tejidos frescos sintomáticos fueron sencillos, rápidos y generalmente positivos, libres de contaminaciones.

Las características morfométricas de hifas, conidióforos y conidios coincidieron parcialmente con las halladas por otros autores (ver **Tabla 12**).

El ancho promedio de la hifa *in vitro* entre 5,1 y 8,2 μm coincidió con lo determinado por Frezzi (1972), sin embargo para Dingley (1973) miden entre 2 y 5 μm . El ancho de los conidios fue estable y los valores de la longitud se distribuyeron aproximadamente en una curva normal lo que indicaría una variación continua del carácter; cabe destacar que se hallaron diferencias altamente significativas entre aislamientos. Narita e Hiratsuka (citado por Arny et al., 1971) hallaron una medida promedio de 32,4 x 2,6 μm . En este trabajo, el CV de las mediciones fue 15,5% (APG) y 14,8% (AM), mientras que en otros trabajos fueron superiores a 23% aun cuando se midieron un mayor número de conidios (n=150) por aislado.

En colonias jóvenes, algunos conidios ocasionalmente dieron por brotación otro conidio, similar a lo hallado por Schneider y Kruger (1972) citado por Dingley (1973). La mayoría de las descripciones del hongo se realizaron a partir del microorganismo tomado de tejidos vivos del hospedante, con excepción de las mediciones de dos Santos et al. (2007) y

Camochena (2009) donde las estructuras del hongo se obtuvieron en medios de cultivo artificiales. Estas diferencias muestran claramente la importancia de utilizar técnicas moleculares para la identificación de microorganismos, de alto costo. De acá la importancia de continuar con técnicas básicas y de uso habitual en la descripción de enfermedades y sus agentes causales.

Taxonómicamente, *K. zae* se encuentra a distancias lejanas de otros aureobasidios. Cooke (1962) halló 15 géneros de hongos similares a *Pullularia pullulans*, donde los conidios se generaban a partir de conidióforos o de estructuras parecidas a un conidióforo con forma de basidio como el género *Pellicularia*. Von Arx (1957) citado por Cooke (1962) a partir del género *Gloeosporium*, segregó los géneros *Aureobasidium*, *Kabatiella* y *Microstroma* diferenciándose *Kabatiella* y *Microstroma* por la patogenicidad y *Aureobasidium*, por la saprogenicidad. *Kabatiella* crece sobre hojas vivas o muertas u otras partes de una planta ocasionando manchas oscuras amarillentas y *Microstroma*, mancha blancas sobre hojas vivas. La mayoría de las especies de *Kabatiella* tienen conidios en forma de hoz como *K. caulivora*, *K. harpospora*, *K. phoradendri* y *K. zae*, esta última en maíz (Harvey, 1951; Pirone, 1978; Zalar et al., 2008).

Conclusiones

La enfermedad foliar del maíz denominada mancha ocular ocasionada por el hongo *Kabatiella zae* está presente en toda la región núcleo y extra-pampeana de la Argentina, incluida la provincia de Entre Ríos.

La mancha ocular es una enfermedad de frecuencia relativa, con incidencia y severidad leve a moderada, según las condiciones ambientales del ciclo agrícola en distintos híbridos de maíz.

La descripción precisa de los síntomas de la mancha ocular del maíz ocasionada por *Kabatiella zae* en infecciones naturales, indica una alta probabilidad de alcanzar un diagnóstico cierto de la misma a campo.

Los síntomas de mancha ocular del maíz a campo son de fácil reconocimiento y presentan aspectos morfométricos básicos estables. Algunas características particulares se asocian a los estados fenológicos de la planta, a la ubicación en las hojas y al ambiente.

2.2 *Exserohilum turcicum*

Introducción

La emergencia y desarrollo de enfermedades bajo las nuevas condiciones climáticas, hace que los síntomas visuales puedan cambiar de color, forma y tamaño como resultado de su avance en tejidos vegetales (Riley et al., 2002; Agrios, 2005; Camargo y Smith, 2009). Es muy importante conocer los síntomas y signos de una enfermedad en una planta, en sus distintos órganos e incluso en variedades o híbridos de una misma especie botánica.

El objetivo de este trabajo fue describir los síntomas y signos de TF como resultado de la infección natural a campo.

Materiales y métodos

Hojas de maíz de plantas cultivadas o “voluntarias” con síntomas foliares similares a tizones fueron utilizadas para la descripción en forma directa. Las mediciones se realizaron con calibre digital o regla graduada según la longitud de los tizones. Se determinó: número y tamaño de lesiones en hojas de cuatro híbridos en Colonia Crespo (ER) bajo condiciones epifíticas (noviembre de 2011); características y tamaño de lesiones en 80 hojas procedentes de Paraná (ER) y 110 hojas de Monte Cristo (Córdoba) recolectadas en 2011; características de 25 tizones en hojas de sorgo (*Sorghum bicolor*) recolectadas a campo en estados reproductivos avanzados en junio de 2013 y otras, en una red de híbridos al estado de panojamiento en diciembre de 2015, ambas de Paraná (Entre Ríos) y 54 tizones en hojas de sorgo de Alepo (*Sorghum halepense*) recolectadas en zonas próximas a áreas cultivadas o protegidas (bajo arboleda) en Paraná (Entre Ríos) en diciembre de 2015. Las medidas resumen y análisis estadísticos de los tizones en maíz, sorgo y sorgo de Alepo se obtuvieron con el uso del programa Infostat Versión 2016e (Di Rienzo et al., 2016).

Las observaciones para caracterizar y comparar al organismo causal del TF se realizaron con técnicas básicas como cámaras húmedas de tejido vegetal enfermo, aislamientos en medios de cultivo y microcultivos (similar a la metodología utilizada para el estudio de *K. zeae*).

Las cámaras húmedas se realizaron ubicando los tejidos enfermos desinfectados durante 30 segundos en alcohol 70°, 1 minuto con ClONa al 1% y dos enjuagues con ADE, en placas de Petri de 14 cm de diámetro. Los aislamientos se efectuaron en APG 2% e incubación en estufa a 25±1 °C y oscuridad durante 3-5 días. Las mediciones de estructuras fúngicas se realizaron con microscopio óptico (40X) con el uso de la regla graduada del ocular micrométrico. Se compararon: 100 conidióforos y 132 conidios obtenidos de tejido

enfermo, con 30 conidióforos y 100 conidios en APG 2% (colonias de cinco días). Además, se compararon 25 conidióforos y 25 conidios de dos aislamientos diferentes, uno de de Paraná (Entre Ríos) y otro de Monte Cristo (Córdoba). Los microcultivos se obtuvieron en APG acidificado pH 5,5 para caracterización de hifas, apresorios, conidióforos y conidios.

La viabilidad de los conidios fue evaluada a través de la germinación conidial, para lo cual se ubicaron en un portaobjeto excavado con ADE cubierto con un cubreobjeto flameado. La incubación se realizó en estufa a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y oscuridad durante 3 h. Luego de 1 h a temperatura y luz de laboratorio, se observaron 207 conidios incubados con luz y 229, con oscuridad. Para definir el tipo de germinación se analizaron 552 conidios incubados a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ en oscuridad y 414 conidios bajo luz (tubos fluorescentes 40W luz fría) en cámara de cría; la caracterización se realizó a partir de 321 conidios en ADE sobre “vidrio de reloj”.

En sorgo se caracterizaron y midieron 25 conidióforos y 25 conidios obtenidos de lesiones de hojas después de 36 h en cámara húmeda, en estufa a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y oscuridad, obtenidos de cámara húmeda. En sorgo de Alepo se caracterizaron y midieron 75 conidios obtenidos de colonias de ocho días en APG 2% acidificado, tomados con aguja y montados en ADE sobre portaobjeto, con microscopio óptico 400X. Además, se estudió el tipo de germinación en 164 conidios colocados en “vidrio de reloj” con ADE en cámara húmeda durante 30 h en oscuridad.

Los datos obtenidos fueron analizados con ANOVA y las medias de las variables se compararon con la prueba LSD de Fisher al 0,05% con Infostat versión 2016.

Resultados

Las primeras lesiones fueron detectadas en las hojas inferiores de maíz y de sorgo. Posteriormente, se registró un crecimiento de la enfermedad hacia las hojas superiores y en general, se hallaron ubicadas en el tercio medio de la planta por muerte o senescencia prematura de las hojas inferiores. Síntomas en toda la planta, incluido el tercio superior se registraron en híbridos de maíz o sorgo muy susceptibles. En sorgo de Alepo, los tizones se observaron distribuidos en hojas ubicadas en toda la planta.

En maíz, las lesiones fueron elípticas u oblongas con forma de “habano” o “submarino”, característica típica e inconfundible; con ancho constante o variable a lo largo del tizón. En todos los casos, las lesiones se aguzaban o “ahusaban” en ambos extremos (**Figura 22**).



Figura 22. Síntomas típicos de ancho constante (izq.) y lesiones ensanchadas (der.) ocasionadas por *Exserohilum turcicum* en maíz.

Los márgenes de las lesiones eran delgados, acuosos (aspecto “encharcado”), color verde oscuro indicando el avance de la enfermedad (**Figura 23**). Los tizones, inicialmente fueron limitados por las nervaduras, pero fueron superadas con el avance de los síntomas.



Figura 23. Lesiones de *Exserohilum turcicum* con márgenes acuosos en maíz.

Las lesiones en hojas de un híbrido susceptible recolectadas con cierta humedad ambiental se caracterizaron por poseer un área central gris oscura debido a los abundantes conidióforos y conidios del hongo (**Figura 24**). En esta zona central en las lesiones más viejas se observó una rasgadura longitudinal y vista a trasluz, se apreció el área acuosa de avance del tizón (**Figura 25**).

En todas las áreas maiceras evaluadas y en los cinco ciclos agrícolas estudiados se observaron en forma frecuente y en determinados híbridos, lesiones similares a tizones con algunas características particulares. Por ejemplo, tizones con una banda difusa azulada

verdosa (“bandeado”) o lesiones ahusadas similares a las típicas o irregulares rodeadas de un área clorótica de ancho variable, ambas con esporulación reducida o nula (**Figura 26**).



Figura 24. Tizones esporulantes (*Exserohilum turcicum*).



Figura 25. Tizón en maíz con rasgadura central longitudinal en hoja inferior (izq.) y en hoja superior (der.) causado por *Exserohilum turcicum*.



Figura 26. Lesión hipersensible (“bandeado”) ocasionada por *Exserohilum turcicum*.

Por otro lado, en una misma planta u hoja se registraron síntomas mixtos o heterogéneos, es decir lesiones típicas de híbrido susceptible y del tipo hipersensible común en híbrido resistente (**Figura 27**).



Figura 27. Reacción hipersensible (izq.) y reacción mixta (der.) producida por *Exserohilum turcicum* en maíz.

En las “chalas” (vainas de las hojas no desarrolladas) los síntomas fueron detectados ocasionalmente (**Figura 28**).



Figura 28. Tizón (*Exserohilum turcicum*) en “chalas” de maíz.

El número de tizones por planta en los diferentes híbridos fue variable, entre 3 y 54 y por hoja, un número promedio entre 1 y 10 tizones. La longitud, el ancho mínimo y máximo de los tizones de los diferentes híbridos fueron variables, sin embargo los promedios fueron similares (**Tabla 13**).

Tabla 13. Tamaño promedio de tizones producidos por *Exserohilum turcicum* en diferentes híbridos de maíz

HÍBRIDO	HOJAS (N°)	TIZONES TOTALES (N°)	PROMEDIO (N°)	TAMANO (Mínimo, *Promedio, Máximo)	
				LONG. (cm)	ANCHO (cm)
38 W 22	4	23	5	2,5 - (10,9)* - 33	0,4 - (1,1) - 3,5
P 2053Y	5	54	10	4,0 - (10,2) - 29,0	0,4 - (1,1) - 3,0
30 R76	4	25	5	4,5 - (10,0) - 28,0	0,5 - (1,1) - 2,5
P 2049Y	3	3	1	8,0 - (9,1) - 9,5	0,9 - (1,0) - 1,3

Los tizones de hojas recolectadas en Paraná fueron de mayor tamaño que los obtenidos en hojas de maíces de Córdoba; sin embargo, las medias fueron similares para ambos orígenes geográficos. La longitud máxima de los tizones de Paraná fue 71 cm y de Córdoba, 42 cm (**Tabla 14**). La dimensión de los tizones fue más variable en Paraná que en Córdoba (**Gráfico 8**).

Tabla 14. Dimensiones de tizones ocasionados por *Exserohilum turcicum* en híbridos de maíz de Entre Ríos y Córdoba

	Variable (cm)	n	Media	Mediana	D.E.	CV(%)	Mínima	Máxima
Paraná (Entre Ríos)	Longitud	80	9,9	7,5	8,8	88,5	2,0	71,0
	Ancho	80	1,2	1,1	0,8	61,7	0,4	4,0
Monte Cristo (Córdoba)	Longitud	110	11,2	9,7	6,8	60,9	0,8	42,0
	Ancho	110	1,1	1,1	0,5	44,5	0,1	2,6

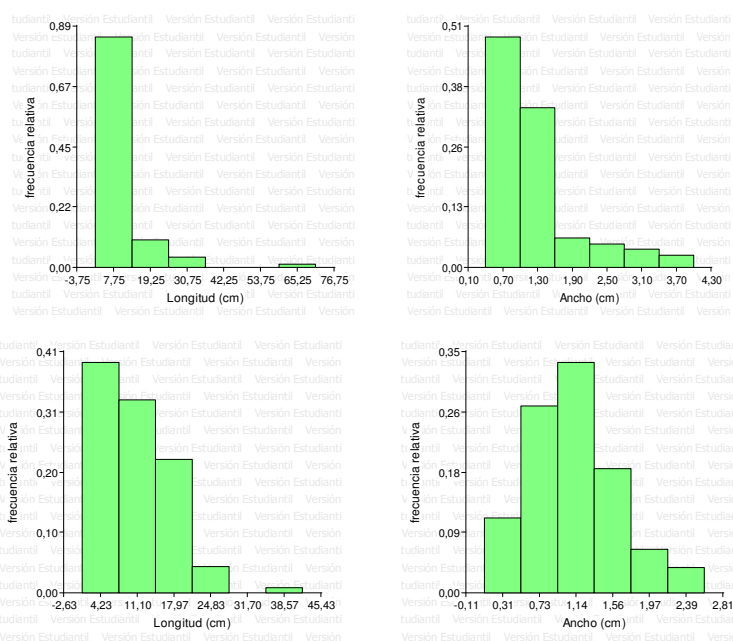


Gráfico 8. Frecuencia relativa de la longitud y ancho de tizones (*Exserohilum turcicum*) en hojas recolectadas en Paraná (arriba) y en Córdoba (abajo).

En sorgo, en estado reproductivo (panojamiento) se detectaron manchas jóvenes elípticas con centro claro pajizo de aproximadamente 0,5 cm de ancho, con un margen rojizo-púrpura a marrón oscuro de 0,1 a 0,2 cm. Se extendían hacia los extremos en forma aguzada, con una línea gruesa marrón oscuro, paralela a la nervadura entre 1 y 2 cm de longitud (avance de la enfermedad). También, se formaron áreas internas de avance lateral y la esporulación se concentró en la parte central, tanto en la cara adaxial como abaxial de la hoja (**Figura 29**). Los tizones midieron 1,9-(7,73)-14,2 cm de longitud x 0,12-(0,45)-1 cm de ancho. En estados reproductivos más avanzados (grano pastoso) las manchas fueron inicialmente pequeñas, ligeramente ovales con un área circundante acuosa. Posteriormente, se fueron agrandando y tomaron forma elíptica afinándose hacia los extremos, primero de color verde grisáceo y cuando alcanzaron un mayor tamaño mostraron una coloración

central pajiza o castaña oscura con abundante esporulación. Los márgenes siempre fueron de color rojizo-púrpura o negro (**Figuras 30 y 31**).



Figura 29. Lesiones típicas de *Exserohilum turcicum* en sorgo.



Figura 30. Lesiones jóvenes de *Exserohilum turcicum* en sorgo.

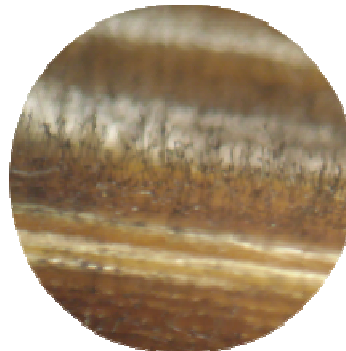


Figura 31. Esporulación de *Exserohilum turcicum* en el envés de hojas de sorgo.

En sorgo de Alepo, las lesiones fueron elípticas, con forma de “habano”, delgadas, con centro pajizo claro, áreas de avance marrón rojizas y margen de ancho variable rojizo-púrpura. Las manchas se aguzaron en ambos extremos, respetando inicialmente las nervaduras y luego superándolas; al igual que en maíz, se detectaron rajaduras centrales y abundante esporulación en el centro de la mancha (**Figura 32**). Los tizones midieron 0,9-(10,87)-36,15 cm de longitud por 0,04-(0,54)-1,33 cm de ancho. Los valores más frecuentes de la longitud se ubicaron entre 4,42 y 11,47 cm, y los del ancho, entre 0,43 y 0,69 cm (**Gráfico 9**).



Figura 32. Lesiones producidas por *Exserohilum turcicum* en sorgo de Alepo.

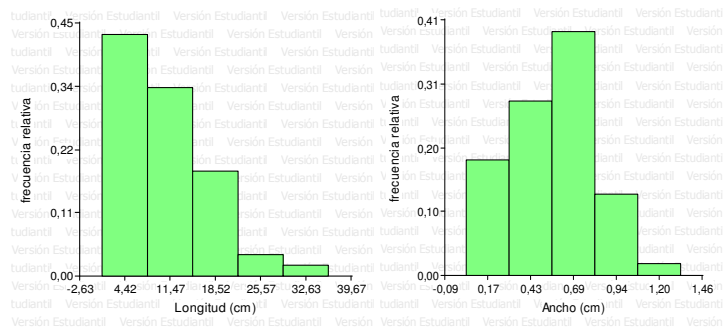


Gráfico 9. Frecuencia relativa de la longitud y ancho de tizones (*Exserohilum turcicum*) en sorgo de Alepo.

El tamaño de los tizones de maíz, sorgo y sorgo de Alepo poseen diferencias importantes, especialmente en longitud y ancho máximo de las lesiones (**Tabla 15**).

Tabla 15. Comparación de tizones ocasionados por *Exserohilum turcicum* en maíz, sorgo y sorgo de Alepo

TIZONES		HOSPEDANTE		
		MAÍZ	SORGO	SORGO DE ALEPO
LONGITUD (cm)	Mínima	2,0	1,9	0,9
	Media	9,9	7,7	10,9
	Máxima	71,0	14,2	36,2
ANCHO (cm)	Mínimo	0,4	0,5	0,04
	Medio	1,2	0,5	0,5
	Máximo	4,0	1,0	1,3

En las cámaras húmedas de maíz, la esporulación sobre los tizones fue abundante sólo cuando se efectuó la recolección a campo con humedad ambiental elevada o abundante rocío. Si el material se extraía con alta radiación y escasa humedad ambiental fue necesario de 10 a 12 h de cámara húmeda para observar los conidióforos que emergían

solitarios, ocasionalmente de a dos. Para la formación de conidios se requirió colocar las lesiones bajo luz natural o luz fría, durante 48–72 h. Los conidios se formaron en forma lateral o en el extremo apical de los conidióforos.

En APG 2% se obtuvieron colonias puras de *E. turcicum* a partir de conidios tomados con aguja o ansa estéril de tejidos en cámara húmeda, formándose a las pocas horas hifas hialinas, largas, laxas, poco ramificadas. Éstas, se entrelazaron constituyendo un micelio hialino y flojo que con los días se tornó grisáceo, marrón claro, oliváceo o negruzco por la formación de conidióforos y conidios (**Figuras 33 y 34**).

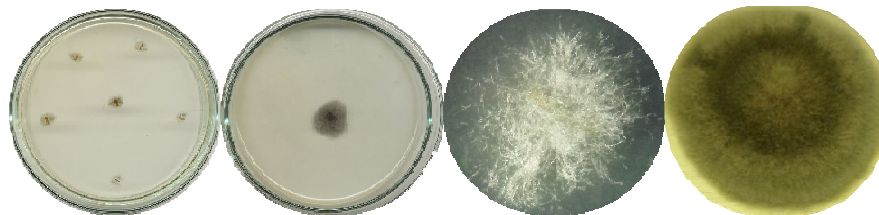


Figura 33. Colonias de *Exserohilum turcicum* en agar papa glucosado a las 48 h (izq.) y a los cuatro días (der.) aisladas de maíz.

Figura 34. Colonia joven de *Exserohilum turcicum* a los tres días (izq.) y 10 días (der.) en agar papa glucosado aislada de maíz.

Los conidióforos y conidios obtenidos de tejido foliar enfermo fueron de mayor longitud que los logrados en APG 2% con diferencias estadísticas significativas ($p < 0,0001$) mientras que el ancho de conidios y conidióforos fueron similares en los distintos sustratos (**Tabla 16**). Los conidióforos de 1 a 4 cicatrices (punto de origen de conidios) sobre tejido foliar y de 2 a 6 cicatrices en APG 2% (**Figura 35**) y los conidios entre 5-8 septas y 4-6 septas, respectivamente.

Tabla 16. Tamaño de conidióforos y conidios de *Exserohilum turcicum* sobre tejido foliar vivo de maíz y en agar papa glucosado (APG)

CONIDIO (n=100)	TEJIDO FOLIAR			APG 2%		
	Mínimo	Media	Máximo	Mínimo	Media	Máximo
Longitud (µm)	79,4	115,4 c	153,6	58,9	81,5 d	97,3
Ancho (µm)	17,9	20,9 e	28,2	12,8	13,9 e	17,9
CONIDIÓFORO (n=21)						
Longitud (µm)	153,6	247,4 a	409,6	115,2	213,0 b	435,2
Ancho (µm)	5,1	7,1 e	10,2	5,1	5,5 e	7,7

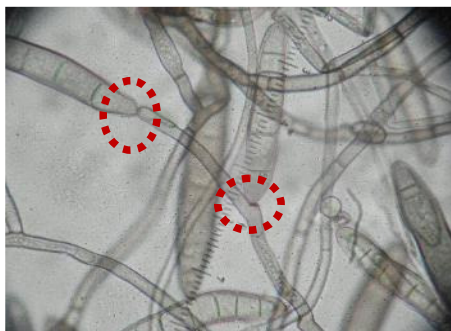


Figura 35. Conidióforos con cicatrices donde se originan los conidios de *Exserohilum turcicum* aislado de maíz.

En APG 2%, la longitud mínima, media y máxima de conidióforos y conidios de un aislamiento de Paraná fueron menores a las de un aislamiento de Córdoba, mientras que los valores del ancho mínimo, medio y máximo fueron similares sin diferencias estadísticas significativas ($p < 0,0001$) (**Tabla 17**).

Tabla 17. Tamaño de conidióforos y conidios de *Exserohilum turcicum* aislados de maíz recolectado en Paraná (Entre Ríos) y en Monte Cristo (Córdoba)

CONIDIO (n=25)	PARANÁ			CÓRDOBA		
	Mínimo	Media	Máximo	Mínimo	Media	Máximo
Longitud (µm)	79,4	95,7 a	110,1	71,7	103,3 a	128
Ancho (µm)	12,8	17,3 b	20,5	12,8	17,4 b	23
CONIDIÓFORO (n=25)						
Longitud (µm)	56,3	131,4 c	273,9	61,4	142,8 c	225,3
Ancho (µm)	5,1	6,5 d	10,2	5,1	7,2 d	10,2

Los microcultivos permitieron observar que las hifas son hialinas o ligeramente grisáceas, median entre 5 y 6 µm de ancho y formación de apresorios globosos con forma de “puño”. Los apresorios constituyen una modificación de la hifa para adherirse al tejido vegetal. Los conidióforos eran oscuros, de color marrón y median entre 7 y 9 µm (**Figura 36**); éstos, se fragmentaban al simple toque con aguja, ansa o cinta engomada.

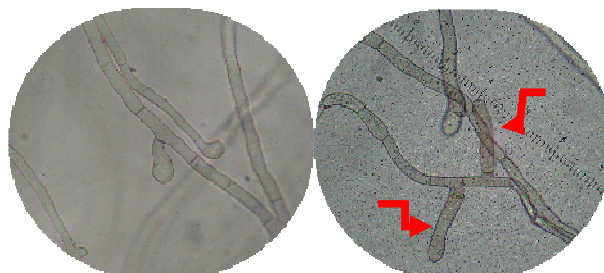


Figura 36. Hifas y apresorios (izq.) y formación de conidióforos (der.) de *Exserohilum turcicum*.

Los conidióforos completos poseían la célula basal más ancha y trapezoidal con el extremo apical, geniculado, hialino o grisáceo más claro. Los conidios fueron elipsoidales u oboclavados, rectos o ligeramente curvos, multiseptados, de paredes lisas, coloración gris, oliva o marrón claro u oscuro. Estos se formaban a partir de cicatrices que son pequeñas depresiones de color marrón oscuro casi negro sobre el conidióforo. La célula distal del conidio, opuesta a la del hilo poseía una forma redondeada y color más claro en conidios maduros; contrariamente, en conidios jóvenes la célula distal era más oscura (**Figura 37**).

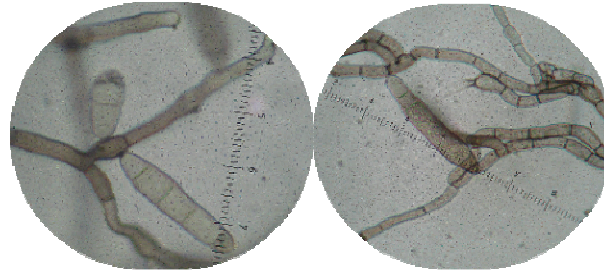


Figura 37. Conidios jóvenes, célula distal oscura (izq.); conidio maduro, célula distal clara (der.) de *Exserohilum turcicum*.

Los conidios en general de 3 a 8 septas se caracterizaron por un hilo protuberante, muy marcado y oscuro, usado taxonómicamente al igual que la formación de los tubos germinativos, por uno o ambos polos (**Figura 38**).



Figura 38. Conidios con hilo protuberante (izq.), distoseptas (centro) y germinación bipolar (der.) de *Exserohilum turcicum*.

La germinación de los conidios utilizada como una medida de la viabilidad alcanzó el 43, 47% con incubación en luz y 46,72% en oscuridad, sin diferencias estadísticas significativas entre ambos porcentajes (**Gráfico 10**).

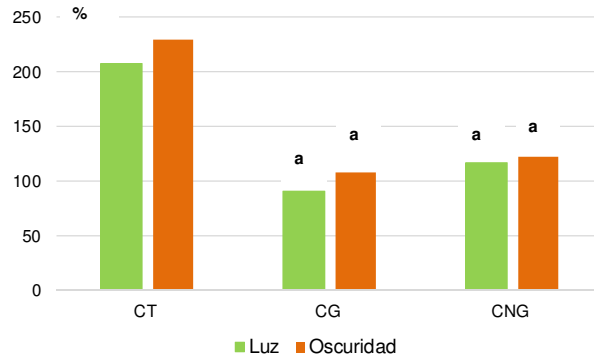


Gráfico 10. Germinación de conidios de *Exserohilum turcicum*, bajo luz y oscuridad.
Referencias: CT=conidios totales; CG=conidios germinados; CNG=conidios no germinados.

La germinación fue unipolar (por una de las dos células de los extremos) en el 54,5% sobre un total de 175 conidios observados y bipolar (por ambos extremos o polos de cada conidio) en el 43,6% de 140 conidios analizados. Sólo seis conidios (1,9%) germinaron por una célula lateral (**Gráfico 11 y Figura 39**).

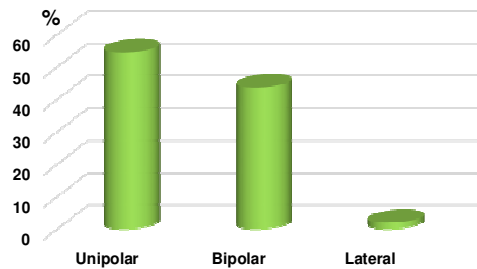


Gráfico 11. Tipos de germinación de los conidios de *Exserohilum turcicum* aislado de maíz.

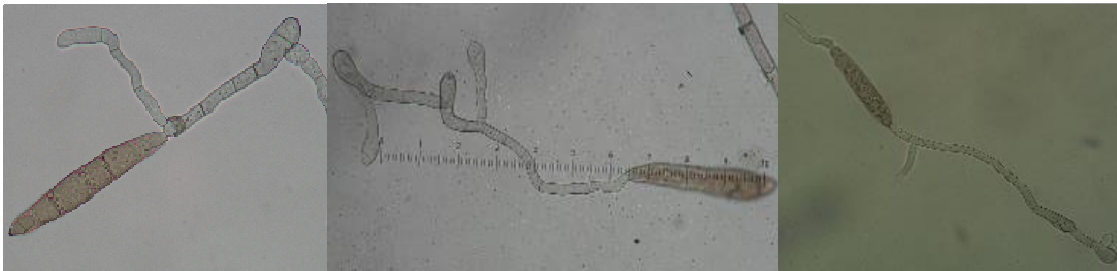


Figura 39. Germinación uni y bipolar de conidios de *Exserohilum turcicum* aislado de maíz.

En sorgo, de las cámaras húmedas de los tizones foliares se observaron bajo microscopio óptico conidióforos tabicados, de color marrón oscuro que midieron 176,6 – (232,1) – 345,6 μm de longitud por 5,1 – (19,5) – 21,8 μm de ancho (mínimo, promedio y máximo). Los conidios grises, oliváceos, marrones claros u oscuros eran rectos o

ligeramente curvos, con 5 a 10 septas e hilo protuberante de color oscuro casi negro. La longitud mínima, promedio y máxima fue 103,7-(119,1)-143,4 μm y un ancho de 17,9-(19,5)-21,8 μm (**Figura 40**). Si bien el conidio se aguzaba en ambos extremos, la célula distal era redondeada y ligeramente más clara.



Figura 40. Conidióforos y conidios de *Exserohilum turcicum* obtenidos de sorgo.

En sorgo de Alepo, en cámaras húmedas sobre tejidos sintomáticos, los conidióforos fueron largos, marrón oscuro, con muchas cicatrices y ensanchamientos en el punto de origen de los conidios; éstos con 6 a 8 septas, eran de color gris o marrón claro cuando jóvenes y marrón oscuro cuando maduros (**Figura 41**). Midieron 56,3 – (99,96) –133,1 μm de longitud por 14,1– (18,26) -20,5 μm de ancho.

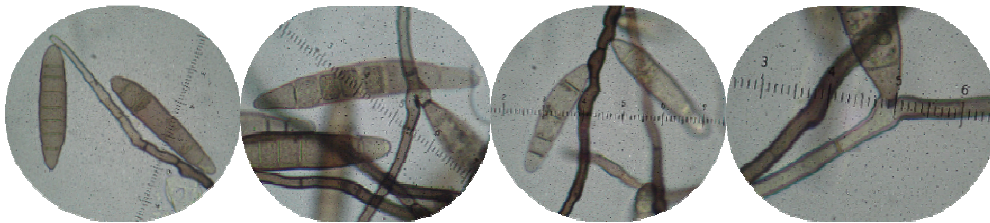


Figura 41. Conidióforos y conidios de *Exserohilum turcicum* aislados de tizones de sorgo de Alepo.

El 53% de los conidios germinaron por uno sólo de los polos, es decir unipolar (**Figura 42**) y un 43%, por ambos polos, bipolar (**Figura 43**).

Las medidas de los conidios obtenidos de tizones en maíz, sorgo y sorgo de Alepo fueron similares (**Tabla 18**).

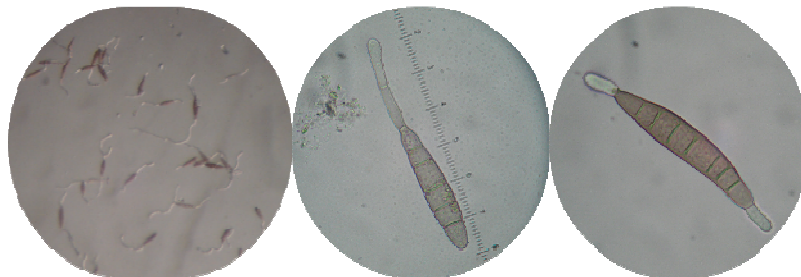


Figura 42. Germinación de conidios de *Exserohilum turcicum* aislado de sorgo de Alepo.

Figura 43. Germinación unipolar y bipolar de *Exserohilum turcicum* obtenido de tizones en sorgo de Alepo.

La evaluación de la longitud y ancho de 25 conidios de *E. turcicum* tomados de tejidos enfermos en cámara húmeda mostró diferencias estadísticas significativas entre la longitud de los conidios mientras que el ancho fue un parámetro estable (**Tabla 18**).

Tabla 18. Tamaño de conidios de *Exserohilum turcicum* aislados de maíz, sorgo y sorgo de Alepo

CONIDIOS (n=25)		MAÍZ	SORGO	SORGO DE ALEPO
LONGITUD (µm)	Mínima	99,8	105,0	56,3
	Media	121,65 a	119,8 a	96,67 b
	Máxima	135,7	143,4	124,2
ANCHO (µm)	Mínimo	15,4	17,9	15,4
	Medio	19,05 c	18,58 c	17,1 c
	Máximo	20,5	20,5	20,5

Tabla 19. Medidas de referencia de conidios y conidióforos de *Exserohilum turcicum* de maíz de diversos autores

Conidios (µm)		Conidióforos (µm)		Referencia
Longitud	Ancho	Longitud	Ancho	
45 – 132	15 – 25	-	-	Dickson, 1956
50 – 144	18 - 33	>300	7 - 11	Ellis, 1971
105	20	150 - 200	7 – 9	Shurtleff, 1984
87 – 138	16,5 – 26	-	-	Malaguti, 1993
108,9	17,7	-	-	Bach y Kimati, 1995
93,97	13,11	-	-	Abebe y Singburaudom, 2006
81 - 115	15 – 20,1	131 – 259	5,5 – 7,5	Colignon, 2010
90 - 120	20 – 35			Kumar et al., 2011
44 – 123	10 – 21	-	-	Orduño-Cota et al., 2014
47,5 – 110,1	10 – 22,5	-	-	De Rossi, 2014
46,5 – 128,3	10,3 – 20,3	-	-	De Rossi et al., 2015
48,7 – 126,9	11,2 – 23,6	32,6 - 180	5,6 -13,1	Tang et al., 2015
74 – 120,3	13 – 17,9	74,2 –435,2	5,1 –10,2	Formento (datos no pub.)

Tabla 20. Tamaño de conidios y conidióforos de *Exserohilum turcicum* obtenido de sorgo

73 - 137	18 - 23	165 - 283	7 - 11	Aden, 1991
105	20	150 - 250	7 - 9	Frederiksen y Odvody, 2000
~	~	135 - 335	8 -10	Ramathani, 2010
104 - 143	18 - 22	177 - 346	5 - 22	Formento, datos no public.

Discusión

La caracterización de los síntomas y signos de *E. turcicum* realizadas en este trabajo profundiza los conocimientos en el caso de maíz y brinda nuevos aportes en sorgo y sorgo

de Aleppo. En todos los hospedantes los síntomas se iniciaban en las hojas inferiores con un progreso ascendente y piramidal hacia las hojas superiores, en coincidencia con lo hallado por Zitter (2005) y Micca et al. (2015).

En maíz, la descripción de los tizones fue similar a la de numerosos autores con ligeras diferencias (Dickson, 1956; Bruni, 1975; Leach et al., 1977; Sarasola y Sarasola, 1981; Perkins y Pedersen, 1987; Shurtleff, 1993; Vincelli y Hershman, 1993; Wise, 2011; De Rossi, 2012; Martins Cardozo, 2013; Orduño-Cota et al., 2014; Bergstrom, 2014; Ishfaq et al., 2014; Shi et al., 2017). Entre las diferencias, se halló que el tamaño de los tizones obtenido en este trabajo con longitudes máximas entre 42 y 71 cm, fue mayor a lo que comúnmente se menciona de 15 cm como medida máxima; sin embargo la longitud de las hojas de los híbridos actuales se aproximan a 100 cm y los tizones pueden ocupar gran parte de la misma. Cuando la infección es severa, las lesiones se unen formando grandes áreas enfermas tomando un aspecto de “quemado” que local y regionalmente se adjudica al daño por heladas tempranas o déficit hídrico por un período prolongado. Cuando el cultivo está completamente seco, dos o tres meses después de la madurez fisiológica aun en el campo, es posible diferenciar y reconocer fácilmente los tizones típicos.

La morfometría de los síntomas puede ser variable según las razas de *E. turcicum* y la interacción hospedante – patógeno (Bashan et al., 1996), sin embargo en Argentina aun no se han determinado las razas y actualmente no se conducen estudios para su identificación.

Los síntomas no comunes de TF consistentes con distintos niveles de clorosis y escasa o nula esporulación corresponderían a reacciones de hipersensibilidad (RH). En Argentina se analizaron tizones típicos del híbrido DK 747VT3Pro, otros tizones pequeños, amarillos o blanquecinos de cuatro híbridos o ambos síntomas en el híbrido AX852 HCLMG. La esporulación a los 2 y 5 días fue marcadamente superior en DK 747VT3Pro y en AX852 HCL MG con 60.000 y 32.000 conidios/cm², respectivamente (híbridos susceptibles). En los tizones tipo hipersensibles (híbridos resistentes), la esporulación fue mucho menor entre 3.000 y 7.000 conidios/cm² (De Rossi et al., 2015a).

A nivel mundial existe una extensa bibliografía que caracteriza síntomas en híbridos resistentes a *E. turcicum* (Abadi et al., 1989). Lesiones atípicas observadas en este trabajo son similares a las descritas por Chauhan et al. (1997), donde demuestra que aquellos híbridos con los genes *Ht1*, *Ht2*, *Ht3* o *HtN* poseían lesiones cloróticas con centro necrosado; la clorosis estaría asociada a compuestos tóxicos del hongo sobre la clorofila total y las clorofilas a y b. Los maíces sin síntomas o con lesiones necróticas-cloróticas se

consideraron resistentes y aquellos con lesiones necróticas de color verde oliva con abundante esporulación, susceptibles (Ogliari et al., 2005). Por otro lado, la resistencia poligénica se manifestó con un menor número y tamaño de lesiones (Wang et al., 2012; Galiano-Carneiro y Miedaner, 2017).

Los tizones del sorgo han sido escasamente caracterizados en Argentina y la caracterización realizada en este trabajo es coincidente con la descripción de diversos autores en distintos países (Dickson, 1956; Tarr, 1962; Frederiksen, 1978; Bergquist, 1986; Harlapur, 2005; Durga et al., 2008; Cota et al., 2010 y 2012; Mayada Beshir et al., 2012). En este estudio, los tizones fueron más pequeños que los descritos en Uganda donde midieron entre 3 y 15 cm de longitud por 1,2 cm de ancho (Ramathani, 2010) o en China, entre 5 y 10 cm de longitud y de 1 a 2 cm de ancho (Tong et al., 2017).

En sorgo de Aleppo, la descripción de los síntomas constituye un aporte relevante ya que son escasas las realizadas a partir de infecciones naturales de campo en Argentina. Los estudios realizados sobre los síntomas en esta maleza tuvieron como objetivo hallar potenciales patógenos o sus toxinas para ser usados como micoherbicidas (Robeson y Strobel, 1982; Chiang et al., 1989; Del Serrone y Fornasari, 1992; Arber et al., 2015). El TF fue detectado en sorgo de Aleppo, cuando se hallaba como maleza en cultivos de maíz, sorgo y poroto en LC, maíz en SD, viñedos, citrus, mango, huerta, zanjas y bordes de caminos (Vega et al., 1995). En Cuba, se identificaron las especies *Exserohilum turcicum*, *E. frumentacei* y *E. monoceras*, siendo las dos últimas las más agresivas halladas en áreas de producción (Echemendía, 2005).

La morfometría de las estructuras fúngicas de *E. turcicum* sería insuficiente si no se asocia en forma directa con los denominados tizones típicos, ya que éstos son muy diferentes cuando los ocasionan otros géneros cercanos de la familia Dematiáceas. Las medidas de los conidióforos y conidios del hongo obtenidos de maíz coincidieron con las halladas por Ellis (1971) y Sivanesan (1987) quienes describieron conidióforos solitarios o en pequeños grupos de hasta 300 µm de longitud por 8 a 10 µm de ancho y conidios con 4 a 9 distoseptas, de 50 a 144 x 18 a 33 µm de longitud y ancho, respectivamente, con un hilo protuberante y germinación por los polos. En Argentina, Fernández Valiela (1979) realizó descripciones similares, y al igual que en este trabajo los conidios se formaban en el ápice o lateralmente sobre los conidióforos y germinaban por ambos extremos. La morfología de conidios de aislamientos de Argentina y Brasil fue diferente posiblemente debido a los sustratos utilizados, edad de la colonia y principalmente, a la variabilidad genética (De Rossi et al., 2015b).

El patosistema *Exserohilum turcicum*-maíz es uno de los más estudiados en Argentina en la última década y desde 2010 se incrementó marcadamente el número de publicaciones referidas a distribución geográfica, comportamiento de híbridos de maíz, control químico, momentos de aplicación y principios activos (Couretot, 2009; Formento, 2010; De Rossi et al., 2010a y 2010b; Díaz et al., 2012; Sillon, 2012; Couretot et al., 2012 y 2013b; Formento et al., 2012; Formento y Velazquez, 2013; Formento et al., 2014b; Parisi et al. 2015b). Además, se caracterizaron aislamientos, se realizaron estudios de insensibilidad del hongo a fungicidas, importancia de la semilla como medio de sobrevivencia y diseminación, velocidad de crecimiento de lesiones, control biológico y caracterización fenotípica y molecular (De Rossi, 2012; Argaraña et al., 2014; De Rossi et al, 2015a y 2015b; Sartori et al., 2015, 2017a, 2017b; Macagno, 2015; Macagno et al., 2015a y 2015b).

Las medidas promedio de longitud y ancho determinadas en este trabajo fueron similares a las determinadas en México (Orduño-Cota, 2014), en Argentina y Brasil (De Rossi et al., 2015b) y en China (Tang, 2015)

El micelio, conidióforos y conidios de *E. turcicum* obtenidos de **sorgo** fueron similares en su morfología y germinación por una o ambas células polares, raramente por células intermedias a lo hallado por Aden (1991) y Ramathani (2010). Aun cuando la longitud de los conidios fue similar a la determinada en India (Aden, 1991), fueron parcialmente coincidentes con las definidas por otros autores como Frederiksen y Ovdovy (2000) y Ramathani (2010).

La enfermedad fue citada por primera vez en India por Butler en 1918 y en EE.UU., Argentina, México e Israel según Durga et al. (2001). A nivel mundial, es la enfermedad más limitante del cultivo de sorgo y en híbridos susceptibles las pérdidas pueden ser superiores al 70% (Ramathani, 2010). En Brasil, se observó un aumento significativo del TF en sorgo forrajero con pérdidas superiores al 40% como resultado de la reducción de la materia verde y de la calidad, asociadas a las extensas áreas foliares necrosadas (Cota et al., 2010). En Argentina, desde 1939 a 1976 el hongo que afectaba sorgo se denominó *Helminthosporium turcicum* Pass., y se consideró que causaba una enfermedad de menor importancia (Frezzi y Teyssandier, 1978). Sin embargo, Cordes y Pérez (2015) lo mencionan en la región central de Argentina afectando 50% de los híbridos sobre un total de 60 híbridos comerciales de gran difusión y precomerciales.

La diferenciación de los géneros *Exserohilum*, *Drechslera*, *Bipolaris* y *Curvularia* que están muy relacionados se basa en una combinación de caracteres morfológicos como la forma del conidio, presencia o ausencia de hilo protuberante truncado, contorno de la

porción basal del conidio y su hilo, punto de origen y crecimiento del tubo germinativo de la célula basal y con menor importancia, secuencia, ubicación de las primeras tres septas y progreso del desarrollo de las mismas en conidios maduros. De allí que las especies denominadas “helmintospóricas” se distinguen por presentar un hilio (sinónimo: hilum) prominente, que aunque es un carácter estable para todas las especies de *Exserohilum*, su estabilidad puede ser modificada por diferentes condiciones, especialmente por la temperatura. El género muestra diferencias en la germinación de los conidios, estableciéndose que posee germinación bipolar (Sisterna, 1984; Sivanesan, 1987; Sasse, 2008; Cardona y González, 2008; Refai y El-Yazid, 2014; Kutawa et al., 2017), contrariamente a lo hallado en este trabajo donde se demostró que puede ser uni o bipolar en porcentajes aproximadamente similares.

Se han citado más de 20 especies de *Exserohilum*, entre ellas *E. curvatum*, *E. echinochloae*, *E. frumentacei*, *E. geradefense*, *E. rostratum*, *E. heteropogonicola*, *E. holmii*, *E. inaequale*, *E. longirostratum*, *E. minor*, *E. monoceras*, *E. oryzae*, *E. oryzicola*, *E. oryzinum*, *E. paspali*, *E. pedicellatum*, *E. prolatum*, *E. sorghicola*, *E. turcicum* y una especie no determinada. Los conidios de *E. turcicum* son fusoidales, con 1 a 12 septas, hasta 150 µm de longitud, sin embargo en maíz también se mencionaron *E. pedicellatum* y *E. prolatum* (Sivanesan, 1987). Según Mena Portales (2004), todos los *Exserohilum* pueden ser patógenos, parásitos secundarios o saprófitos de poáceas cultivadas o silvestres. Recientemente se han identificado 35 especies, la mayoría patógenas sobre 1.660 plantas superiores y algunas ocasionan diversas patologías en el hombre y animales (Da Cunha, 2014).

Conclusiones

La enfermedad del maíz denominada tizón foliar ocasionada por el hongo *Exserohilum turcicum* está presente en toda la región núcleo y extra-pampeana de la Argentina, incluida la provincia de Entre Ríos.

El tizón foliar por *Exserohilum turcicum* es una enfermedad con alta prevalencia, incidencia y severidad en los híbridos de maíz más sembrados.

La descripción precisa de los síntomas del tizón foliar del maíz por infecciones naturales indica una alta probabilidad de alcanzar un diagnóstico cierto de los mismos a campo.

Los síntomas a campo del tizón foliar son de fácil reconocimiento en los cultivos de maíz, sorgo y sorgo de Alepo y presentan aspectos morfométricos básicos estables. Existen

algunas características particulares relacionadas con los estados fenológicos del cultivo, el ambiente y las reacciones de hipersensibilidad de los híbridos de maíz.

Los síntomas del tizón foliar en sorgo y en sorgo de Alepo a campo, son similares a los de maíz siempre con halos marcados rojizos o color púrpura.

SECCIÓN II

ESTUDIOS DE LA FASE PARASÍTICA DE LA INTERACCIÓN PLANTA – PATÓGENO – AMBIENTE. *ESTUDIOS EN CONDICIONES DE CAMPO (INFECCIONES NATURALES)*

CAPÍTULO 3

OBJETIVO 3

COMPORTAMIENTO DE HÍBRIDOS COMERCIALES Y PRECOMERCIALES DE MAÍZ A LA MANCHA OCULAR (*Kabatiella zae*) Y AL TIZÓN FOLIAR (*Exserohilum turcicum*)

SECCIÓN II. ESTUDIOS DE LA FASE PARASÍTICA DE LA INTERACCIÓN PLANTA – PATÓGENO – AMBIENTE. ESTUDIOS EN CONDICIONES DE CAMPO (INFECCIONES NATURALES)

CAPÍTULO 3. Objetivo 3. COMPORTAMIENTO DE HÍBRIDOS COMERCIALES Y PRECOMERCIALES DE MAÍZ A MANCHA OCULAR (*Kabatiella zae*) Y A TIZÓN FOLIAR (*Exserohilum turcicum*)

Introducción

Las enfermedades vegetales ocasionan pérdidas a los cultivos como ocurre con la MO y el TF del maíz, causadas por los hongos *K. zae* y *E. turcicum*, respectivamente. Una de las herramientas de manejo de las enfermedades es el control genético con híbridos de maíz resistentes o de buen comportamiento. Existe información insuficiente con respecto a las pérdidas ocasionadas por MO y si aunque limitada para TF. La disminución del rendimiento por MO fue de 63% en un cultivar considerado resistente y 75%, en otro susceptible; en cultivos implantados con LC fueron de 20% y en LM, 34%, en este caso asociadas a la cantidad y descomposición del rastrojo (Reifschneider y Arny, 1983; Chinchilla López, 1987). Cuando se inocularon artificialmente genotipos y líneas avanzadas de maíz con *K. zae*, las pérdidas oscilaron entre 14 y 44%, pero fueron inferiores al 9% con infecciones naturales a campo (Melani y Carena, 2006); si las infecciones ocurren después del estadio de grano en madurez pastosa, la reducción del rendimiento es inferior a 5% (CAI, 2005). En la Argentina no hay información sobre daños y pérdidas de MO.

El TF, a nivel mundial ocasiona pérdidas variables asociadas a la susceptibilidad de los híbridos, entre otros factores. Se hallaron 4.300 kg/ha de diferencia en los rendimientos entre un híbrido resistente y uno susceptible (Ullstrup y Miles, 1957) y si las infecciones ocurren antes de la floración, las pérdidas se aproximaron al 50%. Sin embargo, cuando la severidad fue menor a 8%, no se registró una reducción del rendimiento (Pataky, 1992). Trabajos más recientes indican pérdidas de 45% cuando la severidad del TF osciló entre 32 y 69% (Durga et al., 2001); en India, se determinaron pérdidas entre 28 y 91% (Chandrashekara et al., 2014) y en Uganda, Kenia, Etiopía, Sudáfrica y Zambia de 60% (Nwanosike et al., 2014). La reducción del área foliar activa que produce el TF ocasiona un menor número de granos por espiga, más pequeños y de menor peso. Además, disminuye la calidad de la semilla, el contenido total de azúcar, la germinación y el valor nutritivo (Perkins y Pedersen, 1987). La enfermedad afecta plantas deficientes en nitrógeno y los daños son más severos en LC (Sarasola y Sarasola, 1981; Levy y Pataky, 1992; Adipala et

al., 1995). En la Argentina, el TF ocasiona pérdidas de 30% (Sarasola y Sarasola, 1981), en en el CN de Córdoba se registraron disminuciones del rendimiento de 40%, en los ciclos 2007/08 y 2008/09 (Guerra y De Rossi, 2010) y entre 20 y 45%, en el N. de Buenos Aires. Couretot et al. (2012) determinaron que por cada incremento del 1% de la severidad de la enfermedad, se pierden 40 kg de granos/ha. Se halló una correlación positiva entre la precocidad de los híbridos y la susceptibilidad a TF (Mueller y Pope, 2009). En 2010, la enfermedad afectó al 58% de los híbridos templados y el 60% de los híbridos tropicales (Sillon, 2011).

Actualmente, el manejo de las enfermedades debe definirse en un marco complejo con una fuerte exigencia social de sustentabilidad ambiental, donde es excluyente minimizar el uso de fitosanitarios. Si la resistencia genética es una de las técnicas preferenciales para el manejo de las enfermedades será necesario desarrollar genotipos de maíz resistente o tolerante a los principales patógenos. Es la manera más económica, simple y efectiva para minimizar el impacto de las pérdidas de rendimiento y calidad de granos. Sin embargo los patógenos, principalmente los hongos poseen la habilidad de adaptarse fácilmente a nuevos genotipos, a los cultivares más sembrados, a diversas condiciones ecológicas y a las prácticas culturales. Por otro lado, los hongos que causan enfermedades foliares en maíz poseen una gran cantidad de razas como las royas y tizones (Stanković et al., 2007).

En maíz, se conocen cuatro genes con cierto grado de dominancia y una heredabilidad de 75% que gobernarían la resistencia a *K. zeae* (Chiang et al., 1990) y se han determinado híbridos resistentes (Kirby, 1998; Sweets y Wright, 2008). En Brasil, en diferentes ciclos agrícolas evaluados diversos genotipos en dos épocas de siembra, en Paraná y Santa Catarina se hallaron híbridos susceptibles y resistentes. Los más resistentes se caracterizaron por poseer una mayor concentración de peroxidasa en las hojas (Camocheda, 2009). También, se hallaron cultivares resistentes con genes cuanti y cualitativos que actúan juntos o separados para *E. turcicum*. Los genes cualitativos *Ht1*, *Ht2*, *Ht3*, *Htn* y *Htm* son parcial o totalmente dominantes con un fuerte efecto fenotípico, pero podrían ser silenciados por genes virulentos presentes en razas específicas del patógeno (Abadi et al., 1989; Muiru et al., 2010). La resistencia poligénica (parcial) otorga resistencia a todas las razas, pero no es absoluta para cada una de esas razas. Por ejemplo, los genes *Ht1*, *Ht2*, *Ht3* y *HtN* confieren resistencia sólo a las razas específicas y pueden limitar el número, tamaño de la lesión y cantidad de esporas producidas.

El comportamiento genético de los cultivares de un cultivo determinado, se puede definir utilizando diversos parámetros, entre ellos la incidencia (I) de una enfermedad que

indica la proporción de plantas enfermas, que presentan al menos una mancha de *K. zeae* o un tizón de *E. turcicum*. La I es un valor objetivo, no registra el número total, ni el tamaño de las lesiones o el porcentaje de área enferma. En algunos casos, la I sería orientativa para conocer la posible reacción de los híbridos bajo condiciones climáticas conductivas. Sin embargo, la severidad (S) es subjetiva, depende del ojo del evaluador y representa el área foliar afectada, es decir los tejidos enfermos donde los procesos fisiológicos y bioquímicos relacionados con la formación del rendimiento, ocurren en forma anormal.

El momento de evaluar las enfermedades en un cultivo de maíz dependerá del objetivo del estudio, sin embargo los estadios fenológicos V10, R1, R3 y R4 son los momentos más frecuentemente seleccionados para determinar la importancia de las enfermedades foliares.

El objetivo del trabajo fue evaluar el comportamiento de híbridos comerciales o precomerciales a mancha ocular (MO) y a tizón foliar (TF) en condiciones de campo.

Materiales y métodos

La evaluación de las enfermedades foliares se realizó en base al protocolo de Evaluación de enfermedades foliares de maíz, que indica momentos, diseño, repeticiones y número de plantas u hojas a evaluar (Díaz, 2009).

En el ciclo agrícola 2010/11 se efectuó un muestreo exploratorio y una primera evaluación en Entre Ríos (ER) para estimar la complejidad y el requerimiento de tiempo. En los ciclos 2011/12, 2012/13, 2013/14 y 2014/15 se evaluaron diversos ensayos comparativos de rendimiento (ECR) de híbridos de maíz en Córdoba, Santa Fe, Buenos Aires y Entre Ríos, tanto en siembras tempranas (normales u óptimas) como en tardías (o de segunda).

Las franjas de los ECR poseían tamaño variable, 9, 18 o 36 surcos de ancho por 200 o 400 m de longitud; las evaluaciones siempre se iniciaron a partir de los 20 – 30 m de la cabecera de la franja, nunca en las borduras. La unidad de muestreo consistió en evaluar 10 plantas en general con 3 repeticiones ubicadas en diferentes surcos, caracterizando entre 20 o 30 plantas por cada híbrido. En pocos casos (Paraná, ciclo 2011/12) se evaluaron parcelas de 3 surcos de ancho distanciados a 0,52 m por 5 metros de longitud analizando 5 plantas por parcela y repetición, es decir un total de 20 plantas por híbrido.

En estadios vegetativos se analizaron todas las hojas completamente desplegadas, mientras que en estadios reproductivos se evaluaron tres hojas: hoja de la espiga principal (HE), hoja inmediata inferior (HE-1) e inmediata superior (HE+1). El número de híbridos en

cada ciclo y localidad fue variable y las evaluaciones se realizaron en diferentes estadios fenológicos según la escala de Ritchie et al. (1992).

La incidencia y severidad fueron los parámetros utilizados para determinar la intensidad de enfermedad siendo la $I (\%) = [(PE/PT) * 100]$ donde PE = plantas enfermas y PT = plantas totales. La severidad (S) de ambas enfermedades se determinó con escalas diagramáticas que expresan el porcentaje de tejido enfermo. Para la SMO se empleó la escala de Camochena et al. (2008) (**Figura 44**) y en el último ciclo 2014/15 se usó la escala de EPPO (2011) (**Figura 45**).

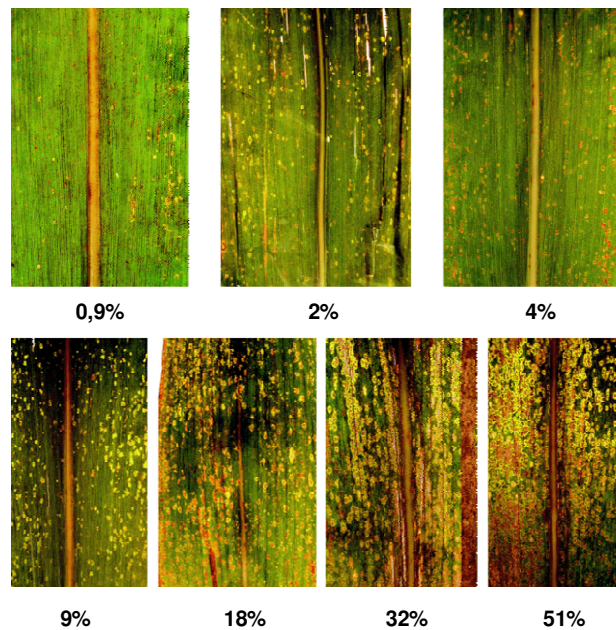


Figura 44. Escala de severidad de mancha ocular (*Kabatiella zeae*) del maíz.
Fuente: Camochena et al. (2008).

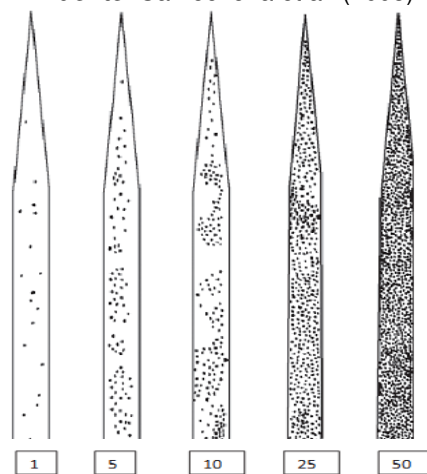


Figura 45. Escala de severidad de mancha ocular (*Kabatiella zeae*) del maíz.
Fuente: EPPO (2011).

Para la STF se empleó la escala de Bleicher (1988) (**Figura 46**).

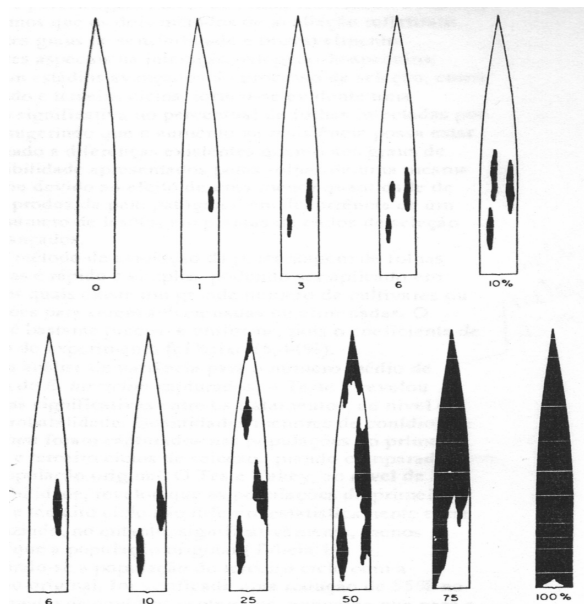


Figura 46. Escala de severidad de tizón foliar (*Exserohilum turcicum*) del maíz.
Fuente: Bleicher (1988).

Cuando los datos expresados en porcentaje no cumplan los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas serán transformados al arcoseno de la raíz cuadrada de x . Se analizarán con ANOVA y las medias de los híbridos serán comparadas con el test LSD al 5% con el programa estadístico Infostat versión 2016e (Di Rienzo et al., 2016).

Para la interpretación de los resultados, se considerarán híbridos de buen comportamiento a una u otra enfermedad, cuando los síntomas no superen ciertos umbrales de acción (UDA) o de intervención química fijados en forma arbitraria según el área de tejido enfermo. Para MO, se estableció que los híbridos de maíz de buen comportamiento no deben ser mayores al 4% de severidad de la escala de Camochena (Camochena et al., 2008) o no mayor a 1% de la escala de EPPO (EPPO, 2011). Para TF, un híbrido de buen comportamiento no debe superar una severidad del 3% de la escala de Bleicher (Bleicher, 1988).

Ciclo agrícola 2011/12

Ensayo 1. Diversos híbridos de maíz sembrados en fecha temprana en Villaguay (ER) se evaluaron en diferentes estadios fenológicos, entre V9 y V14 (16-11-2011).

Ensayo 2. Un total de 24 híbridos de maíz de un ECR en Paraná (ER) sembrados en fecha temprana (17-10-2011) fueron evaluados en tres momentos V9–V11 (05-12-2011), R2 (29-12-2011) y R4-R5 (27-01-2012).

Ensayo 3. En Paraná (ER) se evaluaron 56 híbridos comerciales y precomerciales de maíz sembrados el 05-10-2011 (siembra temprana) en estadíos reproductivos R2-R3 (06-01-2012).

Ensayo 4. En Victoria (ER) se evaluaron 29 híbridos de maíz sembrados el 03-09-2011 (siembra temprana) en estadíos vegetativos (24-11-2011) y reproductivos (18-01-2012).

Ensayo 5. En Fontezuela (Buenos Aires) se evaluaron 23 híbridos de maíz sembrados el 04-10-2011 (siembra temprana), en tres momentos V9-V11 (30-11-2011), R1-R2 (28-12-2011) y R4-R5 (25-01-2012).

Ensayo 6. En Corral de Bustos (Córdoba) se evaluaron 30 híbridos de maíz sembrados el 20-10-2011 (siembra temprana), en estadíos vegetativos (14-12-2011) y reproductivos (19-01-12).

Ensayo 7. En Venado Tuerto (Santa Fe) se evaluaron 37 híbridos de maíz sembrados el 24-10-2011 (siembra temprana) en estadíos vegetativos (13-12-2011) y reproductivos (18-01-2012).

Ensayo 8. En Victoria (ER), 28 híbridos de maíz sembrados el 04-01-2012 (siembra tardía) fueron evaluados en los estadíos reproductivos R3-R4 (03-04-2012).

Ciclo agrícola 2012/13

Ensayo 9. En una siembra temprana del 14-09-12 en Paraná (ER), se evaluaron 53 híbridos comerciales y experimentales de maíz en el estadio reproductivo R4 (26-12-12).

Ensayo 10. En Paraná (ER), 20 híbridos de maíz fueron sembrados el 20-10-12 (siembra tardía) y evaluados en tres estadíos fenológicos V9-V12 (29-11-12), VT-R1 (12-12-12) y R4 (04-01-13).

Ensayo 11. En una siembra tardía del 23-12-12 en Paraná (ER) se evaluaron 48 híbridos de maíz en el estadio reproductivo R4 (07-03-12).

Ensayo 12. En La Paz (ER), 26 híbridos de maíz sembrados el 09-01-2013 (siembra tardía), fueron evaluados en el estadio reproductivo R4 (15-04-13), en el ciclo agrícola 2012/13.

Ciclo agrícola 2013/14

Ensayo 13. En Diamante (ER), se sembraron 15 híbridos de maíz el 06-01-2014 (siembra tardía) y fueron evaluados en el estadio reproductivo R4 (03-04-14).

Ensayo 14. En San Gustavo, La Paz (ER) se evaluaron 30 híbridos de maíz sembrados el 09-01-2014 (siembra tardía) en el estadio reproductivo R3 (21-03-14).

Ensayo 15. En Oro Verde, Paraná (ER), 24 híbridos de maíz sembrados el 20-12-2013 (siembra tardía) fueron evaluados en el estadio reproductivo R4 (11-03-14).

Ensayo 16. En Pajonal, Victoria (ER) se evaluó un ECR con 24 híbridos de maíz sembrado el 23-12-2013 (siembra tardía) en el estadio fenológico R4 (13-03-14).

Ensayo 17. En Ombú, La Paz (ER) un ECR de 24 híbridos de maíz fue sembrado el 06-01-2014 (siembra tardía) y las evaluaciones se realizaron en el estadio reproductivo R4 (04-04-14).

Ciclo agrícola 2014/15

Ensayo 18. En el ciclo agrícola 2014/15 en La Picada, Paraná (ER) se evaluó un ECR de siembra tardía (02-01-2015) con 26 híbridos de maíz en el estadio reproductivo R4 (30-03-15).

Ensayo 19. En Colonia Ensayo, Diamante (ER), un ECR de 26 híbridos sembrado el 05-01-2015 (siembra tardía) fue evaluado en el estadio reproductivo R4 (31-03-15).

Ensayo 20. En Pajonal, Victoria (ER), un ECR de 25 híbridos de maíz sembrado el 05-01-2015 (siembra tardía) fue evaluado en el estadio reproductivo R4 (26-03-15).

Resultados

Ciclo agrícola 2011/12

Ensayo 1. No se registraron síntomas de MO. La ITF fue variable, hallándose diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,0001$) entre los híbridos; AX 882 y ARVALES 2194 mostraron un buen comportamiento y los más afectados fueron ARVALES 2189 y NK 920. En general, la STF fue baja con excepción de ARVALES 2180 que superó el 9% (**Tabla 21**).

Ensayo 2. En estadios vegetativos, la IMO osciló entre 90 y 100% hallándose diferencias estadísticas entre los híbridos, destacándose AX 887 como el de mejor comportamiento. La ITF y la STF fueron bajas, pero esta última mostró diferencias estadísticas significativas ($\leq 0,05$) lo que permitió caracterizar los híbridos frente a la enfermedad. DM 2741, LT 626, PLATINO 220, SPS 2879 y AD 615 mostraron buen comportamiento a TF. En 19 híbridos (79%) se registraron ambas enfermedades (**Tabla 22**).

Tabla 21. Incidencia (ITF) y severidad de tizón foliar (STF) por *Exserohilum turcicum* en estadios fenológicos (EF) vegetativos. Siembra temprana. Villaguay (Entre Ríos). Ciclo 2011/12

HÍBRIDO	EF	ITF (%)	STF (%)
ARV 2180	V10 - V14	100,0 d	9,1 b
NK 920	V11 - V12	73,3 d	0,3 a
DK 670	V10	33,3 c	0,1 a
DK 670	V9	13,3 bc	0,1 a
DK 670	V9	16,7 bc	0,1 a
P 1979 Y	V10	13,3 b	0,1 a
AX 882	V9	0,0 a	0,0 a
ARV 2194	V9	0,0 a	0,0 a

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Tabla 22. Incidencia de mancha ocular (IMO) por *Kabatiella zea*, incidencia (ITF) y severidad (STF) de tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en estadios fenológicos (EF) vegetativos. Siembra temprana. Paraná (Entre Ríos). Ciclo 2011/12

HIBRIDO	EF	IMO (%)	ITF (%)	STF (%)	HIBRIDO	EF	IMO (%)	ITF (%)	STF (%)
SPS 2866	V10	100 b	10,0 a	0,1 bcd	ARV 2180	V10	100 b	10,0 a	0,1 bcd
DM 2741	V9	100 b	0,0 a	0,0 d	P 2053 Y	V9	100 b	6,7 a	0,1 bcd
ARV 2310	V9	100 b	16,7 a	0,3 a	NK 880	V10	100 b	10,0 a	0,1 bcd
ACA 470	V9	100 b	3,3 a	0,1 bcd	DM 2738	V9	100 b	6,7 a	0,1 bcd
LT 626	V10	100 b	0,0 a	0,0 d	ACA 472	V10	100 b	10,0 a	0,1 bcd
DOW M 515	V10	100 b	3,3 a	0,1 bcd	SPS 2879	V11	100 b	0,0 a	0,0 d
NK 900	V10	100 b	3,3 a	0,1 bcd	DOW M 510	V10	100 b	6,7 a	0,1 bcd
AX 886	V10	100 b	3,3 a	0,1 bcd	NK 860	V10	100 b	6,7 a	0,1 bcd
PLATINO 220	V10	100 b	0,0 a	0,0 d	AD 615	V9	100 b	0,0 a	0,0 d
P 1845 Y	V10	100 b	20,0 a	0,2 ab	NK 900	V10	96,7 b	13,3 a	0,1 bcd
BIOMAIZ 620	V10	100 b	13,3 a	0,3 a	AD 621	V9	96,7 b	10,0 a	0,1 bcd
LT 621	V10	100 b	3,3 a	0,1 bcd	AX 887	V10	90 a	6,7 a	0,1 bcd

Letras iguales entre híbridos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Ensayo 3. No se detectaron síntomas de MO. La ITF osciló entre 0 y 25% con diferencias estadísticas significativas ($\leq 0,05$) entre los híbridos, los que en general mostraron buen comportamiento a la enfermedad (**Tabla 23**).

Tabla 23. Incidencia de tizón foliar (ITF) por *Exserohilum turcicum* en estadios fenológicos (EF) reproductivos. Siembra temprana. Paraná (Entre Ríos). Ciclo 2011/12.

HÍBRIDO	EF	ITF (%)	HÍBRIDO	EF	ITF (%)
SPS 2879	R3	25 a	DM 2738	R3	0 d
KM 3701	R3	15 ab	I 893	R3	0 d
ACA Exp EME 1	R3	15 ab	AX 886	R2-R3	0 d
Exp 4579	R3	10 b	AX 852	R3	0 d
ARV Exp 155	R3	10 b	AX 887	R3	0 d
AG 7001	R2-R3	10 b	AX 881	R3	0 d
KM 4350	R3	10 b	AD 615	R3	0 d
DK 692	R2-R3	10 b	AD 621	R3	0 d
ACA 470	R3	10 b	Exp 48479	R3	0 d
SW 5148	R2	10 b	Biomaíz 620	R3	0 d
I 898	R3	5 c	ARV 2180	R3	0 d
I 880	R2-R3	5 c	AG 9009	R3	0 d
ARV 2194	R3	5 c	AG 9006	R2-R3	0 d
ARV 2310	R3	5 c	AG Exp VC9	R3	0 d
BG 6506 I	R2-R3	5 c	AG Exp 167	R2-R3	0 d
DOW M 510	R3	5 c	BG 6502 I	R3	0 d
KM 4321	R3	5 c	DOW 2 A 120	R2-R3	0 d
KM 4020	R3	5 c	DOW 2 K 562	R2	0 d
KM 3601	R3	5 c	DOW M 515	R3	0 d
AI 7405	R2-R3	5 c	DUO 565	R2	0 d
SRM 553	R3	5 c	ACA Exp 896	R3	0 d
ACA 472	R3	5 c	NK 910	R3	0 d
ACA 467	R2-R3	5 c	NK 860	R3	0 d
ACA Exp EME 2	R3	5 c	NK 900	R3	0 d
ACA 496	R3	5 c	NK 880	R3	0 d
SPS 2866	R3	5 c	RSM 223	R3	0 d
SW 5147	R2-R3	5 c	DK 747	R3	0 d
DM 2741	R3	0 d	DK 190	R3	0 d

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Ensayo 4. No se detectó MO y la ITF fue muy baja, entre 0 y 0,2% (**Tabla 24**). No se realizó análisis estadístico.

Tabla 24. Incidencia de tizón foliar (ITF) por *Exserohilum turcicum* en estadios fenológicos (EF) vegetativos. Siembra temprana. Victoria (Entre Ríos). Ciclo 2011/12

HÍBRIDO	EF	ITF (%)	HÍBRIDO	EF	ITF (%)
SPS 2879	V11	0,2	DOW 510	V11	0,0
P 2049	V10	0,2	DOW 515	V11	0,0
BIO 620	V12	0,0	P 1979	V10	0,0
DK 17307	V11	0,0	P 1845	V10	0,0
P 38 W 22	V13	0,0	ARV Exp. 155	V10	0,0
P 39 B 77	VT	0,0	ARV 180	V11	0,0
P 2053 Y	V11	0,0	ARV 2194	V10	0,0
AX 887	V11	0,0	ARV 2310	V12	0,0
AX 886	V11	0,0	DM 2741	V11	0,0
AX 870	V11	0,0	DM 2738	V13	0,0
AX 852	V11	0,0	SRM 553	V11	0,0
AX 881	V11	0,0	SRM 565	V11	0,0
SPS 2736	V11	0,0	DK 692	V11	0,0
NK 860	V11	0,0	DK 17045	V10	0,0
NK 900	V11	0,0			

Sin embargo en estadíos reproductivos, el 62% de los híbridos fueron afectados con valores de ITF entre 0 y 23,3%, que permitió diferenciarlos estadísticamente. La STF osciló entre 0 y 0,6%, sin diferencias estadísticas entre híbridos. Considerando ambos parámetros, se destacaron AX 887, AX 886, AX 852, SPS 2736, NK 860, P 1979, ARV 2194, ARV 2310, DM 2741, SRM 565 y DK 17037 (**Tabla 25**).

Tabla 25. Incidencia (ITF) y severidad (STF) por *Exserohilum turcicum* en estadíos fenológicos (EF) vegetativos y reproductivos. Siembra temprana. Victoria (Entre Ríos). Ciclo 2011/12

HÍBRIDO	EF	ITF (%)	STF (%)	HÍBRIDO	EF	ITF (%)	STF (%)				
P 38 W 22	R3	23,3	a	0,4	a	P 2049	R2	3,3	cd	0,2	a
AX 881	R2	16,7	ab	0,3	a	SRM 553	R1	3,3	cd	0,1	a
ARV 180	R1	13,3	abc	0,6	a	DK 692	R1	3,3	cd	0,2	a
NK 900	VT	6,7	bcd	0,2	a	AX 887	R2	0	d	0	a
DOW 515	R1	6,7	bcd	0,3	a	AX 886	R1	0	d	0	a
P 1845	R1	6,7	bcd	0,1	a	AX 852	R2	0	d	0	a
ARV Exp. 155	R1	6,7	bcd	0,2	a	SPS 2736	R1	0	d	0	a
DM 2738	R1	6,7	bcd	0,1	a	NK 860	VT	0	d	0	a
BIO 620	R1	6,7	bcd	0,2	a	P 1979	R1	0	d	0	a
DK 17045	VT	6,7	bcd	0,1	a	ARV 2194	R2	0	d	0	a
P 39 B 77	R3	3,3	cd	0,1	a	ARV 2310	R1	0	d	0	a
P 2053 Y	R1	3,3	cd	0,1	a	DM 2741	R1	0	d	0	a
AX 870	R1	3,3	cd	0,1	a	SRM 565	VT	0	d	0	a
SPS 2879	R1	3,3	cd	0,2	a	DK 17307	R1	0	d	0	a
DOW 510	R1	3,3	cd	0,1	a						

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Ensayo 5. Se detectaron ambas enfermedades con bajos niveles, sólo en estadíos vegetativos. Los híbridos NK 910, DM 2738 y NK 900 presentaron solamente MO y DK 670, Arvales 2310 y P 2049 sólo TF. En el híbrido P 2049 se observaron reacciones de hipersensibilidad (RH) a TF (**Tabla 26**).

Ensayo 6. La IMO osciló entre 0 y 80%; un 57% de los híbridos se comportaron muy bien ya que no presentaron síntomas, mientras que un 27% (8 híbridos) registraron una IMO superior a 40% detectándose diferencias estadísticas significativas ($<0,0001$) entre los mismos. Los valores de ITF y STF fueron bajos, sin detectarse diferencias entre los híbridos. Los híbridos comerciales P 2069, P 2053, ARVALES 2194, SRM 566, SRM 553, X 613 Y y los precomerciales, X18A17H y X18B123H no presentaron síntomas. Los híbridos comerciales SRM 539, Y 5119, DK 692 y DK 190 presentaron ambas enfermedades (**Tabla 27**).

Tabla 26. Incidencia de mancha ocular (IMO) por *Kabatiella zaeae*, incidencia (ITF) y severidad de tizón foliar (STF) por *Exserohilum turcicum* en estadios fenológicos (EF) vegetativos. Siembra temprana. Fontezuela (Buenos Aires). Ciclo 2011/12.

HIBRIDO	EF	IMO (%)	ITF (%)	STF (%)	HIBRIDO	EF	IMO (%)	ITF (%)	STF (%)
DM 2738	V10	6,7	0,0	0,0	DK 747	V9	0,0	0,0	0,0
NK 910	V10	3,3	0,0	0,0	P 2053	V9	0,0	0,0	0,0
NK 900	V10	3,3	0,0	0,0	DK 692	V9	0,0	0,0	0,0
DK 670	V10	0,0	0,0	0,0	EM 9031	V10	0,0	0,0	0,0
AR 2180	V9	0,0	0,0	0,0	AX 870	V11	0,0	0,0	0,0
NK 860	V9	0,0	0,0	0,0	P 1845	V9	0,0	0,0	0,0
AX 852	V10	0,0	0,0	0,0	AI 7405	V9	0,0	0,0	0,0
AR 2310	V10	0,0	3,3	0,1	DOW M 510	V10	0,0	0,0	0,0
P 2049 Y	V10	0,0	3,3	0,2	DK 670	V10	0,0	0,0	0,0
DK 670	V10	0,0	3,3	0,2	P 2069	V11	0,0	0,0	0,0
AX 887	V10	0,0	0,0	0,0	AI 7308	V11	0,0	0,0	0,0

Tabla 27. Incidencia de mancha ocular (IMO) por *Kabatiella zaeae*, incidencia (ITF) y severidad (STF) de tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en estadios fenológicos (EF) vegetativos. Siembra temprana. Corral de Bustos (Córdoba). Ciclo 2011/12

HIBRIDO	EF	IMO (%)	ITF (%)	STF (%)	HIBRIDO	EF	IMO (%)	ITF (%)	STF (%)						
SRM 539	V9	80,0	a	3,3	a	0,1	a	P 2069	V9	0,0	d	0,0	a	0,0	a
Y 5112	V10	76,7	ab	0,0	a	0,0	a	P 1845	V9	0,0	d	3,3	a	0,1	a
AI 7308	V10	70,0	ab	0,0	a	0,0	a	X18A158Y	V9	0,0	d	3,3	a	0,1	a
DK 747	V10	60,0	bc	0,0	a	0,0	a	X18A159Y	V9	0,0	d	3,3	a	0,1	a
Y 5119	V10	53,3	c	3,3	a	0,1	a	P 2053	V9	0,0	d	0,0	a	0,0	a
DK 670	V10	53,3	c	0,0	a	0,0	a	P 2049 Y	V9	0,0	d	6,7	a	0,1	a
DK 692	V9	53,3	c	3,3	a	0,1	a	X18A172H	V9	0,0	d	0,0	a	0,0	a
SRM 565	V10	46,7	c	0,0	a	0,0	a	X18A183H	V10	0,0	d	3,3	a	0,1	a
BG 6502 Y	V9	6,7	d	0,0	a	0,0	a	ARV 146	V10	0,0	d	6,7	a	0,1	a
X18B144YNMC	V9	3,3	d	0,0	a	0,0	a	ARV 2194	V10	0,0	d	0,0	a	0,0	a
X18A178Y	V10	3,3	d	0,0	a	0,0	a	ARV 2180	V10	0,0	d	3,3	a	0,1	a
DK 190	V11	3,3	d	6,7	a	0,1	a	ARV 2310	V10	0,0	d	6,7	a	0,1	a
W607Y	V10	3,3	d	0,0	a	0,0	a	W613Y	V10	0,0	d	0,0	a	0,0	a
X18B123H	V10	0,0	d	0,0	a	0,0	a	SRM 566	V9	0,0	d	0,0	a	0,0	a
P 1979	V11	0,0	d	3,3	a	0,1	a	SRM 553	V9	0,0	d	0,0	a	0,0	a

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Ensayo 7. No se registró MO. Sólo el 11% de los híbridos fue afectado con una baja ITF, que osciló entre 0 y 3,3% en estadíos vegetativos. Los niveles de enfermedad muy bajos no permitieron definir comportamiento de los híbridos (**Tabla 28**).

Tabla 28. Incidencia (ITF) por *Exserohilum turcicum* en estadíos fenológicos (EF). Siembra temprana. Venado Tuerto (Santa Fe). Ciclo 2011/12

HIBRIDO	EF	ITF (%)	HIBRIDO	EF	ITF (%)
AX 870	V10	3,3	DM 2741	V10	0,0
P 1845 Y	V10	3,3	AX 881	V9	0,0
DM 2738	V10	3,3	AX 886	V10	0,0
ARV 2180	V11	3,3	AX 887	V10	0,0
DK 747	V9	0,0	ARV 2194	V10	0,0
BG 6502	V10	0,0	ARV 2310	V11	0,0
M 510	V10	0,0	EXP AR 155	V9	0,0
DK 692	V11	0,0	BG 6506 Y	V9	0,0
DK 747	V10	0,0	W 607 Y	V10	0,0
AI 7108	V11	0,0	W 613 Y	V10	0,0
AI 7308	V10	0,0	MAVERA 400	V11	0,0
AI 7405	V9	0,0	KM 4321	V10	0,0
P 2053 Y	V10	0,0	NK 860	V11	0,0
P 2053 Y	V9	0,0	NK 900	V10	0,0
P 2069 Y	V9	0,0	NK 910	V11	0,0
X-18A159Y	V9	0,0	NK SU 9919	V11	0,0
X-18A178Y	V11	0,0	NK SU 993	V10	0,0
DM 2771	V9	0,0	NK NX 9918	V10	0,0
DM 2740	V10	0,00			

Ensayo 8. No se observó la presencia de MO. Sin embargo, se registraron altos valores de ITF y STF que afectaron a todos los híbridos, hallándose diferencias estadísticas significativas (<0,0001) en ambos parámetros. Los híbridos con baja ITF y STF fueron DOW 510, ARV 2194, AX 887, AX 852, AX 870 y SRM 553. Con una ITF moderada y una STF menor al 3%, se destacaron AX 881, DM 2741, SRM 565, AX 886, DOW 515, NK 860, AI 7405 y SPS 2789, todos de muy buen comportamiento a la enfermedad (**Tabla 29**).

Ensayo 9. Sólo se detectó la presencia de TF en tres híbridos con una ITF máxima del 5% y una STF muy baja (**Tabla 30**).

Tabla 29. Incidencia (ITF) y Severidad (STF) de tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en estadios fenológicos (EF) reproductivos. Siembra tardía. Victoria (Entre Ríos). Ciclo 2011/12

HÍBRIDO	EF	ITF (%)	STF (%)	HÍBRIDO	EF	ITF (%)	STF (%)				
31Y05	R4	100,0	k	15,9	g	P 2069 Y	R3	60,0	fg hij	4,2	abc def
31Y05	R4	100,0	k	12,9	h	PANNAR	R3	56,7	efghi	3,6	abcde
ARV 2180	R4	100,0	k	14,4	h	AI 7405	R4	56,7	efghi	2,2	abc
DK 670	R3	100,0	k	20,9	i	SRM 565	R3	53,3	defgh	0,8	abc
DM 2738	R3	96,7	k	3,1	abcd	DM 2741	R3	53,3	defgh	0,7	abc
ARV 2310	R4	93,3	k	8,0	fg	SPS 2789	R3	50,0	cdefg	1,9	abc
DOW 515	R3	93,3	k	2,6	abc	AX 886	R3	46,7	bcdef	0,9	abc
SPS 2736	R3	83,3	jk	1,0	abc	AX 881	R4	33,3	abcde	0,5	abc
P 2049 Y	R3	80,0	ijk	7,4	efg	AX 870	R3	30,0	abcd	0,4	abc
ARV EXP 155	R3	80,0	ijk	6,8	defg	SRM 553	R3	26,7	abc	0,3	abc
AG 6905	R4	76,7	hijk	4,3	bcdef	DOW 510	R3	23,3	a	0,8	abc
AI 7308	R3	76,7	hijk	4,7	cdef	ARV 2194	R4	20,0	a	0,9	abc
P 2058 Y	R3	73,3	ghijk	3,8	abcde	AX 887	R4	10,0	a	0,1	abc
NK 860	R3	73,3	ghijk	2,0	abc	AX 852	R3	10,0	a	0,2	abc

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Tabla 30. Incidencia (ITF) y severidad (STF) de tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en estadio fenológico (EF) R4. Siembra temprana. Paraná (Entre Ríos). Ciclo 2012/13

HÍBRIDO	EF	ITF (%)	STF (%)	HÍBRIDO	EF	ITF (%)	STF (%)
NUEVA ERA	R4	5,0	0,4	ARV 2310	R4	0,0	0,0
ARV 2194	R4	5,0	0,3	KM 3601	R4	0,0	0,0
KM 4020	R4	5,0	0,1	KM 4400	R4	0,0	0,0
AX 852	R4	0,0	0,0	KM 4500	R4	0,0	0,0
AX 887	R4	0,0	0,0	SW 5147	R4	0,0	0,0
I 893	R4	0,0	0,0	SW 5148	R4	0,0	0,0
I 887	R4	0,0	0,0	DK 72-10	R4	0,0	0,0
I 880	R4	0,0	0,0	DK 692	R4	0,0	0,0
DOBLE TRACCIÓN	R4	0,0	0,0	DK 70-10	R4	0,0	0,0
MAXISILO	R4	0,0	0,0	CSM 2072	R4	0,0	0,0
SYN 9919	R4	0,0	0,0	SW Exp 5150	R4	0,0	0,0
SYN 840	R4	0,0	0,0	SW Exp 5149	R4	0,0	0,0
NK 900	R4	0,0	0,0	BIO 4579	R4	0,0	0,0
SPS 2866	R4	0,0	0,0	BIO 48479	R4	0,0	0,0
SPS 2879	R4	0,0	0,0	ACA 480	R4	0,0	0,0
SRM 566	R4	0,0	0,0	ACA 467	R4	0,0	0,0
SRM 563	R4	0,0	0,0	ACA 496	R4	0,0	0,0
BG 6502 Y	R4	0,0	0,0	ACA 470	R4	0,0	0,0
BIO MAÍZ 620	R4	0,0	0,0	ACA 468	R4	0,0	0,0
DOW 505	R4	0,0	0,0	ACA Exp EM	R4	0,0	0,0
DOW 510	R4	0,0	0,0	ACA 472	R4	0,0	0,0
LT 626	R4	0,0	0,0	DK 747	R4	0,0	0,0
LT 621	R4	0,0	0,0	DK 190	R4	0,0	0,0
LT 632	R4	0,0	0,0	Platino 220	R4	0,0	0,0
ARV 2180	R4	0,0	0,0	P 2053	R4	0,0	0,0
ARV 2155	R4	0,0	0,0	DM 2771	R4	0,0	0,0
DM 2738	R4	0,0	0,0				

Ciclo agrícola 2012/13

Ensayo 10. No se registró MO. Si bien, se detectó TF, la ITF y STF fueron muy bajas (**Tabla 31**).

Ensayo 11. No se registró MO. El TF afectó a más de un 54% de los híbridos con una ITF que alcanzó 30%, mientras que la STF registró valores muy bajos, inferiores al 1% (**Tabla 32**).

Tabla 31. Evolución de la Severidad (STF) del tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en híbridos de maíz en estadíos fenológicos (EF) vegetativos y reproductivos. Siembra temprana. Paraná (Entre Ríos). Ciclo 2012/13

HIBRIDO	29/11/2012		12/12/2012		04/01/2013	
	EF	STF (%)	EF	STF (%)	EF	STF (%)
NK 900	V10	0,0	R1	0,1	R4	0,1
KM 4500	V11	0,0	VT	0,0	R4	0,0
NK 840	V10	0,0	R1	0,0	R4	0,1
BIOMAIZ 620	V12	0,0	R1	0,0	R4	0,1
AX 887	V9	0,0	R1	0,0	R4	0,0
P 1845	V10	0,0	VT	0,1	R4	0,2
DOW 505	V11	0,0	R1	0,0	R4	0,0
NK 900	V8	0,0	R1	0,0	R4	0,1
ARV 2183	V12	0,0	R1	0,1	R4	0,0
PLATINO 220	V10	0,0	R1	0,0	R4	0,2
SPS 2879	V10	0,0	VT	0,0	R4	0,1
DM 2772	V12	0,0	R1	0,0	R4	0,0
KM 4321	V9	0,0	VT	0,0	R4	0,0
BIO 484738	V10	0,0	R1	0,0	R4	0,0
P 2053	V11	0,0	R1	0,0	R4	0,0
DM 2738	V10	0,1	VT	0,1	R4	0,2
SPS 2866	V12	0,0	R1	0,0	R4	0,0
ARV 2310	V12	0,0	R1	0,0	R4	0,0
DOW 510	V10	0,0	R1	0,0	R4	0,0
AX 852	V9	0,0	R1	0,0	R4	0,0

Ensayo 12. Se registraron altos niveles de TF, los más importantes en Entre Ríos desde el comienzo de los estudios sobre este hongo en 2011/12. La ITF promedio fue 99,6% y la STF osciló entre 3,4 y 81,8%. La STF presentó diferencias estadísticas altamente significativas ($<0,0001$) entre los híbridos. El 50% de los híbridos fueron susceptibles con valores superiores al 25% del área foliar afectada. Los híbridos de mejor comportamiento con un STF aproximada al 10% fueron DM 2771, AX 887 y AX 852 (**Tabla 33**).

Tabla 32. Incidencia (ITF) y severidad (STF) de tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en estadio fenológico (EF) R4. Siembra tardía. Paraná (Entre Ríos). Ciclo 2012/13

HÍBRIDO	EF	ITF (%)	STF (%)	HÍBRIDO	EF	ITF (%)	STF (%)				
BG 6502 Y	R4	30,0	a	0,8	a	ACA 467	R4	5,0	cd	0,0	a
NUEVA ERA	R4	20,0	ab	0,5	a	PLATINO 220	R4	5,0	cd	0,3	a
KM 3601	R4	20,0	ab	0,8	a	AX 852	R4	0,0	d	0,0	a
MAXISILO	R4	15,0	abc	0,2	a	AX 887	R4	0,0	d	0,0	a
SYN 860	R4	15,0	abc	0,2	a	I 893	R4	0,0	d	0,0	a
SYN 840	R4	15,0	abc	0,5	a	I 887	R4	0,0	d	0,0	a
SW Exp 5150	R4	15,0	abc	0,4	a	IO 1297	R4	0,0	d	0,0	a
NK 900	R4	10,0	abcd	0,6	a	I 880	R4	0,0	d	0,0	a
ARV 2180	R4	10,0	abcd	0,2	a	DOBLE TRACCIÓN	R4	0,0	d	0,0	a
ACA 472	R4	10,0	abcd	0,1	a	SRM 566	R4	0,0	d	0,0	a
SPS 2727	R4	5,0	cd	0,0	a	SRM 563	R4	0,0	d	0,0	a
BIO MAÍZ 620	R4	5,0	cd	0,0	a	DOW 510	R4	0,0	d	0,0	a
DOW 505	R4	5,0	cd	0,2	a	LT 621	R4	0,0	d	0,0	a
ARV 2155	R4	5,0	cd	0,3	a	ARV 2194	R4	0,0	d	0,0	a
KM 4400	R4	5,0	cd	0,1	a	KM 4020	R4	0,0	d	0,0	a
KM 4500	R4	5,0	cd	0,2	a	SW 5148	R4	0,0	d	0,0	a
SW 5147	R4	5,0	cd	0,2	a	DK 72-10	R4	0,0	d	0,0	a
DK 70-10	R4	5,0	cd	0,2	a	CSM 2072	R4	0,0	d	0,0	a
BIO 4579	R4	5,0	cd	0,5	a	SW Exp 5149	R4	0,0	d	0,0	a
BIO 48479	R4	5,0	cd	0,2	a	ACA 468	R4	0,0	d	0,0	a
ACA 496	R4	5,0	cd	0,3	a	ACA Exp EME3	R4	0,0	d	0,0	a
ACA 470	R4	5,0	cd	0,2	a	DM 2771	R4	0,0	d	0,0	a
DM 2738	R4	5,0	cd	0,2	a	DK 747	R4	0,0	d	0,0	a
ARV 2310	R4	5,0	cd	0,3	a	DK 190	R4	0,0	d	0,0	a

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Tabla 33. Incidencia (ITF) y Severidad (STF) de tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en estadio fenológico (EF) R4. Siembra temprana. La Paz (Entre Ríos). Ciclo 2012/13

HÍBRIDO	ITF (%)	STF (%)	HÍBRIDO	ITF (%)	STF (%)				
P 31Y05	100,0	a	71,7	k	ARV 2155	100,0	a	30,2	fg
DK 70-10	100,0	a	16,1	bc	ARV 2194	100,0	a	43,3	hij
DK 72-10	100,0	a	18,1	bcd	ARV 2180	100,0	a	49,7	ij
DM 2738	100,0	a	23,3	cdef	ARV 2310	100,0	a	81,7	l
P 2049	100,0	a	28,4	efg	SYN 969	100,0	a	51,7	j
P 1778	100,0	a	13,2	b	SYN 840	100,0	a	17,4	bcd
KWS 3601	100,0	a	37,3	gh	NK 900	100,0	a	72,7	k
KWS 4020	100,0	a	16,8	bc	SRM 563	100,0	a	14,6	bc
KWS 4400	100,0	a	19,4	bcde	2K 562	100,0	a	11,8	ab
KWS 4500	100,0	a	41,7	hi	DOW 505	100,0	a	31,8	fg
KWS 4321	100,0	a	43,0	hij	DOW 510	100,0	a	41,6	hi
AX 852	100,0	a	10,6	ab	SRM 566	96,7	a	25,7	def
AX 887	100,0	a	3,6	a	DM 2771	93,3	a	3,4	a

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Ciclo agrícola 2013/14

Ensayo 13. El 100% de los híbridos fueron afectados con alta ITF y la STF fue variable, hallándose diferencias estadísticas significativas ($<0,0001$). Los híbridos de mejor comportamiento a TF fueron ADV 7822, P 1833, ADV 8112, SYN 860, SYN 840, DOW 505, DOW 508 y DOW 510 (**Tabla 34**).

Ensayo 14. No se observó MO. Se registraron ITF entre 0 y 86,7% y una STF entre 0 y 2%, con diferencias estadísticas significativas entre los híbridos para ambos parámetros. Los híbridos DM 2771, AX 7822, DOW 505, DOW 562 y DK 73-10 fueron los de mejor comportamiento a TF (**Tabla 35**).

Tabla 34. Incidencia (ITF) y severidad (STF) de tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en el estadio fenológico (EF) R4. Siembra temprana. Colonia Ensayo, Diamante (Entre Ríos). Ciclo 2013/14.

HÍBRIDO	EF	ITF (%)		STF (%)	
ACA 470	R4	100,0	c	25,0	g
ACA 498	R4	100,0	c	10,7	f
ARV 2155	R4	100,0	c	14,2	f
DOW 505	R4	100,0	c	2,5	cde
SYN 900	R4	100,0	c	14,1	f
DOW 508	R4	93,3	bc	2,1	bcd
DK 72-10	R4	86,7	bc	4,9	e
SYN 840	R4	86,7	bc	1,7	bcd
ACA 474	R4	80,0	bc	4,3	de
ARV 2194	R4	80,0	bc	3,5	de
DOW 510	R4	80,0	bc	2,5	cde
SYN 860	R4	73,3	b	0,7	abc
ADV 8112	R4	46,7	a	0,2	a
P 1833	R4	46,7	a	0,5	ab
AX 7822	R4	33,3	a	0,7	abc

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Ensayo 15. Se registró un 75% de híbridos afectados por MO y un 100% por TF, hallándose diferencias estadísticas entre los mismos ($<0,0001$). Los híbridos enfermos presentaron una baja SMO y los híbridos ACA 496, SPS 2727, KM 4500, KM 4360, LG 30820 e I 767 no presentaron síntomas. La STF fue baja, destacándose los híbridos EXP. IV 66, DM 2771, SRM 553, DOW 562 e I 767. Este último, mostró un buen comportamiento a ambas enfermedades (**Tabla 36**).

Tabla 35. Incidencia (ITF) y Severidad (STF) de tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en estadio fenológico (EF) R4. Siembra tardía. San Gustavo, La Paz (Entre Ríos). Ciclo 2013/14

HÍBRIDO	EF	ITF (%)		STF (%)		HÍBRIDO	EF	ITF (%)		STF (%)	
NK 900	R4	90,0	k	1,9	no	LT 621	R4	40,0	defgh	0,1	abcdefg
ARV 2155	R4	86,7	jk	2,0	o	KM 4400	R4	36,7	cdefg	0,1	abcdefg
SYN 860	R4	83,3	jk	1,0	ijklm	LT 626	R4	36,7	cdefg	0,3	efghij
KM 4321	R4	73,3	ijk	1,0	ijklm	SYN 969	R4	33,3	cdef	0,2	bcdefg
DM 2738	R4	70,0	hikk	1,0	ijklm	KM 4500	R4	30,0	cde	0,1	abcdefg
ARV 858	R4	63,3	fghij	0,3	efghij	AX 852	R4	30,0	cde	0,3	efghij
P 2049	R4	63,3	fghij	0,7	hijklm	SRM 566	R4	30,0	cde	0,2	bcdefg
P 1780	R4	53,3	efghi	1,1	lmn	P 155	R4	26,7	cde	0,1	abcdefg
AX 887	R4	50,0	efghi	0,1	abcdefg	DM 2741	R4	23,3	bcd	0,4	ghijkl
SYN 840	R4	50,0	efghi	0,8	ijklm	DOW 510	R4	23,3	bcd	0,1	abcdefg
LT 623	R4	46,7	defghi	0,4	ghijkl	DOW 505	R4	16,7	bcd	0,1	abcdefg
SRM 563	R4	46,7	defghi	0,2	bcdefg	AX 7822	R4	13,3	abc	0,1	abcdefg
SPS 2727	R4	43,3	defghi	0,1	abcdefg	DK 73-10	R4	3,3	ab	0,1	abcdefg
DK 72-10	R4	40,0	defgh	0,2	bcdefg	DOW 562	R4	3,3	ab	0,1	abcdefg
DK 747	R4	40,0	defgh	0,3	efghij	DM 2771	R4	0,0	a	0,0	a

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Tabla 36. Incidencia (IMO) y severidad (SMO) de mancha ocular por *Kabatiella zaeae*; incidencia (ITF) y severidad (STF) de tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en estadio fenológico (EF) R4. Siembra tardía. Oro Verde, Paraná (Entre Ríos). Ciclo 2013/14

HÍBRIDO	EF	IMO (%)		SMO (%)		ITF (%)		STF (%)		HÍBRIDO	EF	IMO (%)		SMO (%)		ITF (%)		STF (%)	
PAN 4842	R4	40,0	d	0,1	a	50,0	cdef	0,4	defg	SYN 900	R4	5,0	ab	0,1	a	65,0	def	1,0	h
EXP. IV 66	R4	35,0	bcd	0,1	a	10,0	ab	0,1	ab	SYN 860	R4	5,0	ab	0,1	a	35,0	bcd	0,2	abcde
DM 2771	R4	35,0	bcd	0,1	a	5,0	a	0,1	a	SPS 2756	R4	5,0	ab	0,1	a	30,0	abc	0,2	abc
DOW 505	R4	30,0	cd	0,1	a	75,0	f	0,6	fgh	KM 4020	R4	5,0	ab	0,1	a	45,0	cde	0,3	bcdefg
SRM 563	R4	25,0	bcd	0,1	a	30,0	bcd	0,1	abcd	DOW 562	R4	5,0	ab	0,1	a	5,0	a	0,1	a
SYN 840	R4	15,0	abcd	0,1	a	25,0	abc	0,1	abc	AX 852	R4	5,0	ab	0,1	a	25,0	abc	0,1	abc
SRM 553	R4	15,0	abcd	0,1	a	10,0	ab	0,1	ab	ACA 496	R4	0,0	a	0,0	a	25,0	bc	0,1	abcd
I 797	R4	15,0	abcd	0,1	a	40,0	cd	0,2	bcdef	SPS 2727	R4	0,0	a	0,0	a	80,0	ef	1,8	i
ACA 498	R4	10,0	abc	0,1	a	50,0	cdef	0,4	cdefg	KM 4500	R4	0,0	a	0,0	a	65,0	def	0,6	gh
DOW 510	R4	10,0	abc	0,1	a	40,0	cd	0,1	abcd	KM 4360	R4	0,0	a	0,0	a	55,0	cdef	0,8	fgh
ACA 470	R4	5,0	ab	0,1	a	65,0	def	1,0	h	LG 30820	R4	0,0	a	0,0	a	55,0	cdef	1,0	h
ACA 474	R4	5,0	ab	0,1	a	45,0	cde	0,6	efgh	I 767	R4	0,0	a	0,0	a	10,0	ab	0,1	a

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Ensayo 16. El 50% de los híbridos fue afectado por MO, con IMO entre 0 y 40% y con bajos niveles de SMO, hallándose diferencias significativas entre los mismos. El 100% de los

genotipos fueron afectados por TF con baja ITF y STF, hallándose diferencias estadísticas significativas entre los híbridos. Se destacaron los híbridos DM 2771, AX 852, ACA 496, I 767 y DOW 562 (**Tabla 37**).

Ensayo 17. No se detectó MO. El 100% de los híbridos presentó TF, hallándose diferencias estadísticas significativas entre los mismos (<0,0001) destacándose como de mejor comportamiento por su baja ITF y STF, los híbridos KM 4020, DOW 562, AX 852, ACA 474, I 797, DOW 510, SYN 840 y SYN 860. Los híbridos que superaron el 3% de STF considerados susceptibles fueron ACA 470, KM 4360 y SYN 900 (**Tabla 38**).

Tabla 37. Incidencia (IMO) y severidad (SMO) de mancha ocular por *Kabatiella zaeae*, incidencia (ITF) y severidad (STF) de tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en estadio fenológico (EF) R4. Siembra tardía. Pajonal, Victoria (Entre Ríos). Ciclo 2013/14

HÍBRIDO	EF	IMO (%)	SMO (%)	ITF (%)	STF (%)	HÍBRIDO	EF	IMO (%)	SMO (%)	ITF (%)	STF (%)
PAN 4842	R4	40,0	a 0,2	a 75,0	d 0,7	ACA 474	R4	0,0	b 0,0	c 45,0	c 0,9
SYN 840	R4	15,0	a 0,1	b 50,0	c 0,2	ACA 496	R4	0,0	b 0,0	c 5,0	a 0,1
SYN 860	R4	10,0	a 0,1	b 55,0	c 0,3	SYN 900	R4	0,0	b 0,0	c 65,0	c 1,3
KM 4360	R4	10,0	a 0,1	b 95,0	e 2,8	SPS 2727	R4	0,0	b 0,0	c 95,0	e 0,9
ACA 498	R4	5,0	a 0,1	b 60,0	c 0,7	KM 4020	R4	0,0	b 0,0	c 80,0	de 0,7
ACA 470	R4	5,0	a 0,1	b 85,0	de 1,2	SRM 553	R4	0,0	b 0,0	c 50,0	c 0,7
SPS 2756	R4	5,0	a 0,1	b 50,0	c 0,4	SRM 563	R4	0,0	b 0,0	c 50,0	c 0,3
KM 4500	R4	5,0	a 0,1	b 75,0	d 0,9	LG 30820	R4	0,0	b 0,0	c 100,0	e 1,7
DOW 562	R4	5,0	a 0,1	b 10,0	b 0,1	I 797	R4	0,0	b 0,0	c 35,0	bc 0,2
DOW 510	R4	5,0	a 0,1	b 60,0	c 0,6	EXP. IV 66	R4	0,0	b 0,0	c 40,0	bc 0,1
DOW 505	R4	5,0	a 0,1	b 50,0	c 0,5	DM 2771	R4	0,0	b 0,0	c 6,7	a 0,1
I 767	R4	5,0	a 0,1	b 10,0	b 0,1	AX 852	R4	0,0	b 0,0	c 15,0	b 0,1

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Tabla 38. Incidencia (ITF) y Severidad (STF) de tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en el estadio fenológico (EF) R4. Siembra tardía. Ombú, La Paz (Entre Ríos). Ciclo 2013/14

HÍBRIDO	EF	ITF (%)	STF (%)	HÍBRIDO	EF	ITF (%)	STF (%)
SYN 900	R4	100,0	h 3,1	EXP. IV 66	R4	35,0	abcde 0,5
ACA 470	R4	95,0	h 8,6	ACA 496	R4	30,0	abcde 0,4
PAN 4842	R4	95,0	h 1,6	DOW 505	R4	30,0	abcde 0,1
KM 4360	R4	90,0	gh 6,6	DM 2771	R4	30,0	abcde 0,7
SPS 2727	R4	70,0	fgh 0,5	SYN 840	R4	25,0	abcd 0,1
LG 30820	R4	70,0	fgh 1,0	SYN 860	R4	25,0	abcd 0,1
SPS 2756	R4	60,0	efg 0,6	DOW 510	R4	25,0	abcd 0,1
ACA 498	R4	50,0	def 0,5	I 797	R4	25,0	abcd 0,1
SRM 553	R4	45,0	cdef 0,4	ACA 474	R4	20,0	abcd 0,1
SRM 563	R4	40,0	bcdef 0,1	AX 852	R4	15,0	abc 0,1
I 767	R4	40,0	bcdef 0,2	DOW 562	R4	10,0	ab 0,1
KM 4500	R4	35,0	bcdef 0,1	KM 4020	R4	5,0	a 0,1

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Ciclo agrícola 2014/15

Ensayo 18. La IMO y la ITF fueron 100%. La SMO fue baja y osciló entre 0,2 y 37,5% con diferencias significativas ($<0,0001$) entre híbridos; con el uso de la escala de EPPO (2011) todos los híbridos con una SMO inferior al 1% fueron considerados de buen comportamiento a la enfermedad y se destacaron DOW 507, ACA 468, DOW 510, KM 4200 y LT 6909 (**Tabla 39**).

Tabla 39. Severidad de mancha ocular (SMO) por *Kabatiella zeae* en el estadio fenológico (EF) R4. Siembra tardía. La Picada, Paraná (Entre Ríos). Ciclo 2014/15

HÍBRIDO	EF	SMO (%)		HÍBRIDO	EF	SMO (%)	
ARV 2458	R4	37,5	e	DOW 508	R4	1,9	abc
DM 2771	R4	5,3	d	ACA 474	R4	1,7	abc
DK 7310	R4	3,9	cd	AVALON PW	R4	1,7	abc
ARV 2155	R4	3,8	cd	ADV 8112	R4	1,6	abc
DOW 505	R4	3,6	cd	ACA 470	R4	1,4	abc
LT 7218	R4	3,3	bcd	KM 3800	R4	1,3	abc
KM 3710	R4	2,7	abc	AX 7761	R4	1,2	abc
SPS 2721	R4	2,3	abc	AX 7822	R4	1,2	abc
DK 7210	R4	2,2	abc	LT 6909	R4	0,6	ab
NK 900	R4	2,2	abc	KM 4200	R4	0,5	ab
ASP 7211	R4	2,1	abc	DOW 510	R4	0,3	a
LT 626	R4	2,0	abc	ACA 468	R4	0,2	a
NK 860	R4	2,0	abc	DOW 507	R4	0,2	a

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

La STF osciló entre 0,3 y 31%, hallándose diferencias estadísticas significativas ($<0,0001$) entre los híbridos. Se destacaron por su buen comportamiento a TF, ADV 8112, AX 7761, AX 7822, DM 2771, DK 7210, LT 626, NK 860, DOW 507, LT 6909 y ACA 468 (**Tabla 40**).

Ensayo 19. En todos los híbridos se detectó MO y TF. La IMO fue del 100% y la SMO osciló entre 0,1 y 1,4%; sólo el híbrido DOW 507 superó el 1% y no se hallaron diferencias estadísticas entre los híbridos (**Tabla 41**). La ITF osciló entre 65 y 100% y la STF entre 0,5 y 51,3%, hallándose diferencias estadísticas entre los híbridos ($<0,0001$). Se destacaron por su buen comportamiento a TF los híbridos DM 2771, AX 7822, ARV 2155, ADV 8112, ACA 468, DOW 508, ARVALES 2458 y ASP 7211 (**Tabla 42**).

Tabla 40. Severidad (STF) de tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en el estadio fenológico (EF) R4. Siembra tardía. La Picada, Paraná (Entre Ríos). Ciclo 2014/15.

HÍBRIDO	EF	STF (%)		HÍBRIDO	EF	STF (%)	
KM 4200	R4	31,0	g	SPS 2721	R4	5,3	abcde
KM 3710	R4	29,3	g	DOW 508	R4	4,4	abcd
KM 3800	R4	22,8	fg	DK 7310	R4	3,2	abcd
ACA 470	R4	19,1	efg	ACA 468	R4	3,0	abcd
NK 900	R4	16,5	defg	LT 6909	R4	2,8	abcd
Avalon PW	R4	13,1	cdefg	DOW 507	R4	1,6	abc
ARV 2155	R4	10,2	bcdef	NK 860	R4	0,9	ab
ASP 7211	R4	8,7	abcdef	LT 626	R4	0,9	ab
DOW 505	R4	7,0	abcdef	DK 7210	R4	0,9	ab
LT 7218	R4	6,6	abcde	DM 2771	R4	0,8	ab
ARV 2458	R4	6,5	abcde	AX 7822	R4	0,7	ab
ACA 474	R4	6,1	abcde	AX 7761	R4	0,6	a
DOW 510	R4	5,5	abcde	ADV 8112	R4	0,3	a

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Tabla 41. Severidad (SMO) de mancha ocular por *Kabatiella zea* en el estadio fenológico (EF) R4. Siembra tardía. Colonia Ensayo, Diamante (Entre Ríos). Ciclo 2014/15

HÍBRIDO	EF	SMO (%)		HÍBRIDO	EF	SMO (%)	
DOW 507	R4	1,4	a	SPS 2721	R4	0,1	a
DK 7310	R4	0,7	a	NK 860	R4	0,1	a
DK 7210	R4	0,5	a	ARV 2458	R4	0,1	a
DOW 510	R4	0,5	a	ARV 2155	R4	0,1	a
AVALON PW	R4	0,4	a	KM 3710	R4	0,1	a
KM 3800	R4	0,3	a	DOW 505	R4	0,1	a
NK 900	R4	0,2	a	DOW 508	R4	0,1	a
ACA 468	R4	0,2	a	ACA 470	R4	0,1	a
AX 7761	R4	0,2	a	LT 626	R4	0,1	a
ADV 8112	R4	0,2	a	LT 7218	R4	0,1	a
KM 4200	R4	0,1	a	LT 6909	R4	0,1	a
ACA 474	R4	0,1	a	DM 2771	R4	0,1	a
AX 7822	R4	0,1	a	ASP 7211	R4	0,1	a

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Tabla 42. Incidencia (ITF) y severidad (STF) de tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en estadio fenológico (EF) R4. Siembra tardía. Colonia Ensayo, Diamante (Entre Ríos). Ciclo 2014/15

HÍBRIDO	EF	ITF (%)	STF (%)	HÍBRIDO	EF	ITF (%)	STF (%)
KM 4200	R4	100	a 51,3 c	DOW 507	R4	100	a 4,3 a
ACA 470	R4	100	a 36,5 c	DOW 505	R4	100	a 4,1 a
KM 3710	R4	100	a 32,0 bc	DOW 508	R4	100	a 1,6 a
NK 900	R4	100	a 32,0 bc	AX 7761	R4	95	a 5,5 a
Avalon PW	R4	100	a 12,3 ab	DOW 510	R4	90	a 4,7 a
KM 3800	R4	100	a 11,8 ab	ASP 7211	R4	90	a 1,8 a
LT 6909	R4	100	a 10,1 ab	ARV 2458	R4	90	a 1,7 a
ACA 474	R4	100	a 8,9 ab	ACA 468	R4	90	a 1,6 a
DK 7210	R4	100	a 8,9 ab	AX 7822	R4	85	a 0,8 a
DK 7310	R4	100	a 8,5 a	LT 7218	R4	80	a 2,2 a
SPS 2721	R4	100	a 7,7 a	ARV 2155	R4	80	a 1,1 a
LT 626	R4	100	a 5,9 a	ADV 8112	R4	80	a 1,1 a
NK 860	R4	100	a 5,3 a	DM 2771	R4	65	a 0,5 a

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Ensayo 20. MO se registró con nivel de trazas en muy pocos híbridos, por lo cual no se consideró en el análisis. La ITF osciló entre 20 y 100% y la STF, entre 0,1 y 10,4%, hallándose diferencias estadísticas entre los híbridos. El 80% de los híbridos presentó Se destacaron por su buen comportamiento los híbridos AX 7822, DOW 510, DK 7250 y DK 7210 (Tabla 43).

Tabla 43. Incidencia (ITF) y severidad (STF) de tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en estadio fenológico (EF) R4. Siembra tardía. Pajonal, Victoria (Entre Ríos). Ciclo 2014/15

HÍBRIDO	EF	ITF (%)	STF (%)	HÍBRIDO	EF	ITF (%)	STF (%)
P 1845	R4	100	e 10,4 d	AX 887	R4	50	abcd 0,3 a
EM 13026	R4	100	e 5,1 c	SYN 840	R4	50	abcd 0,2 a
NK 900	R4	90	de 3,8 bc	DOW 512	R4	50	abcd 0,8 ab
P 1778	R4	90	de 3,8 bc	EM 14165	R4	50	abcd 0,3 a
X 13820	R4	90	de 1,9 ab	EM 14159	R4	50	abcd 1,6 ab
EM 14141	R4	80	cde 2,4 abc	EM 14166	R4	50	abcd 0,5 a
DK 7010	R4	80	cde 5,0 c	EM 14146	R4	40	abc 0,3 a
EM 14070	R4	80	cde 0,5 a	DOW 510	R4	30	ab 0,2 a
EM 14173	R4	70	bcde 0,4 a	EM 14170	R4	30	ab 0,1 a
DOW 505	R4	70	bcde 1,8 ab	DK 7210	R4	30	ab 0,7 a
DOW 508	R4	70	bcde 0,5 a	DK 7250	R4	20	a 0,4 a
DOW 507	R4	60	abcde 1,4 ab	AX 7822	R4	20	a 0,1 a
EM 14025	R4	60	abcde 0,6 a				

Letras iguales entre los tratamientos indican diferencias no significativas ($\alpha = 0,05$).

Discusión

La MO y el TF del maíz fueron registradas en las diferentes regiones evaluadas de Argentina (**Figura 47**).



Figura 47. Sitios de evaluación de mancha ocular y de tizón foliar de maíz entre 2011/12 a 2014/15 en siembras tempranas (círculos amarillos) y siembras tardías (círculos verdes).

Las diferentes giras de evaluación en los distintos ciclos agrícolas permitieron confirmar que ambas enfermedades están presentes y son más importantes cuando se realizan siembras tardías o de segunda. Por ello, en los dos últimos ciclos agrícolas 2013/14 y 2014/15 sólo se evaluaron ECR sembrados en fechas tardías (**Gráfico 12**).

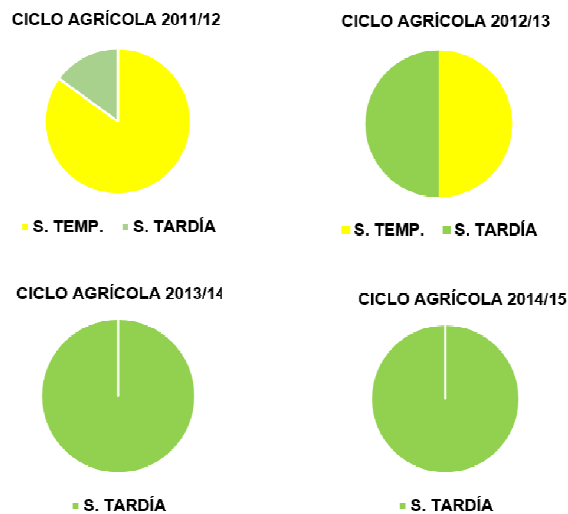


Gráfico 12. Evaluaciones de ensayos de siembras tempranas y tardías de maíz, en los ciclos agrícolas 2011/12, 2012/13, 2013/14 y 2014/15.

Actualmente, tanto la MO como el TF se citan en toda la región maicera pampeana y extra-pampeana en las publicaciones relacionadas con las enfermedades del maíz, de la última década. Este crecimiento se asoció al aumento de la superficie sembrada en los meses de diciembre y enero, considerada una alternativa consolidada en los sistemas agrícolas de producción extensiva. El mejoramiento genético de maíz en la Argentina incluyó un nuevo objetivo, investigar y obtener genotipos adaptados a la siembra tardía. En los híbridos experimentales se detectaron germoplasmas de muy buen comportamiento a las enfermedades, principalmente a TF, cuando fueron comparados con híbridos comerciales creados para ambientes templados (Bongianino, 2017).

Si se consideran las fechas de siembra durante los cuatro ciclos agrícolas surge que sobre un total de 9 ECR en siembras tempranas y 11 en siembras tardías, la MO se presentó en dos ensayos con siembra temprana y en dos, con siembra tardía, mientras que el TF presentó una prevalencia del 100%, tanto en siembras tempranas como tardías (**Tabla 44**).

Tabla 44. Prevalencia de mancha ocular (*Kabatiella zea*) y tizón foliar (*Exserohilum turcicum*) en los ciclos agrícolas desde 2011 a 2015, en siembra tempranas y tardías de maíz

	CICLO AGRÍCOLA					
	2011/12		2012/13		2013/14	2014/15
SIEMBRA	Temprana	Tardía	Temprana	Tardía	Tardía	Tardía
ECR (N°)	7	1	2	2	5	3
MO (%)	43	0	50	0	40	100
TF (%)	100	100	100	100	100	100

Referencias: ECR. Ensayo Comparativo de Rendimiento, MO. Mancha ocular, TF. Tizón foliar.

El análisis integral considerando ciclos agrícolas, localidades y fechas de siembra demostró la presencia esporádica de MO y la aparición anual de TF con diferentes niveles de intensidad. Esto coincide con lo hallado por otros autores (Sillon, 2011; Díaz et al., 2012; Parisi et al., 2015c; Couretot et al., 2016) que consideran a la MO como una enfermedad emergente de menor importancia presente en las diversas provincias argentinas. Sin embargo, en el ciclo agrícola 2014/15 se halló en todos los ensayos evaluados.

A partir de la caracterización y divulgación en diversos ámbitos de la existencia de la MO del maíz surgida del trabajo relacionado con esta Tesis, se publicaron otros trabajos que indican la presencia o ausencia de MO. Aunque es así en la Argentina, esta enfermedad es el principal problema sanitario en el cinturón maicero de EE.UU asociado a sistemas

conservacionistas con rastrojo en superficie. Nyvall y Martinson (1997) relacionaron la SMO con el nivel de enfermedad en el ciclo anterior y el volumen de restos vegetales superficiales. En el año 2009 fue la enfermedad más importante favorecida por el clima húmedo y temperaturas moderadas a bajas en el CN de Iowa (Robertson, 2009).

El TF fue citado como una enfermedad severa desde hace más de 25 años (Sarasola y Sarasola, 1981) y posteriormente, aparece con alta severidad en abril de 2001, en maíces de siembra tardía bajo riego (Formento, 2001). Se consideró, un problema grave desde el ciclo agrícola 2007/08 en el NO de Buenos Aires (Couretot, 2009) y en el CN de Córdoba (De Rossi et al., 2010a). Anualmente, la importancia, las pérdidas que ocasiona y la relevancia del conocimiento del perfil sanitario de los híbridos en la región maicera argentina sembrados en fecha tardía, son una herramienta básica para el manejo de la enfermedad (De Rossi et al., 2010b; Díaz et al., 2012; Couretot et al., 2012; Parisi et al., 2012; Carmona et al., 2013; Parisi et al., 2014; Couretot et al., 2016).

Del análisis global de los estadíos fenológicos (EF) del maíz en que se evaluaron las enfermedades, surgió que durante todos los ciclos agrícolas, la MO estuvo presente mayormente en los estadíos vegetativos y en menor proporción, en estadíos reproductivos, mientras que el TF se halló independientemente del estadío fenológico (**Gráfico 13**).

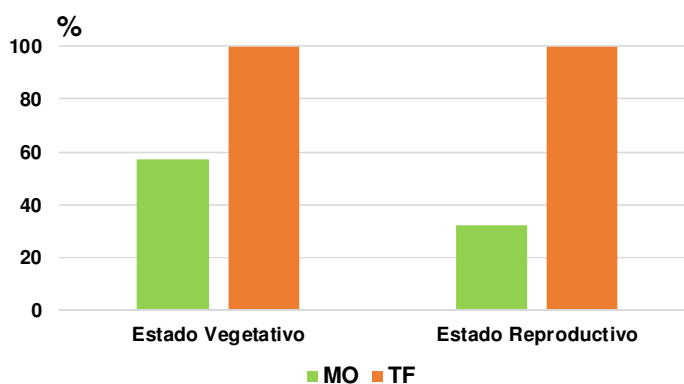


Gráfico 13. Prevalencia de mancha ocular (MO) y tizón foliar (TF) según los estadíos fenológicos desde el ciclo agrícola 2011/12 al 2014/15, en distintas regiones maiceras argentinas.

Del análisis particular de los híbridos en todos los ciclos agrícolas y localidades se visualizaron diversos aspectos a considerar: - los híbridos que integraban los diferentes ECR fueron diferentes, ya que algunos evaluados en un determinado ciclo agrícola, posteriormente eran retirados, generalmente por razones sanitarias ya sea por susceptibilidad a TF o por ser afectados por insectos; - la comparación de resultados permitió determinar que sólo dos híbridos DOW 510 y ACA 468 presentaron buen

comportamiento tanto a MO como a TF; - los híbridos DM 2771 y DOW 505 presentaron mal comportamiento a MO y buen comportamiento a TF y los híbridos ARV 2155, KM 3710 y NK 900 fueron susceptibles tanto a MO y como a TF (**Tabla 45**). Los resultados para TF son coincidentes con los hallados por otros autores (De Rossi et al. 2010a y Parisi et al., 2015c).

En maíz, el mejoramiento para resistencia a enfermedades foliares ha realizado contribuciones significativas para disminuir la severidad (Balint-Kurti y Johal, 2009), de allí que el conocimiento del perfil sanitario de los híbridos de maíz es una herramienta fundamental para el manejo en una agricultura sustentable.

Las redes de híbridos en diferentes localidades de la región maicera argentina son útiles porque proveen el perfil sanitario de cada uno de los genotipos y permiten identificar en forma temprana enfermedades emergentes (Velázquez et al., 2014).

El comportamiento de 10 híbridos de maíz a MO se estudió hace 36 años en dos localidades, con inoculación artificial de hifas estromáticas con arena en el cogollo, detectándose dos híbridos susceptibles con un promedio de 90 y 86 lesiones por hoja. La tasa de incremento de la enfermedad fue un buen indicador del grado de resistencia (Chinchilla López, 1987).

Tabla 45. Comportamiento de híbridos de maíz a mancha ocular por *Kabatiella zea* y tizón foliar por *Exserohilum turcicum* en distintos ciclos agrícolas, en fechas de siembra tempranas y tardías

HÍBRIDOS DE MAÍZ (CICLOS AGRÍCOLAS 2011/12 A 2014/15)			
BUEN COMPORTAMIENTO		MAL COMPORTAMIENTO	
Mancha Ocular	Tizón Foliar	Mancha Ocular	Tizón Foliar
DOW 507	DM 2771	DM 2771	ACA 470
DOW 510	DOW 510	ARV 2458	KM 3601
LT 6909	AX 887	ARV 2155	ARV 2155
KM 4200	AX 852	DK 72-10	KM 4200
ACA 468	ACA 468	DK 73-10	KM 4500
	AX 7822	LT 7218	KM 4321
	DOW 508	KM 3710	KM 3710
	SYN 840	SPS 2721	KM 4360
	SYN 860	NK 900	NK 900
	ADV 8112	ASP 7211	SYN 900
	DOW 505	DOW 505	ACA 498
	SPS 2727		DK 70-10
			DK 670
			DM 2738
			ARV 2180
			P 1845
			P 1778
			P 2049
			KM 3800

En la Argentina, se describió el comportamiento de híbridos a otras enfermedades como roya común y TF, indicando solamente como ausencia (-) o presencia (+) de MO, con resultados diferentes según las localidades (Parisi et al., 2015a). La ocurrencia de ambas enfermedades juntas, no había sido estudiada ya que en general la mayoría de las publicaciones se refieren al comportamiento de los híbridos a roya común y TF. Este trabajo permitió definir algunos híbridos muy susceptibles a una u otra enfermedad, y otros de buen comportamiento a ambas, como un nuevo aporte al conocimiento.

Aspectos como la relación del clima con la aparición y desarrollo de las dos enfermedades estudiadas en las diferentes localidades en cada ciclo agrícola, la existencia de razas de *E. turcicum* y la respuesta de los híbridos comerciales o precomerciales a esas razas no han sido abordados en este estudio.

Conclusiones

La mancha ocular (*K. zeae*) y tizón foliar (*E. turcicum*) son importantes enfermedades foliares del maíz en siembras tardías.

Existen híbridos de maíz con comportamiento diferencial a mancha ocular (*K. zeae*) y tizón foliar (*E. turcicum*). Algunos híbridos de maíz son de buen o mal comportamiento frente a ambas enfermedades y otros, se comportan bien a una y mal a otra.

La cuantificación de ambas enfermedades bajo un protocolo de evaluación con escalas diagramáticas que además incluye un número mínimo de plantas y de hojas, es una instancia superadora de una simple estimación visual.

SECCIÓN III

ESTUDIOS DE LA FASE PARASÍTICA DE LA INTERACCIÓN PLANTA – PATÓGENO – AMBIENTE. *ESTUDIOS EN LABORATORIO E INFECCIONES ARTIFICIALES*

CAPÍTULO 4

OBJETIVO 4

CARACTERIZACIÓN DE LOS HONGOS

Kabatiella zea* Y *Exserohilum turcicum

**SECCIÓN III. ESTUDIOS DE LA FASE PARASÍTICA
DE LA INTERACCIÓN PLANTA – PATÓGENO – AMBIENTE. ESTUDIOS EN
LABORATORIO E INFECCIONES ARTIFICIALES**

**CAPÍTULO 4. Objetivo 4. CARACTERIZACIÓN DE LOS HONGOS *Kabatiella zeae* Y
*Exserohilum turcicum***

**4.1 Aislamiento, multiplicación y conservación de los hongos *Kabatiella zeae* y
*Exserohilum turcicum***

Introducción

El diagnóstico preciso de una enfermedad y su agente causal es uno de los pilares fundamentales para el manejo integrado en una agricultura productiva y sostenible en el largo plazo. En ocasiones, la identificación de los microorganismos patógenos es relativamente fácil a partir de síntomas típicos, pero se realizan aislamientos en medios artificiales para el estudio de sus aspectos morfológicos específicos. Según sus requerimientos nutricionales, los microorganismos se pueden cultivar en medios básicos universales o en medios específicos para un determinado patógeno, incluso para una especie, variante o raza del mismo. Por ello, ciertos grupos de patógenos son más fáciles de identificar que otros, debido a su propia naturaleza ya que poseen características típicas de hábito, velocidad de crecimiento, tamaño, forma y tipo de reproducción (Sosa-Moos et al., 1996). Los hongos pueden crecer en diversos hábitats y para su crecimiento y reproducción requieren elementos diversos y específicos. Se aíslan en medios de cultivo para su crecimiento, conservación, examen microscópico, caracterización bioquímico-fisiológica y para obtener ADN, para los estudios moleculares. Una gran cantidad de medios de cultivo se usan para el aislamiento de diferentes grupos de hongos que permiten conocer el crecimiento vegetativo, la morfología de la colonia, pigmentación y esporulación, pH, temperatura, luz, disponibilidad de agua y mezcla de gases atmosféricos circundantes. En general, los requerimientos para el crecimiento vegetativo son menos exigentes que los necesarios para la reproducción (Sharma y Pandey, 2010).

Para obtener inóculo de *K. zeae* se han ensayado algunos medios líquidos complejos (Reinfschneider y Arny, 1979a) y otros sólidos como APG o AM (CABI, 2012), agar avena (AAv) y agar harina de maíz (AHM) (Camocheda et al., 2010), agar agua acidificado (AA) (Arny et al., 1971) y agar V8 (AV8) o agar Czapek (Brammall, 2015).

El hongo *E. turcicum* se puede aislar fácilmente desde hojas enfermas en AA y AV8 (Chang y Fan, 1986), en APG 2% (Marín Sánchez, 1986; Abebe y Singburauodom, 2006) y en APG 10% (Leonard et al., 1988). Para aislamientos de hojas de sorgo se utilizó lactosa caseína hidrolizada agar (LCHA), medio de Czapek y de Richard destacándose la sacarosa, glucosa y lactosa como fuente carbonada y nitrato de potasio, asparagina y peptona como fuente nitrogenada (Aden, 1991).

Para diversos estudios es necesario obtener cultivos monospóricos, que son cultivos puros generados a partir de una sola espora, conidio o punta hifal, y son necesarios para estudios filogenéticos, pruebas de patogenicidad y para inocular plantas (líneas, variedades o híbridos) y evaluar su comportamiento a una determinada enfermedad. Además, se usan para otros estudios biológicos, como la caracterización cultural, morfométrica y genética de un microorganismo fúngico y se pueden lograr a partir de diluciones de una suspensión de conidios, de punta de hifa o de un conidio cuando son de un tamaño importante (French y Hebert, 1980; Choi et al., 1999).

La multiplicación de microorganismos también es necesario para realizar diferentes tipos de estudios, como disponer de inóculo para pruebas de patogenicidad con inoculaciones artificiales. En algunos casos es suficiente multiplicar estructuras vegetativas, por ejemplo micelio para realizar infestaciones de terrinas o macetas con microorganismos habitantes de suelo. Para hongos patógenos foliares necrotróficos se utilizan estructuras reproductivas asexuales (conidios) o sexuales (ascosporas) las que se forman cuando el micelio pierde su vigor vegetativo o comienza su estado de madurez. Los parásitos obligados o biotróficos sólo pueden ser multiplicados sobre su hospedante natural (French y Hebert, 1980). Una gran variedad de granos/semillas de cereales y oleaginosas esterilizados se utilizan para la multiplicación de los hongos, ya que muchos de ellos no pierden virulencia ni capacidad de esporulación, lo que puede suceder cuando se incrementan en forma sucesiva en sustratos artificiales (Arny et al., 1971; Gilchrist-Saavedra et al., 2005; Chung, 2007).

El mantenimiento de las características y viabilidad de los hongos filamentosos requiere utilizar técnicas que garanticen la conservación de los aspectos morfofisiológicos de cada aislado. La elección del método de conservación depende del hongo que se desea preservar, la finalidad de su uso, la cantidad de aislados a mantener, disponibilidad de equipos, materiales y facilidades de espacio. Para evitar el envejecimiento y degeneración de los aislados fúngicos es necesario conservarlos adecuadamente. La carencia o agotamiento de los nutrientes en el medio de cultivo, la acumulación de secreciones tóxicas

propias del metabolismo del hongo, la alteración del pH en el medio (acidez o alcalinidad), la disminución en la concentración de oxígeno y la consecuente acumulación de CO₂ pueden reducir la conservación adecuada (Alarcón, 2006). Existen diversos métodos para conservar aislados fúngicos, entre ellos la transferencia periódica a tubos estricta con cobertura de aceite, suelo estéril, agua destilada estéril, congelamiento de tejido enfermo entre 0 y -20°C y liofilización (French y Hebert, 1980; Diogo et al., 2005; Humber, 2012; Ibatsam et al., 2012). Otros muy usados, son la suspensión en ADE (Capriles et al., 1989; Panizo et al., 2005) y el método del papel de filtro (Castellanos et al., 2011).

La correcta identificación de un microorganismo permite estimar sus propiedades fisiológicas, bioquímicas y ecológicas y determinar si son peligrosos o benéficos para las plantas. Los sistemas de identificación basados en la morfología, al igual que cualquier otro componente de la sistemática tienen limitaciones como la plasticidad fenotípica y variabilidad genética de los caracteres morfológicos, la baja eficacia en la discriminación de taxones, la existencia de organismos pleomórficos y la dependencia de un alto nivel de conocimientos. La taxonomía se ocupa principalmente del reconocer la identidad o los caracteres esenciales de un organismo y pocos taxónomos pueden identificar críticamente el 0,01% de las 10 a 15 millones de especies por sus características morfológicas. Por ello, es relevante la incorporación de herramientas moleculares en los sistemas de identificación que permite más estudios en menos tiempo.

Por un lado, las colonias de *K. zae* fueron descritas en diversos medios de cultivo por distintos investigadores (Arny et al., 1971; Dingley, 1973; Reifschneider y Arny, 1980). En general, son de crecimiento lento, rugosas, con aspecto levaduriforme, de color crema, tornándose rosadas y finalmente negras (dos Santos et al., 2007). Se determinó una gran variabilidad en las características morfológicas y el crecimiento micelial de aislados obtenidos de distintos genotipos de maíz (Camochema et al., 2010). Las colonias de *E. turcicum* fueron caracterizadas en diferentes medios nutritivos determinándose aspectos morfológicos y fisiológicos como la velocidad de crecimiento, además de la variación en el crecimiento, color y pigmentación de las colonias (Bigirwa et al., 1993; Abebe y Singburadom, 2006; Kumar et al., 2011; Macagno, 2015a).

El objetivo del estudio fue determinar los métodos y medios de cultivo adecuados para el aislamiento, multiplicación y conservación de los hongos *Kabatiella zae* y *Exserohilum turcicum*.

Materiales y métodos

Para la caracterización de los hongos *K. zeae* y *E. turcium* se utilizaron cámaras húmedas donde los tejidos foliares de maíz con síntomas de MO o TF se desinfectaron con alcohol 70° durante 30 segundos, 1 minuto en CIONa al 1% y un enjuague en ADE para evitar potenciales contaminantes. Luego se ubicaron en cajas de Petri acondicionadas con una fina capa de algodón y dos discos de papel absorbente estéril, humedecidos con ADE para lograr un microambiente saturado durante 72 horas. Los tejidos enfermos y desinfectados se ubicaron sobre un vidrio esterilizado con calor seco (estufa a 120°C durante 2 h) y la incubación se realizó en estufa a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y oscuridad. En algunos casos, las cajas se colocaron bajo luz fría fluorescente por 24-48 h, a una distancia de 30 cm entre la fuente de luz y las placas de Petri.

Los **aislamientos** se realizaron cortando pequeños segmentos de hojas con síntomas de MO y/o TF de diferentes procedencias, frescos o herborizados (entre hojas de papel de diario en una prensa de madera por 7 días y cambio de papel cada 48 h). La desinfección se efectuó durante 1 minuto en CIONa al 3% con doble enjuague en ADE y los trocitos se dejaron secar en cámara de flujo laminar entre papel absorbente estéril durante 1 h. Posteriormente, se cortaron de 3 a 5 cuadraditos de 2-3 mm² que fueron ubicados en placas de Petri con APG 2%. Para *E. turcium*, se usaron además APG acidificado y medio de Sachs (Ueyama y Tsuda, 1975). La incubación se realizó durante 72 h en oscuridad, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Los microorganismos aislados se identificaron en base a la macromorfología de las colonias y micromorfología de las estructuras reproductivas con claves taxonómicas (Ellis, 1971; Dingley, 1973; Sivanesan, 1987; Barnett y Hunter, 1998). Los aislados fueron codificados con fecha, localidad de recolección y en ocasiones, se registró el nombre del híbrido.

Los **cultivos monospóricos** se obtuvieron de diversas formas. Para *K. zeae* se tomó una pequeña masa de conidios con aguja histológica flameada, se depositó y distribuyó sobre una gota de agua estéril tomada con ansa bacteriológica en un portaobjeto limpio con alcohol 70° y secado en columna de aire caliente. La suspensión obtenida se colocó en un punto lateral de una caja de Petri y se distribuyó con rastrillo de Drigalsky estéril. A las 24 h de incubación a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ en oscuridad, cada colonia incipiente y muy pequeña se tomó con espátula de acero flameada y sembró en el centro de cajas de Petri con APG acidificado (con ácido láctico al 25%). La incubación se realizó durante 5 días en estufa a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ con 12 h de luz. Para *E. turcium*, los cultivos monospóricos se obtuvieron a partir de punta de

hifa (hialinas), ya que por su ancho son fácilmente observables y a partir de conidios, también grandes y coloreados (gris verdoso). Con aguja flameada se tomó un extremo de hifa o conidio germinando bajo microscopio estereoscópico (400X) dentro de cámara de flujo laminar, los que fueron transferidos a cajas de Petri con APG 2%. La incubación se efectuó en estufa a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ y oscuridad durante 48 h. Otro método ensayado, fue la dilución de una suspensión de conidios de baja concentración, de 3 a 5 veces en tubo de vidrio estéril con 9 mL de ADE. De la última dilución, con ansa flameada en columna de calor se tomó una gota que se distribuyó en líneas paralelas sobre la base de placas de Petri con AA 3%.

Para la **multiplicación** de *K. zae* se utilizaron granos de trigo y de sorgo, que se hidrataron durante 24 h en frascos San Luis, se eliminó el líquido excedente y se esterilizaron durante 20 min a 1 atm en dos días consecutivos. Para observar el posible desarrollo de microorganismos contaminantes, los frascos se dejaron 48 h en mesada de laboratorio a temperatura ambiente (**Figura 48**). Dentro de los frascos San Luis se ubican cuatro o cinco segmentos de 4 mm^2 cortados con espátula flameada de una colonia monospórica y se agitan para que los trocitos se ubiquen en diferentes sitios dentro de la masa de granos. La incubación se realizó en estufa a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ y oscuridad en posición inclinada (ángulo 30°) sobre un soporte de madera, agitándose en forma enérgica cada 48 h para mantener los granos sueltos evitando la formación de masas compactas del hongo.



Figura 48. Frascos San Luis con granos de trigo (izq.) y de sorgo (der.) para incremento de hongos.

Para *E. turcicum* se probó además un método que consistió en obtener conidios de un tejido enfermo esporulante de maíz o sorgo de Alepo (**Figura 49**) con un cepillo de cerda fina desinfectado con alcohol 90° , con el que se trazaron diversas líneas dentro de cajas de Petri de 9 cm de diámetro con APG acidificado o medio de Sachs. La incubación se realizó en estufa a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ y durante 5 días en oscuridad.

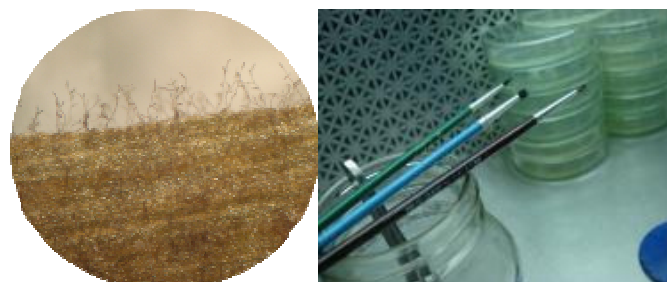


Figura 49. Tejido enfermo de maíz y cepillo de cerdas finas para recolectar conidios de *Exserohilum turcicum*.

Para la **conservación** de aislados se utilizaron tres métodos: tubos estría con APG o APG acidificado, crioviales de 2 o 5 mL con un 70% de su capacidad con AD (esterilizados), a los que se incorporaron segmentos de agar + hongo y, el método de papel de filtro en freezer a -20°C (**Figura 50**).



Figura 50. Tubos estría (izq.), crioviales con agua destilada (centro) y con método del papel de filtro (der.).

Los dos primeros métodos son ampliamente conocidos y utilizados. La técnica del papel de filtro (Castellanos et al., 2011) modificada, consistió en cortar cuadraditos de papel de filtro de $0,5$ a 1 cm^2 , que se colocaron en placas de Petri las que una vez envueltas en papel de estrasa, se esterilizaron en autoclave durante 20 minutos a 1 atm. Por otro lado, se cortaron de tres a cinco segmentos de una colonia del hongo crecido en APG y se sembraron en placas de Petri con APG acidificado. La incubación se llevó a cabo durante 48 h en estufa a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ y oscuridad. Cuando la colonia fúngica alcanzó un mínimo crecimiento, se ubicaron sobre sus márgenes uno o dos cuadraditos de papel de filtro esterilizados. El hongo creció sobre el cuadrado de papel, a los 5–7 días fueron retirados y se dejaron secar dentro de una caja de Petri estéril durante 7 días en estufa a 30°C . Una vez secos (**Figura 51**) se tomaron individualmente con pinza flameada y se guardaron en sobres de papel manteca estéril, los que se rotularon y ubicaron en sobres más grandes. El almacenamiento se realizó en freezer a -20°C .

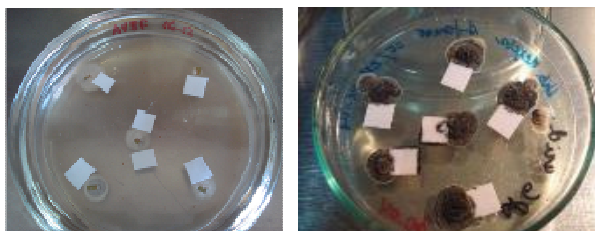


Figura 51. Método del papel de filtro para la conservación de hongos.

Resultados

Kabatiella zae

A las 72 h en **cámaras húmedas**, se observaron masas estromáticas de color blanco, ocre o rosa sobre tejidos enfermos, a partir de las cuales se obtuvieron conidios que se utilizaron para lograr aislados puros. La observación de estromas sobre los síntomas en hojas fue poco frecuente y se lograron prolongando la cámara húmeda por 7 a 10 días con una gran descomposición de los tejidos, acompañados por el desarrollo de saprófitos como *Alternaria*, *Cladosporium* y otros (**Figura 52**).

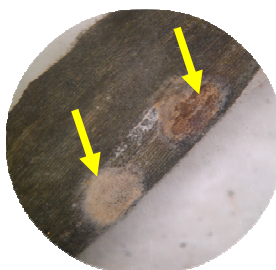


Figura 52. Estromas de *Kabatiella zae* en tejidos necrosados de maíz.

Las **colonias** a las 72 h eran cerebriformes similares a las colonias que desarrollan las levaduras, de color rosado, con abundante cantidad de conidios y escaso micelio (**Figura 53**). Del material recolectado en las giras de prospección se obtuvieron 68 aislados, 58,8% de Buenos Aires, 26,4% de Córdoba y 14,7% de Entre Ríos.

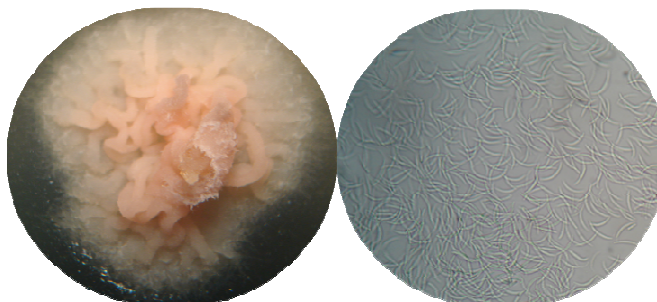


Figura 53. Colonia cerebriforme de *Kabatiella zae*, rosada y abundante producción de conidios.

El método por dilución de suspensión de conidios fue el adecuado para obtener **cultivos monospóricos** ya que los conidios son pequeños y se lograron fácilmente colonias individuales típicas del hongo.

La **multiplicación** de *K. zeae* fue adecuada en granos de sorgo (**Figura 54**) lográndose formación de conidios en masas, contrariamente a lo ocurrido en granos de trigo donde el crecimiento fue escaso.



Figura 54. Abundante producción de conidios de *Kabatiella zeae* en granos de sorgo.

La **conservación** de *K. zeae* en tubos estría fue inadecuada porque el hongo formó rápidamente clamidosporas oscuras casi negras, tornándose en pocas semanas un cultivo coriáceo (duro) muy consistente; conservados a 4°C, no pudieron ser recuperados después de 12 meses. En crioviales con ADE, la colección de 85 aislados de *K. zeae* almacenada a 4°C fue totalmente inviable a los 6 meses, cuando se repicaron a diversos medios de cultivo. Sin embargo, un aislado de *Cercospora kikuchii*, hongo causal del tizón foliar de la soja utilizado como testigo del método, con 3 años de almacenamiento formó colonias de rápido crecimiento y fue capaz de producir cercosporina (halo rojizo marcado) sobre la placa de Petri con APG acidificado

El método del papel de filtro fue excelente para conservar el hongo por más de 600 días y generar colonias vigorosas con abundante producción de conidios viables (**Figura 55**). Inicialmente, las colonias se desarrollaron por debajo del papel de filtro y luego, éste fue cubierto totalmente por el hongo.

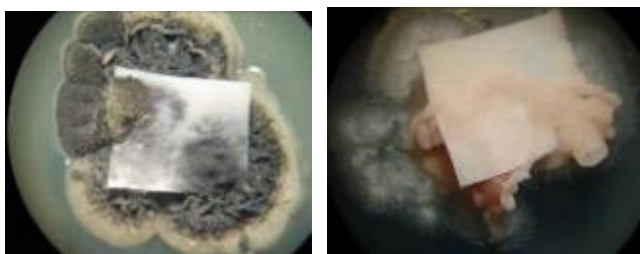


Figura 55. Colonias de *Kabatiella zeae* obtenidas de papel de filtro conservado en *freezer* durante 600 días.

Sin embargo, diferentes aislados presentaron diferentes comportamientos a un mismo método de conservación. De los aislados KzHíb.4 y KEp18 conservados en *freezer* y repicados en APG acidificado, sólo KzHíb.4 fue capaz de crecer, mantener sus aspectos morfológicos y mostrar su capacidad de esporulación después de 600 días.

Exserohilum turcicum

En **cámaras húmedas** a las 24 h, se obtuvieron gran cantidad de conidios, generalmente solitarios hasta las 48 h y luego, acompañados de saporitos comunes del filoplano (*Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, etc.).

Los **aislados** se obtuvieron fácilmente tomando conidios a partir de tejidos sintomáticos con aguja flameada o pincel de cerdas finas (previamente sumergido en alcohol 70° y secado en columna de aire caliente). Con éste último método, se aisló el hongo puro en APG a partir de plantas de maíz y sorgo de Alepo con síntomas típicos de las patologías bajo estudio (**Figura 56**).



Figura 56. Colonias de *Exserohilum turcicum* aislado de maíz (izq.) y de sorgo de Alepo (der.) con el método del pincel en agar papa glucosado acidificado.

Conidióforos, conidios y escasas hifas miceliales (cultivo puro) se obtuvieron en el medio de Sachs (**Figura 57**).

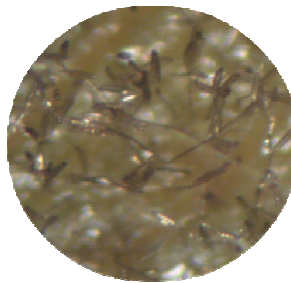


Figura 57. Conidióforos y conidios de *Exserohilum turcicum* de sorgo de Alepo en medio de Sachs.

Se obtuvieron un total de 85 aislados de *E. turcicum*, los que formaron parte de una colección codificada. La mayoría correspondieron a muestras de maíz con síntomas de

Entre Ríos, Córdoba, Santa Fe y Buenos Aires y dos de ellos, de sorgo de Alepo de Entre Ríos.

Los **cultivos monospóricos** se lograron a partir de punta de hifa y conidios solitarios. Estos cultivos puros fueron usados posteriormente para el incremento de inóculo, conservación o inoculaciones.

Para la multiplicación de aislados, los granos de trigo resultaron más adecuados que los de sorgo para *E. turcicum* aislados de maíz, sorgo o sorgo de Alepo. La colonización de granos de trigo se comprobó tomando los mismos con una pinza flameada y sembrándolos en cajas de Petri con APG, donde se formaron colonias típicas del hongo (**Figura 58**). Por otro lado, la formación de colonias puras y abundante esporulación en las líneas trazadas con cepillo produjo gran cantidad de conidios ya sea en APG o medio de Sachs (**Figura 59**).



Figura 58. Colonias de *Exserohilum turcicum* sobre granos de trigo.

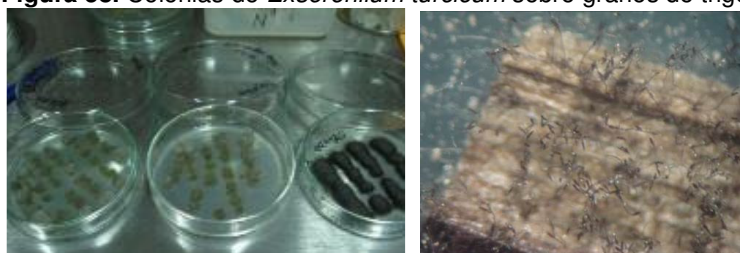


Figura 59. Esporulación abundante de *Exserohilum turcicum* de maíz (verde claro) y de sorgo de Alepo (verde oscuro casi negro) en medio agar papa glucosado acidificado (izq.) y en medio de Sachs (der.).

La **conservación** de *E. turcicum* en tubos estría almacenados en heladera a 4°C fue aproximadamente de 300 días y en crioviales con AD, superó los 600 días, al igual que en cuadraditos de papel de filtro en freezer a -20°C (**Figura 60**).



Figura 60. Conservación de *Exserohilum turcicum* en tubos estría (izq.) y en papel de filtro (der.).

Discusión

En **cámaras húmedas** la obtención de conidios de *K. zeae* a partir de tejidos enfermos de maíz fue muy dificultosa, a diferencia de lo hallado en este estudio el aislamiento de *K. zeae* fue exitoso a partir de cámaras húmedas de 24 h (Arny et al., 1971). La obtención de conidios de *E. turcicum* se logró en forma eficiente a partir de tizones de hojas de maíz, sorgo o sorgo de Alepo.

El **aislamiento** de ambos patógenos fue eficiente a partir de tejido enfermo en APG 2% o APG acidificado. Para *K. zeae* otros autores usaron medio Czapek-Dox acidificado con Tergitol (sodium tetradecyl sulfate, nonionic NPX) o APG con novabiocina 100 mg/L sembrando una suspensión con tres a cinco diluciones sucesivas (1/10) de una suspensión. Esta se obtuvo triturando durante dos a cinco minutos hojas enfermas previamente lavadas y secadas, con ADE en licuadora (Arny et al., 1971). También, se aisló en agar durazno sembrando uno o dos mm² de tejidos enfermos lavados con una solución de hipoclorito e incubados a 24±1 °C durante cuatro días (Dingley, 1973); en APG 10% con una incubación a 24±2 °C durante 12 h (dos Santos et al., 2007) y en APG 2% a partir de hojas enfermas desinfectadas con ClONa 2% durante 1 minuto y enjuagadas tres veces en ADE (Camocheda et al., 2009). Aislar *E. turcicum*, fue eficiente a partir de síntomas foliares de maíz, sorgo o sorgo de Alepo. Existe una amplia bibliografía sobre este aspecto, con ligeras diferencias. Por ejemplo, fue aislado en AV8 10 o 20% (Chang y Fan, 1986), en APG 1% (Sigulas et al., 1988; Leonard et al., 1988), en LCHA (lactosa caseína hidrolizada agar) con incubación a 25±1 °C con un régimen de 12 h de luz (Bigirwa et al., 1993; De Rossi, 2015a).

Para la **multiplicación de los hongos** estudiados los métodos probados por diversos autores fueron exitosos, con diferencias marcadas a lo hallado en este estudio. *K. zeae* esporuló abundantemente sobre granos de sorgo, contrariamente a lo hallado por Arny et al. (1971) quienes determinaron que el hongo creció bien sobre granos esterilizados de sorgo, pero no lograron esporular. Cuando los granos colonizados fueron secados parcialmente y posteriormente colocados en una atmósfera húmeda, se lograron conidios. Otros investigadores utilizaron un medio líquido denominado *Kabatiella Zeae Medium* (KZM) (Reifschneider y Arny, 1979a; Reid y Zhu, 2003) que contiene CMC (carboxyl methyl cellulose) que es un estabilizador de las soluciones acuosas difícil de conseguir en el mercado argentino (Boylu et al., 2005).

Para multiplicar *E. turcicum* fue adecuado el uso de granos de trigo, a diferencia de lo hallado en la bibliografía donde se prefiere el grano de sorgo. En este estudio, es posible que el contenido de taninos u otras sustancias en los sorgos utilizados (aspecto no

especificado en la bibliografía) sea un elemento por los que no se obtuvo una buena esporulación de los aislados probados. Por otro lado, el medio de Sachs permitió lograr gran cantidad de conidios, pero la multiplicación requeriría utilizar muchos segmentos de hoja enferma para obtener una cantidad adecuada de unidades infectivas, sin poder asegurar uniformidad genética del hongo. Chang y Fan (1986) obtuvieron abundante número de conidios sembrando segmentos de hojas de maíz en cajas de Petri, esterilizados en autoclave y con posterior agregado de medio de Sachs, después de 7 días de incubación a 25°C y oscuridad. En el medio LCHA con una incubación de 10 a 14 días a 20°C y 12 horas de luz se logró buena esporulación (Ferguson y Carson, 2004). Comparado el método de granos con el de hojas enfermas molidas, se estableció que el último fue preferible por su practicidad tanto para la inoculación como para evitar la pérdida de inóculo por la remoción de los granos infestados dentro del involucro de maíz que realizan las aves (Reid y Zhu, 2005). Sasse (2008) halló buenos resultados cuando utilizó granos de sorgo y Ramathani (2010) con hojas enfermas. En Brasil, para inducir la producción de conidios, cultivos monospóricos aislados de sorgo se sembraron en LCHA. En coincidencia con lo determinado en este trabajo, colonias jóvenes de 4 a 5 días de edad obtenidas en APG, APG acidificado, AGMz (agar granos de maíz) o AV8 proveyeron gran cantidad de conidios de *E. turcicum* para inoculaciones artificiales, para un número de plantas, hojas o semillas a infectar reducido, es decir aproximadamente 15 a 20 plantas de hasta tres hojitas (Cota et al., 2012).

La **conservación** de *K. zeae* en papel de filtro en sobres de papel de seda almacenado en *freezer* a -20°C fue el método más adecuado ya que se obtuvieron colonias vigorosas y esporulantes después de 4 años cuando se la sembró en APG acidificado. Los conidios fueron viables ya que produjeron síntomas típicos en las pruebas de patogenicidad en hojas de maíz. Sin embargo, los aislamientos conservados en ADE en crioviales perdieron completamente su viabilidad a los 180 días, en coincidencia con lo determinado por Costa Guimarães et al. (2014), malográndose así la colección. Previamente a estos trabajos, con ese método Camochena (2009) pudo conservar adecuadamente aislados de *K. zeae*. Este método fue eficiente para la mayoría de las especies de hongos. Por ejemplo, cuando se estudiaron 594 especies fúngicas, sobrevivieron el 62%, las que mantuvieron sus principales características morfológicas por 1 a 20 años. Además, se demostró que el 90% de los hongos que sobrevivieron 20 años fueron viables y bajo condiciones óptimas, la técnica de introducción del trocito de hongo en el agua fue determinante para el período de sobrevivencia (Capriles et al., 1989). Diogo et al. (2005) hallaron que distintos hongos se

mantuvieron viables durante 12 meses en frascos estériles con 4 mL de ADE sellados con tapones de goma y cinta de aluminio; Arny et al. (1971) determinaron que *K. zeae* perdió su virulencia con sucesivos repiques en sustratos artificiales.

Para *E. turcicum*, todos los medios de conservación probados fueron adecuados; sin embargo, cuando los cultivos crecieron en AV8, APG y AM, los conidios fueron capaces de germinar pero no formaron nuevas colonias. Otros autores, hallaron como adecuado el AA 1% ya que las colonias mantuvieron el vigor, crecimiento original y capacidad de esporulación almacenadas en ADE o AV8 al 10%, a 15°C y oscuridad (Chang y Fan, 1986); también se conservaron en tubos estría con APG cubiertos con 10 mL de aceite mineral (Cota et al., 2012) al igual que segmentos de cultivos en tubos de 1,5 mL con 0,85 mL de glicerol 15% conservados en freezer a -80°C. El freezer incorporado a heladera ocupa poco espacio y la viabilidad del hongo no es afectada por cortes de energía inferiores a 5 h.

Conclusión

Los hongos *Kabatiella zeae* y *Exserohilum turcicum* de maíz se aíslan, multiplican y conservan por largos períodos de tiempo y en forma eficiente con diversos métodos simples, rápidos y de bajo costo.

4.2 Macromorfología, micromorfología y caracterización molecular de *Kabatiella zeae* y *Exserohilum turcicum*

Introducción

Para la caracterización molecular de aislamientos de microorganismos existen técnicas que se utilizan para la identificación precisa del género y de la especie, y además para la detección y cuantificación de patógenos fúngicos en plantas, tejidos de propagación y productos de cosecha. Sin embargo la velocidad, especificidad, sensibilidad y costo son los principales factores que se consideran en el momento de elegir las diferentes pruebas de diagnóstico (Narayanasamy, 2011). Cuando se utilizan marcadores morfológicos para la identificación, es importante tener en cuenta que los microorganismos necesitan nutrientes, fuente de energía que toman de los medios de cultivo y ciertas condiciones del ambiente en sus etapas de crecimiento y reproducción. De allí, que la composición y otras características de los medios artificiales son relevantes en la etapa de identificación a los hongos patógenos. Por ejemplo, según el microorganismo estudiado la germinación conidial puede ser diferente, ya que es posible obtener una abundante germinación tanto en un medio rico

en nutrientes o uno muy pobre como el AA, diferencias que podrían estar asociadas a la variabilidad genética (Francisco et al., 2006). El medio de cultivo elegido define el diámetro, textura, coloración de haz y envés de la placas, zonación y la esporulación de una colonia fúngica (Sharma y Pandey, 2010).

El APG es uno de los medios de cultivo más usados y, como fuente alternativa se emplean diversos vegetales en la preparación de medios de cultivos para hongos y bacterias. Las semillas de leguminosas como soja, caupí y otras, ya sea enteras, partidas o en forma de harina mezcladas con el agar son fuente de proteínas (Ravimannan et al., 2014). Los medios de cultivo deben poseer un pH óptimo para el crecimiento, producción de pigmentos y esporulación (Bogo et al., 2008; Pradeep et al., 2013). También los microorganismos requieren carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y sales inorgánicas que aporten K, Mg, Fe, Ca, y otros iones que en general son aportados por la papa, extracto de malta, peptona y extracto de levadura. El agregado de glucosa en un medio de cultivo incrementa el crecimiento y número de esporas sólo en algunos hongos (Costa y Nahas, 2012). Los medios CDox (Czapek Dox), AA, APG y AV8 (agar jugo de ocho vegetales) se utilizan para caracterizar colonias fúngicas y cuando se realizan análisis micológicos es muy importante mencionar el medio de cultivo utilizado para garantizar la confiabilidad de los resultados (Copetti et al., 2009).

Para *K. zae* se han utilizado diversos medios como KZM (Reifschneider y Arny, 1979a y 1980a), agar ciruela y APG (Dingley, 1973), AAv (agar avena) y AHM (agar harina de maíz) (Camoचना et al., 2010); para *E. turcicum*, los medios AV8 20% (Chang y Fan, 1986); LCHA (Bigirwa et al., 1993), APG (Abebe et al., 2006; Muiru et al., 2011) y APG 10% (Leonard et al., 1988). Las colonias de *E. turcicum* fueron caracterizadas en diferentes medios nutritivos determinándose aspectos morfológicos y fisiológicos como la velocidad de crecimiento, color y pigmentación de las colonias (Bigirwa et al., 1993; Abebe y Singburadom, 2006; Kumar et al., 2011; Macagno, 2015a).

La variabilidad genética de los hongos puede explorarse con técnicas moleculares. La estructura poblacional, diversidad y ubicación taxonomía se puede comprender a partir de la detección de polimorfismo genético y depende de un conocimiento previo de las secuencias específicas de cada especie. Las relaciones filogenéticas para un amplio rango de niveles taxonómicos se pueden comparar con las secuencias de nucleótidos de los genes RNA ribosomales (rRNA). Para estudiar organismos alejados entre sí, la secuencia

de la más pequeña subunidad nuclear rDNA (16S-like) de lenta evolución es más apropiada; para estudios comunes o a nivel de familia pueden usarse los genes mitocondriales rRNA de más rápida evolución. Para estudios taxonómicos se pueden aplicar las regiones ITS e IGS (intergeneric spacer) de las unidades repetidas del rRNA nuclear de rápida evolución; las regiones ITS1 e ITS2 representan la región más variable del rDNA (Weikert-Oliveira et al., 2002). Por otro lado, el conocimiento de la estructura poblacional de hongos patógenos permite definir el potencial de adaptación que poseen a un determinado hospedante y a los cambios ambientales; además, provee herramientas para los programas de mejoramiento, estudios de resistencia a enfermedades y el desarrollo de estrategias de manejo (Ferguson y Carson, 2004).

El código de barras de ADN proporciona la identificación de una especie en forma rápida, precisa y automática mediante el uso de regiones cortas de genes estandarizados utilizados como etiquetas internas de especies. Esto significa reconocer que dos individuos son idénticos dentro de los límites de variación normal y el código de barras genético tiene como objetivo complementar la clasificación de Linneo basada en similitudes del cuerpo. Por sí solos tampoco son suficientes para describir nuevas especies, base de la taxonomía. En el reino de los hongos, la identificación basada en la morfología de una especie no siempre es fácil, y en muchos casos es incorrecta, lo que se puede atribuir a la falta de caracteres morfológicos distintivos y al predominio de especies microscópicas. Para 38 taxones del reino Fungi se emplearon y examinaron regiones de los genes y se examinaron patrones de secuencia de divergencias en el gen COI (Citocromo c Oxidasa I) completo (Shenoy et al., 2007).

Existen mecanismos moleculares (de los menos conocidos), que regulan la compatibilidad en la reproducción sexual de los hongos filamentosos, que usualmente poseen dos tipos de apareamiento conocidos como MAT1 y MAT2. Éstos son una valiosa herramienta para el estudio de la biología y genética de poblaciones de los hongos y marcadores útiles para análisis filogenéticos. Además, permiten comprender los mecanismos de interacción entre las células y la fertilidad entre especies fúngicas (Conde-Ferrández, 2007).

Las técnicas basadas en los ácidos nucleicos son ampliamente reconocidas como herramientas poderosas para complementar estudios biológicos para la detección e identificación de patógenos, particularmente la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que es rápida, específica y altamente sensible. Sin embargo, la implementación de estas técnicas plantea desafíos, que van desde el costo significativo en insumos hasta la

necesidad de comprender las técnicas lo suficientemente bien como para poder interpretar y resolver problemas cuando se obtienen resultados anómalos en los laboratorios (Vincelli y Tisserat, 2008).

El objetivo del estudio fue determinar la variabilidad morfológica y genética de los hongos *Kabatiella zeae* y *Exserohilum turcicum*.

Materiales y métodos

Las **colonias** de los hongos se caracterizaron en diferentes medios de cultivo como APG, APG acidificado, AV8, AM, AL (agar lenteja), ACV (agar caldo de verduras), Czapek Dox, AAv (agar avena), AGMz (agar granos de maíz), SNA (agar nutriente sintético), AET (agar extracto de tomate), YGCA (levadura glucosa cloranfenicol agar), AC (agar canola) y AHM (agar harina de maíz) (ver Anexo). Los medios nutritivos se esterilizaron en autoclave durante 20 minutos a 1 atm y el pH se corrigió a 5,5 (French y Hebert, 1980; FAO, 1985).

En cajas de Petri con medios de cultivo se sembraron discos de 2 mm de diámetro de aislados monospóricos de *K. zeae* y de *E. turcicum* y las colonias obtenidas se caracterizaron según su forma, borde, micelio, presencia o ausencia de conidios, color en anverso y reverso de las placas de Petri.

La **velocidad media de crecimiento (Vmc) de la colonia** expresada en cm/día, se obtuvo con la fórmula propuesta por Pereira et al. (2006) donde $V_{mc} = \frac{Ct_2 - Ct_1}{T}$ donde Ct_1 = crecimiento en el primer intervalo de tiempo, Ct_2 = crecimiento en el segundo intervalo de tiempo y T = intervalo de tiempo considerado.

Para obtener la velocidad media de crecimiento de las colonias se sembró en el centro de cada placa de Petri con diferentes medios de cultivo, un disco pequeño de aislados monospóricos de *K. zeae* y *E. turcicum*. Con fibra indeleble se marcó el reverso de la placa con dos líneas para obtener de cuatro radios. La incubación durante 48 h se realizó en estufa a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y oscuridad, ubicando las placas con un diseño completamente aleatorizado (DCA) y 3 repeticiones. Posteriormente, se llevaron a cámara de cría con 12 h de luz fluorescente fría. El radio de las colonias se midió a los 1, 4, 9, 12 y 29 días después de la siembra (dds). El primer registro de las hifas hialinas de *K. zeae* apenas visibles, requirió el uso de microscopio óptico 0,8X (coeficiente micrométrico=1,3 μm) y para los cuatro últimos registros, se empleó un calibre digital (Electronic Digital Caliper Schwyz). Con el valor del radio se calculó el diámetro ($r \times 2$) y el diámetro acumulado en el tiempo, ambos expresados en cm.

La **caracterización de aislados** de cinco aislamientos monospóricos de *K. zeae* KOVerde, KEp91 y KEp15 de Paraná (ER), KCba90 de Balnearia (Córdoba) y KPerg1 de Pergamino (Buenos Aires) se realizó en cajas de Petri con APG acidificado sembrando discos de 4 mm de diámetro. Se incubaron en cámara de cultivo a $25\pm 2^\circ\text{C}$ y oscuridad durante 12 días y posteriormente, en laboratorio a 26°C , con 12 h de luz con un diseño completamente aleatorizado (DCA) con tres repeticiones. Los radios (cm) se midieron a los 4, 8, 12 y 16 dds y a partir del diámetro, se calculó la Vmc.

La **abundancia de conidios** en los diferentes medios de cultivo fue estimada visualmente bajo microscopio estereoscópico o bien por recuento a partir de una gota de suspensión fúngica tomada con varilla de vidrio esterilizada en el rayado superior e inferior de la cámara de Neubauer. La suspensión se logró a partir de un cuadrado de 5 mm^2 de colonias de 17 dds en un tubo de ensayo con 10 mL de ADE y homogeneizado en agitador eléctrico durante 1 min. El número de conidios por mL se obtuvo por la sumatoria de los cinco cuadrados secundarios multiplicado por el factor 50.000 (French y Hebert, 1980). Además, se determinó el tamaño de conidios midiendo longitud y ancho de 25 conidios por cada medio de cultivo, con microscopio óptico (400X).

Los valores obtenidos fueron analizados con el paquete estadístico Infostat Versión 2016e (Di Rienzo et al., 2016).

Para la **caracterización molecular** se emplearon aislados de *K. zeae* de distinto origen geográfico compartidos con la Cátedra de Microbiología General de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral (Dres. Lurá, Argaraña y Marchisio) para realizar estudios moleculares. El primer ensayo exploratorio consistió en probar dos métodos de extracción de ADN para lo cual se utilizaron aislamientos jóvenes codificados como Kz59 de Entre Ríos y Kz52 de Buenos Aires conservados en tubos estricta con APG 2%. Con el método A se extrajo el micelio en placas de Petri con “medio ecológico” (**Anexo**) con una incubación de 3 a 5 días a $25\pm 3^\circ\text{C}$ y oscuridad. El método B consistió en la obtención de “pellets” (masa de micelio) en un medio líquido usado para el hongo *Colletotrichum* y denominado MLC. A las cajas de Petri con el hongo se agregó el MLC y la suspensión obtenida se ubicó en erlenmeyers con 100 mL de MLC. Éstos, se agitaron en forma continua por cinco días en agitador horizontal eléctrico para favorecer la formación de los “pellets”. El micelio en pequeñas masas se filtró con gasa y muselina estéril, se dejó escurrir sobre papel de filtro estéril en una placa de Petri perforada y posteriormente se secó en estufa a baja temperatura por varios días. El micelio obtenido se pulverizó en un mortero esterilizado hasta lograr un fino polvillo que se conservó

a -20°C. El ADN se obtuvo a partir de 60 mg de micelio con un kit de extracción y se conservó a -20°C. Para verificar la existencia de ADN se realizó una corrida electroforética en gel de agarosa al 1%, con distintos aislamientos, verificándose que no amplificaron dos de los aislamientos (Kz35 de Córdoba y Kz59 de Entre Ríos).

Con PCR con corrida electroforética en gel de agarosa se estudiaron 17 aislados de *K. zeae* y solamente no amplificó el aislamiento Kz16 de Pergamino (Buenos Aires). En un termociclador se amplificaron los ADN copias y se seleccionaron los primers GTG(5) y GACA(4) con la metodología de Vincelli y Tisserat (2008). Se emplearon los aislados 10, 12, 14, 15, 16, 17 y 18 de Pergamino (Buenos Aires), 35 y 23 de Marcos Juárez (Córdoba) y 59 de Paraná (Entre Ríos).

Otro ensayo se realizó utilizando RAPD empleando los aislados 09, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 23, 35, 52 y 54 según la metodología propuesta por Williams et al. (1990). Para ello, se utilizaron los oligonucleótidos OPA-01, OPA-03, OPA-05 y OPA-10; los perfiles de bandas obtenidos se fotografiaron y analizaron con Gel Dcc XR System usando el software QuantityOne. Para la amplificación de la región ITS del ADNr se utilizaron los oligonucleótidos ITS 4 e ITS 5 y el análisis bioinformático de las secuencias nucleotídicas se efectuó con el programa Chromas Lite 2.01 y se alinearon con los programas Vector NTI.9. Align X y Blast. Los resultados obtenidos se compararon con las secuencias de *K. zeae* disponibles en el GenBank (Joris et al., 2014).

La obtención de micelio para la extracción de ADN de *E. turcicum* se realizó mediante la siembra de los aislados en “medio ecológico” y para la formación de “pellets” se utilizó MLC. El micelio obtenido fue pulverizado y conservado a -20°C, y el ADN se obtuvo a partir de 60 mg de micelio con un kit de extracción y conservado a -20°C. Con la técnica de PCR con corrida electroforética en gel de agarosa 1% usando el oligonucleótido GACA4 se estudiaron 15 aislamientos de *E. turcicum* de diferentes orígenes geográficos de la provincia de Entre Ríos (**Tabla 46**). Se amplificaron los ADN copias en termociclador y se utilizó el marcador de PM Cien Marker (de 0 a 1000 pb).

Tabla 46. Aislados de *Exserohilum turcicum* usados en los estudios moleculares

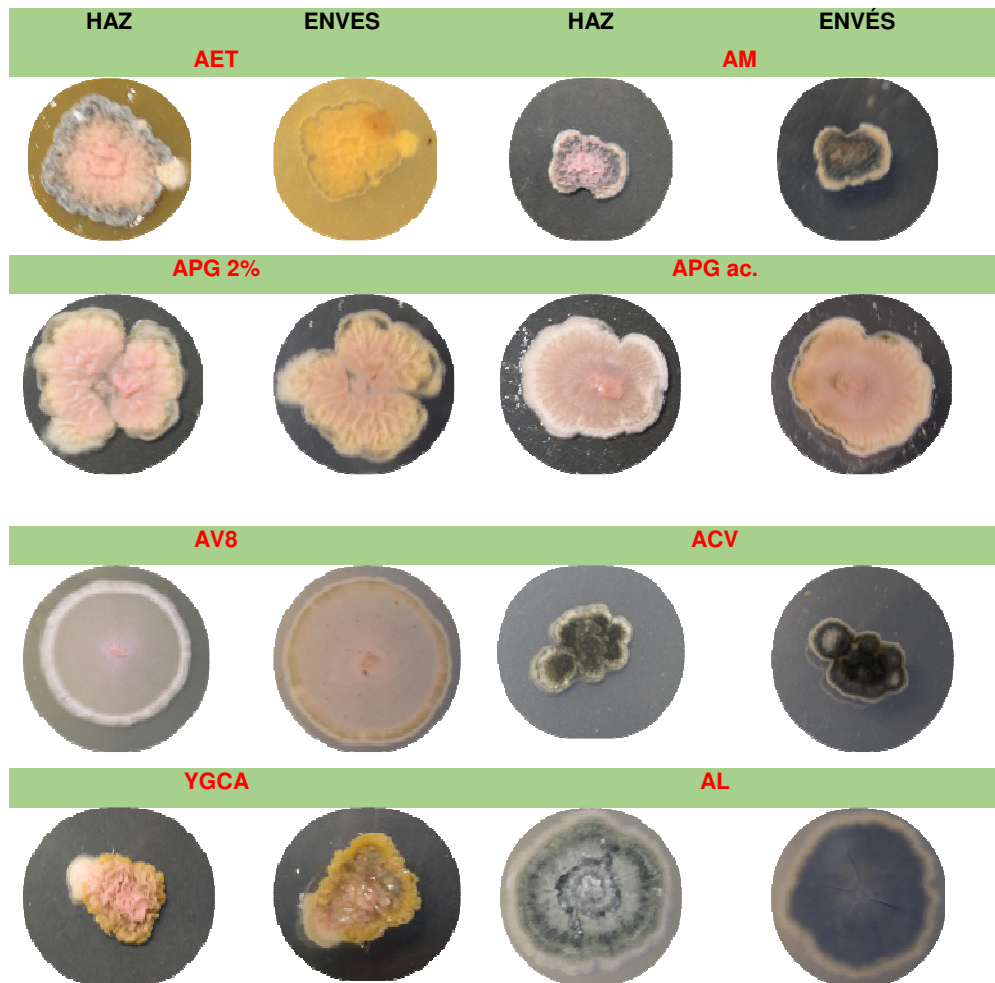
Aislamiento N°	Localidad	Aislamiento N°	Localidad
11	Paraná	44	Paraná
15	Paraná	46	Paraná
18	Paraná	48	Paraná
22	Villaguay	50	Diamante
38	Paraná	73	La Paz
40	Uruguay	84	Paraná

Resultados

Kabatiella zeae

El aspecto general de las colonias de *K. zeae* fue variable en forma, borde, color, esporulación y difusión de pigmentos. En AAv, CVA, AHM, APG, APG acidificado, AM, YGCA, Cdox y AET, el 70% de los medios, las colonias fueron elípticas o ligeramente ovales; en el 29% de los medios como AGMz, SNA, AL y AV8, presentaron forma circular y sólo en AA, el aspecto fue indefinido por el escaso crecimiento. La mayoría de las colonias poseían bordes lobulados, sin embargo fueron lisos en AV8, AL y SNA, estrellados en Cdox y muy irregulares en AA y AHM.

El 80% de las colonias mostraron colores claros y brillantes, principalmente rosadas y en ACV, AL y AHM, grises o negras. La coloración del anverso de las placas de Petri por difusión de pigmentos fue variable, negro, ocre con tonalidades rosadas o completamente rosadas como en AA, SNA, AAv y Cdox (**Figura 61 y Tabla 47**).



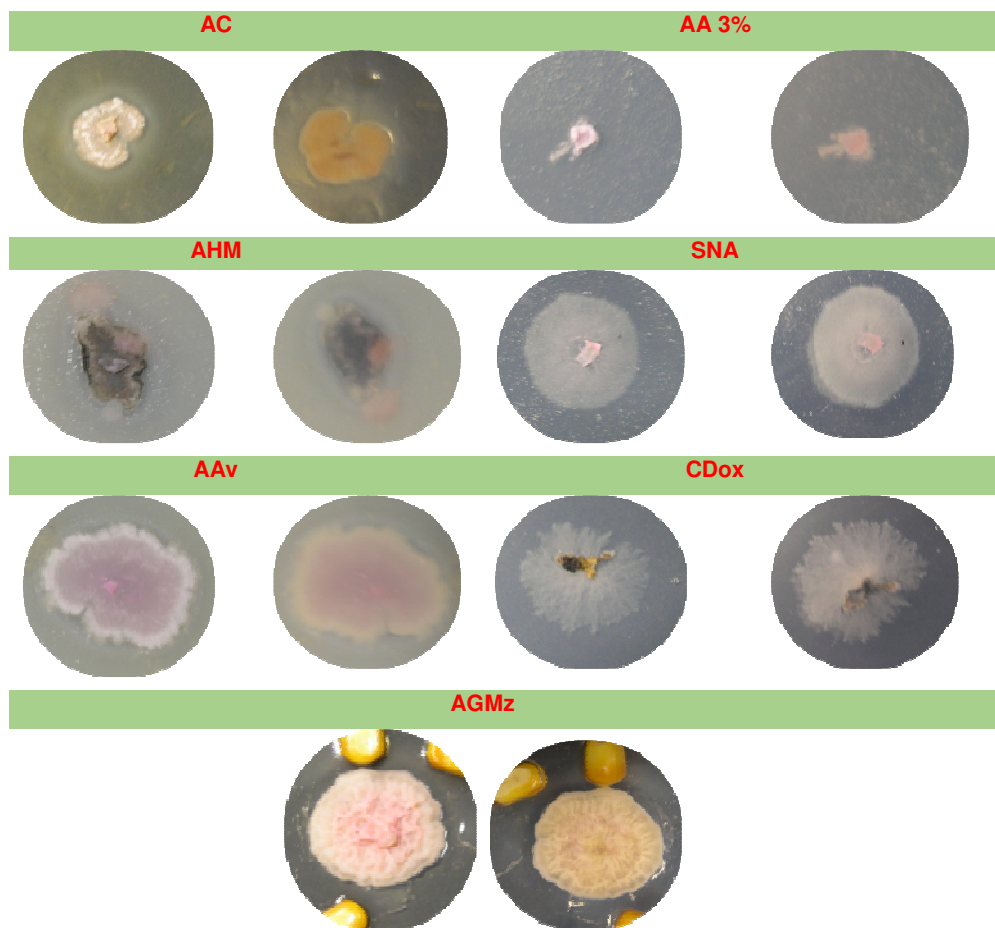


Figura 61. Colonias de *Kabatiella zeae* en diferentes medios de cultivo.

Tabla 47. Morfología de colonias de *Kabatiella zeae* en diferentes medios de cultivo

MEDIOS DE CULTIVO	FORMA	BORDE	COLOR	ESPORULACIÓN	CONSISTENCIA
AET	elíptica, cerebroide	Lobulado	centro rosa, margen gris oscuro, sectores blanquecinos	aérea con masas mucilaginosas y abundante	poco coriácea
AM	elíptica, cerebroide	Lobulado	centro rosa, margen ancho gris negrusco con áreas blanquecinas y rosa pálido	Escasa	muy coriácea
APG 2%	elíptica o circular, cerebroide	Lobulado	rosada con margen delgado grisáceo con áreas blancas	Abundante	poco coriácea
APG acid.	circular, aplanada	Lobulado	radial con áreas	abundante	poco coriácea

			concéntricas rosadas		
AV8	circular, aplanada	levemente lobulado	centro rosado con áreas blanquecinas y tintes verdosos	moderada	poco coriácea
ACV	elíptica elevada	marcadamente lobulado	negro con áreas verdosas	Moderada	muy coriácea
YGCA	elíptica, cerebroide, sobrelevada	Lobulado	centro rosado, área circundante color ocre	Escasa	muy coriácea
AL	circular, cerebroide	Lobulado	áreas concéntricas grisáceas, otras negras	Escasa	median. coriácea
AC	elíptica o circular, aplanada	escasamente lobulado	centro rosado opaco con áreas blanquecinas	aérea, escasa	poco coriácea
AA 3%	irregular	Lobulado	rosado pálido	Escasa	no coriácea
AHM	elíptica	escasamente lobulado	blanca con área beige, gris, negro verdoso y algunas rosadas	Escasa	median. coriácea
SNA	circular, aplanada	Liso	rosa pálido	Escasa	no coriácea
AAv	circular, aplanada	Lobulado	centro rosado con áreas blanquecinas; estromas negros	Escasa	poco coriácea
CDox	pequeña, circular	Estrellado	centro oscuro casi negro, áreas rosa pálido	Escasa	no coriácea
AGMz	circular, cerebroide	escasamente lobulado	áreas concéntricas rosa intenso	aérea escasa	muy coriácea

Las colonias de un aislado de *K. zae* fueron variables según los medios de cultivo. A las 24 h, en la mayoría de los medios se observaron hifas, con excepción de AA, AHM, AAv y CDox. A los 29 dds, el diámetro de las colonias osciló entre 0,57 y 3,24 cm, siendo las de mayor tamaño aquellas que crecieron en AL y AV8, hallándose diferencias estadísticas significativas (**Tabla 48** y **Gráfico 14**). La Vmc de *K. zae* fue variable con valores máximos diarios en AV8, AAv y AL y mínimo, en AA (**Gráfico 15**).

Tabla 48. Crecimiento (cm) de colonias de *Kabatiella zae* en diferentes medios de cultivo

Medio	Tiempo (días)				
	1	4	9	12	29
AET	0,47 a	0,94 ab	1,16 cd	1,50 cd	1,99 bc
AM	0,40 a	0,59 de	0,65 e	0,85 e	1,28 cde
APG 2%	0,42 a	0,87 abc	1,07 cd	1,39 cd	2,00 bc
APG ac	0,43 a	0,98 ab	1,28 bc	1,66 bc	2,32 bc
AV8	0,42 a	1,13 a	1,78 a	2,31 a	3,23 a
ACV	0,37 a	0,54 de	0,65 e	0,85 e	1,19 de
YGCA	0,40 a	0,76 bcd	0,92 de	1,19 de	1,74 bcd
AL	0,47 a	1,06 a	1,59 ab	2,07 ab	3,24 a
AC	0,32 a	0,59 de	0,65 e	0,85 e	1,23 de
AA 3%	0,00 b	0,00 f	0,00 f	0,00 f	0,57 e
AHM	0,00 b	0,63 cde	0,68 e	0,88 e	1,45 cd
SNA	0,38 a	0,63 cde	0,91 de	1,18 de	1,88 bcd
AAv	0,00 b	0,91 ab	1,24 cd	1,62 cd	2,42 b
CDox	0,00 b	0,46 e	0,68 e	0,88 e	1,35 cd
AGMz	0,47 a	1,10 a	1,38 bc	1,80 bc	2,43 b

Letras iguales indican diferencias no significativas ($\alpha=0,05$).

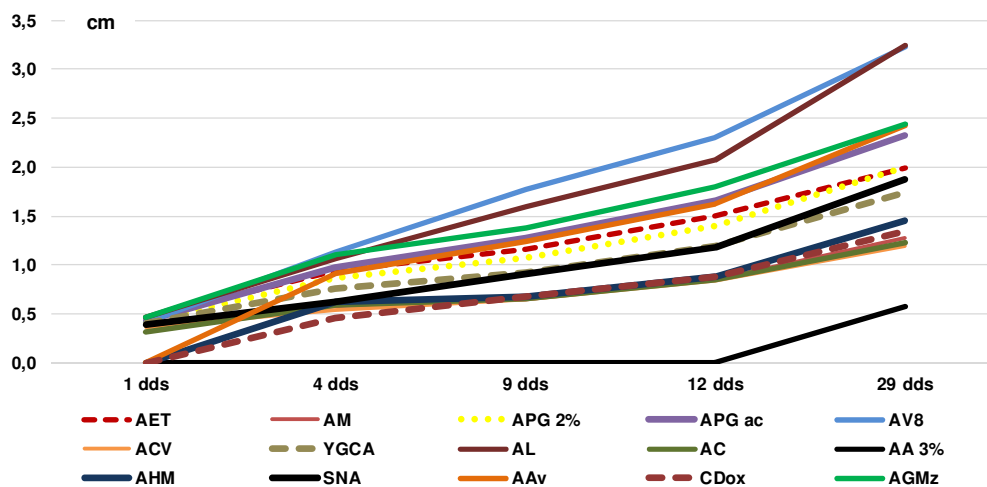


Gráfico 14. Crecimiento (cm) de *Kabatiella zae* en diferentes medios de cultivo.

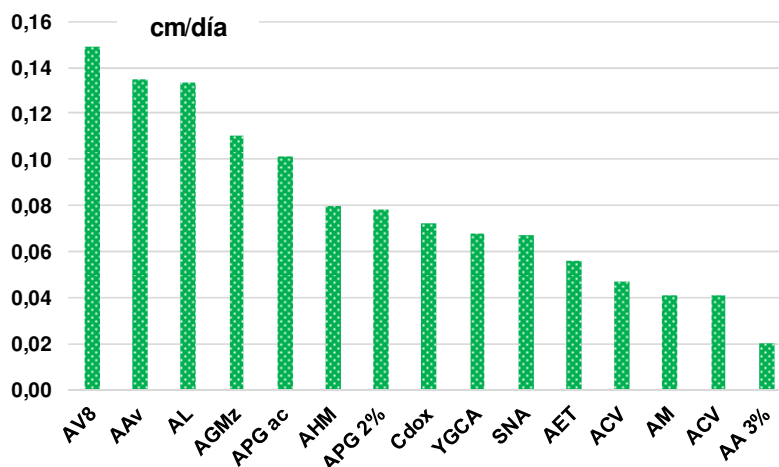


Gráfico 15. Velocidad media del crecimiento (cm/día) de *Kabatiella zeae* en diferentes medios de cultivo.

El diámetro de las colonias de diferentes aislados de *K. zeae* sembrados en APG acidificado a los 4, 8 y 12 dds fueron ligeramente variables y no se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$) entre los mismos. A los 16 dds el crecimiento del aislamiento Kep15 se diferenció estadísticamente de los aislados KPerg1, KOVerde, Kep91 y Kcba90 (**Tabla 49**).

Tabla 49. Crecimiento (cm) de cinco aislados de *Kabatiella zeae* en agar papa glucosado acidificado

AISLAMIENTO	Tiempo (días)				
	4	8	12	16	
KOVerde	0,73	1,28	1,77	2,00	b
KEp91	0,66	1,20	1,68	1,96	b
KEp15	0,70	1,08	1,55	1,64	a
KPerg1	0,70	1,16	1,58	1,73	ab
KCba90	0,77	1,23	1,80	1,99	b

Letras iguales indican diferencias no significativas ($\alpha=0,05$).

El mayor crecimiento se determinó en los aislados KOVerde y Kep91 (Entre Ríos) y Kcba90 (Córdoba). Los de menor crecimiento fueron Kep15 (Entre Ríos) y KPerg1 de Buenos Aires (**Gráfico 16**).

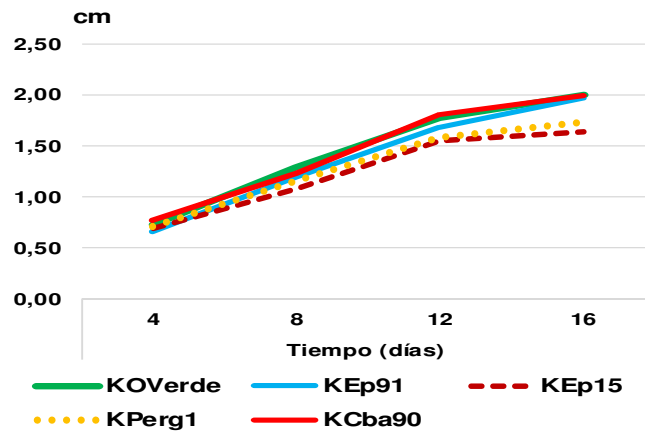


Gráfico 16. Crecimiento (cm) de diferentes aislados de *Kabatiella zeae* en agar papa glucosado (APG) acidificado.

En oscuridad, la Vmc fue variable entre los aislados y fue máxima a los 4 dds. Luego, el incremento por unidad de tiempo fue menor hasta los 8 dds y posteriormente, se detectó un rápido incremento hasta los 12 dds. Cuando los aislados se pasaron a otra condición lumínica o de mayor temperatura, el crecimiento fue muy lento hasta consumirse casi todo el medio de cultivo a los 16 días (**Gráfico 17**).

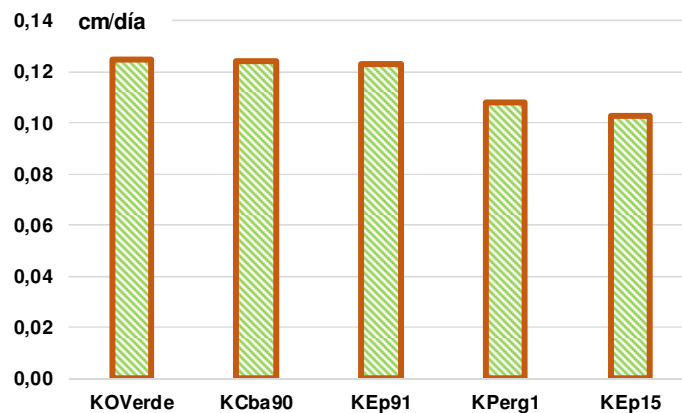


Gráfico 17. Velocidad media de crecimiento (cm/día) de diferentes aislados de *Kabatiella zeae* en agar papa glucosado (APG) acidificado.

La morfología de las colonias de aislados estudiados fue similar durante los primeros días y con algunas variantes a los 16 días; todas mostraron un patrón similar, es decir fueron circulares con márgenes levemente lobulados de color claro blanco grisáceo, concéntricas con áreas de diversas tonalidades desde el gris, negro, ocre, marrón, pardo, verdoso con excepción de Kep15, que poseía un área de esporulación central de color rosado (**Figura 62**).

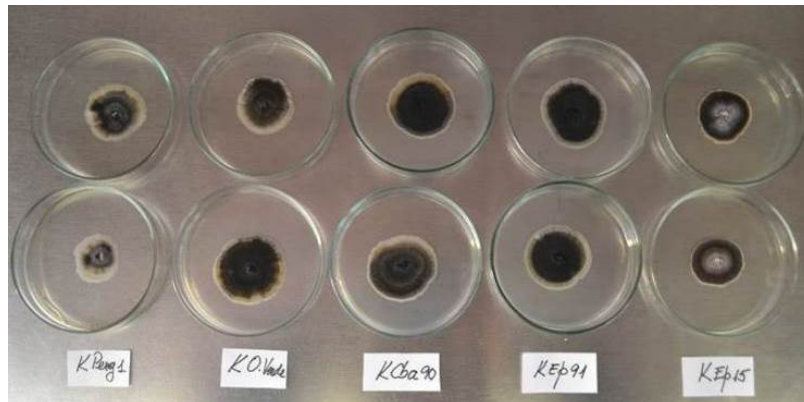


Figura 62. Características de diferentes aislados de *Kabatiella zae* en agar papa glucosado (APG) acidificado.

Producción de conidios

Las colonias produjeron abundantes conidios en masas mucilaginosas globosas, algunas cerebriformes o con pliegues; otras con abundante micelio, con esporulación sobre hifas aéreas más o menos compactas y otras mixtas, con ambas formas (**Figura 63**).

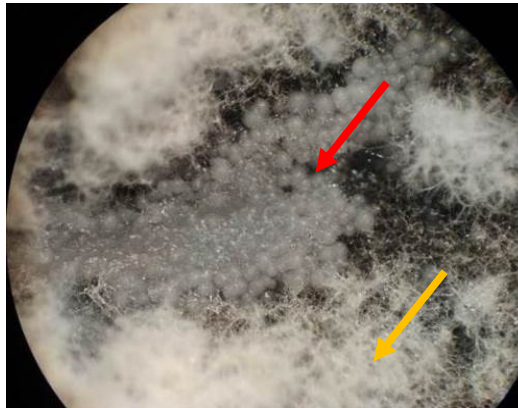


Figura 63. Colonia mixta de *Kabatiella zae* con masa de conidios (flecha roja) e hifas esporulantes (flecha amarilla) en agar lenteja (AL).

La estimación visual de la **abundancia de conidios** según el tamaño de la masa brillante y elevación correspondiente a la producción de conidios permitió definir que fue abundante en APG, AAv, YGCA, AET, AV8 y AGMz (58%), intermedia en APG acidificado, ACV, AI y AHM (33%) y muy escasa en AA. Los conidios típicos midieron un promedio de $30,7 \times 2,6 \mu\text{m}$ (**Tabla 50**) las que coinciden con las halladas por otros autores (**Tabla 51**).

Tabla 50. Abundancia y tamaño (μm) de conidios de un aislado de *Kabatiella zeae* en diferentes medios de cultivo

		CONIDIOS
MEDIO CULTIVO	ESPORULACIÓN	Longitud x Ancho
APG 2%	Abundante	28,2 > 33,0 < 38,4 x 2,6
AAv	Abundante	23,0 > 30,2 < 38,4 x 2,6
YGCA	Abundante	Cortos: 12,8 > 17,3 < 17,9 x 2,6
		Típicos: 23,0 > 30,7 < 41,0 x 2,6
AV8	Abundante	17,9 > 30,3 < 38,4 x 2,6
AGMz	Abundante	25,6 > 31,1 < 35,8 x 2,6
AET	Abundante	15,4 > 27,6 < 33,3 x 2,6
AC	Abundante (aérea)	25,6 > 32,6 < 48,6 x 2,6
APG ac.	Intermedia	15,6 > 26,1 < 33,3 x 2,6
ACV	Intermedia	23,0 > 32,5 < 40,9 x 2,6
AL	Intermedia	25,6 > 33,9 < 46,1 x 2,6
AHM	Intermedia	23,0 > 29,7 < 38,4 x 2,6
CDox	Escasa	15,4 > 19,7 < 23,0 x 5,1

Tabla 51. Medidas de referencia de conidios de *Kabatiella zeae* de maíz

Conidios		
Longitud	Ancho	Referencias
(μm)		
32,4	2,6	Narita e Hiratsuka (1959)
16,0 - 29,0	2,2 - 3,2	Gates y Mortimore (1969)
18,0 - 33,0	3,0 - 4,0	Army et al. (1971)
15,5 - 33,0	2,1 - 5,0	Frezzi (1972)
18,0 - 35,0	2,5 - 3,0	Dingley (1973)
19,6 - 34,3	2,45 - 4,9	dos Santos et al. (2007)
27,0 - 33,0	3,0 - 4,0	Camochena (2009)
28,1 - 53,8	2,6 - 3,8	Formento (2011)
16,6 - 40,9	1,3 - 2,8	

La abundancia determinada por recuento de conidios mostró que en los medios APG y APG acidificado se logró la mayor cantidad de conidios típicos con una concentración de $9,0 \times 10^5$ y $5,4 \times 10^5$ conidios/mL, respectivamente, hallándose diferencias estadísticas significativas entre los medios (**Tabla 52**).

Tabla 52. Cantidad de conidios/mL de *Kabatiella zae* en diferentes medios de cultivo

Medio Cultivo	Conidios/mL	
AGMz	4,6 x 10 ⁵	bc
AAv	3,6 x 10 ⁵	abc
SNA	2,0 x 10 ⁵	ab
APG ac	5,4 x 10 ⁵	cd
AV8	2,0 x 10 ⁵	ab
AM	1,3 x 10 ⁵	a
AET	3,2 x 10 ⁵	abc
APG 2%	9,0 x 10 ⁵	d
AA 3%	2,4 x 10 ⁵	ab

Letras iguales indican diferencias no significativas ($\alpha=0,05$).

En las pruebas moleculares básicas, el uso de “pellets” de micelio permitió obtener bandas claras y marcadas con el oligonucleótido (GACA)₄, mientras que a partir de micelio obtenido en placas de Petri las bandas fueron poco visibles posiblemente por el arrastre de agar cuando se trabajó con los aislamientos Kz52 y Kz59. La cepa utilizada como patrón correspondió al hongo *Cercospora kikuchii* (Ck) (**Figura 64**).

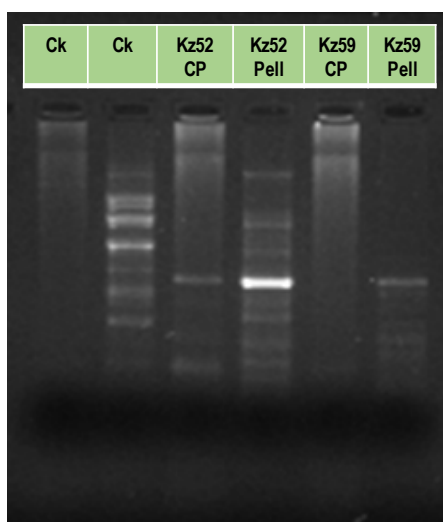


Figura 64. Bandas de *Kabatiella zae* según método de extracción de ADN (CP=caja de Petri), Pell (pellets) y Ck=cepa patrón (*Cercospora kikuchii*).

Los aislamientos Kz5, Kz9, Kz11 y Kz13 no amplificaron con el oligonucleótido GACA₄ (**Figura 65**).

A partir de 14 aislamientos se visualizaron tres grupos (**a**, **b** y **c**) según el grado de similitud con el coeficiente de Dice. El **Grupo a** reunió los aislamientos **Kb15**, **Kb16**, **Kb18**, **Kb14** (Buenos Aires), **Kb35** (Córdoba) y **Kb59** (Entre Ríos) con un grado de similitud del

63%. El **Grupo b** permitió asociar a los aislamientos **Kb10, Kb12, Kb17, Kb52** (Buenos Aires) y **Kb29** (Córdoba) con un grado de similitud del 71% y el **Grupo c** reunió a los aislamientos **Kb23 y Kb54** (Buenos Aires) con sólo un 9% de similitud (**Gráfico 18**).

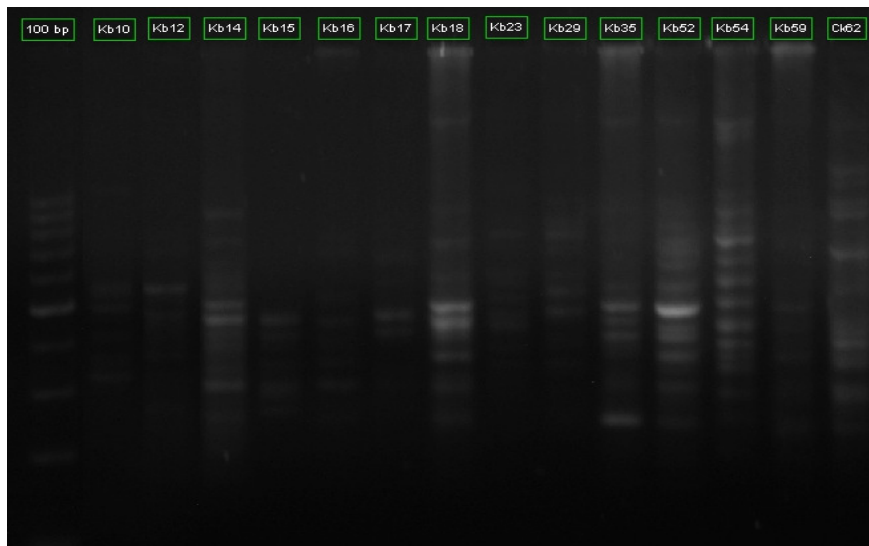


Figura 65. Bandas de diferentes aislados de *Kabatiella zae* obtenidas por electroforesis de ADN con GACA4 y marcador 100 en 100 pb.

Los perfiles de 156 bandas, el 100% polimórficas de los aislamientos K09, K10, K12, k13, K14, K15, k16, K17, K23, K35, K52 y K54, mostraron un rango de bandas amplificadas entre 1889 y 199 bp.

Los primers RAPD, que generan fragmentos polimórficos y las bandas obtenidas permitieron agrupar probablemente en dos grandes grupos constituidos por dos aislados cada uno, con un porcentaje de similitud mayor al 60%, mientras que el OPA-1 formó un solo grupo. Los aislados K52 y K54 fueron agrupados tanto por el operon OPA-03 y OPA-05 con porcentajes de similitud del 78 y 86%, respectivamente. Los demás aislamientos se hallaron distanciados genéticamente.

Por otro lado, los oligonucleótidos ITS 4 e ITS 5 amplificaron en todos los casos un fragmento de aproximadamente 500 bp. Las secuencias obtenidas fueron idénticas entre si y mostraron un 93% de identidad con *Kabatiella zae* 5.8S rRNA gene e internal transcribed spacers 1 y 2 (ITS 1 e ITS 2), strain CBS 767.71 cuyo número de acceso en GenBank fue AJ244253.1.

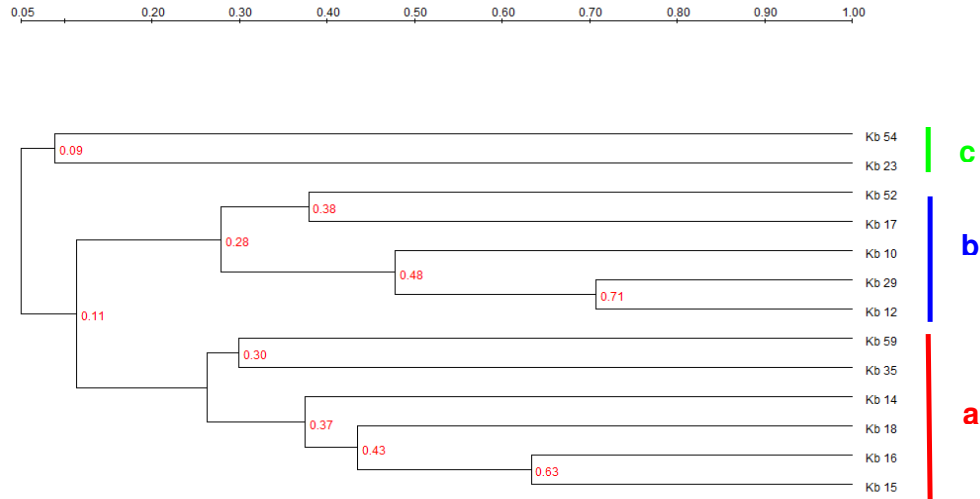
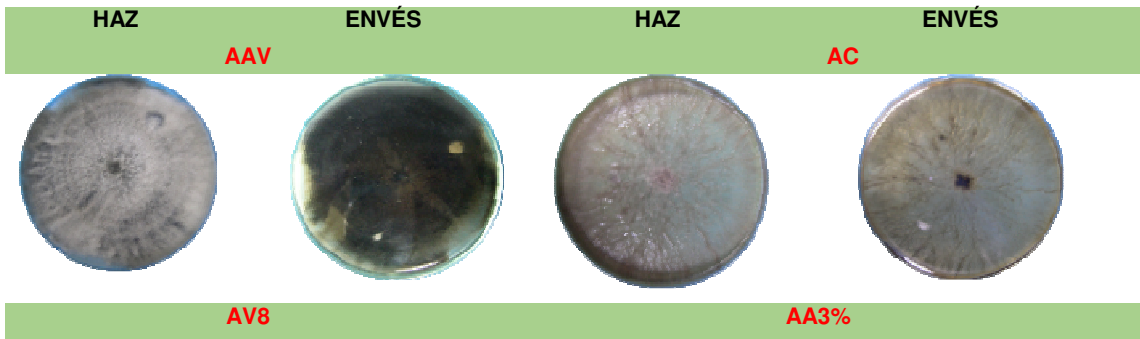


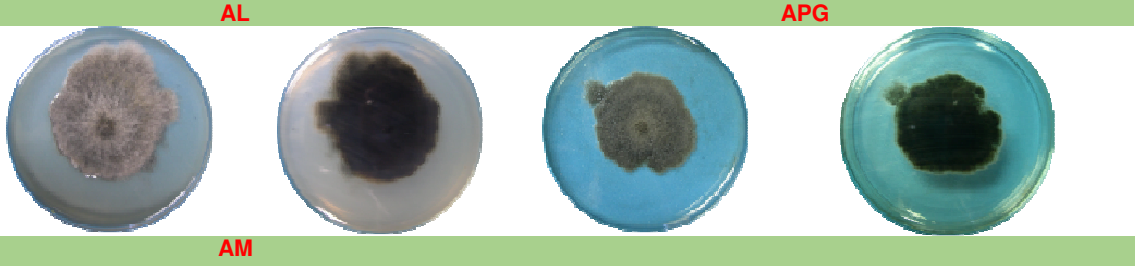
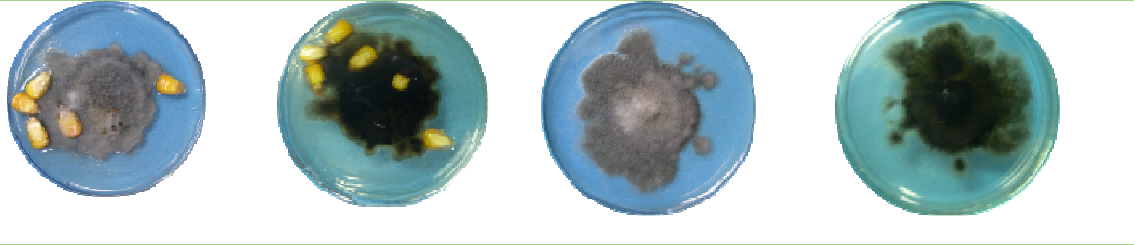
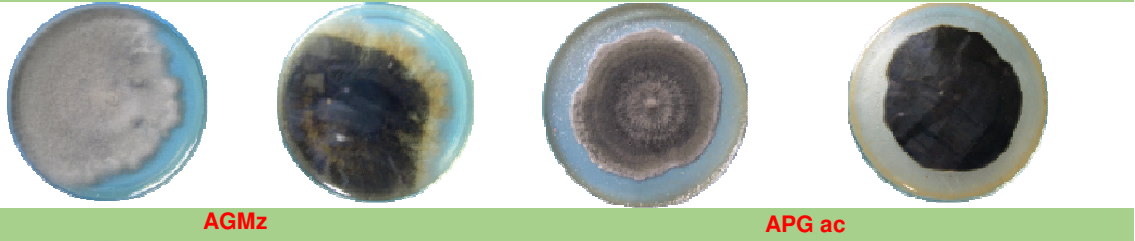
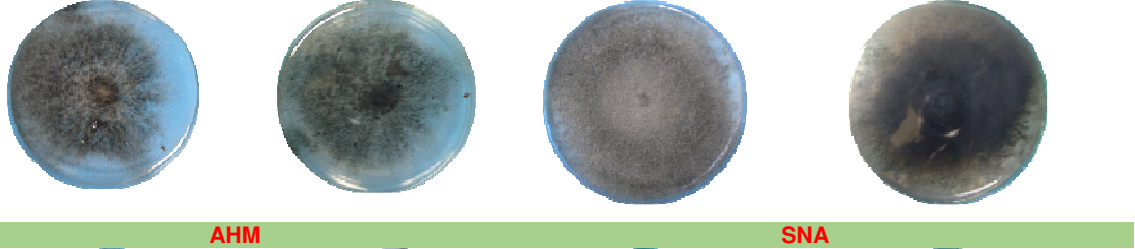
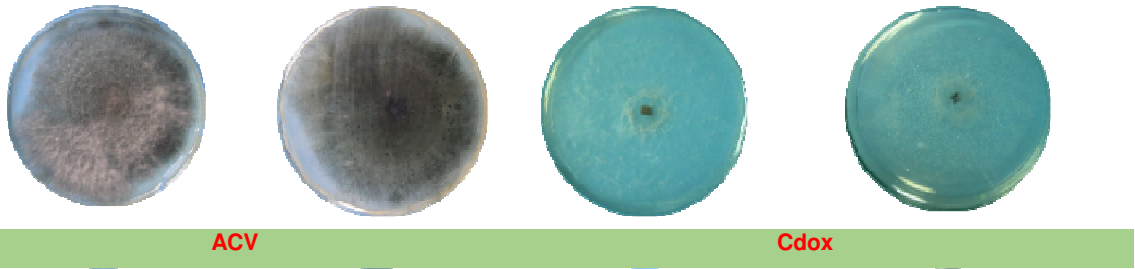
Gráfico 18. Fenograma de similitud de *Kabatiella zae* de diferentes orígenes (Buenos Aires, Córdoba y Entre Ríos).

Los resultados obtenidos permitieron determinar que los aislados estudiados pertenecían a *Kabatiella zae* y que los mismos presentaban una gran diversidad genética.

Exserohilum turcicum

Las colonias en los diferentes medios de cultivo, en general fueron circulares, con bordes lisos o ligeramente lobulados, color gris claro u oscuro, radiales, concéntricas o anilladas, con tonalidades o sectores muy oscuros casi negro, tanto en el anverso como en el reverso. En algunos medios como AET, YGCA, APG, AGMz y AL, el reverso de las placas presentó un color negro definido; en otros medios, fue negro-verdoso y en algunos, grisáceo. Sólo en AA y SNA las colonias presentaron hifas hialinas y escasas, concentradas en el centro, mientras que en AC el micelio fue escaso y mostró cordones marrón oscuros casi negros, en forma radial (**Figura 66**).





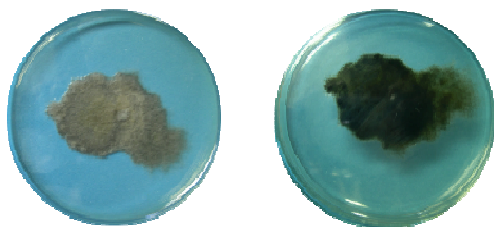


Figura 66. Morfología del anverso y reverso de colonias de *Exserohilum turcicum* en diversos medios de cultivo.

Además, la cantidad de micelio y la esporulación fue variable en los distintos medios de cultivo (**Tabla 53**).

Tabla 53. Macromorfología de colonias de *Exserohilum turcicum* en diferentes medios de cultivo

MEDIO	FORMA	COLOR	MICELIO	ESPORULACIÓN
AAv	circular	gris verdoso	abundante	(+)
AC	circular	amarillo verdoso	escaso	(++)
AV8	circular	gris	abundante	(+)
AA3%	circular	gris	escaso	(-)
ACV	circular	gris	escaso	(+++)
CDox	circular	gris verdoso	abundante	(+)
AHM	circular	gris	abundante	(-)
SNA	circular	gris	escaso	(-)
YGCA	irregular	amarillo verdoso	abundante	(+)
AET	circular	gris perlado	intermedio	(+++)
AGMz	circular	gris verdoso	intermedio	(++)
APGac	circular	verdoso	abundante	(++)
AL	circular	gris verdoso	abundante	(-)
APG	circular	verdoso	escaso	(+++)
AM	irregular	gris	abundante	(+)

Referencias: (-) sin conidios; (+) escasa; (++) moderada y (+++) abundante.

El crecimiento de las colonias de *E. turcicum* a los 13 dds osciló según los diferentes aislados entre 4 y 9 cm. Los valores máximos del diámetro se determinaron tanto en medios naturalizados con fuentes carbonadas (AV8, AC y AAv) como en medios pobres como AA y CDox (**Tabla 54** y **Gráfico 19**).

La formación de micelio fue altamente variable según los medios de cultivo y la Vmc de *E. turcicum* osciló entre 0,38 y 0,71 cm/día, destacándose los medios AAv, AC, AV8, AA y ACV (**Gráfico 20**).

La producción de conidios no se asoció a la Vmc ya que en algunos medios donde el hongo crecía rápidamente, no era capaz de producir una abundante cantidad de conidios, sólo excepcionalmente como el caso del medio ACV.

En medio AA el micelio cubrió todo el diámetro de la caja de Petri, sin generar ningún conidio.

Tabla 54. Crecimiento del diámetro (cm) de colonias de *Exserohilum turcicum* en diferentes medios de cultivo

Medio de Cultivo	Tiempo (días)		
	2	7	13
AET	1,47 b	4,53 efgh	5,70 bc
AM	0,93 de	3,71 hij	4,51 c
APG	1,12 cde	3,76 hij	4,32 c
APGac	0,94 de	3,47 ij	5,82 bc
AV8	1,22 bcd	4,78 efgh	8,84 a
ACV	1,91 a	5,02 defg	7,23 ab
YGCA	0,86 e	3,07 j	7,21 ab
AL	1,20 bcd	4,21 fgghi	4,73 c
AC	1,05 de	6,76 ab	8,91 a
AA3%	0,83 ef	6,44 abc	9,00 a
AHM	1,20 bcd	5,32 cdef	7,62 ab
SNA	0,94 de	5,77 bcde	7,25 ab
AAv	1,43 bcd	6,04 abcde	9,00 a
CDox	0,51 f	7,19 a	8,85 a
AGMz	0,90 de	4,03 ghij	5,85 bc

Letras iguales indican diferencias estadísticas no significativas ($\alpha = 0,05$).

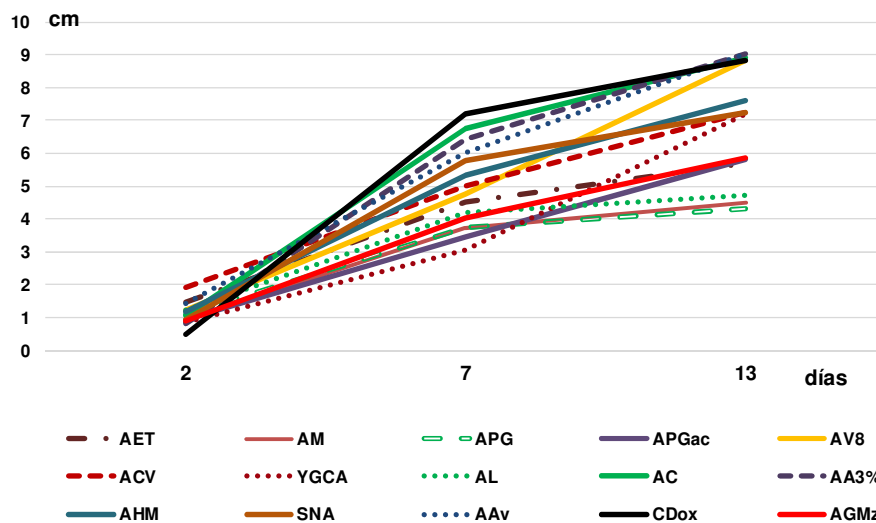


Gráfico 19. Crecimiento (cm) de *Exserohilum turcicum* en diferentes medios de cultivo.

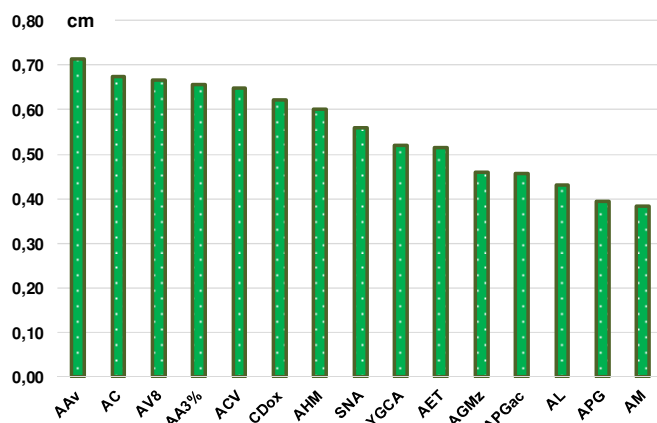


Gráfico 20. Velocidad media de crecimiento (cm/día) de *Exserohilum turcicum* en diferentes medios de cultivo.

Los aislados Et2 (Diamante) y Et4 y Et6 (Paraná) no amplificaron (**Figura 67**).

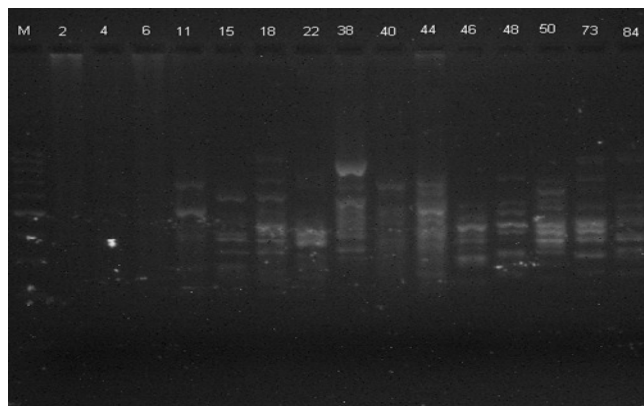


Figura 67. Bandas polimórficas obtenidas a partir del ADN de 15 aislados de *Exserohilum turcicum*.

De análisis del dendograma surge la poca similitud entre los aislados, pudiéndose separar cuatro grupos de acuerdo al coeficiente de Dice. El **Grupo a** reunió a los aislados **Et46** (Paraná), **Et50** (Diamante) y **Et22** (Villaguay); el **Grupo b** a **Et38**, **Et44** y **Et11** (Paraná) y **Et40** (Uruguay); el **Grupo c** a los aislados **Et18** y **Et15** (Paraná) y el **Grupo d** permitió asociar los aislados **Et84** y **Et48** (Paraná) y Et73 (La Paz) (**Gráfico 21**).

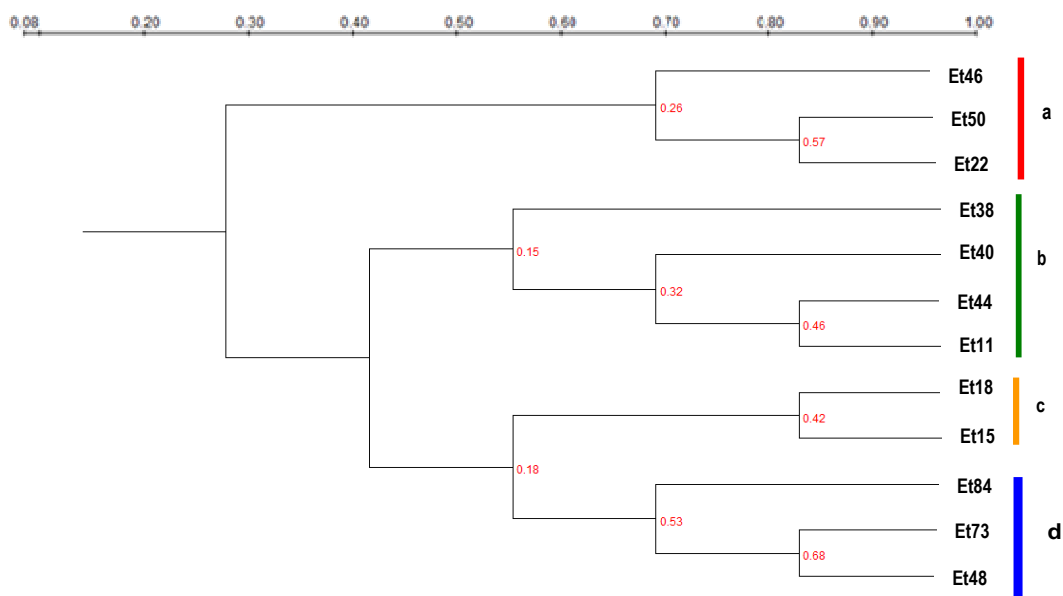


Gráfico 21. Fenograma de similitud de aislados de *Exserohilum turcicum* de diversos orígenes geográficos de Entre Ríos.

Discusión

La macromorfología de las colonias de *K. zeae* mostraron una marcada variabilidad y el 80% de las mismas desarrolladas en diferentes medios de cultivo fueron de color rosado brillante coincidentemente con lo hallado por Camochena et al. (2010). Además, se describió que las colonias inicialmente eran blancas, a los 5 dds de color salmón y a los 10 dds, rosado oliváceas. La coloración negra característica que tomaron las colonias entre los 2 y 30 días fue similar a lo hallado por Arny et al. (1971) quienes caracterizaron a las colonias jóvenes de color amarillo o rosado, las que con la edad se tornaban negro azuladas o negras. Por el contrario, Reifschneider y Arny (1980a) identificaron un 18% de colonias claras y 82% de colonias oscuras.

Todos los aislados después de 48 o 72 h presentaron dificultades para ser extraídos, ya que la colonia se desprendía o “levantaba” en forma completa arrastrando parte del medio de cultivo, a diferencia de la mayoría de otras colonias fúngicas, que pueden ser cortadas en pequeños segmentos. Esta particularidad también permitió diferenciar rápidamente al hongo *Kabatiella* de colonias bacterianas o levaduras, las que al toque de una aguja se diseminan o diluyen rápidamente en una gota de agua.

La macromorfología de una colonia fúngica es influenciada por la naturaleza de los medios de cultivo. Por ejemplo, el hongo desarrolló pequeñas colonias ramificadas, “flojas”,

“cremosas” de color marrón, con abundante esporulación y conidios anormales cuando se usaron medios con fuentes carbonadas y, aspecto de “cuero”, arrugadas y predominantemente rosadas con medios con fuentes nitrogenadas orgánicas e inorgánicas y azufradas (Levic y Pensic, 2008). La variabilidad de las colonias de *K. zae*, además de estar influenciada por el medio de cultivo utilizado pareciera estar marcadamente afectada por la temperatura y la interacción aislado-temperatura (Reifschneider y Arny, 1980a).

Sobre la base de la macromorfología de las colonias se cuestiona la inclusión de *Kabatiella* en las denominadas “levaduras negras” (“black yeasts”) por la existencia de al menos un 18% de colonias brillantes y coloreadas por lo cual se concluyó que el color de la colonia no debería ser usado como un carácter taxonómico. Macroscópicamente la consistencia dura y coriácea (aspecto y tacto semejantes a “cuero”) pareciera ser el único carácter confiable para diferenciar *Kabatiella* (Cooke, 1962).

El crecimiento máximo de *K. zae* determinado en este trabajo fue superior a 3,3 cm en medios naturalizados con vegetales (AV8, AL, AGm y AAv) similar a lo determinado por Arny et al. (1971) cuando utilizaron AAv. Por el contrario, Camochena et al. (2010) hallaron el máximo crecimiento superior a 4,3 cm en APG.

La velocidad media de crecimiento (Vmc) osciló entre 0,10 y 0,12 cm/día con la mayor tasa de crecimiento de 0,15 cm/día en AV8, valores inferiores a los logrados a partir de 28 aislamientos de diferentes procedencias (Canadá, Francia, Nueva Zelanda, Yugoslavia y EE.UU) que oscilaron entre 0,11 y 0,45 cm/día en AV8 y AM, respectivamente. Esto se puede relacionar con el uso de medios naturales o semi-sintéticos que proveen ciertas sustancias que funcionan como factores estimulantes del crecimiento (Pereira et al., 2006).

En relación con la abundancia de la esporulación y los promedios generales de tamaño de los conidios medidos en su longitud y ancho, los resultados fueron coincidentes con los hallados por diversos autores (ver **Tabla 51**).

Los medios de cultivo y las condiciones ambientales pueden afectar la macro y micromorfología, incluida la de los conidios cuyas características pueden ser confundidas aún entre laboratorios, por lo cual la separación de especies y subespecies no debería hacerse solamente sobre bases morfológicas. Por ejemplo, la clasificación de especies de *Colletotrichum* que afectan al almendro (*Prunus dulcis*) en diversas partes del mundo, no pudo realizarse en base a características morfológicas y culturales por el solapado de diversas características y el amplio rango de hospedantes (McKay et al., 2009).

De igual manera a lo encontrado en la micromorfología de *K. zeae* en este estudio, recientemente se describió una especie de *Kabatiella* aislada de *Bupleurum gibraltarium* (Apiaceae). Ésta, fue aislada de masas conidiales levaduriformes en hojas senescentes y de la misma forma que otras especies de *Kabatiella*, en medios agarizados formó conidios blásticos, falcados y simultáneos desde el ápice de la célula conidiógena. Los conidios germinaron por brotación y formaron células secundarias tipo levaduras o directamente una hifa (Bills et al., 2012).

Muchísimos hongos que afectan a las plantas poseen una amplia diversidad genética. Por ejemplo, para caracterizar *Diaporthe/Phomopsis* primariamente se utilizaron características morfológicas para diferenciar sus especies, sin embargo fueron muy variables como para establecer rangos taxonómicos apropiados y el análisis molecular permitió discernir a diversidad genética e identificar aislamientos fuertemente relacionados entre si, difíciles de separar fenotípicamente (Pioli et al., 2003). En este caso, los estudios moleculares realizados que fueron muy básicos, pero quizás constituyeron un paso inicial para el estudio de éste y otros hongos hallados en el cultivo de maíz en los últimos años y contribuyeron a dar unos pocos pasos para identificar molecularmente al patógeno de maíz, *Kabatiella zeae*.

Actualmente se indica la existencia de 34 especies de *Kabatiella*, además de *K. zeae* y se confirma al género como nombre científico actual y como sinónimo *Aureobasidium zeae* (Index Fungorum, 2017).

La macromorfología de las colonias de *E. turcicum* en los distintos medios de cultivo en general, fue poco variable en forma, borde, color y difusión de pigmentos. La coloración fue regular con dominancia de grises, verdes u oliva similar a la descrita por Mwangi (1998). Este autor describe a las colonias blanquecinas o grisáceas con tintes verdosos, tomando un color marrón a negro durante y después de la esporulación. El reverso de las colonias en AAv, Cdox, YGCA, AET, AGMz, AL, APG y AM fue de color negro, sin embargo Abebe y Singburandom (2006) caracterizaron el anverso de color gris o gris blanquecino y el haz de color oliváceo, gris oliváceo u oliváceo marrón.

Aislados de la India exhibieron variabilidad en el color del micelio desde un gris "ratón" a ligeramente marrón y otros, de gris claro a gris-marrón con un buen crecimiento en APG a 25°C. Por otro lado, se determinó que aislados de una misma región y año exhiben una gran variabilidad en los aspectos culturales y características de los conidios. Los dendogramas basados en atributos morfológicos revelaron una gran diversidad entre los aislamientos de las mismas localidades (Kumar et al., 2012).

El hongo *E. turcicum* en este trabajo produjo escasa o moderada cantidad de micelio, pero abundantes conidios en los medios ACV, AET y APG, mientras que aquellos que generaron abundante micelio, produjeron pocos conidios como en los medios AHM, AL y AM. La cantidad de conidios formados en los distintos medios nutritivos dependerá de la temperatura, luz y edad de la planta, posición de la hoja y susceptibilidad del híbrido de donde se obtuvieron los aislamientos (Levy y Pataky, 1992).

De igual forma, en India se halló una gran variabilidad en el diámetro de las colonias, peso seco de micelio, tipo de esporulación y germinación de conidios de 16 aislamientos (Harlapur et al., 2007). El máximo crecimiento de las colonias se alcanzó a los 13 dds, sin embargo Mwangi (1998) demostró que el crecimiento es variable y depende de los aislados determinando que 11 de ellos alcanzaron el máximo crecimiento a los 11 días, 23 a los 18 días y 6 aislados, después de los 34 días. Chang y Fan (1986) hallaron que el crecimiento de aislados de Taiwan fue máximo en los medios AV8, APG, AM y AHM, mientras que distintos aislados obtenidos en Etiopía presentaron un crecimiento lento en APG. Existe variabilidad en el crecimiento, densidad, color y pigmentación de las colonias; la mayoría presentó micelio denso y compacto y otras colonias, micelio “flojo” con hifas dispersas (Abebe y Singburaudom, 2006).

En APG, la velocidad media de crecimiento de la colonia de *E. turcicum* fue de 0,40 cm/día en oscuridad a 25°C, valor cercano al hallado por Bigirwa et al. (1993) donde la tasa media de crecimiento en las mismas condiciones pero bajo luz continua fue de 0,33 – 0,34 cm/día. Además, observaron que aislados de Uganda y Zimbabwe crecieron menos, entre 0,23 y 0,25 cm/día en el medio LCHA. Estudiaron por otro lado, las tasas de crecimiento bajo tres condiciones de luz (continua, oscuridad y un régimen de 12 h de luz y 12 h de oscuridad) y distintas temperaturas (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40°C) en APG, agar decocción de hojas de maíz, AM y AV8 durante 16 días.

Los aislados de distintas zonas agroecológicas fueron muy variables en morfología, pigmentación, tasa de crecimiento y de esporulación; la temperatura óptima para el crecimiento fue 25°C, sin embargo un aislado creció mínimamente por debajo de 10°C y ninguno fue capaz de crecer a 40°C (Muiru et al., 2008).

La tasa de crecimiento de 15 aislados fue significativamente diferente en APG, APS (agar papa sacarosa) y AHM, siendo mayor en los dos primeros medios, pudiéndose agrupar en aislados de crecimiento moderado y profuso. Además, según características macromorfológicas se agruparon por el color de la colonia en colonias de color gris claro, gris y gris oscuro (Kutawa et al., 2017).

Los estudios moleculares realizados fueron muy básicos e incompletos por problemas operativos y no permitieron obtener resultados confiables. En el mundo, se han utilizado distintas herramientas moleculares como isoenzimas polimórficas (Simcox et al., 1993), PCR-RFLP, RAPD y AFLP (Weikert-Oliveira et al., 2002; Ferguson y Carson, 2004; Dong et al., 2008; Muiru et al. 2010; Kumar et al., 2012), microsatélites y marcadores MAT (*mating-type*) específicos (Haasbroek et al., 2014) y la técnica UP-PCR para la caracterización de aislamientos obtenidos de maíz y sorgo en China (Tang et al., 2015).

Con el uso de AFLP (amplified fragment length polymorphism) se analizaron 89 aislados de maíz de distintos orígenes geográficos: 56 de Kenia, 26 de Alemania y 7 de Austria. Con una determinada combinación de cebadores se halló un 70% de polimorfismo y los dendogramas mostraron 7 grupos que incluían aislados de los diferentes países, hallándose sólo 2, fuera de tipo. Con la distancia genética de Nei se demostró que las 3 poblaciones difirieron genotípicamente y que los de Kenia, estuvieron más relacionados con los de Austria (identidad genética = 0,9998), mientras que los aislamientos de Alemania y Austria fueron más diversos (Muiru et al., 2010). En Argentina, una vez compartida la necesidad de estudios moleculares para este género, otros autores estudiaron metabolitos secundarios determinados por cromatografía en capa fina (Macagno, 2015a) y marcadores ITS e ISSR-PCR (Macagno et al., 2015b y 2015c).

El genoma de *E. turcicum* se completó en 2011 determinándose un tamaño de 43 Mbp y 11.702 genes predichos, comparable al de otros fitopatógenos secuenciados (Martin, 2011).

La caracterización morfométrica del hongo *in vivo* o *in vitro* en medios de cultivo sería insuficiente para mostrar la diferencia entre aislados. Por ejemplo, un dendograma obtenido por aspectos morfológicos de 9 aislados de maíz de dos regiones de India permitió asociar por proximidad 4 grupos y la máxima similitud fue del 64%. El dendograma obtenido por RAPD para los mismos aislados, permitió agrupar en 3 clados y sólo 2 aislados (N08 y A06) se ubicaron en el mismo clado con un 85% de similitud (Kumar et al., 2012). En China, el estudio de 56 aislados de maíz con RAPD permitió formar 10 grupos genéticos que no correlacionaron con el origen geográfico (Kaimei et al., 2012) similar a lo hallado en este trabajo.

Con la técnica Retro-RAPD se podrían amplificar retrotransposones de regiones del genoma de *E. turcicum* que pueden usarse para la diferenciación de razas. Con esta técnica, 22 aislados obtenidos de sorgo de diversas regiones de India, exhibieron una gran variación en la patogenicidad y fueron agrupados en 10 patotipos (Sree et al., 2012). Reddy

et al. (2014) estudiaron 7 aislados de maíz y 1 de sorgo con marcadores RAPD hallando una considerable variación genética con el uso de diferentes cebadores como OPH7, OPD11, OPD13 y OPA9.

Tang et al. (2015), con cebadores universales y PCR (UP-PCR) hallaron diferencias genéticas en 188 aislados de maíz y sorgo, los que se agruparon en 5 clados confirmando para China la existencia de formas especiales. No se hallaron diferencias morfológicas entre los aislados de maíz y sorgo, pero sí una fuerte especialización fisiológica y diversidad genética. Del total de aislados, 113 fueron confirmados como *S. turcica* f. sp. *zeae* y 75 de ellos, como *S. turcica* f. sp. *sorghi*.

Los géneros *Exserohilum*, *Bipolaris*, *Drechslera*, *Curvularia*, *Cercospora*, *Corynespora* y *Helminthosporium* pudieron ser separados entre sí, con excepción de *Bipolaris* y *Curvularia*. Las secuencias de ADN de las diferentes especies codificaron con 28S rARN, 5.8S rARN y los espaciadores de transcripción interna ITS1 e ITS2 con PCR. Los amplicones fueron digeridos con la endonucleasa de restricción *Rsa* I y se obtuvieron patrones de bandas electroforéticas (Goh et al., 1998).

Para caracterizar 9 aislados de *Bipolaris oryzae* de arroz, 7 de *B. sorokiniana* de trigo, 2 de *B. maydis* y 2 de *E. turcicum* de maíz se utilizaron PCR-RFLP y RAPD; el tamaño del polimorfismo entre aislados en la región ITS 5.8 S rDNA indicó diferencias genéticas, mientras que el fenograma de UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Analysis) construido después de la digestión de esta región con enzimas de restricción mostraron polimorfismo inter e intra-específico. Los perfiles de RAPD indicaron un nivel de polimorfismo entre las especies diferentes, comparado con el bajo nivel de polimorfismo entre aislados de la misma especie. El método UPGMA agrupó los aislados de acuerdo a las especies y a sus hospedantes. En Sudáfrica, se desarrollaron 13 marcadores microsatélites y cebadores MAT-PCR y un total de 32 pares de primers fueron asignados en la secuencia del genoma de *E. turcicum* que flanquean las regiones de los microsatélites. Estos podrían ser usados para dilucidar la estructura genética de la población, la diversidad genética y la forma de reproducción de *E. turcicum* en maíz y sorgo (Haasbroek et al., 2014).

Conclusiones

El uso de indicadores macro y micromorfológicos de las colonias y estructuras reproductivas, como conidióforos y conidios, y el de herramientas moleculares sencillas permitieron determinar la variabilidad morfológica y genética de los hongos *K. zeae* y *E. turcicum*.

Los estudios moleculares deberían ser excluyentes y complementarios en la identificación precisa de los patógenos, especialmente en este tipo de estudios para dilucidar las especies de *E. turcicum* causales de tizones en maíz, sorgo y sorgo de Alepo.

4.3. Pruebas de patogenicidad

Introducción

El diagnóstico positivo sobre el organismo causal de una determinada enfermedad con un 100% de confiabilidad requiere reproducir los síntomas en una planta sana. Si la enfermedad es conocida y ha sido descrita, muy pocas veces se da cumplimiento a los postulados de Koch, aunque son fundamentales. Éstos, son universalmente aceptados como la prueba fehaciente de la causa de una enfermedad. Las pruebas de patogenicidad son de gran importancia porque se da cumplimiento al tercer postulado de Koch que reconoce la capacidad patogénica que posee el microorganismo en estudio y considera el hospedante, inóculo y ambiente (Fernández Valiela, 1979; Shurtleff y Averre III, 1997; Agrios, 2005).

Para las pruebas de patogenicidad, existen numerosas técnicas de inoculación del microorganismo, entre ellas la pulverización con suspensión de esporas, aplicación directa de trozos de micelio y conidios con medio de cultivo, pincelado con urediniosporas más talco (usado para royas), mezcla homogénea de hongo y tierra, etc. (Fernández Valiela, 1979). En maíz se han probado diversos métodos de infección artificial y para aquellos hongos que ocasionan enfermedades foliares se utilizan inoculaciones dentro del “cogollo”, considerado el lugar más adecuado por mantener por un largo período condiciones óptimas para la germinación de conidios. Además, dentro del “cogollo” se puede pulverizar con una suspensión de conidios, con una mezcla de hojas enfermas secas molidas con harina o salvado de trigo o bien, con granos de sorgo infestados, secos y finamente molidos (Chungu et al., 1996; ICAR, 2012).

Para *K. zeae* específicamente, en condiciones de invernáculo se han usado los métodos de inyección de suspensión de esporas o de hojas enfermas trituradas en el “cogollo” (Arny et al., 1971); el hongo mezclado con arena dentro del “cogollo” a razón de 1 g por planta (Chinchilla-López, 1985) y semillas de sorgo infestadas y pulverización con suspensión de esporas (Chang et al., 1990).

Para *E. turcicum*, las primeras inoculaciones a campo se realizaron en 1952 colocando hojas enfermas secas en el “cogollo” o involucro foliar de plantas de maíz o esparciéndolas entre los surcos bajo condiciones óptimas de temperatura y humedad

ambiental. Otro método, fue mezclar semillas con hojas enfermas molidas que contenían conidios y micelio (Aden, 1991). En invernáculo, se utilizaron conidios tomados de tejidos con lesiones esporulantes en cámara húmeda con un pincel, los que se suspendieron en agua y se aplicaron con una pistola aplicadora sobre área blanco de la hoja o gotas de suspensión con concentración conocida (Reuveni et al., 1993). Con el uso de granos de sorgo infestados, ubicados en el “cogollo” al estado de 11 – 12 hojas, se logró una infección del 100% (Liu et al., 2012).

El objetivo del estudio fue reproducir los síntomas de la mancha ocular y tizón foliar del maíz con inoculaciones artificiales y re-aislar los microorganismos inoculados para dar cumplimiento al 3ero y 4to postulado de Koch.

Materiales y métodos

Para la inoculación de *K. zea*, se utilizaron plantas de 4 a 5 hojas (V4-V5) del híbrido susceptible DOW 505, obtenidas bajo condiciones controladas en invernáculo en macetas de 20 cm de diámetro y un volumen de tres kg de tierra. El inóculo consistió en una suspensión de conidios obtenida de frascos San Luis con granos de sorgo infestados con un aislamiento monospórico e incubados en estufa a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ con un régimen de 12 h de luz y 12 h de oscuridad de 7 días de edad. A cada frasco se le agregaron 10 mL de ADE y se agitó manualmente por varios minutos para “desprender” los conidios. A la suspensión de conidios ajustada a una concentración de 1×10^6 conidios/mL se le adicionó una gota de una solución de Tween 20 (polyoxyethylene sorbitan monolaurate) que se logró a partir de una gota en 1000 mL de ADE. Una gota de la suspensión con ansa bacteriológica se sembró en placas de Petri con APG 2% con la finalidad de comprobar la viabilidad del inóculo. La inoculación se realizó por aspersión con atomizador manual; el inóculo se aplicó sobre las hojas hasta mojado completo y las plantas testigo fueron asperjadas sólo con ADE más una gota de una solución con Tween 20. Posteriormente, las plantas se mantuvieron en cámara húmeda durante 36 h dentro de recipientes plásticos herméticamente cerrados (**Figura 68**). Una vez retiradas las cámaras húmedas se llevaron a invernáculo con condiciones semi-controladas (luz natural y temperaturas entre 24 y 26°C). Las observaciones se realizaron sistemáticamente cada dos días, hasta la aparición de los primeros síntomas.



Figura 68. Cámara húmeda de plantas inoculadas con *Kabatiella zae* con suspensión de conidios.

A partir de los síntomas obtenidos se efectuaron aislamientos en placas de Petri con APG 2% según la metodología descrita en capítulos anteriores.

Para los estudios con *E. turcicum* se utilizaron plantas de maíz con cuatro hojas competamente desplegadas (V4), las que se obtuvieron por pre-germinación de 30 semillas de cada uno de los híbridos utilizados (P2053Y, P30R76 y P39B77) en bandejas plásticas con algodón y papel absorbente húmedo en cámara de cultivo. Tres plántulas normales fueron transferidas a macetas de 20 cm de diámetro y 25 cm de alto con un volumen de 3 kg de tierra, las que se ubicaron en invernáculo bajo condiciones controladas. El inóculo consistió en una suspensión de conidios con una concentración de 1×10^5 conidios/mL con agregado de una gota de Tween 20 obtenida de un cultivo monospórico multiplicado en 10 cajas de Petri con APG 2%. La incubación de las placas se realizó en estufa a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y oscuridad durante 10 días. La inoculación se efectuó por aspersión de una suspensión de conidios con atomizador manual. Previo a la inoculación las plantas se colocaron en cámara húmeda durante 4 h para generar un ambiente adecuado sobre la hoja que favorezca la infección. La inoculación con la suspensión de conidios se aplicó a las hojas y las plantas testigo fueron pulverizadas con ADE más Tween 20. Las macetas se cubrieron con polietileno gris y mantuvieron en cámara húmeda durante 48 h (**Figura 69**).



Figura 69. Inoculación de maíz por aspersión de suspensión de conidios de *Exserohilum turcicum*.

Por otro lado, otros métodos de inoculación fueron ensayados colocando una cantidad conocida de una suspensión de conidios con pipetas o un rollo de gasa estéril embebido en suspensión de conidios, ambos de concentración conocida (**Figura 70**) o tres granos de trigo infestados dentro del “cogollo” foliar.



Figura 70. Inoculación del cogollo de maíz con gasa estéril embebidas en suspensión de conidios de *Exserohilum turcicum*.

Los re-aislamientos se realizaron a partir de conidios tomados de tejidos enfermos colocados en cámara húmeda o directamente sembrando parte de los síntomas o tizones en placas de Petri con APG 2% e incubadas en oscuridad a $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Además, se realizaron pruebas de inoculación cruzada con aislamientos de maíz y de sorgo de Alepo. Para ello, se emplearon plantas de maíz y de sorgo de Alepo obtenidas en macetas pequeñas de 12 cm de diámetro y se mantuvieron en una cámara de cultivo con una temperatura constante de 26°C y un régimen lumínico de 12 h de luz y 12 h de oscuridad. Se sembraron 6 semillas de los híbridos DOW 505, DOW 510, AVALON PW, SYN 840 TD, ACA 473 VT3Pro, ARVALES 2458 HX RR y DK 7210 TD. Para lograr plantas de tamaño adecuado se procedió a ralea dejando solo tres plantas por maceta. Las plantas de sorgo de Alepo se lograron a partir de semillas cosechadas a campo y mantenidas en laboratorio en bolsas de papel. Se aplicó el mismo procedimiento utilizado en maíz, dejando tres plantas por maceta.

El inóculo se obtuvo a partir de tejidos enfermos de ambas especies desinfectados con alcohol 70° durante 30 segundos e ClONa 1% durante 1 minuto y un enjuague en ADE (cámaras húmedas). Se utilizaron cultivos monospóricos denominados RN12 La Paz de maíz y SA1 de sorgo de Alepo obtenidos en AV8 e incrementados en APG 2% a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y oscuridad durante 14 días. La inoculación se efectuó sobre plantas de 13 días con la primera hoja desplegada y dos hojas cerradas en el “cogollo” (**Figura 71**) fueron inoculadas con el método del pincel húmedo. Este, consistió en humedecer un pincel de finas cerdas

en una solución de ADE + Tween 20 con el que se tomaron conidios de la placa de Petri, con un raspado suave. El inóculo se aplicó en la primera hoja más ancha que las restantes, en ambos hospedantes. Las plantas testigo se pincelaron con ADE más Tween 20, sin conidios.



Figura 71. Plántulas de maíz de 13 días y primera hoja usada para la inoculación (flechas rojas).

Los reaislamientos se realizaron en en placas de Petri con APG 2% a partir de las lesiones de plantas inoculadas.

Resultados

Los primeros síntomas ocasionados por *K. zeae* se observaron a las 72 h y consistieron en pequeños puntos cloróticos casi imperceptibles, los que fueron definiendo su forma, cambiando de color e incrementando su tamaño. A los seis días adquirieron la morfometría típica de la mancha ocular (**Figura 72**). De los síntomas de las hojas de maíz, se reaisló el hongo *K. zeae* (**Figura 73**).



Figura 72. Síntomas de *Kabatiella zeae* en hoja de maíz inoculado (izq.) a las 72 h y hojas testigo sin lesiones (der.).

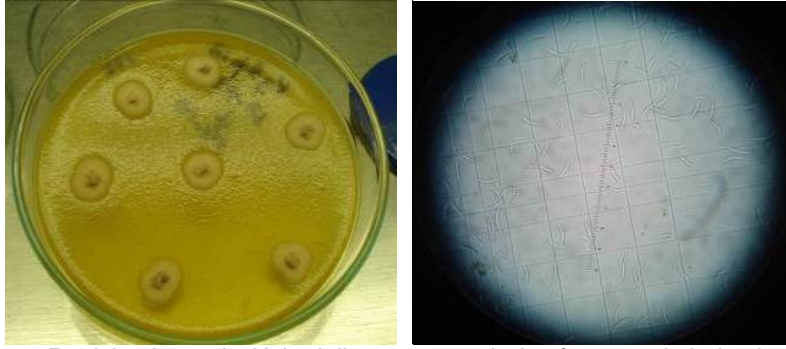


Figura 73. Reaislamiento de *Kabatiella zae* a partir de síntomas de hojas inoculadas.

Por otro lado, los primeros síntomas de *E. turcicum* se observaron a los 5 días y consistieron en un área pequeña oblonga de 0,5 a 1 cm, levemente traslúcida y de color verde claro (**Figura 74**).



Figura 74. Síntoma de *Exserohilum turcicum* en maíz a los cuatro días después de la inoculación.

La expansión de la lesión hacia ambos extremos fue rápida con un área de avance acuosa o “encharcada”; posteriormente las manchas fueron tomando color verde-grisáceo, levemente azulado o parduzco y finalmente adquirieron un aspecto pajizo, de color marrón bronceado. A los 9 - 12 días se lograron los tizones típicos (**Figura 75**).

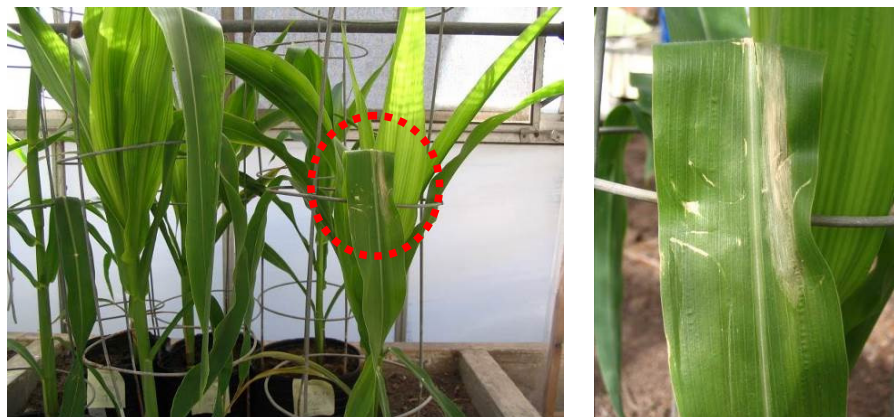


Figura 75. Síntoma de *Exserohilum turcicum* en maíz a los 12 días después de la inoculación (ddi).

El método de inoculación con suspensión de conidios dentro del “cogollo” provocó el estrangulamiento de la planta considerándose útil para comprobar la patogenicidad, agresividad o viabilidad del aislamiento, pero no para otros estudios ya que resultó extremadamente agresivo (**Figura 76**).

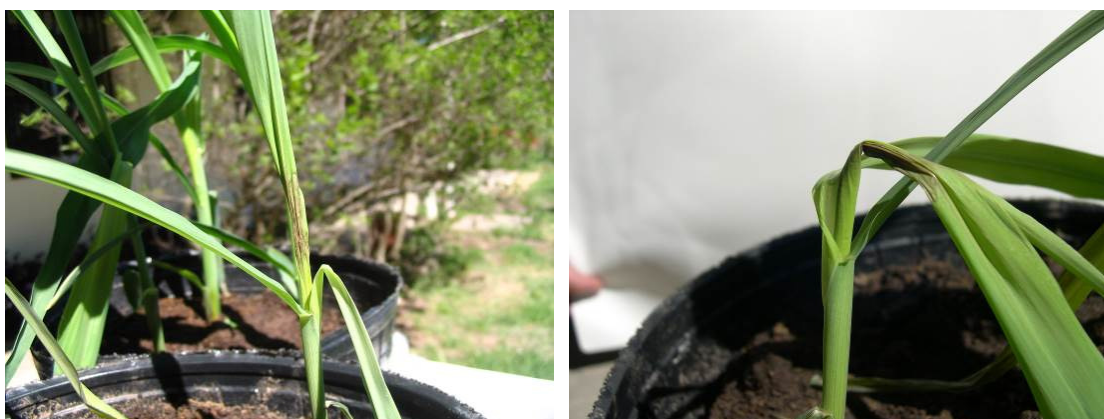


Figura 76. Inoculación del cogollo de maíz con suspensión de conidios de *Exserohilum turcicum*.

Con el uso de rollitos de gasa embebida en suspensión de conidios o granos de trigo infestados no se logró reproducir los síntomas de la enfermedad, por la rápida pérdida de la humedad de la gasa. A partir de los síntomas obtenidos y puestos en cámara húmeda en placas de Petri durante 36 h, se obtuvieron conidios sobre conidióforos, característicos de *E. turcicum*.

La inoculación del aislado de maíz RN12 La Paz de *E. turcicum* sobre hojas de maíz resultó en la infección de las plantas y desarrollo de la enfermedad. Se logró en el 100% de las 20 plantas ensayadas que el inóculo infecte y las plantas desarrollen síntomas típicos en los diferentes híbridos a los 8 y 12 ddi (días después de la inoculación) (**Figuras 77 y 78**).



Figura 77. Síntomas en maíz a los 8 (izq.) y 12 días después de la inoculación (ddi) (der.) con el aislado RN12 La Paz de *Exserohilum turcicum*.



Figura 78. Síntomas en los híbridos de maíz DOW 510 y AVALON PW inoculados con el aislado de maíz RN 12 La Paz de *Exserohilum turcicum*.

Por el contrario, cuando se inocularon 22 plantas de maíz con el aislado SA1 de sorgo de Alepo, sólo se reprodujeron síntomas típicos en los híbridos ACA 473 y DK 7210, ambos de reconocida susceptibilidad a TF, con tonalidades más rojizas que cuando se inoculan aislados de maíz sobre maíz (**Figura 79**).

El aislamiento de maíz inoculado sobre hojas de sorgo de Alepo dio escasos síntomas, pero éstos fueron similares a los que se observan en infecciones naturales en el campo (**Figura 80**).



Figura 79. Síntomas severos del aislado SA1 de sorgo de Alepo sobre plántulas de maíz.



Figura 80. Síntomas del aislado RN 12 La Paz de maíz sobre hojas de sorgo de Alepo.

Discusión

La reproducción de los síntomas de *K. zeae* en maíz por inoculación artificial fue relativamente fácil con la metodología usada ya que en pocos días se pudo dar cumplimiento al 3er y 4to postulado de Koch.

La concentración de inóculo utilizada de 1×10^6 conidios/mL fue alta y efectiva comparada con la usada por otros autores. Arny et al. (1971) con una concentración de $2,8 \times 10^5$ conidios/mL lograron infectar 15 plantas, cuando la redujeron a $2,8 \times 10^4$ sólo cuatro plantas presentaron síntomas y con $2,8 \times 10^3$ conidios/mL, no lograron síntomas.

Reid y Zhu (2005) usando una suspensión con una concentración $2,5 \times 10^5$ conidios/mL, menor a la usada en este trabajo, consiguieron infectar plantas colocando en el "cogollo", 2 mL de suspensión de conidios con una pipeta automática de 10 mL en dos momentos, en V6-V8 (6 - 8 hojas desplegadas) y en V10-V12 (10 - 12 hojas desplegadas).

Las pruebas de patogenicidad con aspersión de una suspensión de conidios de *E. turcicum* a una concentración de 1×10^6 conidios/mL fue adecuada para la reproducir los

síntomas. Por el contrario, el uso de rollos de gasa o granos infestados con el hongo, requeriría un manejo minucioso para evitar la pérdida de humedad, ya que la misma es limitante hasta que ocurre el contacto y penetración del hongo en el hospedante.

Existe una amplia bibliografía con relación a las técnicas utilizadas para inocular *E. turcicum* en maíz, con diversas variantes en la concentración de inóculo, horas de cámara húmeda post-inoculación, edad de las hojas del maíz, etc. ensayadas por numerosos autores con resultados similares a los obtenidos en este trabajo (Levy y Cohen, 1983; Jordan et al., 1983; Sigulas et al., 1988; Reuveni et al., 1993; Carson y Van Dyke, 1994; Ferguson y Carson, 2004; Reid y Zhu, 2005; Chung, 2007a y 2007b; ICAR, 2012).

El objetivo de realizar una sencilla prueba de patogenicidad cruzada entre aislamientos de maíz y de sorgo de Alepo fue comprobar que el patógeno desarrollado en la maleza puede infectar maíz y comenzar a considerar su posible rol como hospedante alternativo en el ciclo biológico del TF en el cultivo de maíz. *E. turcicum* es un patógeno común en sorgo, teosinte, *Paspalum*, *Echinochloa* y maíz; sin embargo, con inoculaciones artificiales se logró reproducir síntomas en trigo, avena, cebada, arroz y caña de azúcar (Frederiksen, 1980). Chiang et al. (1989) utilizaron diversos métodos de inoculación para sorgo de Alepo, entre ellos micelio y conidios colocados sobre hojas cortadas de la maleza en cajas de incubación o bien aspersión con una suspensión de conidios a una concentración de 2×10^4 o 5×10^5 conidios/mL. En este trabajo se demostró que aislados de sorgo pueden infectar maíz, contrariamente a lo demostrado por Del Serrone y Fornasari (1992) quienes hallaron que aislados de *E. turcicum* de siete poblaciones de sorgo de Alepo sólo fueron patógenos sobre esta especie y variedades de sorgo cultivado, sin afectar híbridos y variedades de maíz. En Brasil, aislamientos de maíz y de sorgo fueron patogénicos en forma cruzada, mientras que los obtenidos de sorgo de Alepo, sólo fueron efectivos sobre la maleza (Bach y Kimati, 2005). De igual forma, Echemendía et al. (2005) tuvieron resultados negativos cuando inocularon dos aislados de *E. turcicum* de sorgo de Alepo sobre una variedad de maíz, aunque inicialmente se detectaron pequeños síntomas que no avanzaron después de los 7 ddi. Bunker y Mathur (2006) determinaron que siete aislados de sorgo fueron patógenos sobre maíz y sorgo de Alepo con diferencias en el período de latencia. Contrariamente a lo hallado en este trabajo, Cota et al. (2010) no pudieron generar síntomas en infecciones cruzadas entre los aislamientos de maíz y de sorgo de Alepo.

Los estudios existentes en el mundo, como uno de Argentina (Arber et al., 2015), sólo han estudiado aislados de *E. turcicum* de sorgo de Alepo como potencial biocontrolador de la maleza.

Conclusiones

Las técnicas de inoculación artificial por aspersión de una suspensión de conidios o aplicación de conidios con pincel sobre tejido vegetal son útiles para reproducir fácilmente la sintomatología típica ocasionada por los hongos *K. zea* y *E. turcicum*.

Aislados de *Exserohilum turcicum* obtenidos de sorgo de Alepo (*Sorghum halepense*) son patógenos sobre maíz.

SECCIÓN IV

ESTUDIOS DE LA FASE SAPROFÍTICA DE *Kabatiella zae* y *Exserohilum turcicum*. ESTRATEGIAS DE SOBREVIVENCIA

CAPÍTULO 5

OBJETIVO 5

FUNCIÓN DE LA SEMILLA EN LA SOBREVIVENCIA DE *Kabatiella zae* Y *Exserohilum turcicum*

SECCIÓN III. ESTRATEGIAS DE SOBREVIVENCIA DE *Kabatiella zae* Y *Exserohilum turcicum*

Capítulo 5. **Objetivo 5.** Función de la semilla como sustrato de sobrevivencia de *Kabatiella zae* y *Exserohilum turcicum*

Introducción

El 90% de los cultivos que generan alimentos en el mundo, componentes esenciales del mercado global y vitales para la existencia de la raza humana, se propagan por semillas (Etebu y Nwauzoma, 2017). Desde tiempos prehistóricos, la semilla constituye el medio más eficiente para la diseminación de patógenos a distancia (Elias et al., 2012).

La semilla, desde su concepción en la etapa de la floración de la planta madre, su germinación y el desarrollo de nuevas plántulas pueden ser afectadas por diversos agentes bióticos, entre ellos microorganismos patógenos. Éstos, desarrollaron habilidades para invadir los tejidos seminales y obtener sus nutrientes. La semilla les provee el sustrato para sobrevivir en generaciones sucesivas y para trasladarse desde un área geográfica a otra, en ocasiones a grandes distancias (intercontinentales). Las semillas sobreviven en tres ambientes muy diferentes: en el área de producción donde se forman, desarrollan y maduran; en el almacenamiento donde permanecen hasta la próxima siembra; y en el suelo, donde generan nuevas plantas o mueren. Los patógenos en las semillas se ubican intra o extra-embrión, contaminación externa e infección órgano específica; el tipo de infección puede ser sistémico, local o saprofito (Harman, 1983).

Los hongos asociados a las semillas pertenecen a todas las clases taxonómicas y los primeros estudios relacionados con la penetración y localización de microorganismos en la semilla se conocen desde la mitad del siglo XX. Los hongos, bacterias, virus, viroides y nematodos para su sobrevivencia y diseminación establecen asociaciones diferentes con la semilla. Los virus infectan en forma sistémica, algunos hongos y bacterias de modo indirecto y la mayoría de los hongos y stramenopiles, de modo directo. La penetración de la cubierta seminal puede ser mecánica, enzimática o ambas; la infección puede ocurrir previamente durante la floración penetrando la pared del ovario y el tegumento seminal. La localización del inóculo en la semilla dependerá del tipo de patógeno, del modo y momento de ocurrencia y de las condiciones ambientales imperantes durante la infección, del genotipo, etc. Estos organismos pueden reducir el vigor (V) y el poder germinativo (PG) de la semilla o

presentarse en forma asintomática, sin afectar la germinación. Los patógenos de semillas pueden causar la muerte en pre y posemergencia y producir podredumbres de raíces, enfermedades de hojas, tallos, flores y frutos (Schumann y D'Arcy, 2006; Scandiani y Luque, 2009).

Los requerimientos nutricionales de un patógeno son esenciales para la patogénesis y las estrategias de establecimiento de la asociación patógeno – semilla pueden ser de naturaleza biotrófica (requieren tejidos vivos), necrotrófica (matan las células para obtener su alimento) o hemibiotrófos (utilizan ambas estrategias). Estos últimos, al poseer los dos mecanismos para la infección y colonización se consideran los parásitos más eficientes en la naturaleza. Poseen una fase biotrófica donde aseguran su relación con el hospedante, antes de obtener los nutrientes y colonizan tejidos en la fase necrotrófica (Pawlowski y Hartman, 2016).

El ensayo sanitario de semillas es una herramienta esencial para el conocimiento de los patógenos transportados o transmitidos y da una valiosa información para regular la entrada de patógenos mediante la certificación fitosanitaria y los programas de cuarentena indispensables para el comercio internacional. Organizaciones como la International Seed Testing Association (ISTA) y Association of Official Seed Analysts (AOSA) desarrollaron procedimientos estandarizados para el muestreo y análisis de semillas (Morrison, 1999).

Para los estudios de patología de semillas existen diversos métodos como el examen visual directo macro y microscópico, externo e interno, la observación de papel de filtro lavado para carbones (*Ustilago* spp.), esporangios de mildiu (*Sclerophthora* spp., *Sclerospora* spp., *Pernosclerospora* spp., etc.) y la coloración de embriones. También se utilizan la incubación en placas de Petri con medio de cultivo, el método de papel de filtro húmedo (*blotter test*) simple o con congelamiento, germinación de semillas para detección de patógenos a través de síntomas y signos en plántulas, pruebas de ADN para bacterias (ej. marchitamiento de Stewart del maíz) y ELISA para bacterias y virus (Warhman et al., 1997; Scandiani y Luque, 2009; Lanfranchi et al., 2014). El análisis sanitario de semillas determina la presencia e incidencia de un determinado microorganismo. Además, permite formular hipótesis acerca de su función en el ciclo biológico y en la epidemiología de una enfermedad. Para este tipo de estudios, las semillas se obtienen de plantas de campo naturalmente afectadas.

Las especies de la familia Poaceae (Gramineae) poseen un fruto indeshicente denominado cariopse donde el pericarpio y la testa están fusionados. El maíz, trigo, sorgo y *Pennisetum* poseen carioposos desnudos (Shing y Mathur, 2004), por lo que son más

susceptibles a ser invadidos por los patógenos. Sin embargo, las espigas de maíz donde se ubican los cariopses en hilera están cubiertas por hojas transformadas denominadas “chalas” y brácteas foliáceas en Brasil, por lo cual posiblemente la infección o infestación de las semillas sea más difícil.

Existe una vasta bibliografía nacional e internacional sobre los microorganismos asociados a semillas de maíz, muchos de ellos hongos productores de micotoxinas. Los cariopses de maíz pueden transmitir especies de *Colletotrichum*, *Stenocarpella*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Bipolaris* y *Drechslera* entre otros hongos; y transportar pero no transmitir *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Rhizoctonia* y *Botrytis* (McGee, 1998).

El género *Fusarium* es el más extensamente estudiado y *F. graminearum* se considera el más importante en semillas de maíz. La infección sistémica de semillas con *F. verticillioides* ocasiona la muerte de plántulas y la podredumbre de tallos y espigas (Broders et al., 2007; Murillo-Williams y Munkvold, 2008). En Serbia y Letonia, *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Aspergillus* fueron los hongos prevalentes (Medić-Pap et al., 2011; Gulbis et al., 2016). En espigas con podredumbres se registraron *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Fusarium* sp. (Mao et al., 1997; Basak y Lee, 2002; Figueira et al., 2003; Murillo-Williams y Munkvold, 2008; Rossetto et al., 2013; Kieh, 2014).

En Brasil, en cariopses de maíz prevalecen los hongos *Fusarium moniliforme* (syn. *F. verticillioides*), *Cephalosporium acremonium* (sin. *Acremonium strictum*), *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., y ocasionalmente *Diplodia maydis* (sin. *Stenocarpella maydis*), *Drechslera turcica* (sin. *Exserohilum turcicum*), *D. maydis* (sin. *Bipolaris maydis*) en bajos niveles que no comprometen la calidad de las semillas (Pinto, 1998).

Los hongos *Stenocarpella macrospora* y *S. maydis*, que causan podredumbre de semillas, muerte de plántulas, podredumbre de la base del tallo, de espiga y manchas foliares, fueron detectados en semillas que constituyen junto al rastrojo las principales fuentes de inóculo primario (Casa et al., 2006, Oliveira Sabato et al., 2013; Casa et al., 2016).

Otros hongos como *Drechslera*, *Curvularia*, *Arthrinium*, *Bipolaris*, *Diplodia*, *Phoma*, *Rhizopus*, *Syncephalastrum* y *Trichoderma* fueron detectados por Niaz y Dawar (2009); especies de *Alternaria*, *Mucor* y *Cladosporium* fueron citadas por Rajurkar y Taware (2014).

En Argentina, sobre las semillas de la zona maicera núcleo se determinaron especies de *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Diplodia* (González et al., 2004; Botta et al., 2005),

Alternaria, *Nigrospora* y *Diplodia* (González et al., 2005). También se estableció la ubicación de *F. graminearum* en las capas internas del pericarpio (Incremona et al., 2008).

En forma indirecta a través del perfil de micotoxinas se observó la ocurrencia de patógenos como *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. graminearum*, *F. semitectum*, *F. equiseti*, *F. culmorum* y *Aspergillus niger*. El deoxinivalenol (DON) puede ser producido por diferentes especies de *Fusarium* y las aflatoxinas, por *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nonius* y *A. pseudotamarii* (Garrido et al., 2012).

Los hongos *Fusarium* spp., *Aspergillus flavus*, *Penicillium* spp. y *Diplodia* spp. fueron los detectados con mayor frecuencia en los ciclos 2011/12 y 2012/13, en dos híbridos de maíz con diferentes niveles de fertilización nitrogenada (Incremona et al., 2013). Para diferentes ambientes del S de Santa Fe y SE de Buenos Aires se determinaron como patógenos de mayor presencia *Fusarium graminearum*, *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. (Palacio et al., 2014).

Una lista de patógenos transmitidos por semilla de maíz publicada por CIMMYT incluye hongos como *Acremonium* spp. (*Cephalosporium* spp.), *Claviceps gigantea*, *Bipolaris maydis*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Ustilago maydis*, *Stenocarpella maydis*, *Phaeocytospora* spp., *Peronosclerospora* spp. y *Sclerophthora macrospora* detectados con el test de ELISA, sin mencionarse *Kabatiella* y *Exserohilum* (Mezzalama, 2013).

Diversos autores como McGee (1988), Levy y Pataky (1992) y Levy (1995) consideran que la semilla no es relevante en la sobrevivencia, transporte y transmisión de *K. zeae* y *E. turcicum*. Con inoculaciones artificiales de espigas, 10 días después de la polinización se determinó una incidencia de 2% de *K. zeae* (Reifschneider y Arny, 1979b). Lipps y Mills (2001) establecieron que *K. zeae* podría ser transmitido por semilla pero en niveles bajísimos, casi despreciables, cuando se comparó con el número de conidios que pueden producir los restos culturales infectados. Aunque en general se considera que no se transmite por semilla, está regulada en el mundo (NSHS, 2015). Por ejemplo, el CIMMYT exige que las semillas de maíz con fines experimentales procedentes de Brasil, Ecuador, India, Malawi, Mozambique y Sudáfrica estén libres de *K. zeae* para ingresar a México y requiere el certificado fitosanitario internacional. Lo mismo rige para semillas de maíz amarillo, blanco, dulce fresco o seco, reventón para consumo o uso industrial (CGIAR, 2011; Mezzalama, 2013).

En forma reciente, se confirmó la ocurrencia de *E. turcicum* en semillas de maíz en muy bajo porcentaje utilizando medios de cultivo selectivos (De Rossi et al., 2012b; De Rossi y Reis, 2014).

El objetivo del estudio fue determinar si los hongos *Kabatiella zeae* y *Exserohilum turcicum* utilizan las semillas de maíz como una estrategia de sobrevivencia.

Materiales y métodos

Ensayo N°1

Un total de 90 semillas del híbrido NK 900 Víptera 3 susceptible tanto a MO y TF fueron lavadas durante 2 minutos en ADE y se dejaron orear sobre papel de filtro estéril dentro de cámara de flujo laminar. Posteriormente, se aplicaron dos tratamientos: a. sin desinfección (S/D) y b. con desinfección utilizando ClONa 1% durante 2 minutos y un enjuague con ADE (C/D). Cada unidad muestral constituida por tres placas de Petri con APG acidificado con 10 semillas cada una y tres repeticiones, se incubó con un diseño completo al azar (DCA) en estufa a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ y oscuridad durante siete días.

Para éste y todos los ensayos subsiguientes, la identificación genérica de los hongos se utilizó el microscopio estereoscópico 40X y para determinadas especies, microscopio óptico y estudios morfométricos de conidios empleándose claves taxonómicas (Ellis, 1971; Booth, 1977; Sivanesan, 1987; Barnett y Hunter, 1998; Leslie y Summerell, 2006).

Los valores de Incidencia (I) de cada microorganismo se obtuvieron con la fórmula [(número de colonias de un determinado género fúngico/número total de colonias observadas)*100] y se expresaron en número o porcentaje. Cuando los valores se expresaron en porcentaje se transformaron al arcoseno de la raíz cuadrada.

Ensayo N° 2

Semillas del híbrido NK 900 Víptera 3 (susceptibles a MO y TF) se desinfectaron durante 3 minutos con ClONa 2%, luego enjuagadas con ADE y oreadas por 2 h sobre papel de filtro estéril dentro de cámara de flujo laminar. Cada unidad muestral estuvo constituida por tres cajas de Petri con 10 semillas cada una, es decir un total de 30 semillas por cada medio de cultivo ensayado (APG, APG acidificado, AHM y AV8). La incubación se realizó en cámara de cría a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ con un régimen de 14 h de luz fría y 10 h de oscuridad durante siete días donde las cajas se ubicaron con un diseño completamente aleatorizado (DCA). Los valores de I en número fueron transformados a raíz cuadrada de (I +1).

Ensayo N°3

Semillas del híbrido NK 900 Víptera 3 (susceptibles a MO y TF) se desinfectaron durante 3 minutos con ClONa 1%, luego enjuagadas con ADE y oreadas por 2 h sobre papel

de filtro estéril dentro de cámara de flujo laminar. Cada unidad muestral estuvo constituida por tres cajas de Petri con 10 semillas cada una, es decir un total de 30 semillas por cada medio de cultivo ensayado (AET, YGCA, AC, AM y APG). La incubación se realizó en cámara de cría a 25 ± 1 °C con un régimen de 14 h de luz fría y 10 h de oscuridad durante siete días donde las cajas se ubicaron con un diseño completamente aleatorizado (DCA). Los valores obtenidos de I fueron transformados a raíz cuadrada de $(x + 1)$.

Ensayo N°4

Semillas del híbrido DOW 510 PW obtenidas de un lote con síntomas moderados de MO y TF se desinfectaron durante 2 minutos con ClONa 1%, luego enjuagadas con ADE y oreadas por dos horas sobre papel de filtro estéril dentro de cámara de flujo laminar. Cada unidad muestral estuvo constituida por tres cajas de Petri con 10 semillas cada una, es decir un total de 30 semillas por cada medio de cultivo ensayado (APG 2%, APG + semillas maíz y APG + semillas de colza). La incubación se realizó en cámara de cría a 25 ± 2 °C con un régimen de 12 h de luz fría y 12 h de oscuridad durante siete días donde las cajas se ubicaron con un diseño completamente aleatorizado (DCA). Los valores obtenidos de I fueron transformados a raíz cuadrada de $(x + 1)$.

Ensayo N°5

Semillas del híbrido ACA 470 susceptible a TF fueron desinfectadas durante 3 minutos en una solución de ClONa 10% y sin enjuague fueron sembradas en placas de Petri con AM a razón de cinco semillas por placa, con cinco repeticiones. Se ubicaron con un diseño completamente aleatorizado (DCA) en cámara de cría a 25 ± 2 °C con un régimen de 12 h de luz fría y 12 h de oscuridad durante siete días. Los valores de I expresados en porcentaje fueron transformados al arcoseno de la raíz cuadrada del %.

Ensayo N°6

Semillas de 26 híbridos de maíz cosechados en 2014 en el Campo Experimental FCA-UNER (Dpto. Diamante) se desinfectaron con ClONa 1% durante 3 minutos y enjuagadas tres veces con ADE. Posterior al oreado, se sembraron a razón de 10 semillas por caja de Petri con APG acidificado con dos repeticiones. La incubación de las cajas ubicadas con un diseño completamente aleatorizado (DCA) se efectuó durante seis días en mesada de laboratorio a 25 ± 1 °C y luz natural. Los valores de I expresados en porcentaje fueron transformados al arcoseno de la raíz cuadrada del %.

Ensayo N°7

Semillas del híbrido KM 4200 GL Stack altamente susceptible a TF fueron desinfectadas durante 3 minutos en ClONa 1% y enjuagadas tres veces con ADE, se sembraron en cajas de Petri con medio Lactosa Caseina Hidrolizada Agar (LCHA) a razón de 10 semillas por caja con cinco repeticiones. Cada cada unidad muestral estaba constituida por tres placas de Petri y fueron incubadas con un diseño completamente aleatorizado (DCA) en cámara de cría a 25 ± 1 °C y un régimen lumínico de 12 h de luz fría durante cinco días. Los valores de I expresados en porcentaje fueron transformados al arcoseno de la raíz cuadrada del %.

Ensayo N°8

Espigas recolectadas manualmente de plantas de maíz con alta severidad de *K. zeae* (Muestra A) y de *E. turcicum* (Muestra B) se trillaron en forma mecánica y se conservaron en bolsas de papel en heladera a 5°C por 30 días. Posteriormente, fueron desinfectadas con una solución de ClONa 4% durante 3 minutos, enjuagadas con ADE y oreadas. Se sembraron 10 semillas por placa de Petri con medio AET y 10 repeticiones. Se incubaron con un diseño completo al azar (DCA) en estufa a 25 ± 2 °C y oscuridad durante cinco días, acortando el plazo para detectar con mayor probabilidad, estructuras jóvenes de lento desarrollo de los hongos bajo estudio. Los valores de I expresados en porcentaje fueron transformados al arcoseno de la raíz cuadrada del %.

Ensayo N°9

Semillas del híbrido DOW 505 susceptible a MO fueron desinfectadas durante 3 minutos en ClONa 10% con doble enjuague de ADE y después de oreadas se sembraron a razón de siete semillas por cada placa de Petri que contenían dos medios de cultivo, AM y AHM. La unidad muestral estaba constituida por cinco cajas de Petri cada una con tres repeticiones y fueron incubadas con un diseño DCA en y la lectura de la I se realizó a los cinco días. Los valores de I expresados en porcentaje fueron transformados al arcoseno de la raíz cuadrada del %.

Ensayo N°10

Semillas del híbrido ACA 470 susceptible a TF fueron desinfectadas durante 3 minutos con ClONa 10% y sin enjuagar fueron ubicadas en bandejas plásticas de 25 x 17,5 x 6 cm acondicionadas con 11 g de algodón, 3 hojas papel absorbente estéril y 90 ml de una

solución de 11,81 g ClNa en un 1L de ADE (presión osmótica -1 Mpa). La restricción hídrica evitó la germinación de las semillas lo que permitió una mejor observación de los microorganismos asociados. Se analizaron un total de 400 semillas, en ocho repeticiones de 50 semillas por bandeja y la incubación se realizó en cámara de cría con 12 h de luz NUV (cercana a la ultravioleta) y 12 h de oscuridad, a una temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 10 días. A los cinco días se registraron los valores de I para cada género fúngico y se expresaron en porcentaje. Para el análisis estadístico se transformaron al arcoseno de la raíz cuadrada del %.

Ensayo N°11

Semillas de maíz del híbrido ACA 470 susceptible a TF desinfectadas como en el Ensayo 10, se sembraron en bandejas sin algodón, utilizando sólo cuatro hojas de papel absorbente estéril con ADE. Se realizaron cuatro repeticiones de 50 semillas cada una y luego de incubarse durante 48 h a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ con 12 h de luz NUV y 12 h de oscuridad, se retiraron y ubicaron en freezer (-18°C) durante 24 h. Posteriormente volvieron a la condición inicial y el registro de microorganismos se realizó a los 12 días. Los valores de I para cada género fúngico se expresaron en porcentaje y se transformaron al arcoseno de la raíz cuadrada.

- Todos los ensayos fueron analizados con ANOVA y las medias de tratamientos se compararon con el test LSD de Fisher al 5% (Infostat versión 2016).

Resultados

Ensayo 1. Los hongos *K. zae* y *E. turcicum* objetivos del estudio, no fueron registrados. En las semillas sin desinfección los hongos prevalentes fueron *Rhizopus* spp., *Penicillium* spp., y *Fusarium verticillioides* con una I de 91, 87 y 66%. En las semillas con desinfección se registró baja incidencia de *Chaetomiun*, *Alternaria*, *Fusarium* spp., *Aspergillus niger* y *Aspergillus* spp., y con incidencia alta, *F. verticilloides* (59%). Se hallaron diferencias altamente significativas ($p < 0,0001$) entre los tratamientos y los géneros fúngicos (**Gráfico 22**).

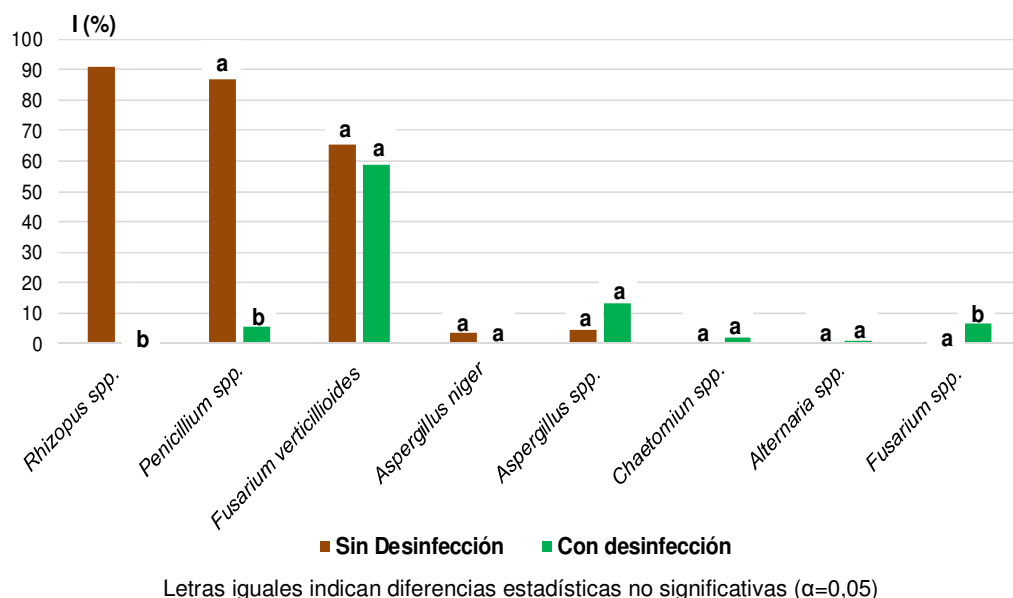


Gráfico 22. Incidencia (I%) de hongos en semillas de maíz sin y con desinfección en agar papa glucosado acidificado

Ensayo 2. Los hongos *K. zeae* y *E. turcicum* no fueron detectados, determinándose especies de *Penicillium*, *Nigrospora*, *Fusarium*, *Aspergillus* y *Cladosporium*. La mayor I (%) correspondió a *Penicillium spp.* que osciló entre 17 y 60%. La I de los diferentes hongos ($<0,001$) mostró diferencias estadísticas significativas dentro de cada medio de cultivo, sin hallarse diferencias entre los cuatro medios de cultivo (**Gráfico 23**).

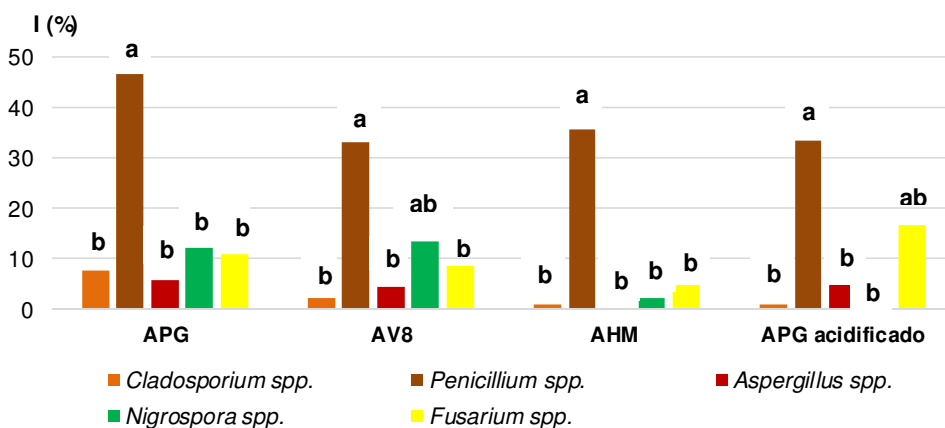


Gráfico 23. Incidencia (I%) de hongos en semillas de maíz en agar papa glucosado, agar jugo V8, agar harina de maíz y agar papa glucosado acidificado.

Ensayo 3. Los hongos *K. zeae* y *E. turcicum* no fueron registrados en los diferentes medios ensayados. *Fusarium* spp., presentó la I más alta, entre 74 y 98% en todos los medios de cultivo. El mayor número de géneros fúngicos se aisló en el medio AET (Tabla 55 y Figura 81).

Tabla 55. Incidencia (I%) de hongos en semillas de maíz en agar extracto de levadura y cloranfenicol (YGCA), agar papa glucosado (APG), agar malta (AM), agar colza (AC) y agar extracto de tomate (AET)

Medios de cultivo	Incidencia (%)							
	<i>Fusarium</i> spp.		<i>Nigrospora</i> spp.		<i>Penicillium</i> spp.		<i>Rhinotrichum</i> spp.	
YGCA	97,6	b	0,0	a	0,0	a	2,4	bc
APG	95,3	b	2,4	b	0,0	a	0,0	c
AM	90,4	b	9,6	b	2,4	b	0,0	c
AC	88,1	b	11,9	b	0,0	a	11,9	ab
AET	73,9	a	31,0	b	16,7	b	21,4	a

Letras iguales indican diferencias estadísticas no significativas ($\alpha = 0,05$)

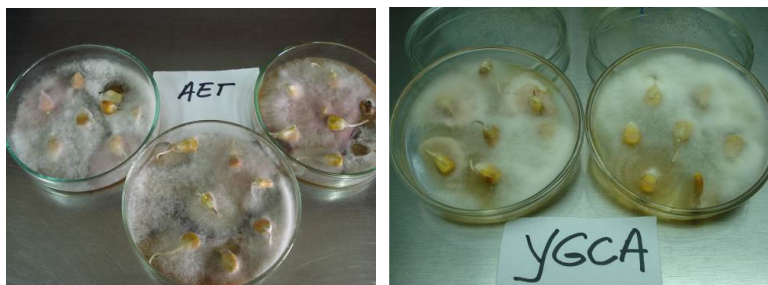


Figura 81. *Fusarium* spp. en semillas de maíz en diferentes medios de cultivo.

Ensayo 4. En los medios de cultivo ensayados no se registraron los hongos *K. zeae* y *E. turcicum*. Sin embargo, se determinaron *Stenocarpella maydis*, *Penicillium* spp. y en menor porcentaje *Fusarium* spp. La I de *S. maydis* osciló entre 12 y 74% y los valores más altos se hallaron en APG y en APG con granos de maíz (Tabla 56).

Tabla 56. Incidencia (%) de hongos en semillas de maíz en agar papa glucosado y APG más granos de maíz y de colza

Medios de cultivo	Incidencia (%)							
	<i>Fusarium</i> spp.		<i>Nigrospora</i> spp.		<i>Penicillium</i> spp.		<i>Rhinotrichum</i> spp.	
APG	73,9	a	31,0	a	16,7	a	21,4	a
APG+SEMILLAS COLZA	97,6	b	0,0	b	0,0	b	2,4	bc
APG+SEMILLAS MAÍZ	88,1	b	11,9	b	0,0	b	11,9	ab

Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

De los picnidos oscuros y prominentes observados sobre el tegumento de la semilla se obtuvieron 100 conidios bicelulares, cilíndricos, rectos o ligeramente curvos, de color pardo marrón claro con una septa oscura casi negra. Midieron $5,2 \mu\text{m}$ ($5,1 - 7,7$) de ancho y $25,4 \mu\text{m}$ ($20,5 - 31,5$) de longitud. La especie se identificó como *S. maydis* comparando con la descripción realizada para esta especie por Casa et al. (2006) (**Figura 82**).

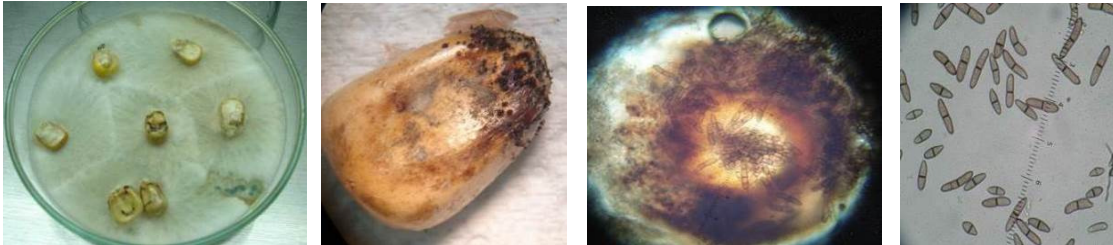


Figura 82. *Stenocarpella maydis* en semillas de maíz. Colonia en APG más granos de maíz (izq.), picnidos sobre tegumento (centro izq.), conidios emergiendo del picnidio (centro der.) y conidios (der.).

Ensayo 5. En AM no se aislaron los hongos *K. zeae* y *E. turcicum*. Los géneros *Fusarium* spp. y *Nigrospora* spp., presentaron una I de 89 y 55%, respectivamente. Además se determinaron con I comparativamente baja no mayor al 13%, especies de *Penicillium*, *Rhizotrichum* y *Aspergillus* estableciéndose diferencias estadísticas significativas entre los distintos géneros (**Gráfico 24**).

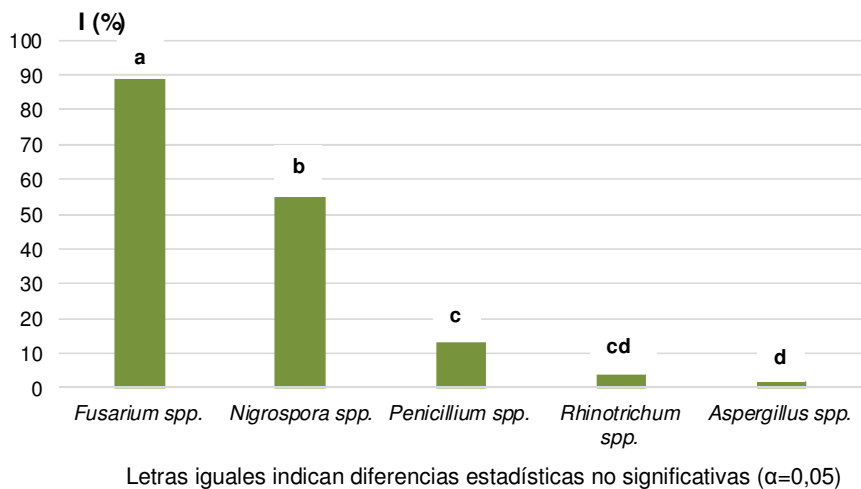
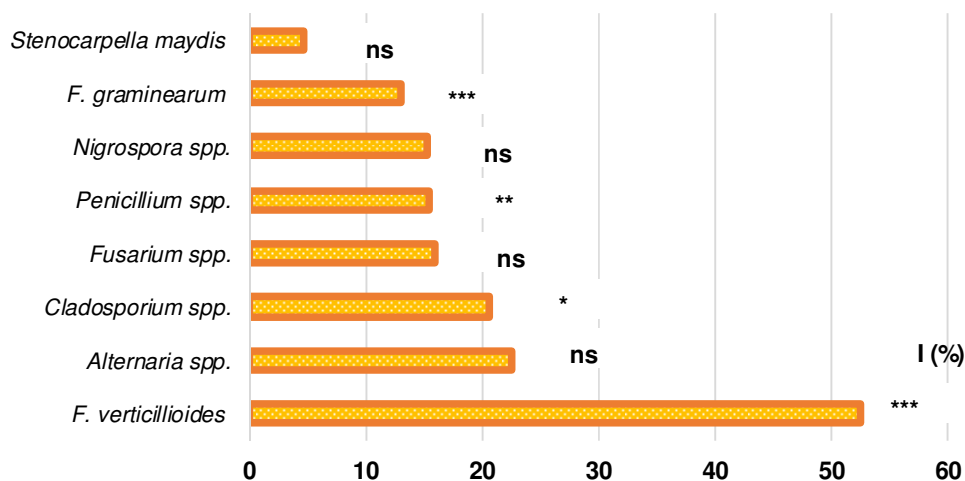


Gráfico 24. Incidencia (%) de hongos en semillas de maíz en agar malta.

Ensayo 6. Los hongos *K. zeae* y *E. turcicum* no fueron aislados. El hongo con mayor I fue *Fusarium verticillioides*, entre 15 y 95% hallándose diferencias estadísticas entre los

híbridos, al igual que los géneros *Cladosporium* spp. y *Penicillium* spp., ambos con un rango entre 5 y 40%; Según los híbridos y con diferencias estadísticas significativas se determinó *F. graminearum* con I entre 5 y 30% (**Gráfico 25**). Además, se aislaron *Drechslera*, *Aspergillus* y *Epicoccum*.



*** diferencias altamente significativas; ** muy significativas; * significativas; ns no significativas

Gráfico 25. Incidencia (%) de hongos en semillas de 26 híbridos de maíz en agar papa glucosado (APG) acidificado.

Ensayo 7. Los hongos *K. zeae* y *E. turcicum* no fueron aislados. Los géneros que presentaron mayor I fueron *Fusarium* spp. (A) y *Acremonium* spp., con 37 y 16%, respectivamente. Además se determinaron otras especies de *Fusarium* denominados B y C, *Penicillium*, *Nigrospora*, *Alternaria* y *Stenocarpella maydis*, hallándose, diferencias significativas entre los microorganismos (**Gráfico 26**). Por otro lado se registraron *Rhizoctonia*, *Aspergillus*, *Rhizoctonia*, *Curvularia*, *Cladosporium*, *Drechslera* y *Epicoccum* en bajos porcentajes.

Ensayo 8. Los hongos bajo estudio no fueron registrados. Se hallaron diferencias estadísticas significativas en la I de hongos en las semillas de la Muestra A y Muestra B. *Penicillium* spp., presentó la I más alta (90%) en la Muestra A y *Fusarium verticillioides* con un 42% en la Muestra B al igual que *F. graminearum* (5%). La I de *Fusarium* spp. y *S. maydis* no mostró diferencias estadísticas significativas entre ambas muestras de semillas (**Gráfico 27**).

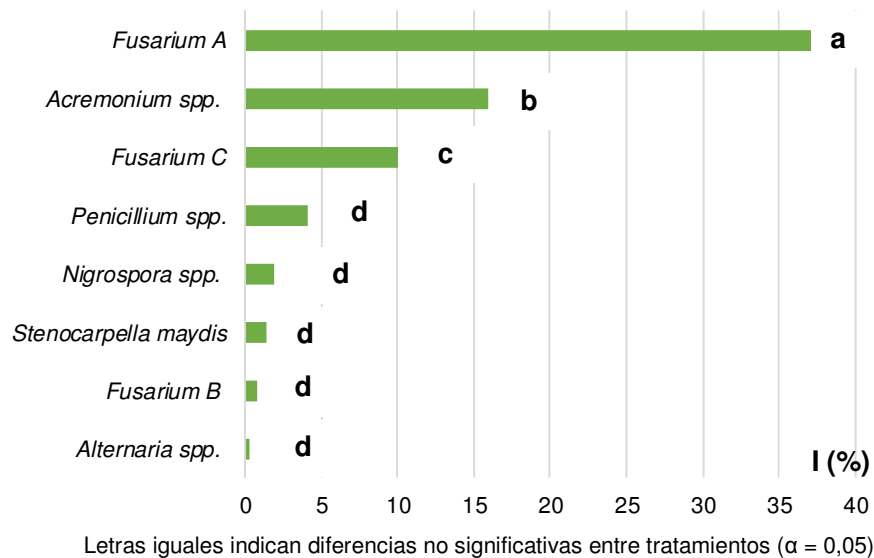


Gráfico 26. Incidencia (%) de hongos en semillas de maíz en medio agar lactosa caseína hidrolizada.

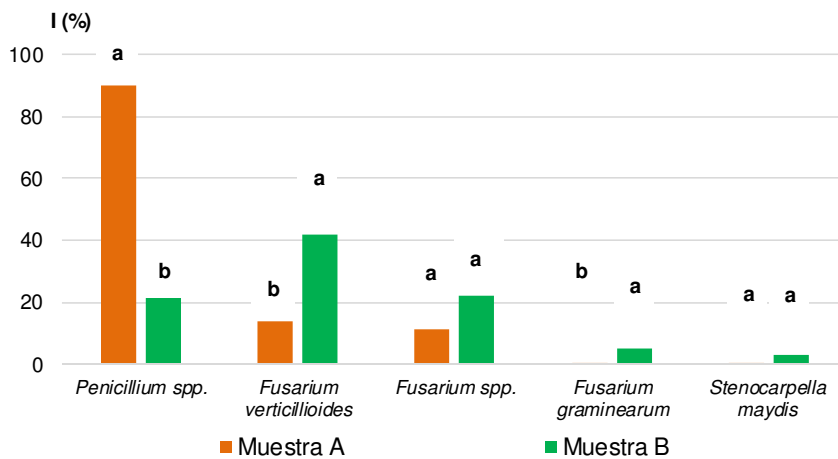
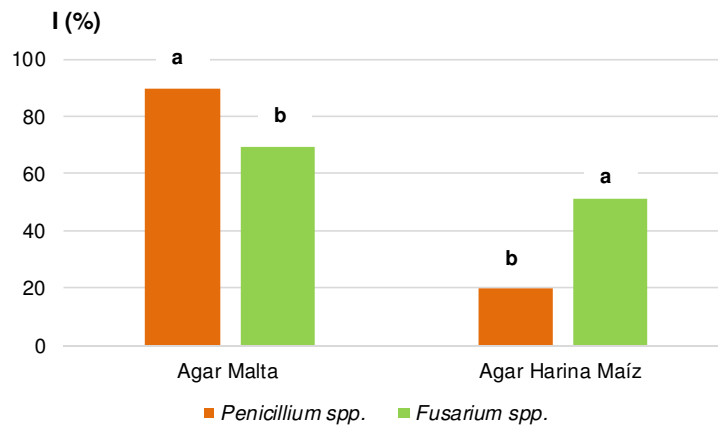


Gráfico 27. Incidencia (%) de hongos en agar extracto de tomate de espigas en Muestra A (plantas con alta severidad de MO) y Muestra B (plantas con alta severidad de TF).

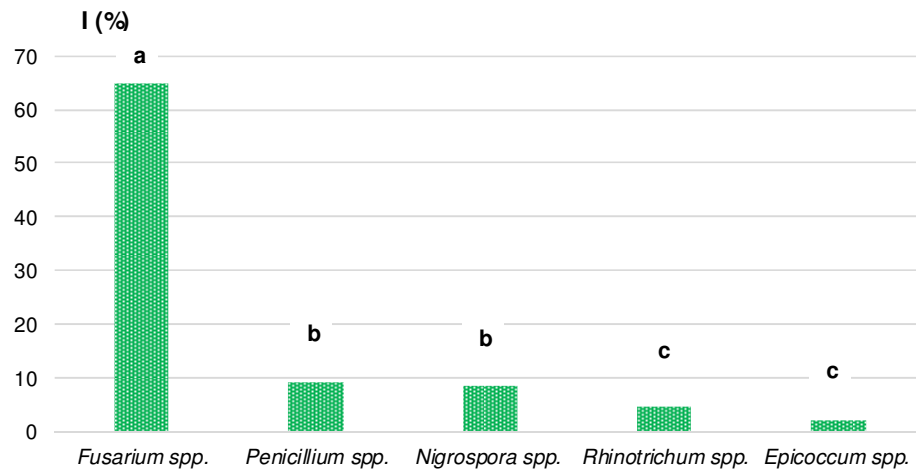
Ensayo 9. Los hongos *K. zeae* y *E. turcicum* no se observaron. En AM la I de *Penicillium* spp. y *Fusarium* spp., fue alta comparada con los valores en AHM, hallándose en ambos casos diferencias estadísticas significativas entre ambos géneros (**Gráfico 28**).



Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 28. Incidencia (%) de hongos en semillas de maíz en agar malta y agar harina de maíz.

Ensayo 10. Los hongos *K. zeae* y *E. turcicum* bajo estudio no fueron observados. *Fusarium* spp., registró la mayor I (65%), mientras que con un menor porcentaje entre 2 y 9% se determinaron especies de *Penicillium*, *Nigrospora*, *Rhizotrichum* y *Epicoccum* (**Gráfico 29**) hallándose diferencias entre los mismos. En una sola semilla se identificaron peritecios de *Gibberella* spp. (**Figura 83**).



Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 29. Incidencia (I%) de hongos en semillas de maíz en *blotter test* con restricción hídrica.

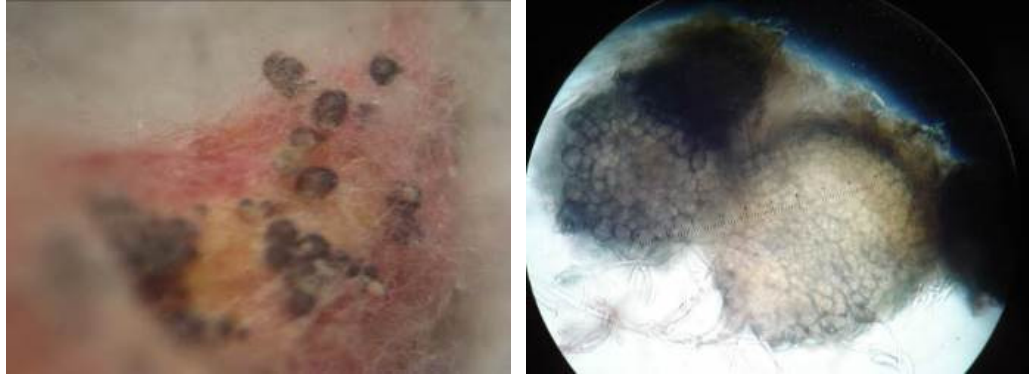
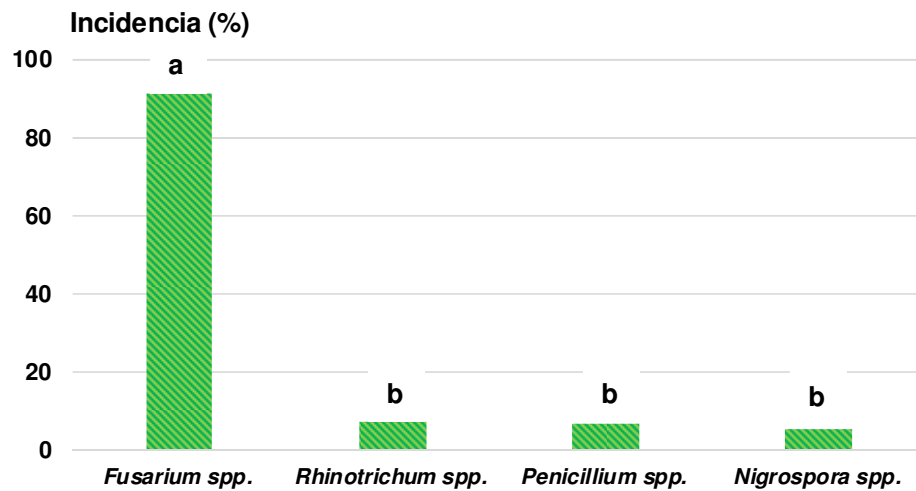


Figura 83. Semillas de maíz con micelio y peritecios de *Fusarium* spp.

Ensayo 11. Los hongos bajo estudio no fueron detectados. El género *Fusarium* fue el de mayor I (91,25%) mientras que *Rhizotrichum*, *Penicillium* y *Nigrospora*, no superaron el 7% (**Gráfico 30**) determinándose diferencias estadísticas significativas en la I de los hongos. *Fusarium* desarrolló rápidamente sin observarse la presencia de otros microorganismos (**Figura 84**).



Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 30. Incidencia (%) de hongos en semillas de maíz con método de papel y freezer.

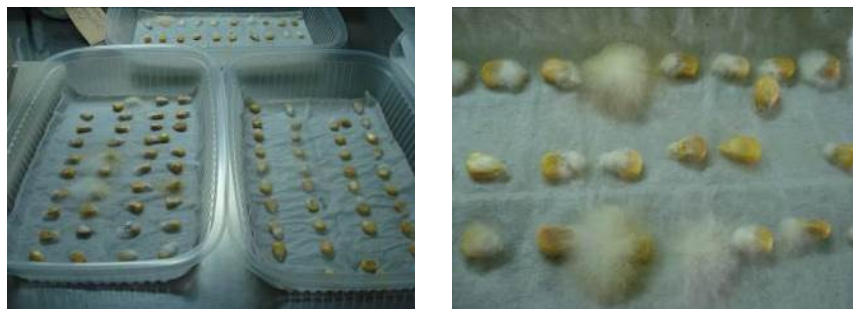


Figura 84. Alta incidencia (I) de *Fusarium* spp., en semillas de maíz en *blotter test* con incubación en frío.

Discusión

El análisis de los resultados obtenidos permitió determinar una prevalencia del 100% de los géneros *Fusarium* y *Penicillium*, 64% de *Nigrospora* spp. y 36% de *Stenocarpella maydis*, *Aspergillus* spp. y *Rhizotrichum* spp., sobre semillas de maíz de distintos híbridos, orígenes, tipos de desinfección, métodos y medios de cultivo y condiciones de incubación. Estos resultados son coincidentes con los hallados previamente en Argentina y en el mundo. Por ejemplo, para Entre Ríos en semillas de maíz recién cosechado la frecuencia relativa de *Fusarium verticillioides* fue 91,7%, *Aspergillus flavus* 83,3%, *Penicillium funiculosum* 66,7%, *Aspergillus niger* 58,3% y *Alternaria alternata* 16,7%; en granos almacenados se registró además *Diplodia zea*, *Mucor racemosum*, *Rhizopus stolonifer*, *Epicoccum nigrum* y *Trichoderma harzianum* (Broggi et al., 2007).

En semillas del S de Buenos Aires los hongos más aislados fueron *Penicillium* spp. (70%), *Fusarium* spp. (47%) y *Aspergillus* spp. (34%), según Roigé et al. (2009). Semillas de cultivos de maíz tardío, con 10 a 20% de podredumbre de espigas, los hongos con mayor I fueron *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* y *Penicillium* spp. (Gally et al., 2014); con dos métodos de desinfección se determinaron *Aspergillus*, *Stenocarpella*, *Penicillium* y *Alternaria* (Nuñez et al., 2015).

En semillas procedentes de Santa Fe se identificaron *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., además de *Graphium penicillioides*, *Aspergillus*, *Alternaria* y *Cladosporium* (Sillon et al., 2015) y en semillas de la región norpatagónica se hallaron en diferentes medios de cultivo como DRBC (dicloran rosa de bengala cloranfenicol agar), DG18 (dicloran glicerol agar) y SNA especies de *Fusarium*, *Penicillium* y *Aspergillus*. El hongo más frecuente fue *F. verticillioides* (Oviedo et al., 2017).

En Costa Rica, las semillas de maíz presentaron un 98% de *Fusarium verticillioides* en semillas desinfectadas y 97% en semillas no desinfectadas (Danielsen y Funck Jensen,

1998); en Brasil, en muestras de semillas de maíz se registraron *F. verticillioides*, *Penicillium* spp. y *Aspergillus flavus* con I de 14,0%, 12,4% y 8,4%, respectivamente (Nerbass, 2008). En México, en 16 muestras de semillas de maíz se identificaron en orden de importancia *Fusarium oxysporum*, *F. subglutinans*, *F. moniliforme*, *F. graminearum*, *F. anthophilum*, *F. poae*, *F. tricinctum*, *F. sporotrichioides* y *F. proliferatum*. Estas especies producen podredumbres de espigas y granos, además de micotoxinas (García-Aguirre y Martínez-Flores, 2010).

Al igual que en este trabajo, en Serbia, a partir de semillas almacenadas se identificaron los mismos hongos principalmente *Fusarium* spp. (43,5–62,5%) y *Penicillium* spp. (10,0–33,5%). Además, se hallaron *Nigrospora* spp., *Aspergillus* spp., *Acremonium* spp., *Alternaria* spp., *Mucor* spp., *Chaetomium* spp., *Rhizopus* spp., *Cladosporium* spp., *Epicoccum* spp., *Trichothecium* spp., *Gliocladium* spp., *Papulaspora* spp., y *Phialophora* spp. (Krnjaja et al., 2007 y 2013); en Sudáfrica, con PCR-tiempo real se determinaron *Fusarium graminearum*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans* y *F. proliferatum* (Boutigny et al., 2012).

En numerosos países, se realizaron en la última década trabajos sobre patología de semillas de maíz y los resultados fueron similares a los hallados en este trabajo; en Korea (Basak y Lee, 2002), Burkina Faso (Somda et al., 2008), Brasil (Morais Barroso et al., 2012; Martins Reis et al., 2012), Bangladesh (Alam, 2013; Jinnah, 2014), Arabia Saudita (Mahmoud et al., 2013; Dawood y Elshamry, 2015), Pakistán (Niaz et al., 2011; Hussain et al., 2013), Ghana (Kieh, 2014), India (Debnath et al., 2012; Rajurkar y Taware, 2014; Parvathi et al., 2014), Bulgaria (Tanova et al., 2015) y Etiopía (Tsedaley y Adugna, 2016).

Para detectar hongos en semillas también se han probado otros métodos como el espectro de reflectancia (550 a 1700 nm), imágenes de reflectancia de color visible, rayos X, imágenes de transmitancia multiespectral y propiedades físicas. Con dos bandas NIR (infrarrojo cercano) espectrales de reflectancia entre 715 y 965 nm se podría identificar correctamente un 98,1% de semillas asintomáticas y un 96,6% de semillas con síntomas e infectadas con *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Diplodia maydis*, *Fusarium graminearum*, *F. verticillioides* y *Trichoderma viride* (Pearson y Wichlock, 2006).

Actualmente, por los avances significativos en la secuenciación de la próxima generación (NGS) se han logrado resultados interesantes en estudios de ecología microbiana por una rápida expansión de la investigación en el campo y al establecimiento de la "metagenómica", a menudo definida como el análisis de ADN de comunidades microbianas en muestras ambientales sin necesidad de cultivos previos. Se han desarrollado muchas herramientas y bases de datos estadísticas / computacionales de

metagenómica para permitir la utilización de un gran volumen de datos. El campo de la "metagenómica" se define como el análisis genético directo de los genomas contenidos en una muestra ambiental sin la necesidad previa de obtener cultivos clonales. Inicialmente, el término solo se usó para el análisis funcional basado en la secuencia de los genomas microbianos colectivos contenidos en una muestra ambiental, pero en la actualidad también se aplica ampliamente a los estudios que realizan la amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de ciertos genes de interés. La primera se puede denominar "metagenómica completa", 2 y la segunda como "metagenómica de amplificación del gen marcador" (es decir, gen del ARN ribosomal 16S) o "meta-genética". Dichas metodologías permiten una generación de perfil genómico / genético mucho más rápida y elaborada de una muestra ambiental a un costo muy aceptable. La metagenómica completa puede secuenciar completamente la mayoría de los genomas disponibles dentro de una muestra (o comunidad) ambiental. Esto crea un perfil de biodiversidad de la comunidad que puede asociarse aún más con el análisis de la composición funcional de linajes de organismos conocidos y desconocidos (es decir, géneros o taxones). Además, proporciona acceso ilimitado a la información funcional de la composición génica derivada de comunidades microbianas que habitan en ecosistemas prácticos. La metagenómica del gen marcador es una forma rápida de obtener un perfil de distribución de comunidad / taxonómica o huella dactilar mediante la amplificación por PCR y la secuenciación de genes marcadores conservados evolutivamente, como el gen 16S rRNA.⁵ Esta distribución taxonómica puede asociarse posteriormente con datos ambientales (metadatos) derivados del sitio de muestreo bajo investigación (Oulas et al., 2015). La metagenómica utiliza la secuenciación de ácidos nucleicos para caracterizar la diversidad de especies en diferentes nichos, como los biomas ambientales o el microbioma humano. La mayoría de los estudios han utilizado la secuenciación de 16S rRNA amplicón para identificar bacterias. Sin embargo, el costo decreciente de la secuenciación ha resultado en un cambio gradual de los análisis de amplicón y hacia la secuenciación metagenómica. Los datos metagenómicos se pueden usar para identificar una amplia gama de especies, pero rara vez se han aplicado a la identificación de hongos. Se desarrolló una secuencia de clasificación denominada FindFungi, y se utilizan para identificar secuencias fúngicas en conjuntos de datos de metagenomas públicos. En 39 de 70 conjuntos de datos que incluyen 71 especies de hongos, se identificaron al menos 11 especies patógenas con potencial zoonótico, incluyendo *Candida tropicalis*, se demostró además, que *C. tropicalis* y *C. loboi* son probablemente las mismas especies; se identificaron de *Pseudogymnoascus* de 13

muestras de suelo antártico analizadas inicialmente para detectar la presencia de bacterias capaces de degradar el aceite diesel y se determinaron numerosos ejemplos donde el ADN contaminante se incluyó erróneamente en los ensamblajes genómicos de hongos (Donovan et al., 2018).

Los hongos *K. zeae* y *E. turcicum* no se detectaron en semillas de diferentes híbridos de maíz con las diversas técnicas de análisis aplicadas, aún cuando en algunos casos procedían de cultivos con alta severidad a campo de ambas enfermedades. Reifschneider y Arny (1979b) postularon que detectar la enfermedad en áreas tan lejanas como Nueva Zelanda y Argentina podría indicar que el hongo infectaría internamente la semilla y de esa manera se transmitiría la enfermedad.

Según McGee (1998) *K. zeae* y *E. turcicum* no se transportan ni se transmiten por semilla. Sin embargo, De Rossi (2012b) analizando 1200 semillas de siete muestras de maíz y tres de maíz pisingallo recolectados en Río Grande do Sul obtuvo resultados positivos para *E. turcicum*. Utilizó diversos métodos como papel de filtro con congelamiento, APG, medio semi-selectivo de Reis, LCHA y medio semi-selectivo de De Rossi y Reis. El hongo se determinó en el medio LCHA a partir de semillas infectadas naturalmente a campo con una I promedio de 0,016% y en semillas inoculadas artificialmente en el medio semi-selectivo de De Rossi y Reis con una I muy baja, 0,12%. El medio semi-selectivo consiste en usar como medio de cultivo LCHA más una parte de una solución de 60 mg/L de carbendazim, 30 mg/L de captan, 500 mg/L de sulfato de streptomina y 600 mg/L de sulfato de neomicina. Otras técnicas como el "freezing" y APG en placas de Petri (Figueiró y Reis, 2009) o el medio semi-selectivo de Reis no resultaron (De Rossi y Reis, 2014).

En coincidencia con este trabajo, no se detectó *E. turcicum* en semillas de maíz procedentes de híbridos con 45 y 89% de severidad de TF a campo y sembradas en LCHA (Sillon et al., 2015).

Los estudios epidemiológicos de *E. turcicum* no mencionan a la semilla como un medio de sobrevivencia del hongo en ausencia de sus hospedantes naturales. La falta de detección de ambos hongos en estudios de numerosos autores a través del tiempo y el espacio, indicarían que no utilizan a la semilla como fuente de sobrevivencia, ya que es muy fácil determinar este comportamiento en otras numerosas asociaciones hospedante-patógeno. Por ejemplo, la presencia de *E. turcicum* en semillas de sorgo (cariopses desnudos) es de fácil observación y fue confirmada por distintos autores (Navi et al., 1999; Silva Lago et al., 2012).

Un aspecto relevante fue la detección del género *Stenocarpella* ya identificado en 2013 en semillas, tallos y rastrojo de maíz procedentes de los Dptos. Paraná, Nogoyá y Villaguay en la provincia de Entre Ríos (Formento, datos no publicados). Fue citado en Argentina en 2005 en Santa Fe, Buenos Aires, Córdoba (Odriozola et al., 2005) y recientemente en La Pampa (Miranda et al., 2016). Este hongo reduce drásticamente la germinación de las semillas y el vigor de las plántulas; además es capaz de generar micotoxinas que ocasionan desórdenes neurológicos en bovinos y ovinos, cuando pastorean el rastrojo en el período otoño-invernal. Las semillas afectadas poseen un tegumento grisáceo – opaco, con restos adheridos, presencia de líneas oscuras anchas, difusas, transversales y longitudinales. Entre otros aspectos, la morfología y dimensiones de los conidios permitieron confirmar la existencia de *S. maydis* en maíces entrerrianos (Formento et al., 2017). En Brasil, las especies *S. maydis* y *S. macrospora* producen la podredumbre de semillas, muerte de plántulas, podredumbre de la base del tallo, de la espiga y mancha foliar. Las semillas infectadas constituyen la principal fuente de inóculo primario, diseminando el patógeno a largas distancias y también se lo encuentra en el rastrojo. La infección de las plantas puede ser sistémica a partir del micelio de las semillas (Casa et al., 2006). En Argentina, provocó una neurotoxicosis en bovinos, ovinos, equinos, cabras y aves y aparece como un problema creciente desde hace pocos años (Bodega, 2010; Clemente et al., 2012; Fiorani et al., 2013; Miranda et al., 2016). La asociación del patógeno con las semillas se estudió, además, con inoculación artificial (Siqueira et al., 2014) y existen herramientas moleculares para identificar las especies de *Stenocarpella* (Romero y Wise, 2015).

Conclusiones

Los hongos *K. zeae* y *E. turcicum* no utilizan a las semillas de maíz como una estrategia preferencial para su sobrevivencia y diseminación.

Los hongos con mayor prevalencia fueron especies de *Fusarium* y *Penicillium*.

Stenocarpella maydis es un hongo que se aísla consistentemente de semillas de maíz y por su importancia como organismo reductor de la germinación y productor de neurotoxicosis en el ganado debería ser estudiado más allá de su sola identificación morfológica taxonómica.

SECCIÓN IV

ESTUDIOS DE LA FASE SAPROFÍTICA DE *Kabatiella zae* y *Exserohilum turcicum*. ESTRATEGIAS DE SOBREVIVENCIA

CAPÍTULO 6

OBJETIVO 6

FUNCIÓN DEL RASTROJO Y PLANTAS VOLUNTARIAS DE MAÍZ EN LA SOBREVIVENCIA DE *Kabatiella zae* Y *Exserohilum turcicum*

SECCIÓN IV. ESTUDIOS DE LA FASE SAPROFÍTICA. ESTRATEGIAS DE SOBREVIVENCIA DE *Kabatiella zae* Y *Exserohilum turcicum*

Capítulo 6. **Objetivo 6.** Función del rastrojo y plantas voluntarias de maíz en la sobrevivencia de *Kabatiella zae* Y *Exserohilum turcicum*

Introducción

En Argentina, el actual escenario de producción agrícola consiste en un fuerte incremento de la superficie con labranzas conservacionistas, de 92.000 ha en el ciclo agrícola 1989/90 a 31.027.912 ha en 2014/15 sobre un total de 34.475.464 ha sembradas. El 94% del cultivo de maíz se realiza en SD con rastrojo superficial (Nocelli Pac, 2016). De allí la importancia de estudiar la función epidemiológica del rastrojo o restos culturales en el ciclo de las enfermedades.

Las plantas anuales, como la mayoría de los cultivos extensivos y determinados árboles y arbustos perennes con órganos deciduos (hojas, frutos y ramas), son afectados por organismos patógenos que, durante varios meses, carecen de su hospedante natural. Las plantas anuales, bianuales o perennes mueren total o parcialmente al final de su estación de crecimiento.

No obstante, los microorganismos durante el período de ausencia de su hospedante son capaces de sobrevivir de diversas formas, ya que poseen mecanismos para permanecer viables entre los ciclos agrícolas de siembra y cosecha o con inviernos fríos o veranos secos. En especies perennes los hongos pueden persistir como micelio en tejidos muertos (ej. canchales) y como esporas sobre tejidos infectados o yemas vegetales; en árboles deciduos los patógenos que afectan hojas y frutos usualmente sobreviven como micelio o esporas en hojas, frutos o yemas infectadas caídas en el suelo. Sin embargo, aquellos que afectan cultivos anuales generalmente sobreviven durante el invierno o verano como micelio en rastrojo (restos culturales) infectado, como esporas libres o durmientes (clamidosporas) y como esclerocios en el rastrojo o en el suelo. También lo pueden hacer como micelio, esporas o esclerocios dentro o sobre la semilla y otros órganos de propagación como tubérculos. Habitantes del suelo como *Pythium* y hongos como *Fusarium* y *Rhizoctonia* pueden sobrevivir indefinidamente como saprófitos y otros pueden infectar especies cultivadas, plantas voluntarias y malezas perennes o anuales y diseminarse desde las

anuales a las perennes y permanecer sobre estas últimas (Agris, 2005).

Los hongos poseen diversas formas de asociarse con las plantas y estas asociaciones pueden beneficiar tanto al hongo como a la planta o bien afectarlas causándole enfermedad y en ocasiones, hasta la muerte. Los hongos han co-evolucionado con las plantas durante más de 425 millones de años y nutricionalmente han logrado asociaciones biotróficas, necrotróficas o de ambos tipos (hemibiotróficas). Los necrótrofos, como los hongos *K. zeae* y *E. turcicum*, promueven la muerte de las células y toman los nutrientes para su crecimiento y reproducción (Pawlowsky y Hartman, 2016). Un aspecto epidemiológico importante de las enfermedades de naturaleza necro o hemibiotrófica es la descomposición del rastrojo. Por ejemplo, a los 32 días los restos culturales de soja, los de más rápida descomposición pierden el 68% de su materia orgánica (Mo) total, el rastrojo de maíz 42% y el de trigo, 47%; después de 756 días (más de dos años) el rastrojo de maíz retuvo 15% de su Mo original. Las poblaciones de bacterias y actinomicetes fueron consistentemente más altas en los restos de soja que en maíz y trigo; sin embargo la mayor población fúngica se halló en maíz y la más baja, en trigo (Broder y Wagner, 1988).

En áreas subtropicales como el S de Brasil, la pérdida de biomasa considerando el peso del rastrojo de soja, mostró una reducción de 44% en LC y 35% en SD en 1998, y en 1999, 48 y 39%, respectivamente. Es importante analizar el momento (mes y año) y condiciones ambientales en que se analizan los rastrojos (Almeida et al., 2001). La SD y la rotación de los cultivos modifican la dinámica poblacional de microorganismos que sobreviven en el suelo, y la intensidad de las enfermedades de las plantas se relaciona directamente con la densidad de inóculo que es máxima en SD y monocultivo (Reis et al., 2011a; 2011b).

Agris (2005) definió como inóculo primario a aquél que sobrevive en dormancia invernal o estival y causa las infecciones primarias en la primavera o el otoño. Estas primeras infecciones originarán inóculo secundario que se diseminará y producirá las infecciones secundarias. Cuanto más abundante sea el inóculo primario y más cerca se encuentre del cultivo de la fuente primaria, más intensa será la enfermedad y las pérdidas ocasionadas.

Las enfermedades foliares de maíz, a excepción de las royas y los mildius son producidas en su mayoría, por hongos necrotrófos que sobreviven en el rastrojo; por ejemplo la MO (*K. zeae*) se halló sólo en parcelas donde se agregó rastrojo después de la siembra (Chinchilla-López, 1985). El hongo *E. turcicum* (TF) sobrevivió en rastrojo enterrado o sobre la superficie del suelo durante siete meses y las clamidosporas (formadas en alguna

célula de los conidios) podrían jugar un rol importante en la sobrevivencia del patógeno (Fullerton y Fletcher, 1974). Según Abadi et al. (1993), el micelio, conidios y clamidosporas de *E. turcicum* pueden sobrevivir en el rastrojo, en el suelo, en sorgo de Alepo y en otras gramíneas como *Panicum*, *Paspalum*, *Pennisetum* y *Urochloa*. Los pseudotecios de la forma sexual *Setosphaeria turcica*, se producirían en rastrojo de sorgo de Alepo o de cebada y nunca sobre restos culturales de maíz. La severidad del TF fue alta en SD con rastrojo en superficie y monocultivo, comparada con la alcanzada en LC y LM (Pedersen y Oldham 1992).

Otros patógenos también sobreviven en el rastrojo, como el complejo fúngico *Fusarium*, que afecta a las poáceas ocasionando enfermedades importantes en maíz y trigo. Las especies más frecuentes como *F. graminearum* y *F. culmorum*, también pueden ser aisladas de muchas especies de fabáceas. Por ello, la presencia de inóculo en el suelo, los restos de cultivos anteriores y la falta de estrategias efectivas de manejo han incrementado la importancia de las enfermedades causadas por *Fusarium*. La secuencia de cultivos maíz-soja-trigo no impide la supervivencia ni el desarrollo de algunas especies de *Fusarium* cuando las condiciones ambientales son favorables para el proceso infeccioso (Peruzzo y Pioli, 2016). El rastrojo infectado con especies de *Fusarium* fue la principal fuente de inóculo para maíz (Luongo et al., 2005), observándose la prevalencia de *Fusarium solani* y *F. oxysporum* (Chiotta et al., 2015), al igual que en rastrojo de trigo y avena (Tunali et al., 2012; Njeru et al., 2016; Hofgaard et al., 2016).

Stenocarpella maydis, hongo que afecta al maíz, puede sobrevivir en el rastrojo como picnidios (Alvarez-Cervantes et al., 2016), y algunas formas sexuales pueden formarse y persistir en el rastrojo como los pseudotecios de *Mycosphaerella zeae-maydis* (tizón amarillo). Las ascosporas de pseudotecios se liberaron en forma continua en el tiempo en las hojas inferiores y fueron capaces de producir infecciones en maíz, no así las escasas ascosporas originadas en el rastrojo. Además, se observaron gran cantidad de picnidios y conidios de la forma asexual *Phyllosticta maydis* (Jiménez-Díaz y Boothroyd, 1979).

Otro aspecto epidemiológico de relevancia, no estudiado hasta el presente, es el de la existencia de plantas voluntarias (PV) o vulgarmente denominadas “guachas”, que podrían constituir otra estrategia de sobrevivencia que utilizan los microorganismos patógenos. Estas plantas surgen a partir de semillas del hospedante no cultivado y pueden presentar aspectos morfológicos diferentes a una planta cultivada en el mismo estado fenológico. En general, son de porte más bajo, entrenudos cortos, hojas más coriáceas, escasas flores, vainas, panojas, espigas, etc. Además, de ser reservorio de

microorganismos y nematodos, pueden hospedar invertebrados plaga o vectores de virus, bacterias y spiroplasmas, como también organismos benéficos. La bibliografía referida a las PV como reservorio de patógenos y fuente de inóculo inicial de los cultivos es escasa a nivel mundial. Por ejemplo, el *Corn Stunt Spiroplasma* (CSS) ocasionado por *Spiroplasma kunkelii* que afecta al maíz puede sobrevivir en PV, en *Tripsacum* spp. y, en sus insectos vectores, entre ellos *Dalbulus maidis* (Tsai y Miller, 1995). En Israel se determinó que *E. turcicum* sobrevive dentro y entre los ciclos del cultivo de maíz en *Sorghum halepense*, sin mencionar a las PV (Levy, 1995; Ngugi et al., 2000).

La mayoría de las enfermedades del maíz causadas por bacterias y hongos pueden sobrevivir inter-anualmente en rastrojo infectado del cultivo previo y las PV les proveen tejidos vivos para la reproducción, aumentando la oportunidad de sobrevivencia. El marchitamiento bacteriano (*Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis*), el tizón foliar por *E. turcicum* y la mancha gris (*Cercospora* spp.) y otras enfermedades podrían potenciarse en presencia de maíces voluntarios infectados. La ocurrencia de híbridos resistentes a herbicidas y eventos *Bt* incrementaron el número de PV, convirtiéndolas en una maleza problemática en la secuencia maíz/soja en SD y en un importante reservorio de insectos (Tsai y Miller, 1995; Marquardt et al., 2013; Chahal et al., 2016).

La probabilidad que un patógeno pueda infectar dos especies de plantas decrece paralelamente con la distancia genética entre las plantas. Otras especies de poáceas u otras familias botánicas también podrían ser sustrato de sobrevivencia y de inóculo de patógenos de plantas. Una señal filogenética en el rango de hospedantes provee una importante herramienta para predecir la ecología de las plantas, diseñar sistemas agrícolas, definir las regulaciones cuarentenarias y el análisis de riesgo para el control biológico (Gilbert y Webb, 2007).

Diversos hongos dematiaceos como *Bipolaris cynodontis*, *Curvularia lunata*, *C. geniculata* y *Exserohilum rostratum* afectaron severamente sorgo de Alepo (*Sorghum halepense*), *Bipolaris stenospila* a *Brachiaria platyphylla* y *B. spicifera* a sorgo de Alepo y *Setaria glauca*. Un número importante de gramíneas voluntarias, *Cynodon dactylon* y seis especies de hongos representaron un amplio complejo de hospedantes múltiples y patógenos, con infecciones cruzadas (Pratt, 2006).

Por ejemplo, *Rynchosporium* spp., que produce la escaldadura de la cebada (*Hordeum vulgare*) ocasiona síntomas típicos y atípicos en centeno (*Secale cereale*), pasto ovido (*Dactylis glomerata*) y raygrass perenne (*Lolium perenne*) según King et al. (2011), lo que muestra la importancia de otras poáceas como reservorio de patógenos. Diversas

especies de *Setaria* fueron determinadas como reservorio de *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis*, enfermedad reemergente del maíz en EE.UU (Langemeier et al., 2014).

Fusarium graminearum, principal organismo causal de la fusariosis de la espiga del trigo, se aisló de las inflorescencias de plantas sanas de 67 especies de gramíneas y no gramíneas. De éstas, 54 malezas de 19 familias botánicas se identificaron como hospedantes alternativos (Mourelos et al., 2014).

Kabatiella zae ocasionó síntomas típicos de MO cuando se inocularon maíz, oras especies de *Zea* como *Z. diploperennis*, *Z. perennis*, *Zea mays* spp. *luxurians* y *Zea mays* spp. *mexicana*, *Setaria viridis*, *Sorghum bicolor*, *S. sudanense* y *Echinochloa crusgalli* var. *frumentacea*, en cámara de cría, invernáculo y campo (Reinfscheneider y Arny, 1980b).

Por otro lado, *Exserohilum turcicum* se inoculó en 22 especies de 14 géneros de la familia Poaceae y todos fueron susceptibles con excepción de la caña de azúcar, observándose síntomas diferentes según grupos de especies (Wathaneeyawech et al., 2015).

El objetivo del estudio fue determinar la importancia del rastrojo (restos culturales) y las plantas voluntarias de maíz como reservorio de los hongos *Kabatiella zae* y *Exserohilum turcicum*.

6.1. RASTROJO

Materiales y métodos

Los aislamientos de microorganismos se realizaron a partir de restos de hojas y brácteas foliáceas, después de la cosecha del cultivo de maíz que fueron recolectados en distintos sitios de la provincia de Entre Ríos.

La metodología básica se aplicó a la mayoría de los ensayos, con ligeras variantes destinadas a mejorar los resultados que se iban logrando en forma progresiva. Los restos vegetales se lavaron durante 2 h bajo chorro continuo de agua de red, para eliminar las partículas de suelo, y se dejaron secar durante 3 h sobre papel absorbente estéril, dentro de una cámara de flujo laminar. Parte de estos tejidos, se cortaron en segmentos de 5 cm² que se desinfectaron en alcohol 70° durante 30 segundos, un minuto en CIONa al 1% y un enjuague en ADE. Una vez eliminado el exceso de agua en papel absorbente estéril, se cortaron segmentos más pequeños de aproximadamente 0,2 cm² y se sembraron en placas de Petri con APG acidificado y, en algunas ocasiones se utilizaron otros medios nutritivos. La incubación se realizó a 25 ± 2°C y oscuridad durante 5 a 7 días. Las observaciones se

realizaron en intervalos variables entre los 7 y 10 días y se determinó la I (%) de los microorganismos aislados que se calculó como $I = [(\text{número de colonias fúngicas o bacterianas obtenidas} / \text{número total de colonias desarrolladas}) * 100]$.

Cuando las colonias obtenidas poseían alguna característica de los hongos bajo estudio, se repicaron en APG acidificado e incubaron durante 72 h en oscuridad a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y posterior 48 h, a temperatura y luz ambiente de laboratorio para su análisis individual.

Según las características culturales y las estructuras de fructificación se identificaron la mayoría de los géneros fúngicos con claves taxonómicas (Ellis, 1971; Sivanesan, 1987; Barnett y Hunter, 1998; Manamgoda et al., 2014; Da Cunha, 2014).

Los valores obtenidos fueron analizados con o sin transformaciones según la naturaleza de los datos y se utilizó la raíz cuadrada de $(x + 0,5)$ o el arcoseno de la raíz cuadrada del %. Posteriormente fueron sometidos al ANOVA y las medias fueron comparadas mediante la prueba LSD de Fisher al 0,05% utilizando el paquete estadístico InfoStat Versión 2016e (Di Rienzo et al., 2016).

Ensayo N°1. Origen del rastrojo: Dpto. Nogoyá.

Ensayo N°2. Origen del rastrojo: Crespo, Dpto. Paraná.

Ensayo N°3. Origen del rastrojo: Gdor. Sola, Dpto. Tala.

Ensayo N°4. Origen del rastrojo: Altamirano Sur, Dpto. Tala.

Ensayo N°5. Origen del rastrojo: Ramírez, Dpto. Diamante.

Ensayo N°6. Origen del rastrojo: Hasenkamp (Dpto. Paraná). Para este estudio se modificó parcialmente la desinfección por lo cual 181 segmentos fueron sumergidos durante 30 segundos en alcohol 95° (antes se utilizó alcohol 70°), un minuto en ClONa al 2% (antes al 1%) y enjuagados una vez con ADE.

Ensayo N°7. Origen del rastrojo: Hasenkamp (Dpto. Paraná). En este caso, los restos culturales no fueron lavados.

Ensayo N°8. Origen del rastrojo: Oro Verde (Dpto. Paraná). En esta prueba, los restos vegetales fueron sembrados en APG acidificado, con el agregado de una solución de antibióticos (10,5 mg/L de sulfato de estreptomina de 250 mg + 3 mg/L de neomicina de 500 mg) más 3 mg/L del fungicida carbendazim 50% (bencimidazol). Antes de la solidificación del medio, aproximadamente a 35°C se adicionaron 2 mL de la solución por cada 100 mL de medio de cultivo. El objetivo del agregado de antibióticos y carbendazim fue reducir la presencia de bacterias y de *Fusarium*, respectivamente.

Ensayo N°9. Origen del rastrojo: EEA Paraná, Oro Verde, Dpto. Paraná. Obtenido de un lote con 19 años de monocultivo de maíz con diferentes híbridos a través del tiempo. El último sembrado era el híbrido DK 72-10 con registros anuales de síntomas de MO y TF cuyos restos culturales habían permanecido 60 días en el suelo. Se recolectaron restos de hojas, los que no fueron lavados. Se cortaron segmentos de 4 cm² los que se desinfectaron durante 1 minuto en alcohol 95°, 2 minutos en CIONa al 3% y tres enjuagues en ADE. Luego, se cortaron un total de 200 segmentos de 0,2 cm² que se sembraron a razón de 10 por placa, en un total de 20 placas de Petri con AHM más una solución de antibióticos y carbendazim (igual preparada y agregada que en el Ensayo 8).

Ensayo N°10. Origen del rastrojo: Dpto. Paraná con registro de severidad moderada de TF. Se seleccionaron tejidos senescentes solamente de hojas, que se desinfectaron con alcohol 95° durante 30 segundos, CIONa al 1% durante un minuto y dos enjuagues en ADE. Un total de 125 segmentos se sembraron a razón de cinco segmentos en cada una de 25 cajas de Petri con medio de cultivo lactosa caseína hidrolizada agar (LCHA), con adición de solución de antibióticos más carbendazim empleada en los ensayos 8 y 9.

Ensayo N°11. Origen del rastrojo: Lucas Sur, Dpto. Villaguay. Se recolectaron tallos cortados a nivel del tercer nudo y se lavaron en forma continua con agua de red por 3 h, para reducir al mínimo las partículas de suelo y otros contaminantes. Posteriormente, se cortaron longitudinalmente y con bisturí flameado se obtuvieron finas láminas de tejidos externos e internos, de la base del tallo y del primer entrenudo (**Figura 85**). La desinfección fue similar a la del Ensayo 10 y la siembra se realizó en placas de Petri con APG acidificado (más solución de antibióticos y carbendazim).



Figura 85. Rastrojo (tallos) de maíz para determinar la presencia de hongos.

Ensayo N°12. Infestación de macetas con rastrojo. Se recolectaron hojas, brácteas foliáceas, tallos y espigas de rastrojo de un lote de monocultivo de maíz (EEA Paraná). Para reducir el contenido de humedad del rastrojo de campo y minimizar el crecimiento de organismos saprófitos se conservaron durante 20 días en cajas de cartón abiertas. Una vez

secos, se cortaron segmentos de menor tamaño y se pesaron 20 g de rastrojo para cubrir la superficie de una maceta de 17 cm de diámetro. En cada maceta se sembraron cinco semillas de los híbridos DOW 505 (susceptible a MO) y ACA 470 MG (susceptible a TF) y se cubrieron uniformemente con el rastrojo. Las macetas testigo permanecieron libres de restos culturales (**Figura 86**).



Figura 86. Prueba del rastrojo superficial en macetas con híbridos susceptibles a mancha ocular (*Kabatiella zae*) y a tizón foliar (*Exserohilum turcicum*).

Cada 2 días, se regó cada maceta por aspersion con 5 mL de agua destilada con atomizador manual, simulando el impacto de gotas de lluvia sobre el rastrojo. Semanalmente y durante 30 días se realizaron evaluaciones para la detección de síntomas de MO y/o TF.

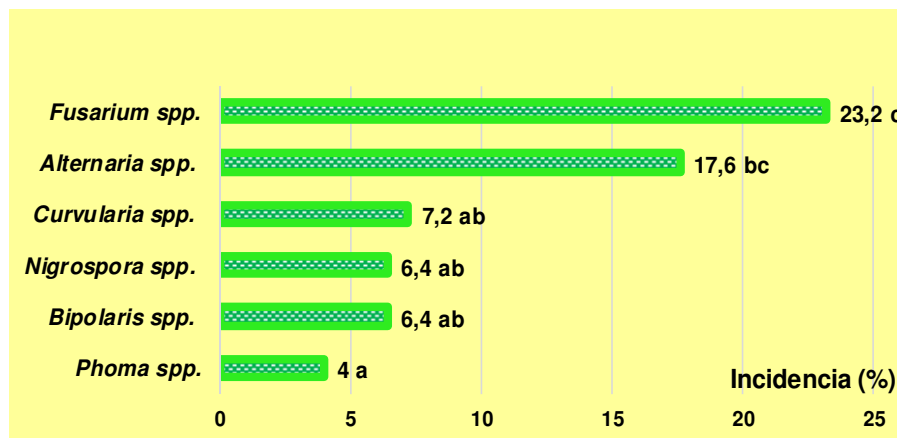
Resultados

Ensayo 1. Se aislaron numerosas colonias fúngicas y bacterianas (**Figura 87**).



Figura 87. Aislamiento de hongos y bacterias de rastrojo de maíz recolectado en el Dpto. Nogoyá (ER) en agar papa glucosado acidificado (APG).

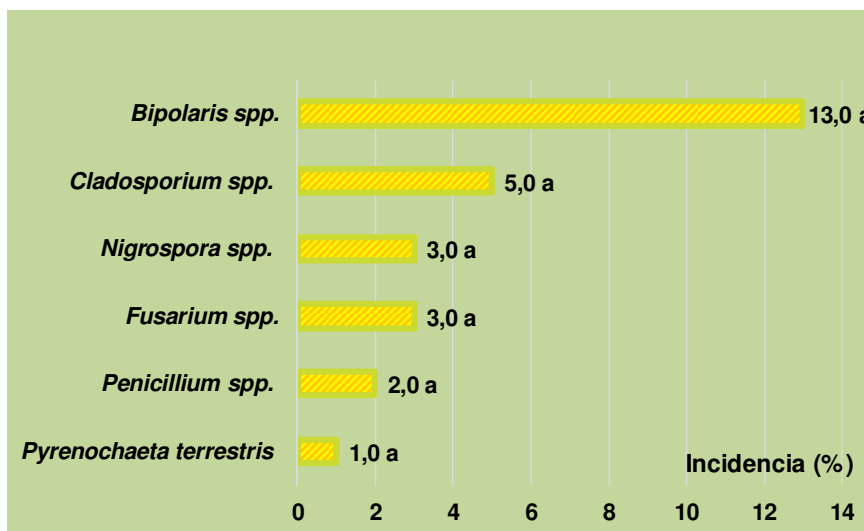
La mayor I correspondió a los géneros *Fusarium* con 23% y *Alternaria*, 17%. Con menor presencia se identificaron los hongos *Curvularia*, *Nigrospora*, *Bipolaris* y *Phoma* spp., con diferencias estadísticamente significativas entre la I de los mismos (**Gráfico 31**). Además, se observaron colonias con micelio estéril, bacterianas y ascocarpos inmaduros.



Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 31. Incidencia (%) de hongos aislados de rastrojo de maíz del Dpto. Nogoyá (ER) en agar papa glucosado acidificado (APG).

Ensayo 2. El hongo *Bipolaris* spp mostró la mayor I (13%); además, se identificaron otros géneros fúngicos como *Cladosporium*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Nigrospora* y *Pyrenochaeta terrestris* (sin. *Setophoma terrestris*) con distinta I, sin hallarse diferencias significativas entre los mismos (**Gráfico 32**).



Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 32. Incidencia (%) de hongos aislados de rastrojo de maíz recolectado en Crespo, Dpto. Paraná (ER) en agar papa glucosado acidificado (APG).

Las colonias de *Bipolaris* spp., con hifas pigmentadas, tabicadas presentaron color gris oscuro con reverso negro (**Figura 88**); fueron estudiadas en forma especial ya que inicialmente poseían alguna similitud con las colonias de *Exserohilum* spp., tanto en el envés como en el haz, pero el micelio fue marcadamente más compacto con el desarrollo de la colonia.

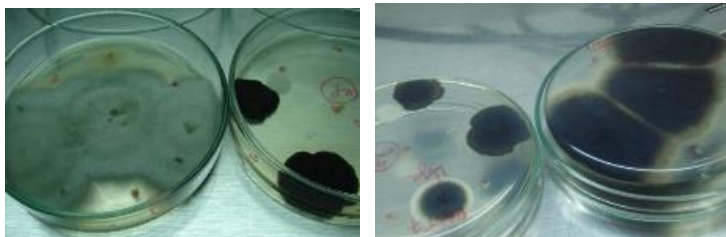


Figura 88. Anverso y reverso de colonias de *Bipolaris* (más oscuras casi negras) y similares a *Exserohilum* (gris verdosas).

Las colonias de *Bipolaris* con un diámetro promedio de 2,5 cm a los 7 días, presentaron un crecimiento lento, fueron circulares o levemente elípticas con márgenes lobulados, áreas concéntricas claras y oscuras, haz con tonos verde negruzco y el envés de color negro. El micelio fue escaso, con conidióforos geniculados, oscuros, tabicados con cicatrices. Sobre ellos, simpodialmente se ubicaban tres a seis conidios ligeramente curvados o derechos, algunos especiales o deformados (“codos”), de color pardo, verdosos, grisáceos. Los conidios germinaron rápidamente, la mayoría por ambos polos y algunos pocos, en forma unipolar. Por otro lado, las colonias similares a las de *Exserohilum* mostraron un crecimiento rápido, micelio abundante, algodonoso, fueron elevadas, verdes-grisáceas y 6 cm de diámetro promedio a los cinco días. La esporulación fue escasa, sólo visible en los márgenes de la colonia, con un conidio sin hilum por conidióforo, germinación escasa bipolar, unipolar y muy pocos por alguna célula lateral, posiblemente *Drechslera* (**Figuras 89 y 90**).



Figura 89. Conidióforos y conidios de *Bipolaris* spp. (izq.) y *Drechslera* spp. (der.) (200X) aislados de rastrojo de maíz de Crespo, Dpto. Paraná (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado.

El tamaño promedio de 50 conidios de *Bipolaris* spp., fue 48,7 x 12,2 µm.



Figura 90. Conidios de *Bipolaris* spp., obtenidos de rastrojo de maíz (400X).

Ensayo 3. La mayor I (32%) correspondió a *Fusarium* spp. y un 10,5% a un hongo no identificado con conidios muy largos y un hilo levemente visible de color claro dorado y ligeramente curvo posiblemente de la familia Dematiaceae (**Figura 91**).

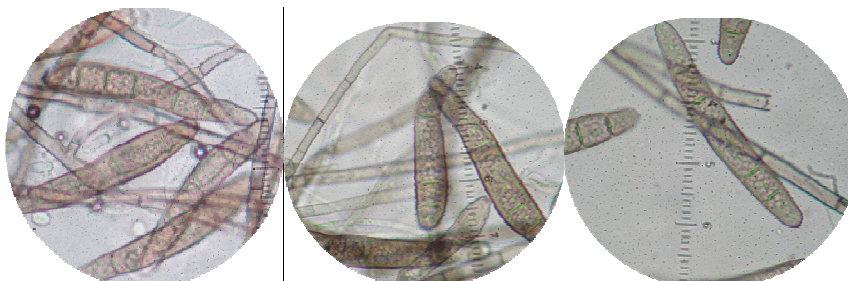
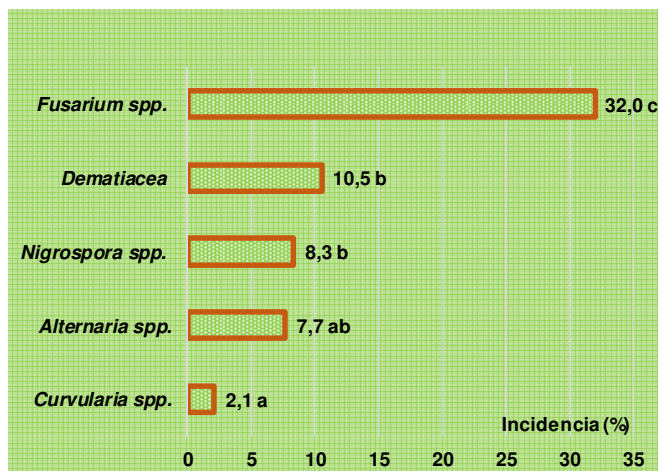


Figura 91. Hongo dematiaceo no identificado (400X) aislado de rastrojo del Dpto. Tala (ER).

Con menor I se registraron *Nigrospora* spp., *Alternaria* spp. y *Curvularia* spp., con diferencias estadísticas significativas entre los diversos géneros fúngicos (**Gráfico 33**). Además se identificaron otros hongos como *Epicoccum* spp., *Rhizopus* spp., y *Rhizoctonia* spp. (datos no presentados).



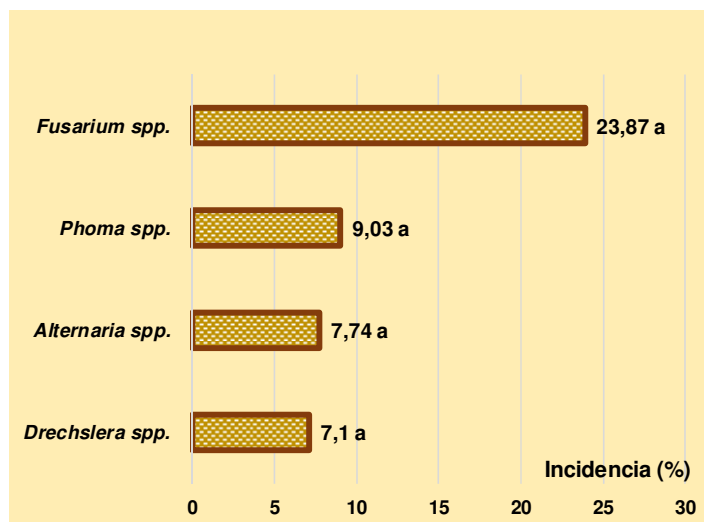
Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 33. Incidencia (%) de hongos aislados de rastrojo de maíz de Gdor. Sola, Dpto. Tala (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado.

Ensayo 4. Una sola colonia de *K. zaeae*, con micelio aéreo y pocos conidios típicos se aisló del rastrojo (**Figura 92**). Por otro lado, se obtuvieron diversos géneros de hongos como *Fusarium* spp. (23,9%) y, en menor porcentaje, *Phoma* spp., *Alternaria* spp. y *Drechslera* spp. Otros géneros fúngicos aislados fueron *Curvularia*, *Aspergillus*, *Nigrospora* y *Cladosporium*. No se hallaron diferencias en la I de los distintos hongos (**Gráfico 34**). El 29% de las colonias obtenidas fueron de naturaleza bacteriana.



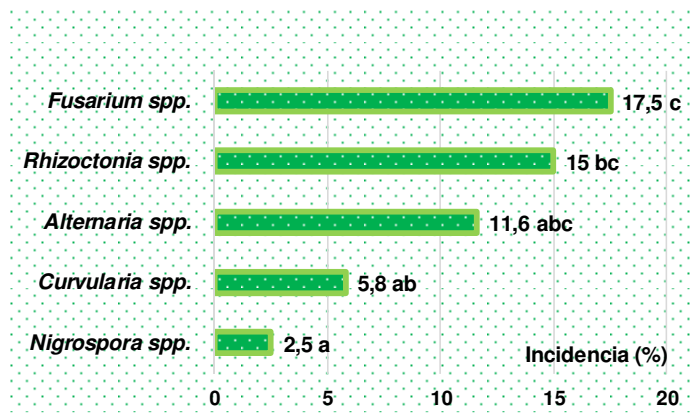
Figura 92. Colonia miceliar de *Kabatiella zaeae* con escasos conidios típicos (100X).



Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 34. Incidencia (%) de hongos aislados de rastrojo de maíz de Altamirano Sur, Dpto. Tala (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado.

Ensayo 5. La mayor I (17,5%) correspondió al género *Fusarium* spp. y con menores valores se identificaron *Rhizoctonia* spp. (15%) y *Alternaria* spp. (11,6%). Se hallaron diferencias estadísticas significativas en la I de los diferentes microorganismos. Con porcentajes muy bajos se reconocieron *Curvularia* spp. y *Nigrospora* spp (**Gráfico 35**). Algunos peritecios aislados fueron compatibles con *Sordaria* spp. (**Figura 93**).



Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 35. Incidencia (%) de hongos aislados de rastrojo de maíz de Ramírez, Dpto. Diamante (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado.

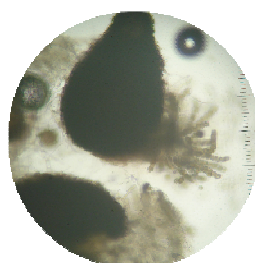
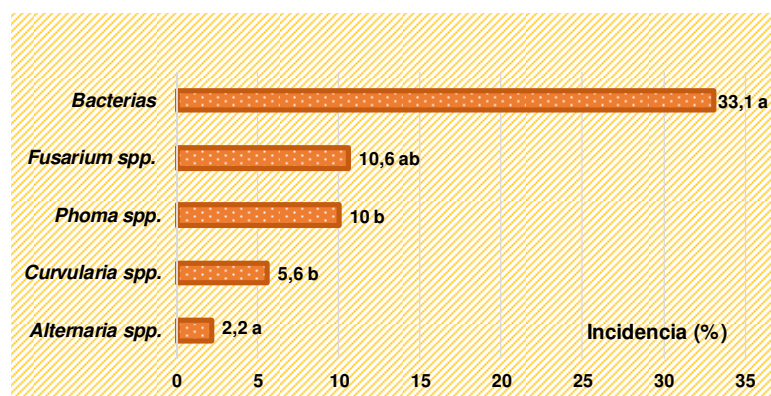


Figura 93. Peritecios de *Sordaria spp.*, aislados de rastrojo de maíz (200X).

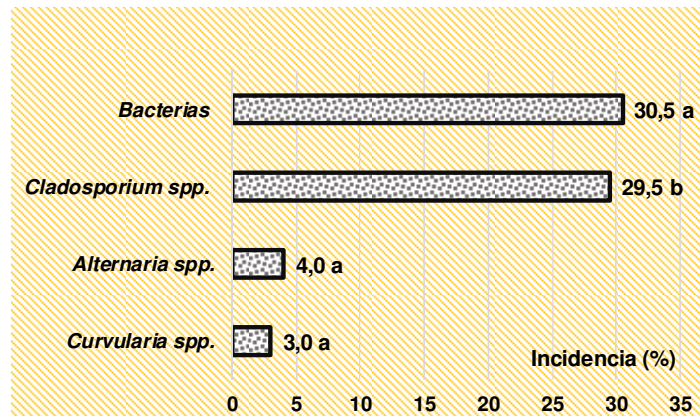
Ensayo 6. El 33,1% de los aislamientos correspondieron a colonias bacterianas de color crema o amarillas. Los hongos con mayor I fueron *Fusarium spp.* (10,6%) y *Phoma spp.* (10%). Con menor I se obtuvieron los hongos *Curvularia spp.* y *Alternaria spp.* (**Gráfico 36**) y colonias con micelio estéril, hallándose diferencias entre los diferentes microorganismos.



Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 36. Incidencia (%) de hongos aislados de rastrojo de maíz de Hasenkamp, Dpto. Paraná (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado.

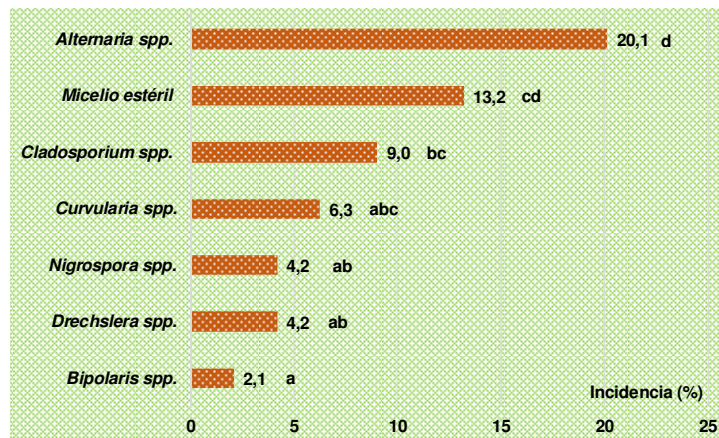
Ensayo 7. Se obtuvo una I de 30,5% de colonias bacterianas y de 29,5% de *Cladosporium* spp. Además se registraron *Alternaria* spp. y *Curvularia* spp., con 4 y 3%, respectivamente, hallándose diferencias en la I de los diferentes microorganismos (**Gráfico 37**). Se observó *Penicillium*, algunos hongos dematiáceos no identificados y colonias con micelio estéril.



Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 37. Incidencia (%) de hongos aislados de rastrojo de maíz de Hasenkamp, Dpto. Paraná (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado.

Ensayo 8. Se desarrollaron diversas colonias fúngicas y en determinados casos hasta dos géneros por cada segmento de rastrojo. Los hongos con mayor I fueron *Alternaria* spp. (20,1%) y *Cladosporium* spp. (13,2%). Además, se aislaron con menor I otros hongos como *Curvularia*, *Nigrospora*, *Drechslera* y *Bipolaris* (**Figura 94**) hallándose diferencias entre los hongos (**Gráfico 38**).



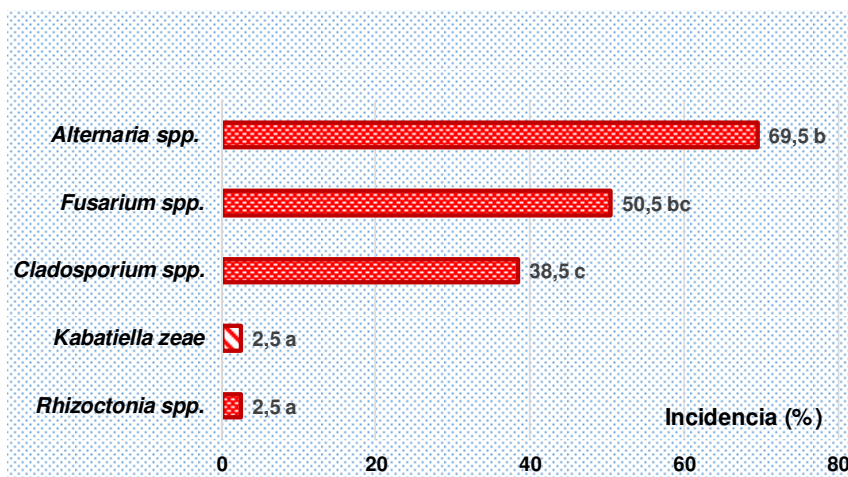
Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 38. Incidencia (%) de hongos aislados de rastrojo de maíz de Oro Verde, Dpto. Paraná (ER) en agar papa glucosado (APG) acidificado.



Figura 94. *Drechslera* spp. (izq.), *Curvularia* spp. (centro) y *Nigrospora* spp. (der.) (400X) aislados de rastrojo de maíz.

Ensayo 9. A las 36 h se observaron colonias similares a las de *K. zeae* con una I del 2,5%. Además, se aislaron *Alternaria* spp. (69,5%), *Fusarium* spp. (50,5%), *Cladosporium* spp. (8,5%) y *Rhizoctonia* spp. (2,5%), hallándose diferencias significativas en la I de los diferentes géneros de hongos (**Gráfico 39**).



Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 39. Incidencia (%) de hongos aislados de rastrojo de maíz de Oro Verde, Dpto. Paraná (ER) en agar harina de maíz (AHM).

Las colonias de *K. zeae* fueron del tipo mixta (miceliar con masa de conidios), circulares o levemente elípticas con un tamaño promedio de 0,65 x 0,7 cm y alta producción de conidios (**Figura 95**).

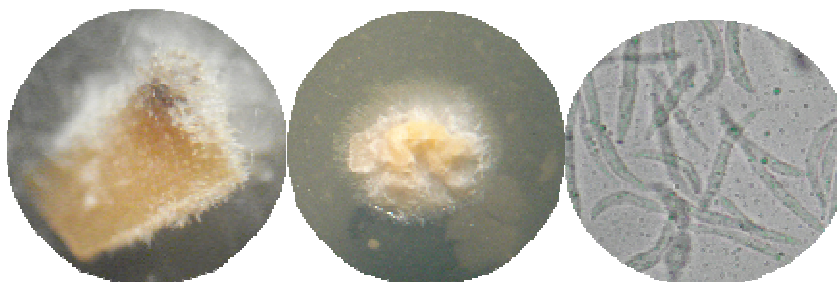


Figura 95. Colonias mixtas de *Kabatiella zeeae* aisladas de rastrojo de monocultivo de maíz de Oro Verde (ER).

Los conidios (n=200) fueron rectos o curvos con clamidosporas globosas, terminales o intercalares y midieron un promedio de 27,46 μm de longitud x 2,7 μm de ancho. Los conidios más jóvenes generaron otros por brotación, ya sea en alguno de los extremos o en forma lateral; otros se observaron engrosados, con extremos aguzados de un color gris más oscuro (**Figura 96**).

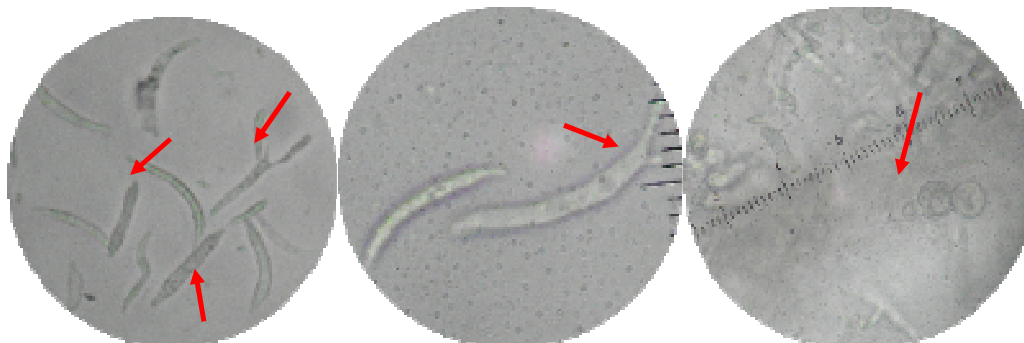
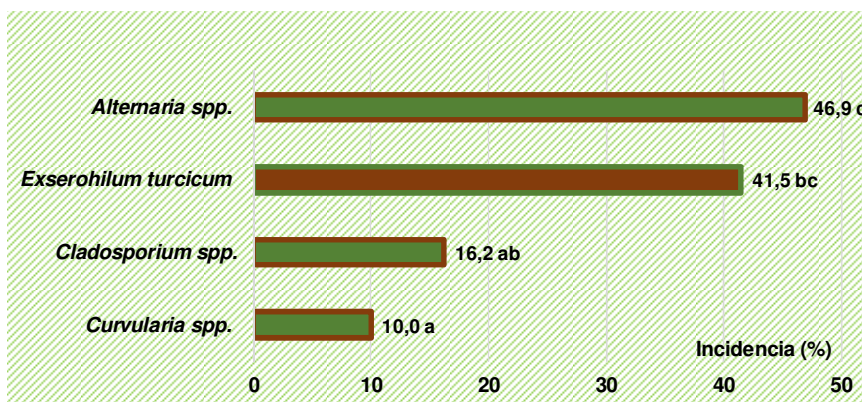


Figura 96. Conidios típicos de *Kabatiella zeeae*, algunos engrosados y otros con formación de conidios terminales (izq.), conidio con brotación lateral (centro) y clamidosporas (der.) (400X)

Ensayo 10. A las 72 h se observaron colonias con micelio flocooso, suelto, con hifas largas aéreas de color gris verdoso, similares a las conocidas de *E. turcicum*. A los siete días por las características de sus conidios el 41,5% de las colonias se identificaron como *E. turcicum*. Además, se aislaron *Alternaria* spp. (46,9%), *Cladosporium* spp. (16,2%) y *Curvularia* spp. (10%) (**Gráfico 40**) y en muy bajo porcentaje, *Bipolaris* spp. Se hallaron diferencias en la I de los diferentes géneros fúngicos.

Ensayo N°11. Los aislamientos de la base del tallo presentaron una I de 42,9 % de *Fusarium* spp. y los del primer entrenudo una I de 60% de *Stenocarpella maydis* y 11,4% de *Fusarium* spp. No se registraron otros géneros fúngicos, pero sí escasas colonias bacterianas y de levaduras.



Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 40. Incidencia (%) de *Exserohilum turcicum* en rastrojo de maíz del Dpto. Paraná (ER) en agar lactosa caseína hidrolizada (LCHA).

Ensayo 12. No se detectaron síntomas de MO o TF sobre las plantas de maíz en las macetas con rastrojo sobre la superficie, como en las macetas testigo, destacándose las hojas por su sanidad y su coloración normal (**Figura 97**).

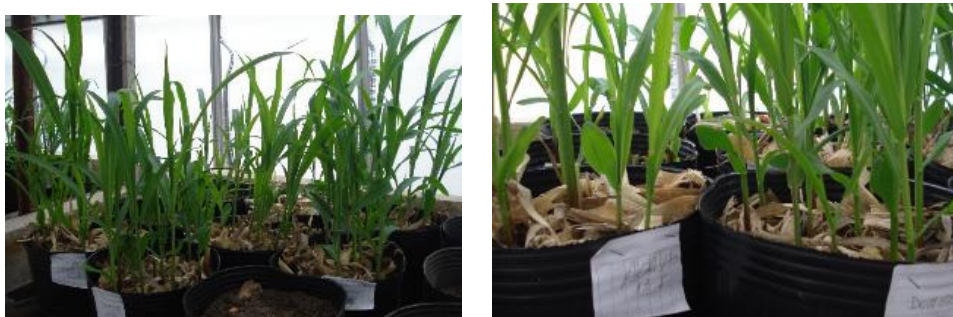


Figura 97. Híbridos susceptibles a mancha ocular y tizón foliar sin síntomas en la prueba de rastrojo superficial en macetas.

Los hongos *K. zeae* y *E. turcicum* obtenidos en los Ensayos 9 y 10, respectivamente fueron aislados, se obtuvieron cultivos monospóricos y se inocularon en plántulas de maíz con el método del pincel y se logró reproducir los síntomas típicos de MO y TF.

Discusión

En restos culturales, principalmente las hojas de maíz, fueron sustrato de sobrevivencia de los hongos *K. zeae* y *E. turcicum*. Si bien, existe una extensa bibliografía nacional e internacional que refiere explícitamente al rastrojo como reservorio de microorganismos patógenos en el cultivo de maíz, los estudios que en general, mencionan la asociación entre rastrojo y patógenos foliares son muy escasos (Fullerton y Fletcher, 1974, Broder et al., 1988; Stuckey et al., 1993; Reis et al., 2011a).

El hongo *K. zae* se aisló en los Ensayos 4 y 9, en un 0,74 y 2,5%, respectivamente y la mayor I se obtuvo cuando no se lavaron los restos culturales, se incrementó la concentración del alcohol, del ClONa y el tiempo de desinfección. Es posible que los pequeños estromas que puede generar el hongo en el rastrojo en descomposición, sean arrastrados por el lavado bajo un flujo intenso de agua por un tiempo considerable. La eliminación del lavado, requirió utilizar una desinfección más fuerte por un tiempo mayor y el empleo de un medio de cultivo con agregado de antibióticos y carbendazim para reducir bacterias y especies de *Fusarium*, asociadas a partículas de suelo y tejidos senescentes. Por otro lado, para aumentar la posibilidad de resultados positivos se incrementó el número de segmentos sembrados. La incubación no debería prolongarse más allá de los siete días, período adecuado para detectar *K. zae*, hongo de crecimiento muy lento comparado con las diversas especies de *Fusarium*.

Algunos trabajos mencionan que *K. zae* puede invernar en rastrojo infectado como hifas estromáticas en lesiones viejas, que después de ser estimuladas presumiblemente por temperaturas cálidas y alta humedad en primavera, produciría conidios que podrían ser dispersados por las gotas de lluvia y por corrientes de aire a distancias más grandes. De esta forma, los conidios pueden infectar plantas jóvenes e iniciar otro ciclo de infección. Sin embargo, Chinchilla López (1985) determinó que tanto el rastrojo infectado como los estromas del hongo perdieron rápidamente su capacidad para producir conidios cuando fueron expuestos a períodos consecutivos de secado y humedecimiento en condiciones de laboratorio. Chinchilla López (1986) relacionó las labranzas con la MO y demostró que la enfermedad aparece tardíamente y con menor severidad en LM. Contrariamente, la enfermedad apareció más temprano y con mayor severidad en las parcelas con restos superficiales.

La MO fue la enfermedad prevalente de maíz en un intercultivo con avena y soja en una secuencia de dos años de rotación donde la enfermedad se asoció con la proximidad al rastrojo de maíz del año anterior. Los gradientes de enfermedad fueron lineares y negativamente relacionados con la distancia a la fuente de inóculo (Tubajika, 1992).

El hongo *E. turcicum* se aisló fácilmente de los restos del cultivo con una desinfección normal, sin embargo cuando los tejidos se sembraron en un medio especial, agar lactosa caseína hidrolizada (LCHA), más antibióticos y carbendazim se lograron cajas con una I superior al 40%.

La habilidad del patógeno para formar estructuras de sobrevivencia depende principalmente de las condiciones ambientales al final de estación de crecimiento del maíz y

del inóculo disponible; además, halló que tizones foliares almacenados a 20°C, dieron un 32% de conidios con clamidosporas (esporas de resistencia) y, sólo un 22% a 5°C. Cuando las hojas se enterraron a 5 cm, el 25% de los conidios formó clamidosporas a los cuatro meses y se descompusieron totalmente a los seis meses. La viabilidad de los conidios sin clamidosporas fue nula cuando las hojas enfermas se almacenaron enterradas a 20°C y de 60% a 5°C, lo que indicaría la importancia de las mismas como estrategia de sobrevivencia (Levy, 1984 y 1995). *E. turcicum* puede sobrevivir como hifa, conidio y clamidosporas en el rastrojo y el alto nivel de inóculo se reduce cuando el rastrojo se incorpora al suelo comparado con el rastrojo que queda en la superficie (Fullerton y Fletcher, 1974).

La descomposición del rastrojo está asociada a la labranza, cantidad, consistencia de los tejidos, clima y condiciones del suelo y su manejo. La ocurrencia de otoños e inviernos cálidos y lluviosos provocaría una rápida mineralización y las hojas, por su naturaleza, con menor contenido de celulosa que los tallos, se desintegran en menos de 90 días. En general, fue escasa la posibilidad de obtener este tipo de tejidos para su estudio; por el contrario, brácteas foliáceas, tallos y restos de espigas, en ese orden, se localizaron en los campos durante un período más prolongado. Sin embargo, con excepción de las brácteas foliáceas donde se pudieron detectar escasos tizones de *E. turcicum*, el resto de los tejidos no fue adecuado para determinar la sobrevivencia de los patógenos estudiados.

Estudiar tejidos senescentes que permanecen en la superficie del suelo requiere una metodología que minimice el rápido desarrollo de los saprófitos que solapan a los patógenos que, en general, lo hacen más lentamente. Para asociar el rastrojo con el desarrollo de enfermedades en un cultivo, es preciso considerar otros parámetros epidemiológicos como la edad, cantidad y ubicación del rastrojo, uso de herbicidas y condiciones ambientales durante y entre estaciones, para así evaluar su importancia como fuente de inóculo para el siguiente cultivo (Almeida et al., 2001).

Reis et al. (2011b) determinaron que el rastrojo de maíz sobre la superficie del suelo tardó 37 meses (más de tres años) en descomponerse totalmente y sólo identificaron los hongos *Colletotrichum graminicola*, *Diplodia* sp. (sin. *Stenocarpella* spp.) y *Gibberella zeae*.

Coincidentemente con lo hallado en este estudio, el rastrojo fue una de las fuentes de inóculo de *E. turcicum* y se determinó que aproximadamente, se producen entre 25.000 a 100.000 conidios por 42 cm², los que se dispersan por el viento en horas del mediodía y cuya viabilidad disminuyó con el tiempo. El hongo sobrevivió en el rastrojo por un máximo de 24 meses bajo condiciones protegidas, siete a ocho meses sobre el suelo en condiciones naturales, y de cuatro a cinco meses a 15 cm de profundidad (Wani, 2015).

A partir del rastrojo de maíz de todos los ensayos, se aislaron otros hongos: *Alternaria* y *Fusarium* con una prevalencia del 80%; *Curvularia* 70%, *Nigrospora* 50%, *Bipolaris*, *Phoma* y *Cladosporium* con un 40% y tanto *Drechslera* como *Rhizoctonia* 20%. Algunos de los hongos hallados son patógenos muy importantes en determinadas regiones del mundo del cultivo de maíz; otros originan micotoxinas en los granos, y algunos forman parte de un complejo de hongos que afectan a las espigas hacia el final del ciclo o los cariopses en almacenamiento.

De todos los organismos mencionados, el género *Alternaria* posee una gran distribución y amplio rango de hospedantes que incluye especies patógenas de numerosos cultivos y saprófitas sobre diversos sustratos. Incluye hongos habitantes del suelo, del rastrojo y del filoplano de las plantas. *A. alternata* se considera un parásito facultativo polífago de baja agresividad, patógeno débil sobre tejido dañado y saprófito de tejidos senescentes. Puede producir toxinas involucradas en la patogénesis y en el desarrollo de síntomas de enfermedades de cultivos extensivos. Se comportó como patógeno foliar de maíz sólo cuando fue inoculado en proximidades de tejidos con daños mecánicos o fisiológicos, generando áreas necróticas con rayado clorótico. Es una especie celulolítica que transforma la celulosa en glucosa para obtener energía y crece sobre restos de plantas muertas de cereales (Trainor, 1980; Broggi et al., 2002 y 2007; Gulbis et al., 2016). *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, y *Helminthosporium* (*Bipolaris*) aislados de rastrojo de maíz descomponen la celulosa, crecen sobre ceras vegetales y no prosperan en ausencia de oxígeno, desarrollan bien en presencia de agua libre y son resistentes a ciclos alternos de humedad-sequía (Simpson et al., 1986).

Varias especies de *Fusarium* son patógenas de maíz, pueden vivir en el rastrojo y en el suelo y, las que ocasionan podredumbre de tallos y espigas fueron aisladas del rastrojo en agar papa zanahoria acidificado y medio de Komada (Gilbertson et al., 1985). Según Cotten y Munkvold (1998), *Fusarium* se aísla frecuentemente del suelo donde sobreviven por más de 630 días; *F. graminearum* crece en su fase parasítica sobre tejidos vivos y luego, saprofiticamente sobre tejidos muertos en los restos culturales (Pioli et al., 2004). La mayor cantidad de rastrojo y materia orgánica se halló en la secuencia maíz-trigo/soja-soja y en SD; dentro de los patógenos de maíz, la mayor densidad la presentó *F. verticillioides* con 53,3% en los primeros 5 cm del suelo en SD (Luque et al., 2005). *Fusarium graminearum*, *F. proliferatum*, *F. verticillioides* y *F. culmorum* producen pérdidas significativas del rendimiento y reducen la calidad de los granos por la presencia de micotoxinas; en rastrojo de maíz y trigo se aislaron además otras especies como *F. aquaeductum*, *F. equiseti*, *F. flocciferum*, *F.*

oxysporum, *F. poae*, *F. sambucinum* y *F. solani*. En España, en maíces con vuelco, se determinaron *F. semitectum*, *F. graminearum*, *F. solani*, *F. culmorum* y *F. moniliforme* (Andrés Ares et al., 2004; Luongo et al., 2005). *F. verticillioides* puede ser un endófito asintomático o patógeno provocando tizón de plántulas, podredumbre de tallos, semillas, raíces y espigas del maíz, y puede ser transmitido vía semilla, rastrojo o conidios diseminados por el aire (Saunders y Kohn, 2008). Además, es omnipresente en el suelo, agua, aire y otros múltiples sustratos como saprófito, patógeno o antagonista. Aproximadamente 101 especies son patógenas de cultivos de gran importancia económica (Pérez Vicente, 2014). El incremento de esta especie, estaría asociado al aumento de rastrojo de cereales en la superficie del suelo (SD) y a condiciones climáticas que favorecen su sobrevivencia. *F. graminearum* sobrevive por un período más largo sobre el rastrojo superficial donde se forman peritecios de *Gibberella* y macroconidios; además se aislaron *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae* y *F. sporotrichoides* (Hofgaard et al., 2016). En el NOA se determinaron *F. temperatum* y *F. subglutinans* (Fumero et al., 2015), especies que junto a *F. graminearum* y *F. verticillioides* producen la podredumbre del tallo de maíz (Shin et al., 2014).

El hongo *Curvularia* es un patógeno de maíz que ocasiona manchas foliares. Numerosas especies como *C. clavata*, *C. eragrostidis* (syn. *C. maculans*), *C. inaequalis*, *C. intermedia*, *C. lunata*, *C. pallescens*, *C. senegalensis* y *C. tuberculata*, que también afectan a otras poáceas como *Eleusine*, *Panicum*, *Saccharum*, *Setaria* y *Sorghum halepense* han sido citadas (Garcés Fiallos et al., 2012). De éstas, *C. lunata* es la especie prevalente en maíz (Munkvold y White, 2016) y en China, ocasiona una enfermedad devastadora que afecta hojas, vainas y espigas (Hou et al., 2013).

Nigrospora oryzae (teleomorfo *Khuskia oryzae*) es un hongo que ocasiona podredumbre de tallos, espigas y granos de maíz previo a la cosecha. Reduce el rendimiento, el valor de los granos y la calidad de los alimentos. Se lo considera un endófito común en pre-cosecha (Pearson y Wicklow, 2006; Saunders y Kohn, 2008).

El género *Bipolaris* posee importantes fitopatógenos de distribución mundial y la identificación de las distintas especies es difícil por el solapamiento de características morfológicas y el limitado uso de herramientas moleculares. Produce manchas foliares, tizones, podredumbre de raíces y de corona en cultivos de poáceas, incluyendo maíz, arroz, trigo y sorgo, entre otros. Hojas con *B. maydis* raza T sobrevivieron mejor sobre la superficie del suelo que enterradas parcial o totalmente y el hongo se halló en la mayoría de lotes con maíz en Ontario, Canadá (Gates y Bowling, 1972). *B. zeicola* se adaptó mejor a la

sobrevivencia saprófita en el rastrojo que *B. maydis* y *E. turcicum*. Estos dos últimos, durante el ciclo de crecimiento de maíz esporularon abundantemente sobre hojas vivas, solapando a *B. zeicola* que lo hace mejor, sobre tejidos senescentes. Los conidios fueron capaces de infectar hojas de maíz en todos los estados de desarrollo de la planta, antes de ser invadidos por saprófitos. *B. zeicola* podría ocupar un lugar intermedio entre un parásito agresivo y un saprófito oportunista (Leonard et al., 1988). Esto coincide con la prevalencia de aislamientos obtenidos en este estudio. El tizón causado por *B. maydis* produjo cuantiosas pérdidas en la década del 70 y existen variedades resistentes tanto a *B. maydis* como a *B. oryzae* y *B. sorokiniana*. Dicho tizón redujo marcadamente el rendimiento de granos, altura de plantas, longitud y peso de espigas (Manamgoda et al., 2014; Mubeen et al., 2015).

Phoma terrestris (sin. *Pyrenochaeta terrestris*, *Setophoma terrestris*) produce la podredumbre roja de las raíces, senescencia prematura y reducción del rendimiento del maíz. Los síntomas foliares desarrollan aproximadamente una o dos semanas después de la antesis, causando la muerte de las hojas y dando espigas de escaso desarrollo. Después de la cosecha, la corona y los tejidos por debajo del primer entrenudo de las plantas afectadas se descomponen, toman una coloración rojiza y las raíces presentan un aspecto normal (Koenning et al., 2007). El hongo es un habitante común del suelo y afecta particularmente a monocotiledóneas, diversas hortalizas, soja y malezas como sorgo de Alepo. Las raíces de maíz y de sorgo de Alepo presentaron la I más alta 72,5 y 37,5%, respectivamente (Lević et al., 2013).

Cladosporium spp. es un hongo cosmopolita, hallado en la mayoría de las plantas y rastrojo, frecuentemente aislado de suelo y materia orgánica, y que coloniza, como invasor secundario, lesiones foliares causadas por patógenos. Los conidios son los componentes más comunes en el aire y diseminados en gran cantidad a largas distancias. Además, como patógeno puede causar manchas foliares y otras lesiones, y también es hiperparásito de otros hongos (Bensch et al., 2012).

Drechslera dactylidis es una especie que se identificó en pasto ovillo (*Dactylis glomerata*) donde causa un manchado foliar severo y cuando fue inoculado sobre 18 especies de poáceas, sólo infectó pasto ovillo y maíz (Zeiders, 1980). *D. maydis*, utilizado como sinónimo de *D. dactylidis*, causa una enfermedad muy destructiva del maíz en regiones húmedas (Ghany, 2012).

El género *Sordaria*, aislado del rastrojo estudiado forma parte de la flora saprófita, y sus especies *S. fimicola*, *S. macrospora* y *S. brevicollis* crecen rápidamente sobre material

orgánico y restos vegetales. Fue determinado en tallos de maíz, en rastrojo de diversas plantas e inusualmente, sobre la filósfera de cebada y *Datura inoxia* (Kavak, 2012).

6.2. PLANTAS VOLUNTARIAS

Materiales y métodos

En diversas localidades de Entre Ríos durante los meses de abril, mayo, junio y julio de los años 2013, 2014 y 2015, se evaluaron plantas voluntarias (PV) en lotes de maíz cosechados (**Figura 98**).



Figura 98. Plantas voluntarias de maíz en lotes del Dpto. Paraná (ER). Año 2011.

Para el registro del número de PV/m² se utilizaron rectángulos de alambre de 1,50 x 0,50 m (0,75 m²) lanzados al azar en cinco estaciones de muestreo (3,75 m²), ubicadas en las cuatro esquinas y centro de cada lote. En estadios fenológicos posteriores a V8 (ocho hojas), el rectángulo de alambre resultó poco adecuado por la altura de las plantas y debía ser reacomodado para el recuento de plantas.

En **abril de 2013**, todos los lotes monitoreados correspondieron a siembras de 1era. Se analizó un total de ocho lotes (40 estaciones de muestreo) de los cuales cinco correspondieron al Dpto. Paraná en el centro oeste (CO), y tres al Dpto. La Paz, en el centro norte (CN) de Entre Ríos.

En **junio y julio de 2014** se evaluaron 26 lotes en 130 estaciones de muestreo en los Dptos. Paraná, Diamante, Victoria (CO) y La Paz y Federal (CN) de Entre Ríos.

En **mayo y junio de 2015** se evaluaron 31 lotes de maíz en 155 estaciones de muestreo en los Dptos. Paraná, Diamante, Victoria (CO) y La Paz (CN) de Entre Ríos.

En cada uno de los tres años, en relación con las PV se analizó en cada estación de muestreo, el número total de PV promedio, el número PV/m² promedio y el estadio fenológico (EF) de cada PV con la escala de Ritchie et al. (1992), considerando que dentro

de un lote se encuentran habitualmente plantas en todos los estadios fenológicos según la cohorte de emergencia.

En relación con las dos enfermedades, MO y TF se determinó para los años 2014 y 2015: Prevalencia (P) de ambas por lote donde $(P\%) = [(\text{número de lotes con MO o TF} * 100) / \text{número de lotes observados}]$; Incidencia (I %) = $[(\text{número de plantas voluntarias con síntomas} * 100) / \text{número total de plantas voluntarias evaluadas}]$ y Severidad (porcentaje del área foliar afectada) por cada planta. La S de MO se estimó con la escala diagramática de (EPPO, 2011) que considera un rango de tejido afectado entre 0 - 51% y, el TF, con la escala de Bleicher (1988) con un rango de 0 - 100% de tejido enfermo (ver Capítulo 3).

Los valores de las variables expresados en porcentaje fueron transformados al arcoseno de la raíz cuadrada, analizados con ANOVA y las medias se compararon mediante la prueba LSD de Fisher al 5%, utilizando el paquete estadístico Infostat Versión 2016e (Di Rienzo et al., 2016).

Resultados

Año 2013

En el momento de la evaluación, las PV de maíz se hallaban en diferentes estadios vegetativos, entre V4 (cuatro hojas) y V10 (10 hojas) en el Dpto. Paraná, y entre V5 (cinco hojas) - V6 (seis hojas) en el Dpto. La Paz, sobre un total de ocho lotes evaluados (**Figura 99**).



Figura 99. Plantas voluntarias (PV) de maíz en lotes de la provincia de Entre Ríos.

Se analizó un total de 164 PV cuyos estadios fenológicos (EF) oscilaron entre V4 (4 hojas) y V10 (10 hojas); la mayoría, 61 plantas (37%), se hallaban en V5, 41 plantas en V6 (25%), 35 plantas en V4 (21%) y 27 plantas (17%) en V10 (**Gráfico 41**).

El número total de plantas voluntarias (TPV) analizadas por lote en el Dpto Paraná osciló entre 8 y 27; el promedio de PV/m² por estación de muestreo varió entre 2 y 5, con un promedio general de 3 PV/m².

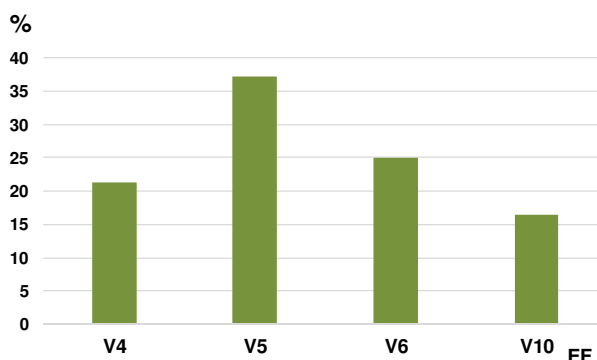
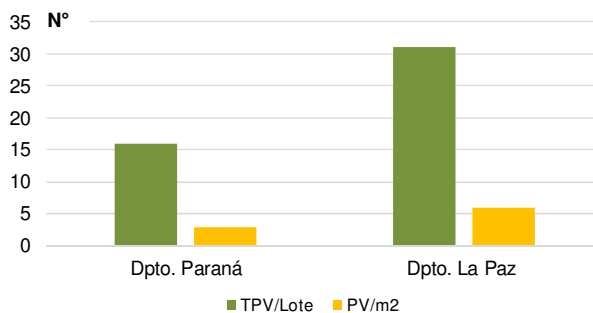


Gráfico 41. Estadios fenológicos de las plantas voluntarias (PV) recolectadas en los Dptos. Paraná y La Paz en el año 2013.

En el Dpto. La Paz, el número de TPV por lote osciló entre 24 y 39 y, el número promedio por estación de muestreo varió entre 5 y 8, con un promedio general de 6 PV/m² (**Gráfico 42**).

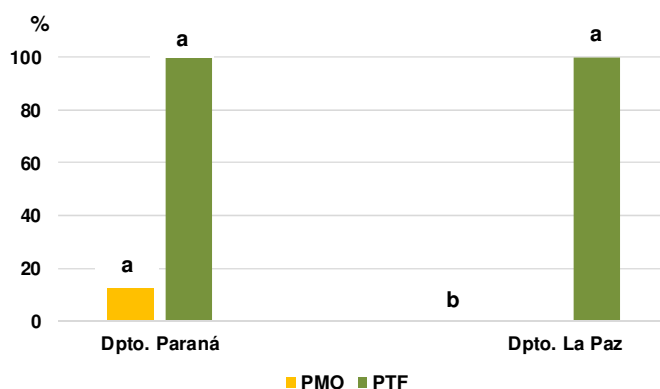


Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 42. Número total de plantas voluntarias totales (TPV) por lote y plantas voluntarias por m² (PV/m²) promedio en los Dptos. Paraná y la Paz en el año 2013.

El número TPV fue más alto en lotes de La Paz, que en lotes de Paraná, con diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$).

La PMO y PTF fue de 12,5% y 100%, en Paraná y La Paz (**Gráfico 43**) respectivamente, con diferencias estadísticas significativas ($< 0,05$).



Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 43. Prevalencia de mancha ocular (PMO) y de tizón foliar (PTF) en plantas voluntarias (PV) de maíz en los Dptos. Paraná y La Paz (Entre Ríos) en el año 2013.

Año 2014

Un total de 26 lotes (94,6%) evaluados se hallaban implantados en SD y los cultivos antecesores inmediatos fueron soja en el 42,2% de los casos y trigo (27%). Con antecesor maíz y en LM se halló un 15,4% de los lotes.

Se analizó un total de 897 PV cuyos EF oscilaron entre V4 (cuatro hojas) y R2 (grano ampolla); 371 plantas (41,4%) se hallaban en V6 y 232 plantas (25,8%) en V5 (**Gráfico 44**).

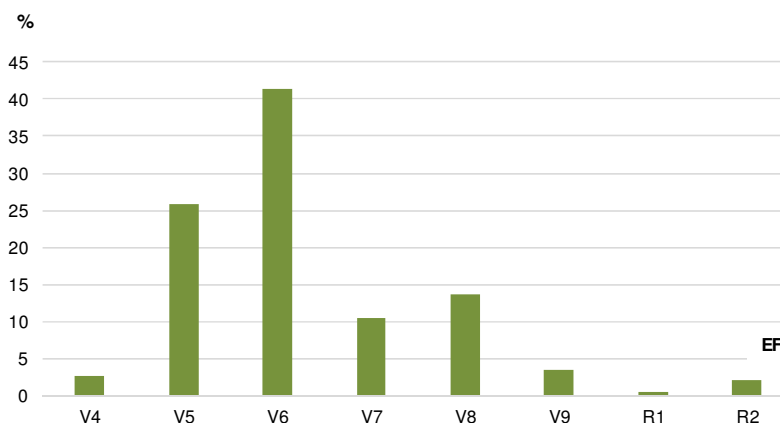


Gráfico 44. Estadios fenológicos de plantas voluntarias de maíz recolectadas en Entre Ríos en los meses de junio y julio de 2014.

En los diferentes dptos. de la provincia de Entre Ríos se determinó un promedio de 8 a 10 PV/m² (**Gráfico 45**).

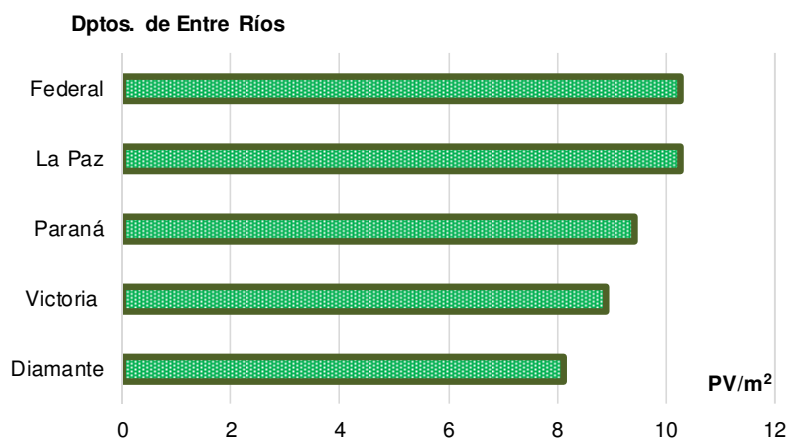


Gráfico 45. Plantas voluntarias de maíz por m² promedio en Entre Ríos en el año 2014.

La presencia de PV enfermas, con síntomas bien definidos tanto de MO como de TF y los valores de Prevalencia, Incidencia y Severidad registrados revelan la importancia de las PV en lotes cosechados de maíz en Entre Ríos (**Gráfico 46** y **Figura 100**).

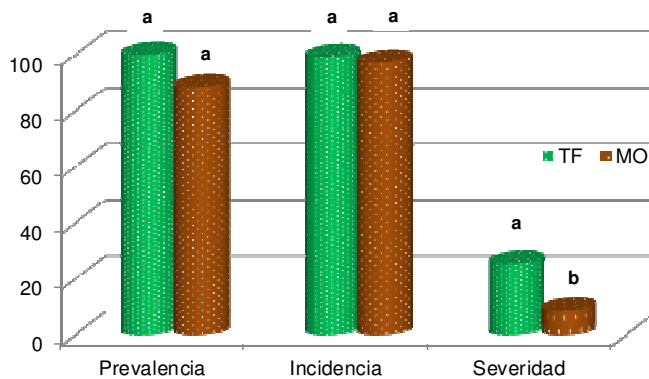


Gráfico 46. Importancia de la mancha ocular (MO) y tizón foliar (TF) en plantas voluntarias de maíz recolectadas en Entre Ríos en el año 2014.

En el CO (Paraná, Diamante y Victoria) la I de MO osciló entre 90,5 y 98,0% y la S entre 6,1 y 15,4%; en el CN (La Paz y Federal) la I fue del 100% y la S varió entre 5,7 y 6,5%. Por el contrario, la I del TF fue del 100% en ambas regiones, mientras que la S osciló entre 18,2 - 27,6% y 27,5 – 29,0%, respectivamente (**Gráfico 47**).

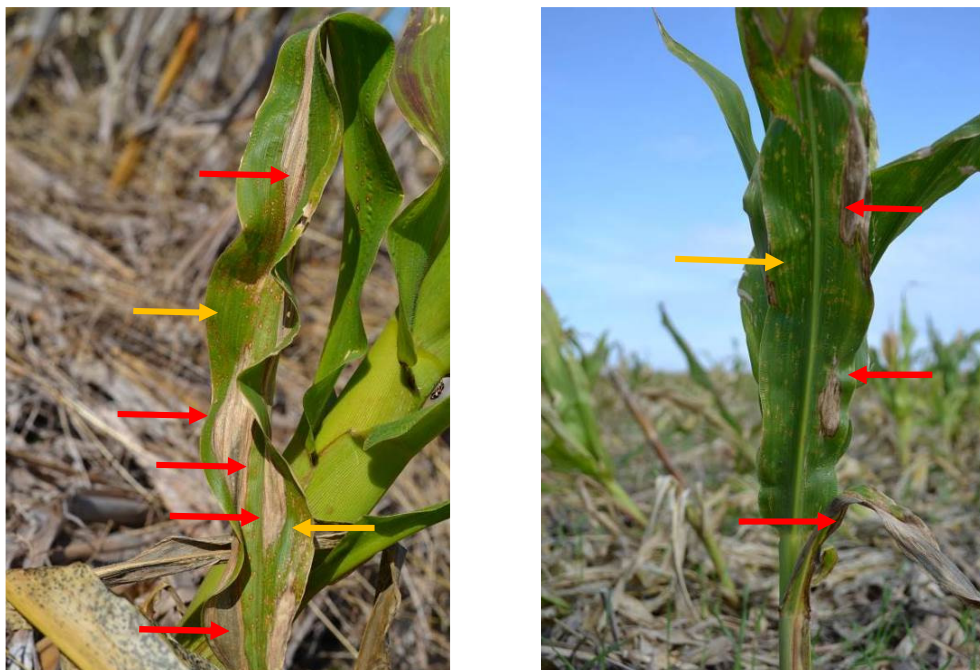
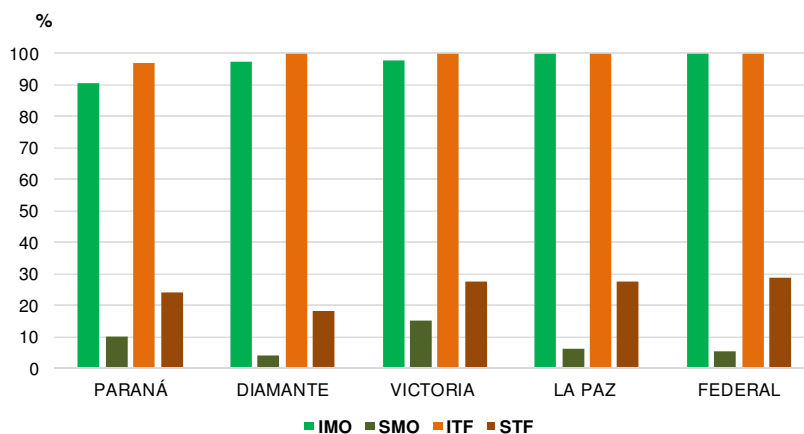


Figura 100. Síntomas severos de mancha ocular (MO) (flechas amarillas) y de tizón foliar (TF) (flechas rojas) en hojas de plantas voluntarias (PV) de maíz.



Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos ($\alpha = 0,05$)

Gráfico 47. Incidencia (I) y Severidad (S) de la mancha ocular (MO) y tizón foliar (TF) en plantas voluntarias en Entre Ríos en el año 2014.

Año 2015

De los lotes evaluados, el 93% estaban implantados en SD con distintos antecesores: soja (79%), trigo (11%) y después de avena (4%); sobre LM o LC se halló sólo un 6% de los lotes.

Sobre 939 PV analizadas, un total de 242 plantas (25,8%) estaban en el estadio reproductivo R1 (aparición de estigmas), 176 plantas (18,7%) en V5 y 151 plantas (16,1%) en V7 (**Gráfico 48**).

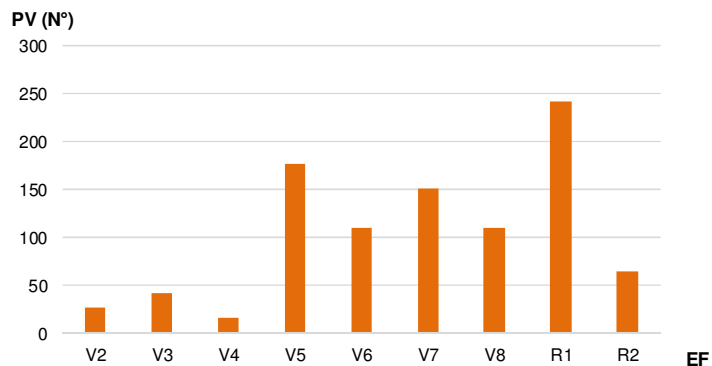


Gráfico 48. Estadios fenológicos (EF) de las plantas voluntarias de maíz recolectadas en Entre Ríos en los meses de mayo y junio de 2015.

En los lotes evaluados del CO (Paraná, Diamante y Victoria) y CN (La Paz) de Entre Ríos, se determinó un total de 11 a 53 PV. El número de PV/m² osciló entre 4 y 10, con un promedio aproximado a 6 PV/m² (**Gráfico 49**)

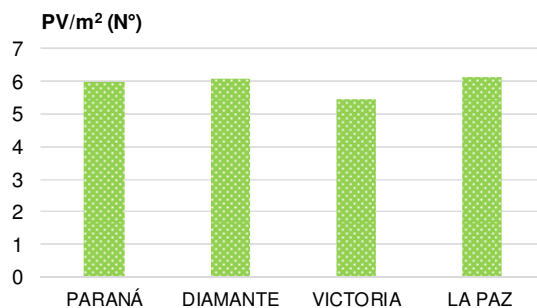


Gráfico 49. Número promedio de plantas voluntarias (PV/m²) de maíz en Entre Ríos en el año 2015.

La I de la MO osciló entre 86,3 y 100%, mientras que la S de la MO fue baja entre 0,1 y 0,8% con diferencias estadísticas significativas entre los departamentos provinciales. Por otro lado, la ITF varió entre 22,6 y 68,7% y la STF entre 0,6 y 2,3%, la primera con diferencias entre Dptos. (**Tabla 57**).

Durante los tres años de evaluación de PV y sus manchas foliares, realizadas en los meses de mayo, junio y julio, la PMO osciló entre 12,5 y 100% y la PTF, entre 98 y 100% (**Tabla 58**).

Tabla 57. Plantas voluntarias promedio por m², Incidencia de mancha ocular (IMO), Severidad de mancha ocular (SMO), Incidencia de tizón foliar (ITF) y Severidad de tizón foliar (ITF) en Entre Ríos en los meses de mayo y junio de 2015

DEPARTAMENTO	PV/m ² (N°)	IMO (%)	SMO (%)	ITF (%)	STF (%)
Paraná	6	86,3	a	0,8	b
Diamante	6	100	a	0,2	a
Victoria	5	86,7	a	0,1	a
La Paz	6	100	a	0,3	ab

Letras iguales indican diferencias no significativas (p≤0,05)

Tabla 58. Años, número de lotes evaluados e importancia de la mancha ocular (MO) y tizón foliar (TF) durante los años 2013, 2014 y 2015 en plantas voluntarias (PV) de maíz

AÑO	MES DE RECOLECCIÓN	LOTES (N°)	TPV (N°)	EF	PV/m ² (N°)	PMO (%)	PTF (%)	IMO (%)	SMO (%)	ITF (%)	STF (%)
2013	abril	8	164	V4-V10	3 - 6	12,5	100	~	~	~	~
2014	junio - julio	26	897	V4-R2	8 - 10	100	100	97,2	8,4	99,4	25,3
2015	mayo - junio	31	939	V2-R2	4 - 10	50,2	98	93,2	0,3	41,1	1,4

Discusión

Las PV de maíz se hallaron en los tres años de evaluación en diversos estadios fenológicos, entre cuatro hojas (V4) y espigas con grano ampolla (R2), siempre con tejido verde con síntomas y signos de enfermedades foliares. Los resultados obtenidos muestran la importancia de las PV como reservorio de los patógenos que ocasionan la MO y TF de maíz, ya que los valores de P por lote y de I por planta aunque variables, fueron altos para ambos patógenos. Además, durante los 12 meses del año se observan en el paisaje agrícola por lo cual, habría inóculo disponible para cultivos de maíz con siembra de 1era y de 2da.

El número de PV siempre fue alto, asociado a los sistemas actuales de producción que incluyen la SD, el uso de híbridos resistentes a glifosato, cosecha y trilla deficiente, tanto por causas intrínsecas de la maquinaria agrícola, sistema de cosecha, costos, etc. En todos los casos, las PV mostraron síntomas de una u otra, o de ambas enfermedades estudiadas con niveles variables.

Las PV que se originan a partir de las plantas volcadas, espigas y granos caídos durante la cosecha pueden alcanzar un número importante en lotes con daño por tormentas, enfermedades, raíces y tallos afectados por insectos o estrés ambiental. Numerosos factores pueden influir en la emergencia de PV, entre ellos, la labranza que determina el

nivel de contacto del cariopse con el suelo y el barbecho que los protege, o bien ser consumidos por la fauna silvestre. Las condiciones climáticas como las lluvias primaverales y temperaturas cálidas también estimulan la emergencia de PV y cuando ocurren heladas, generalmente mueren gran cantidad de las PV emergidas.

En el paisaje agrícola, la permanencia de áreas remanentes de vegetación natural que sirve como hospedante puede impactar en la epidemiología de una enfermedad y la evolución de la dinámica de los patógenos de cultivos. Sin embargo, las consecuencias potenciales sobre la composición, configuración espacial y la persistencia de tiempo de la interfase agroecológica (donde el cultivo y la vegetación remanente se ponen en contacto) han sido escasamente estudiadas. El desarrollo de un modelo de simulación demográfica-genética permite estudiar la distribución espacial y temporal de la vegetación natural remanente dentro del paisaje agrícola, que puede conducir a la emergencia de un patógeno y su subsecuente especialización en un cultivo. Se halló que las estructuras del paisaje que promueven grandes poblaciones de un patógeno en el hospedante silvestre (o voluntario) facilita su emergencia, pero también puede reducir el potencial de adaptación del patógeno a un cultivo. En síntesis, la trayectoria evolutiva de una población patógena, se determina por las interacciones entre factores que describen la estructura del paisaje y aquéllos que definen la historia de vida del patógeno. El estudio contribuye a una mejor comprensión de cómo el cambio de los patrones de uso de la tierra en los paisajes agrícolas podría influir en las enfermedades de los cultivos para proporcionar herramientas predictivas que permiten evaluar las prácticas de manejo (Papaix et al., 2015).

En general, las PV generalmente han sido estudiadas sólo en relación a la competencia con los cultivos subsiguientes como soja o maíz o para estudios de fitófagos como el manejo a largo plazo de larvas de *Diabrotica virgifera* y se considera que el control de las PV es relevante para sostener el rendimiento potencial de los cultivos (Shauck, 2011; Stahl y Potter, 2013; Marquardt et al., 2013).

La mayoría de aquellos patógenos de maíz, tanto los que sobreviven en el suelo o rastrojo de cultivos anteriores, pueden ser perpetuados por las PV y potencialmente, podrían incrementar su población y los niveles de enfermedad en cultivos de maíz subsiguientes. Sin embargo, poca o ninguna investigación se realizó para ayudar a entender el riesgo que significan las PV y recientemente se comenzó a especular sobre su importancia potencial. La sobrevivencia invernal de hongos, bacterias, nematodos y virus y su ubicación o la de sus vectores podrían ser influenciadas por la existencia de PV.

Algunos patógenos que sobreviven entre estaciones de cultivo en PV de maíz son *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis* (marchitamiento bacteriano), *Exserohilum turcicum* (tizón foliar), *Cercospora zea-maydis* (mancha gris), y virus como *Maize dwarf mosaic*, *Wheat streak mosaic* y *Maize chlorotic mottle*, la mayoría con insectos u otros artrópodos como vectores (Chahal et al., 2016; Gilabert et al., 2017). La estría bacteriana del maíz, conocida en EE.UU desde 2014 y recientemente identificada como *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* puede sobrevivir en el rastrojo y en PV (Kleczewski, 2016).

Por otro lado, se evaluó el impacto de la densidad de PV de maíz durante tres años sobre la podredumbre de espigas (*Fusarium graminearum*) y el nivel de micotoxinas en híbridos de maíz. La S de la podredumbre de espigas y los niveles de DON (deoxinivelenol) a cosecha se evaluaron con densidades de 0, 0,5, 2, 4, y 8 PV/m² y se determinó que la S fue muy baja en los tres años analizados, y no se halló efecto de la densidad sobre la importancia de la enfermedad. Sin embargo, se observaron altos niveles de DON en espigas de PV comparados con los de espigas cosechadas a mano o con cosechadora, y el rendimiento se redujo significativamente con el aumento de la densidad de PV (Hollandbeck, 2016).

El monocultivo de maíz en SD sobre suelo compactado y con baja fertilidad, ha mostrado situaciones preocupantes en el manejo de enfermedades de la espiga en cultivos de fechas tardías en el SE y CO de Brasil. En ambas regiones, la presencia de PV y la secuencia de cultivos manteniendo la presencia de plantas de maíz durante todo el año han favorecido la intensidad de enfermedades foliares como la roya polisora (*Puccinia polysora*) y los achaparramientos causados por mollicutes (Casa, 2017).

Conclusiones

El rastrojo y las plantas voluntarias de maíz son sustrato de sobrevivencia de los hongos *K. zea* y de *E. turcicum*.

Tanto el rastrojo como las plantas voluntarias de maíz y el sorgo de Alepo (*Sorghum halepense*) son parte del ciclo biológico de los patosistemas *Kabatilla zea*-maíz y *Exserohilum turcicum*-maíz, con una fuerte implicancia epidemiológica en la sobrevivencia.

El aporte al conocimiento de las distintas fases en el ciclo biológico o ciclo de vida de un patógeno en relación con su hospedante principal y del rango de hospedantes alternativos es la base fundamental para definir el manejo de las enfermedades de las plantas.

La inclusión de nuevos elementos en el escenario del ciclo biológico actual del hongo *Kabatiella zea* (**Figura 101**) y de *Exserohilum turcicum* (**Figura 102**) en sus respectivos patosistemas con el maíz permitirá elaborar estrategias de manejo integradas en el sistema agrícola promoviendo su mayor eficiencia y durabilidad a largo plazo.



Figura 101. Ciclo biológico de *Kabatiella zae*, organismo causal de mancha ocular (MO) del maíz.

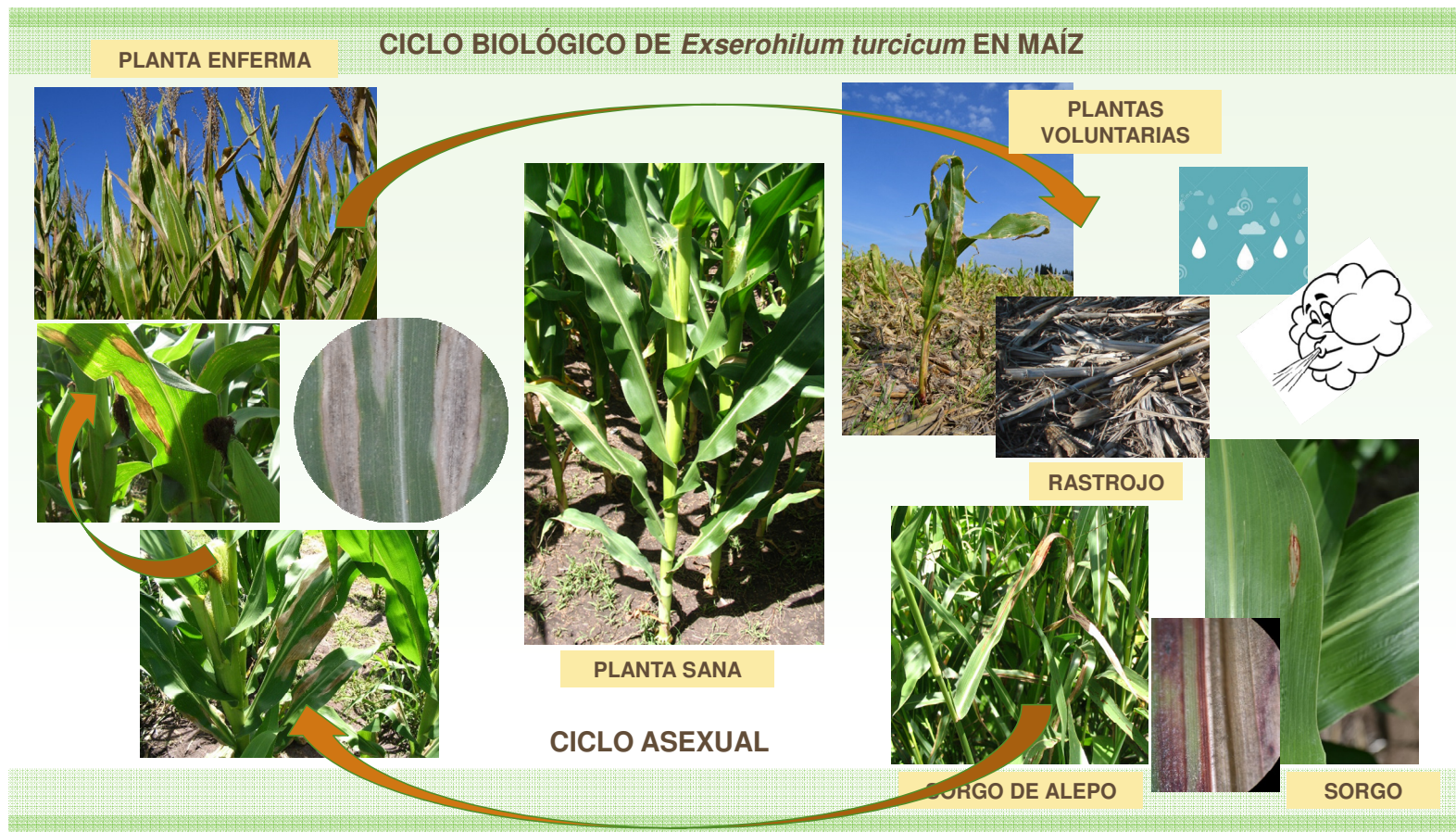


Figura 102. Ciclo biológico de *Exserohilum turcicum*, organismo causal del tizón foliar (TF) del maíz.

SECCIÓN V

CONCLUSIONES

Y

PERSPECTIVAS

SECCION IV: CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Conclusiones

Del análisis de los resultados presentados y discutidos ampliamente en los distintos capítulos para verificar las hipótesis planteadas se concluye que:

- Entre los años 2011 y 2015 se detecta y confirma la ocurrencia de mancha ocular (*K. zeae*) y tizón foliar (*E. turcicum*) en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe y Entre Ríos con una menor prevalencia de la primera con respecto a la segunda, sin diferenciarse según las épocas de siembra.
- Por primera vez en Argentina, se confirma que los restos culturales y las plantas voluntarias de maíz (*Zea mays* L.) son sustrato de sobrevivencia de los hongos *K. zeae* (mancha ocular) y *E. turcicum* (tizón foliar) y además lo son para otros microorganismos que ocasionan enfermedades importantes en el cultivo de maíz.
- La existencia de rastrojo y plantas voluntarias de maíz con síntomas y signos de *K. zeae* y *E. turcicum* implica una fuente de inóculo primario para las infecciones en siembras de 1era en sus estadios reproductivos y para siembras de 2da, en sus estadios vegetativos.
- Los estudios de semillas, rastrojo, plantas voluntarias de maíz, sorgo (*Sorghum bicolor*) y sorgo de Alepo (*Sorghum halepense*), además de la mancha ocular (*Kabatiella zeae*) y del tizón foliar (*Exserohilum turcicum*) permitieron identificar la existencia de otros microorganismos fúngicos con potencial etiológico para producir enfermedades limitantes en el cultivo de maíz.
- Dentro de los patógenos conocidos y valorados como de alto impacto en la cantidad y calidad de los granos de maíz en Argentina y otros países productores, se detectan en forma frecuente, especies de los géneros *Fusarium*, *Stenocarpella* y *Bipolaris*. Los dos primeros además son productores de micotoxinas que ponen en riesgo la salud humana y animal, respectivamente.
- El hongo *Kabatiella zeae* presenta marcada variabilidad morfológica y genética y, *Exserohilum turcicum* de macro y micromorfología estable, muestra variabilidad genética, sin embargo para definir con mayor precisión este aspecto en ambos patógenos, es relevante incluir estudios con diferentes técnicas moleculares de un mayor número de aislados procedentes de diversas regiones geográficas productoras de maíz.

- La mancha ocular (*K. zeae*) está presente con frecuencia y actualmente se incluye en la evaluación de híbridos en distintas regiones del país y en estudios de genotipos de bancos de germoplasma.

Perspectivas

Del presente trabajo de Tesis surgen los siguientes aspectos que requieren ser abordados en el corto y mediano plazo:

- La descripción de los síntomas del tizón foliar en sorgo y en sorgo de Alepo y algunas características del hongo de ambos hospedantes son un nuevo aporte al conocimiento en la Argentina. Es relevante que en Argentina se formulen hipótesis y desarrollen líneas de investigación en sorgo y sorgo de Alepo para determinar la especificidad de *E. turcicum* con bases moleculares y dilucidar la importancia de estos hospedantes en la epidemiología del tizón foliar en el cultivo de maíz.
- Estudios de campo para caracterizar e identificar el complejo de manchas foliares que presenta el maíz cuando se siembra en fechas tardías y su relación con respecto a microorganismos biotróficos como royas, principalmente roya polisora (*Puccinia polysora*) y mildius (*Peronosclerospora* spp.)
- Conocer la importancia de la mancha gris o cercosporiosis e identificar en forma precisa cuantas especies de *Cercospora* están presentes en Argentina, como también estudios sobre la antracnosis y su organismo causal, *Colletotrichum* spp.
- Incorporación de técnicas moleculares para confirmar los numerosos y diversos géneros fúngicos que afectan al cultivo de maíz y que fueron aislados a partir de semillas y rastrojo como complemento de indicadores morfométricos descriptos, además de estudiar molecularmente aislamientos de *K. zeae* y *E. turcicum* de distintos orígenes geográficos.
- Identificación taxonómica de numerosas especies de poáceas que integran el paisaje de las áreas agrícolas y que se encuentran en alta densidad desde el mes de febrero al mes de octubre, cuando en general no se encuentran cultivos de maíz con tejidos verdes, y podrían ser reservorios de patógenos.
- Realización de inoculaciones artificiales de las especies de poáceas nativas o introducidas y comprobar su susceptibilidad a los hongos estudiados, y proceder al reaislamiento a partir de tejidos sintomáticos y asintomáticos.
- Continuar con estudios tendientes a determinar la existencia del teleomorfo o estado sexual de *E. turcicum*, *Setosphaeria turcica*, cuyos peritecios inmaduros se

observaron con siembra de micelio en cultivos duales con trozos de tejidos de maíz estéril en medio de Sachs. Comprobar la existencia de *S. turcica* en sorgo de Alepo (*S. halepense*) y en plantas de cebada (*Hordeum vulgare*) como cita la bibliografía.

- Concreción de estudios tendientes a determinar la existencia de razas de *E. turcium* en Argentina, como complemento en los estudios de mejoramiento y obtención de híbridos resistentes.
- Dilucidar el rol de la semilla en el ciclo biológico de *K. zae* y *E. turcium* con el uso de técnicas moleculares.

El cultivo de maíz en Argentina presenta un marcado crecimiento del área sembrada y de la producción asociado a: la oferta de híbridos altamente productivos y adaptados a diversas regiones, uso de insumos de fácil exceso como los fertilizantes y promotores del crecimiento y a la eliminación de las retenciones a las exportaciones. Además, la siembra de maíz es necesaria para continuar con la incorporación de materia orgánica y reducir las áreas sin cobertura que aumentan los severos de problemas de erosión hídrica y eólica y promover una agricultura más sostenible en el largo plazo.

- La incorporación de tecnologías conservacionistas y las fechas de siembra tardías que permiten eludir condiciones extremas de estrés hídrico ocurridas para las fechas de siembra óptimas, aumentan y estabilizan los rendimientos promedio y reducen los costos de producción son fundamentales en la adopción por parte de los productores maiceros.

- El mejoramiento vegetal debería generar y ofrecer al mercado de semillas, híbridos para sembrarse en fechas tardías de diciembre y enero, ya que los híbridos desarrollados para siembras normales presentan modificaciones marcadas en el ciclo del cultivo por influencia de los factores climáticos.

En la última década, el aumento de enfermedades que afectan al maíz, de naturaleza fúngica, bacteriana y virósica, ha determinado que más de 17 instituciones públicas y privadas de Argentina aborden la problemática sanitaria y su manejo, más allá de los aspectos que involucran a los insectos que dañan hojas, tallos y espigas.

La importancia del maíz impulsó a abordar numerosos trabajos relacionados con los invertebrados plaga, malezas, mejoramiento vegetal, control biológico y fundamentalmente con las enfermedades, específicamente con la identificación precisa de los microorganismos patógenos y en especial con marcadores morfológicos y moleculares.

El complejo de las manchas foliares en maíces de siembra tardía como también el

estudio de las podredumbres de tallo y espiga requiere para Argentina, estudios básicos sobre síntomas, signos, técnicas modernas de identificación taxonómica, estrategias particulares de sobrevivencia y de diseminación, lo que contribuirá al entendimiento del ciclo de vida de los patógenos.

La emergencia y re-emergencia de numerosas enfermedades de los cultivos está relacionada con mecanismos intrínsecos de adaptación de los patógenos y al cambio climático con un aumento en la frecuencia e intensidad de las precipitaciones y la ocurrencia de inviernos benignos por un calentamiento global del planeta.

Los marcadores morfológicos serían insuficientes para el reconocimiento e identificación precisa de una numerosa cantidad de hongos con micelios y conidios oscuros, melanizados de la familia Dematiaceae que se aíslan de semillas y restos culturales.

El conocimiento de numerosas técnicas de aislamiento, incremento y conservación de hongos de bajo costo están disponibles para nuevas investigaciones.

Las especies de Poaceae de la flora natural y especialmente de sorgo de Alepo, son reservorio de patógenos.

BIBLIOGRAFÍA

- Abadi R., Levy Y., Bar-Tsur A. 1989.** Physiological races of *Exserohilum turcicum* in Israel. *Phytoparasitica* 17(1):23-30.
- Abadi R., Levy R.S., Levy Y. 1993.** Mating types of *Exserohilum turcicum* in Israel. *Phytoparasitica* 21(4):315-320.
- Abebe D., Singburadom N. 2006.** Morfological, cultural and pathogenicity variation of *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard and Suggs isolates in maize (*Zea mays* L.). *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 40:341-352.
- Aden M.H. 1991.** Studies of sorghum leaf blight incited by *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leo. & Suggs. Thesis Master of Science. Andhra Pradesh Agricultural University, India. 124 pp.
- Adipala E., Takan J.P., Ogenga-Latigo M. W. 1995.** Effect of planting density of maize on the progress and spread of northern leaf blight from *Exserohilum turcicum* infested residue source. *European Journal of Plant Pathology* 101 (1). (Abstract).
- Agrios G.N. 2005.** *Plant Pathology*. 5th ed. Academic Press. 922 pp.
- Alam M.M. 2013.** Pathogen risk analysis of maize in Bangladesh. A Thesis Master of Science. Faculty of Agriculture, Sher-e-Bangla Agricultural University, Dhaka. 124 pp.
- Alarcón A.D.I. 2006.** Evaluación de técnicas de conservación para hongos filamentosos y levaduriformes en el Cepario de la Pontificia Universidad Javeriana. Trabajo de Grado. Pont. Univ. Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá, Colombia. 152 pp.
- Almeida A.M.R., Ferreira Saraiva O., Bouças Farias J.R., Almeida Gaudêncio C., Torres E. 2001.** Survival of pathogens on soybean debris under no-tillage and conventional tillage systems. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 36(10):1231-1238.
- Alvarez-Cervantes J., Hernandez-Dominguez E.M., Tellez-Tellez M., Mandujano-Gonzalez V., Mercado-Flores Y., Diaz-Godinez G. 2016.** *Stenocarpella maydis* and *Sporisorium reilianum*: two pathogenic fungi of maize. *Fungal Pathogenicity*. Chapter 3:45-60. <http://www.intechopen.com/books/fungal-pathogenicity>
- Andrés Ares J.L., Alonso Ferro R.C., Campo Ramírez L., Moreno González J. 2004.** Short communication. *Fusarium graminearum* Schwabe, a maize root and stall rot pathogen isolates from lodged plants in northwest Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2(2):249-252.
- Arber F., Gallego D., Finollietti G., Chiccare N., Mónaco C., Abramoff C. 2015.** Hongos

fitopatógenos como potenciales biocontroladores de malezas resistentes o tolerantes a glifosato. Investigación Joven [S.I.], v. 2, n. 1, junio 2015. ISSN 2314-3991.

Argaraña M.F., Werlen M.S., Maumary R., Lurá M.C., Latorre Rapela M.G. 2014. Caracterización fenotípica y genotípica de *Exserohilum turcicum* aislado de maíz cultivado en la provincia de Santa Fe. Libro de Resúmenes del 3er Congreso Argentino de Fitopatología. O-3, p. 501. 4 al 6 de junio de 2014. San Miguel de Tucumán.

Argenbio, 2007. Cultivos resistentes a insectos o Bt.

<http://www.argenbio.org/index.php?action=novedades¬e=261>

Arny D.C., Smalley E.B., Ullstrup A.J., Worf G.L., Ahrens R.W. 1971. Eyespot of maize, a disease new to North America. *Phytopathology* 61:54-57.

Asinari F., Pérez Gómez S., Rago A.M., Cafrune E.E. 2015. Estudios epidemiológicos de *Sugarcane yellow leaf virus* en el Noroeste Argentino. F-12. Libro de Resúmenes de las XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. p. 28. 9 – 11 octubre. Santa Fe.

Bach E.E., Kimati H. 2005. Serological and electrophoresis analysis of *Exserohilum turcicum* isolated from maize, sorghum and Johnson grass. *Summa Phytopathologica*, 21(2):140-146.

Balint-Kurti P.J., Johal G.S. 2009. Maize Disease Resistance. In: Bennetzen J.L. and S.C. Hake (Eds.). *Handbook of Maize: Its Biology*. Springer Link. p. 229-250.

Barnett H.L., Hunter B.B. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. APS Press, 218 pp.

Basak A.B., Lee M.W. 2002. Prevalence and transmission of seed-borne fungi of maize grown in a farm of Korea. *Mycobiology* 30:47-50.

Bashan B., Abadi R., Levy Y. 1996. Involvement of a phytotoxic peptide in the development of the northern leaf blight of corn. *European Journal of Plant Pathology* 102:891-893.

BCER 2017. Proyecto SIBER. Informe producción total de maíz - Campaña 2016/17. http://www.bolsacer.org.ar/Funciones/impresion/impresion_pdf.php?dato=932

Bensch K., Braun U., Groenewald J.Z., Crous P.W. 2012. The genus *Cladosporium*. *Studies in Mycology* 72:1-401.

Bergamin Filho A., Amorin L. 1996. *Doenças de Plantas Tropicais: Epidemiologia e Controle Econômico*. Ed. Agronômica Ceres Ltda. SP, Brasil. 289 pp.

Bergquist R. 1986. Foliar diseases. In: *Compendium of Sorghum Diseases*. Frederiksen R.A. (Ed.). APS Press. p. 8-10.

Bergstrom G.C. 2014. Corn leaf blight epidemics: the new normal?

http://nydairyadmin.cce.cornell.edu/pdf/event/pdf111_pdf2.pdf.

Berruazo L., Mercado Cárdenas G., Harries E., Avila N., Chocobar A., Galván M., Stenglein S. 2015. Prevalencia e incidencia del marchitamiento vascular en el cultivo de tabaco en el Noroeste argentino. F-15. Libro de Resúmenes de las XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. p. 31. 9 – 11 octubre. Santa Fe.

Bert F., Satorre E. 2012. Sistemas de producción de maíz: maíz temprano y tardío. Revista Técnica en Siembra Directa. Maíz – Manejo. p. 19-23.

Bigirwa G., Julian A.M., Adipala E. 1993. Characterization of Ugandan isolates of *Exserohilum turcicum* from maize. African Crop Science Journal 1(1):69-72.

Bills G.F., González-Menéndez V., Platas G. 2012. *Kabatiella bupleuri* sp. nov. (Dothideales), a pleomorphic epiphyte and endophyte of the Mediterranean plant *Bupleurum gibraltarium* (Apiaceae). Mycologia 104(4):962-973.

Bleicher J. 1988. Níveis de resistência a *Helminthosporium turcicum* Pass. em três ciclos de seleção em milho pipoca (*Zea mays* L.). Piracicaba, 1988. 130 pp. Tese (Doutorado) – ESALQ – SP, Brasil.

Bodega J.L. 2010. Diplodiosis, enfermedad causada por micotoxinas en maíz. Hongos en los rastrojos de maíz, problemas en las vacas. Producir XXI 18(225):24-34.

Bogo A., Maffioletti M.A., Sanhueza R.M.V., Casa T.R. 2008. Caracterização morfológica de isolados de *Cryptosporiopsis perennans* em diferentes meios de cultura. Trop. Plant Pathology 33(3). <http://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762008000300012>

Bongianino N.F. 2017. Evaluación y adaptación de cultivares de maíz a siembras tardías. 39 pp. <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/4851?show=full>.

Booth C. 1977. Fusarium. Laboratory Guide to the Identification of the Major Species. CMI, Kew, England. 58 pp.

Botta G.L. 2001. Enfermedades de maíz. Resultados de Ensayos de la campaña 2000-2001. Información para Extensión N°68:44-46. INTA-EEA Marcos Juárez, Córdoba.

Botta G., Iglesias J., Presello D.A., Amendola C. 2005. Incidencia de hongos productores de micotoxinas en la zona maicera núcleo de Argentina durante el período 2001-2004. Libro de Resúmenes HC-12. p. 254. XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. 19 al 22 de abril de 2005.

Botta G., González M. 2010. Enfermedades fúngicas, bacterianas y abióticas del maíz. En: Eyherabide G.H. (Compiador y editor). Bases para el Manejo del Cultivo de maíz. p. 125-150. Ediciones INTA.

- Boutigny A.-L., Beukes I., Smalla I., Zühlkeb S., Spittererb M., Van Rensburg B.J., Flett B., Viljoen A. 2012.** Quantitative detection of *Fusarium* pathogens and their mycotoxins in South African maize. *Plant Pathology* 61:522–531.
- Boylu F., Ateşok G., Dinçer H. 2005.** The effect of carboxymethyl cellulose (CMC) on the stability of coal-water slurries. *Fuel* 84(2):315-319.
- Brammall R.A. 2015.** 12.4 Eyespot. In: *Maize (sweet corn)*.
<https://phytopath.ca/wp-content/uploads/2015/03/DPVCC-Chapter-12-maize.pdf>
- Broder M.W., Wagner G.W. 1988.** Microbial colonization and decomposition of corn, wheat and soybean residue. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52:112-117.
https://www.researchgate.net/publication/250127060_Microbial_Colonization_and_Decomposition_of_Corn_Wheat_and_Soybean_Residue
- Broders K.D., Lipps P.E., Paul P.A., Dorrance A.E. 2007.** Evaluation of *Fusarium graminearum* associated with corn and soybean seed and seedling disease in Ohio. *Plant Dis.* 91:1155-1160.
- Broggi E.L., González H.H.L., Resnik S.L., Pacin A. 2002.** Mycoflora distribution in dry-milled fractions of corn in Argentina. *Cereal Chem.* 79:741-744.
- Broggi E.L., González H.H.L., Resnik S.L., Pacin A. 2007.** *Alternaria alternata* prevalence in cereal grains and soybean seeds from Entre Ríos, Argentina. *Rev. Iberoam. Micol.* 24:47-51.
- Bruni O. 1975.** Tizón del maíz. En: *Fitopatología. Curso Moderno. Tomo II. Micosis*. Sarasola A.A. y M.A. Rocca de Sarasola. Ed. Hemisferio Sur. p. 113-115.
- Bunker R.N., Mathur K. 2006.** Host range of leaf blight pathogen (*Exserohilum turcicum*) of sorghum. *Indian Phytopathology* 59(3):370-372.
- Bunkoed W., Kasam S., Chaijuckman P., Pratuangwong S. 2014.** Sexual reproduction of *Setosphaeria turcica* in natural corn fields in Thailand. *Kasetsart Journal - Natural Science* 48(2):175-182.
- CABI 2006.** *Kabatiella zeae* (eyespot). *Crop Protection Compendium*. Wallingford, UK. CAB International [CD-Rom].
- CABI 2008.** Distribution maps of plant diseases. *Setosphaeria 218evisio* (Luttr.) K.J. Leonard & Suggs. Map N°257. Ed. 6. April 2008.
<http://www.cabi.org/ISC/FullTextPDF/2008/20083091286.pdf>
- CABI 2012.** *Kabatiella zeae* (eyespot). *Invasive species compendium*.
<http://www.cabi.org/isc/datasheet/29297>.

- CAI 2005.** Eyespot disease in corn. Corn Agronomic Information. www.dynagroseed.com/dynagro/docs/eyespotdiseaseincorn.pdf.
- Calviño P., Monzón J. 2014.** Días posibles de siembra tardía de maíz en diferentes regiones agrícolas de Argentina. Maíz HD. X Congreso de Maíz. 3 al 5 septiembre. Rosario. <http://www.congresodemaiz.com.ar/areas/manejo/>
- Camargo A., Smith J.S. 2009.** AE—Automation and emerging technologies an image-processing based algorithm to automatically identify plant disease visual symptoms. Biosystems Engineering 102:9–21.
- Camiletti B.X., Torrico Ramallo A.K., Magnoli C., Barontini J., Comerio R., Lucini E., Giménez Pecci M.P. 2015.** Presencia de hongos causales de pudrición de la espiga de maíz en la región agrícola central de Argentina. F-22. Libro de Resúmenes de las XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. p. 38. 9 – 11 octubre. Santa Fe.
- Camochena R.C., dos Santos I., Mazaro S.M. 2008.** Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha ocular em milho causada por *Kabatiella zea*. Ciência Rural, Santa Maria 38(8):2124-2131.
- Camochena R.C. 2009.** Reação de genótipo de milho a mancha ocular e caracterização do agente causal. Dissertação. Pato Branco, UTFPR. 65 pp.
- Camochena R.C., dos Santos I., Malagi G. 2010.** Variabilidade de colônias de *Kabatiella zea* em meios de cultura e morfología de isolados do fungo. Trop. Plant Pathology 35(3):190-196.
- Campbell C.L., Madden L.V. 1990.** Monitoring epidemics: disease. In: Introduction to Plant Disease Epidemiology. pp. 107-128. John Wiley & Sons.
- Capriles C.H. de, Mata S., Middelveen M. 1989.** Preservation of fungi in water (Castellani): 20 years. Mycopathologia 106:73.
- Cardona R., González M.S. 2008.** Caracterización y patogenicidad de hongos del complejo *Helminthosporium* asociados al cultivo del arroz en Venezuela. Bioagro 20(2):141-145.
- Carmona M., Scandiani M., Formento A.N., Luque A. 2013.** Tizón común del maíz en lotes de la región pampeana. Maíz en SD. Revista Técnica de AAPRESID. p. 89-93.
- Carson M.L.; Van Dyke C.G. 1994.** Effect of light and temperature on expression of partial resistance of maize to *Exserohilum turcicum*. Plant Dis. 78:519-522.
- Carson M.L. 2004.** Enfermedades foliares. En: Plagas y Enfermedades del Maíz. White D.G. y Department of Crop Sciences. Ed. Mundi-Prensa. p. 14-21.

- Casa R.T., Reis E.M., Blum M.M.C. 2004.** Quantificação de danos causados por doenças em milho. 15 pp. www.ufv.br/dfp/workshop/Resumos/MilhoDanosEpidemiologia.pdf
- Casa R.T., Reis E.M., Zambolim L. 2006.** Doenças do milho causadas por fungos do gênero *Stenocarpella*. *Fitopatologia Brasileira* 31:427-439.
- Casa R.T., Reis E.M., Kuhnem P.R., Hoffmann L.L. 2016.** Doenças do milho: guia de campo para identificação e controle. 3 ed. Rev. ampl. Lages: Graphel, 86 pp.
- Casa R.T. 2017.** Intensidad de enfermedades del maíz en diferentes sistemas de producción. Conferencias. Libro de Resúmenes. 4° Congreso Argentino de Fitopatología. p. 73. 19-21 abril de 2017. Mendoza, Argentina.
- Castellanos G., Jara C., Mosquera G. 2011.** Guías prácticas de laboratorio para el manejo de patógenos de frijol. Publicación CIAT N° 375. CIAT, Cali, Colombia. 232 pp.
- CGIAR 2011.** Country phytosanitary requirements seed free from. Consultative Group for International Agricultural Research.
<http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/images/file/maize/quarantine%20requirements%20maize%20to%20march%202011.pdf>
- CIMMYT, 2004.** Enfermedades del Maíz: una guía para su identificación a campo. 4ta Ed. 112 pp. www.cimmyt.org/spanish/docs/field_guides/maize/pdf/enfMaiz_foliares.pdf
- Cirilo A. 2004.** Fecha de siembra y rendimiento de maíz. *IDIA XXI*, N°6:122-127.
- Cirilo A., Andrade F., Otegui M., Maddoni G., Vega C., Valentinuz O. 2010.** 2. Ecofisiología del cultivo de maíz. En: Eyherabide G.H. (Compilador y editor). Bases para el Manejo del Cultivo de maíz. p. 27-56. Ediciones INTA.
- Clemente G., Erreguerena I., Odriozola E., Wicklow D. 2012.** Crecimiento saprofítico de *Stenocarpella maydis* como causa de la contaminación de maíz con micotoxinas y la mortandad de bovinos para carne. XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. 3, 4 y 5 de octubre de 2012. Potrero de los Funes, San Luis. p. 187.
- Colignon C.N. 2010.** Identificación y caracterización de hongos patógenos del maíz en muestras del ciclo 2009/10 en Entre Ríos. Informe de Comisión de Estudios Orientada. FCA, UNER – INTA, EEA Paraná. 20 pp.
- Cooke W.B. 1962.** A taxonomic study in the “black yeasts”. *Mycopathologia et Mycologia Applicata* 17(1):1-43.
- Conde-Ferrández L. 2007.** El locus MAT (mating-type) de los ascomicetos: su evolución, estructura y regulación. *Rev. Iberoam. Micol.* 24:95-99.
- Copetti M.V., Santurio J.M., Cavalheiro A.S., Alves S.H., Ferreiro L. 2009.** Comparisson

of different culture media for mycological evaluation of commercial pet food. *Acta Scientiae Veterinariae* 37(4):329-335.

Corcuera V.R., Sandoval M.C. 1998. Early waxy and high quality protein maize inbreds: Study of fungi diseases. *Maize Genetics Cooperation Newsletter* 72:48-49.

Cordes G.G., Pérez A.A. 2015. Enfermedades presentes en el cultivo de sorgo (*Sorghum bicolor*) en cultivares comerciales y precomerciales difundidos en Argentina. F-31. Libro de Resúmenes. XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. p. 47. 9 – 11 octubre. Santa Fe.

Costa Guimarães L., Fernandes A.P., Chalfoun S.M., Batista L.R. 2014. Methods to preserve potentially toxicogenic fungi. *Brazilian Journal of Microbiology* 45(1):43-47.

Costa O.B., Nahas E. 2012. Growth and enzymatic responses of phytopathogenic fungi to glucose in culture media and soil. *Brazilian Journal of Microbiology*:332-340.

Cota L.V., Costa R.V., Silva D.D., Parreira D.F., Ferreira P., Nolasco A.A. 2010. Especialização fisiológica de *Exserohilum turcicum* para o milho e sorgo. XXVIII Congresso nacional de Milho e Sorgo. Goiânia. Assoc. Bras. De Milho e Sorgo. CD-Rom.

Cota L.V., da Costa R.V., da Silva D.D., Santos Rodrigues J.A., Dessaune Tardin F., da Costa R.A. 2012. Avaliação da resistência de híbridos e linhagens de sorgo a *Exserohilum turcicum*. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* 56. Embrapa, 26 pp.

Cotten T.K., Munkvold G.P. 1998. Survival of *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum*, and *F. subglutinans* in maize stalk residue. *Phytopathology* 88: 550-555.

Couretot L. 2009. Panorama sanitario del cultivo de maíz en la zona Norte de la Provincia de Buenos Aires. Campañas 2007/08 – 2008/09.

<http://www.inta.gov.ar/PERGAMINO/info/documentos/ext09/PANORAMASANITARIOMAIZ2009.pdf>

Couretot L. 2011. Principales enfermedades del cultivo de maíz en la zona Norte de la Prov. de Bs. As. Campaña 2009-2010.

<https://www.engormix.com/agricultura/articulos/enfermedades-maiz-t28550.htm>

Couretot L., Parisi L., Ferraris G., Magnone G. 2012. Efecto de fungicidas foliares y momento de aplicación sobre la intensidad del tizón foliar y enfermedades de raíz y tallo. XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Protección Vegetal, p. 367. Potrero de los Funes. San Luis, 3 – 5 octubre.

<http://inta.gob.ar/noticias/1o-taller-para-investigadores-de-enfermedades-de-maiz>.

Couretot L. 2013. 1º Taller para Investigadores de Enfermedades de Maíz. Córdoba, 23 abril de 2013.

- Couretot L., Parisi L., Hirsch M., Suarez M.L., Magnone G., Ferraris G. 2013.** Principales enfermedades del cultivo de maíz en las últimas campañas y su manejo. <http://www.aianba.org.ar/uploads/txtnovedade/archivos/Couretot-L-VIII-Jornada-de%20maiz-Pergamino.pdf>
- Couretot L., Parisi L., Magnone G., De Rossi R., Guerra F., Plaza M.C., Vuletic E., Brücher E., Guerra G. 2016.** Enfermedades del maíz en las últimas cinco campañas. En: Maíz. Actualización 2016. Informe de Actualización en línea N°5. https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_mj_maiz_actualizacion2016.pdf
- Chahal P.S., Jha P., Jackson-Ziems T., Wright R., Jhala A.J. 2016.** Glyphosate-resistant volunteer maize (*Zea mays* L.): impact and management. In: Weed and Pest Control. Travlos I.S., Bilalis D. and D. Chachalis (Eds). Chapter 5. p. 125-148.
- Chandrashekara C., Jha S.K., Arunkumar R., Agrawal P.K. 2014.** Identification of new sources of resistance to turcicum leaf blight and maydis leaf blight in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Breeding and Genetics* 46(1):44-55.
- Chang H.S., Fan K.C. 1986.** Comparative studies on some biology and pathology of corn and broom corn isolates of *Exserohilum turcicum* (Pass) Leonard & Suggs. *Bot. Bull. Academia Sinica* 27:209-218.
- Chauhan R.S., Singh B.M., Develash R.K. 1997.** Effect of toxic compounds of *Exserohilum turcicum* on chlorophyll content, callus growth and cell viability of susceptible and resistant inbred lines of maize. *J. Phytopathology* 145(10):435-440.
- Chiang M.Y., Van Dyke C.G., Leonard K.J. 1989.** Evaluation of endemic foliar fungi for potential biological control of johnsongrass (*Sorghum halepense*): screening and host range tests. *Plant Dis.* 73 (6):459-464.
- Chiang M.S., Hudon M., Devaux A. 1990.** Inheritance of resistance to Kabatielle eyespot of maize. *Phytoprotection* 71:107-112.
- Chinchilla-López C.M. 1985.** Pathogen survival and host resistance in the eyespot disease of maize caused by *Kabatiella zae* Narita and Hiratsuka. Retrospective Theses and Dissertations. Iowa State University. <http://lib.dr.iastate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=8826&context=rtd>
- Chinchilla-López C.M. 1986.** Effect of four tillage treatments on eyespot (*Kabatiella zae* Narita and Hiratsuka) development and grain yield in maize. *Turrialba* 36(4):427-430.
- Chinchilla López C.M. 1987.** Eyespot (*Kabatiella zae* Narita and Hiratsuka) disease progression curves in ten maize hybrids. *Turrialba* 37(1):37-43.

- Chiotta M.L., Chulze S., Barros G. 2015.** Fuentes de inóculo de especies de *Fusarium* potenciales productoras de micotoxinas en el agroecosistema soja. Rev. FCA UNCUYO 47(2):171-184.
- Choi Y.W., Hyde K.D., W.H. Ho 1999.** Single spore isolation of fungi. Fungal Diversity 3:29-38.
- Chung Ch. 2007a.** Preparation of spore suspension for northern corn leaf blight (*Exserohilum turcicum*). www.plantpath.cornell.edu (document).
- Chung Ch. 2007b.** Solid inoculum for northern corn leaf blight (*Exserohilum turcicum*). www.plantpath.cornell.edu (document).
- Chungu C., Mather D.E., Reid L.M., Hamilton R.I. 1996.** Comparison of techniques for inoculation maize silk, kernel, and cob tissues with *Fusarium graminearum*. Plant Disease 80:81-84.
- Da Cunha K. C. 2014.** Phenotypic and molecular characterization of clinical isolates of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Exserohilum* and *Pithomyces*. Doctoral Thesis. Universitat Rovira I Virgili. Réus, Spain. 240 pp.
- Danielsen S., Funck Jensen D. 1998.** Relationships between seed germination, fumonisin content and *Fusarium verticillioides* infection in selected maize samples from different regions of Costa Rica. Plant Pathology 47:609–614.
- Dawood E.S., Elshamry M.K. 2015.** Mycoflora of maize (*Zea mays*) at different locations in hail area Saudi Arabia. International Journal of Scientific & Technology Research Vol. 4:227-230.
- Debnath M., Sultana A., Rashid Q.M.B. 2012.** Effect of seed-borne fungi on the germinating seeds and their bio-control in maize. J. Environ. Sci. & Natural Resources 5:117 – 120.
- De Rossi R., Plazas M.C., Brücher E., Ducasse D., Guerra G.D. 2010a.** El tizón del maíz (*Exserohilum turcicum*): presencia e impacto en el centro-norte de Córdoba durante tres campañas agrícolas. IX Congreso Nacional de Maíz. 17-19 noviembre, Rosario. Argentina.
- De Rossi R., Guerra G.D., Plazas M.C., Brücher E., Gregoret C., Bruno C. 2010b.** Ocurrencia del tizón del maíz (*Exserohilum turcicum*) en dos ensayos de 36 híbridos en dos localidades del centro norte de Córdoba. IX Congreso Nacional de Maíz. 17-19 noviembre, Rosario. Argentina.
- De Rossi R.L. 2012.** *Exserohilum turcicum* em milho: caracterização morfológica e patológica, associação a sementes e sensibilidade a fungicidas. Dissertação de Mestrado

em Agronomía, UPF, 164 pp.

De Rossi R.L., Reis E.M., Brustolin R. 2012. Detecção e quantificação da infecção natural de *Exserohilum turcicum* em sementes de milho e milho pipoca. 29° Congresso Nacional de Milho e Sorgo. 26-30 agosto de 2012. Águas de Lindóia-SP, Brasil.

De Rossi R.L., Reis E.M. 2014. Meio de cultura semiseletivo para o isolamento de *Exserohilum turcicum* de sementes de milho. Summa Phytopathologica 40:163-167.

De Rossi R.L., Vuletic E., Guerra F.A., Plazas M.C., Brücher E., Guerra G.D. 2015a. Diferencias en la esporulación de *Exserohilum turcicum* en diversas lesiones foliares de maíz. F-38. Libro de Resúmenes. XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. p. 54. 9 – 11 octubre. Santa Fe.

De Rossi R., Reis E.M., Brustolin R. 2015b. Morfología de conídios e patogenicidade de isolados de *Exserohilum turcicum* da Argentina e do Brasil em milho. Summa Phytopathologica 41(1):58-63.

Del Serrone P., Fornasari L. 1995. Host range and evaluation of an isolate of *Exserohilum turcicum* on some populations of johnsongrass (*Sorghum halepense*). Proceedings of the Eighth International Symposium on Biological Control of Weeds. 2-7 February 1992. New Zealand. Delfosse E.S. and R.R. Scott (Eds.). DSIR/CSIRO, Melbourne, p. 487-492.

Díaz C.G., Heredia A.M., Franco F.M., Aguayso C. 2007. Enfermedades fúngicas de maíz: prospección y epidemiología. Campañas 2003/04, 2004/05, 2005/06 y 2006/07. http://www.maizar.org.ar/documentos/316_enfernoa.pdf

Díaz C.G. 2010. Escenario actual de las enfermedades foliares del maíz e impacto potencial de los cambios climáticos globales. IX Congreso Nacional de Maíz. Trabajos presentados y Resúmenes de Conferencias. p. 159-162. 17 al 19 noviembre. Rosario (Santa Fe).

Díaz C., De Rossi R., Couretot L., Sillon M., Formento N., González V. 2012. Prevalencia y distribución de enfermedades del maíz en Argentina. 29° Congresso Nacional de Milho e Sorgo. 26-30 agosto de 2012. Águas de Lindóia-SP, Brasil.

Díaz Zorita M. 2004. Impacto de la fertilidad del suelo sobre las enfermedades en el cultivo de soja. https://www.agro.uba.ar/noticias/files/u1/mercosoja/diaz_zorita.pdf

Dickson J.G. 1956. Diseases of Field Crops. Second ed. McGraw-Hill. 517 pp.

Dingley J.M. 1973. "Eye spot" disease of maize in New Zealand. N. Z. Journal of Agricultural Research 16:325-328.

Diogo H.C., Sarpieri A., Pires M.C. 2005. Preservação de fungus em água destilada. Investigaç o Cl nica, Epidemiol gica, Laboratorial e Terap utica. Na. Bras. Dermatol.

80:591-594.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., González L., Tablada M., Robledo C.W. 2016. InfoStat, versión 2016e, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Donatelli M., Magarey R.D., Bregaglio S., Willocquet L., Wish J.P.M., Savary S. 2017. Modelling the impacts of pests and diseases on agricultural systems. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2017.01.019>

Dong J., Fan Y., Gui X., An X., Ma J., Dong Z. 2008. Geographic distribution and genetic analysis of physiological races of *Setosphaeria turcica* in Northern China. American Journal of Agric. and Biological Sciences 3(1):389-398.

Donovan P.D., González G., Higgins D.G., Butler G., Ito K. 2018. Identification of fungi in shotgun metagenomics datasets. PLoS One, 2018 feb. 14; 13(2):e0192898.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29444186>

dos Santos I., Da Silva A., Malagi G. 2007. Ocorrência de mancha ocular em milho causada por *Kabatiella zae* no Paraná e em Santa Catarina. Fitopatologia Brasileira 32(4). 2 pp.

Dugan F.M., Glawe D.A., Attanayake R.N., Chen W. 2009. The importance of reporting new host-fungus records for ornamental and regional crops. APSnet Feature. <http://www.apsnet.org/online/feature/biogeography/>

Durga K.K., Reddy B.V.S., Reddy M.S.S., Ganesh M. 2001. Epidemiological aspects of leaf blight (*Exserohilum turcicum*) of sorghum, *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Int. Journal Tropical Diseases 19:97-109.

Durga K.K., Reddy B.V.S., Reddy M.S.S., Ganesh M. 2008. Influence of cytoplasm on the occurrence of leaf blight (*Exserohilum turcicum* (Pass.)) in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). Indian J. Agric. Res. 42(2):97-101.

Echemendia, M. 2005. Registro de enfermedades fungosas en *Sorghum halepense* (L.) Pers. Revista de Protección Vegetal 20 (1):32-38 (Abstract).

Elad Y., Pertot I. 2014. Climate change impacts on plant pathogens and plant diseases. Journal of Crop Improvement 28:99-139.

Elias S.G., Copeland L.O., McDonald M.B., Baalbaki R.Z. 2012. Seed Testing: principles and practices. East Lansing, Michigan. Michigan State University Press. Project MUSE. (Abstract).

Ellis M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. CMI, Kew, Surrey, England. 608 pp.

- EPPO 2011.** Foliar diseases on maize. Efficacy evaluation of fungicides. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Vol. 41, Issue 3:266-268. DOI 10.1111/j-1365-2338.2011.02476-x.
- Esteves A. 1984.** Incidência de doenças, sob-condições de campo, em cultivares de milho (*Zea mays*), em Dourados. Fitop. Brasileira 9:155-160.
- Etebu E., Nwauzoma A.B. 2017.** A mini-review on the development and emerging perspectives of seed pathology. <http://www.netjournals.org/pdf/MRI/2017/1/16-020.pdf>
- FAO 1985.** Manual para patólogos vegetales. CMI (Great Britain). Oficina Regional de la FAO Para América Latina y el Caribe (Ed.), 438 pp.
- FAO 2008.** Climate related transboundary pests and diseases. Technical Background Document from the Expert Consultation. 21 pp.
- FENALCE 2010.** El cultivo del maíz. Historia e importancia. El Cerealista. 10 pp. http://www.observatorioredsicta.info/sites/default/files/docpublicaciones/el_cultivo_del_maiz_historia_e_importancia.pdf
- Ferguson L.M., Carson M.L. 2004.** Spatial diversity of *Setosphaeria turcica* sampled from Eastern United States. Phytopathology 94:892-900.
- Fernández Valiela M.V. 1978.** Introducción a la Fitopatología. 3ª Ed. Vol. III: Hongos. Colecc. Científica INTA. Bs. As. p. 707-709.
- Fernández Valiela M.V. 1979.** Introducción a la Fitopatología. 3ª Ed. Vol. IV: Hongos y Micoplasmas. Colecc. Científica INTA Tomo VII. Bs. As. 613 pp.
- Ferrari G., Couretot L. 2014.** Elección de ambientes, rendimiento y fertilización de maíz según fecha de siembra. <http://inta.gov.ar/documentos/eleccion-de-ambientes-rendimiento-y-fertilizacion-de-maiz-segun-fecha-de-siembra>.
- Figueira E.L., Blanco-Labra A., Gerage A.C., Ono E.Y.S., Mendiola Olaya E., Ueno Y., Hirooka E.Y. 2003.** New amylase inhibitor present in corn seeds active in vitro against amylase from *Fusarium verticilloides*. Plant Dis. 87:233-240.
- Figueiró de Almeida M., Reis E.M. 2009.** Comparação da sensibilidade de métodos para a detecção de fungos patogênicos em sementes de aveia branca e preta no Rio Grande do Sul. Tropical Plant Pathology 34:265-269.
- Fiorani F., Fernández J., García J.A., Odriozola E.R., Erreguerena I. 2013.** Detección de picnidios y picnidiosporas de *Stenocarpella maydis* en contenido ruminal como método complementario de diagnóstico. XVI Congreso Latinoamericano de Buiatría. Asociación Ecuatoriana de Buiatría.
- Fisher M.C., Henk D.A., Briggs C.J., Brownstein J.S., Madoff L.C., McCraw S.L., Gurr**

S.J. 2012. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. Review. Nature 484:186–194. (Abstract).

Fontanetto H., Keller O. 2006. Manejo de la fertilización en maíz. Experiencias en la región pampeana argentina. INTA–Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Información Técnica Cultivos de Verano. Campaña 2006. Publicación Miscelánea N° 106:85-113.

Ford R.E., Bissonnette H.L., Horsfall J.G., Millar R.L., Schlegel D., Tweedy B.G., Wheathers L.G. 1981. Plant Pathology in China, 1980.

http://www.apsnet.org/publications/plantdisease/backissues/Documents/1981Articles/PlantDisease65n09_706.pdf

Formento A.N. 2001. El tizón foliar del maíz en siembras de segunda.

http://www.inta.gov.ar/parana/info/documentos/produccion_vegetal/maiz/enfermedades/20314_011001_tizo.htm

Formento Á.N., Vicentin I. 2005a. Mancha ocular en maíz (*Aureobasidium zeae* Syn. *Kabatiella zeae*). Revista AAPRESID. p. 48-50.

Formento Á.N., Wouterlood N., Vicentin I. 2005b. Síndrome del Tallo Verde (STV) y Retención Foliar (RF) en Soja. Manual de Reconocimiento. EEA Paraná, Serie Extensión N°37. Ed. INTA. 25 pp.

Formento Á.N. 2010. Enfermedades foliares reemergentes del cultivo de maíz: royas (*Puccinia sorghi* y *Puccinia polysora*), tizón foliar (*Exserohilum turcicum*) y mancha ocular (*Kabatiella zeae*). INTA-EEA Paraná. Actualización Técnica N° 2: Maíz, Girasol y Sorgo. p. 89-100.

Formento A.N., Velazquez P.D., Carmona M.A., Scandiani M.M. 2012a. Manifestación de enfermedades foliares del maíz (*Zea mays*) según diferentes ambientes durante el ciclo agrícola 2011/12. F-131. XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. 3 – 5 octubre, Potrero de los Funes, San Luis.

Formento A.N., Velazquez P.D., Papparotti O. 2012b. Caracterización de híbridos de maíz a enfermedades foliares bajo condiciones climáticas poco conductivas en Paraná (Entre Ríos). Ciclo agrícola 2011/12. En: Jornada de Actualización de Sorgo, Maíz y Girasol 2012. FCA – UNER, Oro Verde, Entre Ríos. p. 121-125.

Formento A.N., Velazquez P.D. 2013. Comportamiento de híbridos de maíz, a tizón foliar común (*Exserohilum turcicum*) en siembra de segunda en el norte entrerriano. Ciclo agrícola 2012/2013. Jornada Regional de Cultivos de Verano. INTA-EEA Paraná. Serie

Extensión n°69. ISSN 0325-8874. p. 63-66.

Formento A.N., Pioli R.N., Ploper L.D. 2014a. Caracterización de la mancha ocular del maíz y de su organismo causal *Kabatiella zaeae*. Libro de Resúmenes del 3er Congreso Argentino de Fitopatología. O-10. p. 508. Tucumán, 4 al 6 de junio de 2014.

Formento Á.N.; Novelli L.E.; Pioli R.N.; Ploper L.D. 2014b. Comportamiento de híbridos de maíz a la mancha ocular (*Kabatiella zaeae*) y al tizón foliar común (*Exserohilum turcicum*). X Congreso Nacional de Maíz. Maíz HD. p. 88-89. 3 al 5 de septiembre. Rosario, Argentina.

Formento Á.N., Pioli R.N., Ploper L.D. 2014c. Importancia de las plantas voluntarias de maíz como reservorio de *Exserohilum turcicum* (tizón foliar común) y *Kabatiella zaeae* (mancha ocular). X Congreso Nacional de Maíz. Maíz HD. p. 88. 3 al 5 de septiembre. Rosario, Argentina.

Formento Á.N. 2015a. Enfermedades foliares en maíces tardíos en Entre Ríos. <http://inta.gob.ar/documentos/enfermedades-foliares-en-maices-tardios-en-entre-rios/>

Formento Á.N. 2015b. Maíces tardíos: ataques severos de roya polisora (*Puccinia polysora*) en Entre Ríos. <http://inta.gob.ar/documentos/maicestardios-ataques-severos-de-roya-polisora-puccinia-polysora-en-entre-rios/>

Formento Á.N., Luque A.G., Sortino M., Tartabini M., Ramadán S., Biasoli M., Scandiani M.M. 2015c Prevalencia y especies de *Fusarium* causales del síndrome de la muerte súbita de la soja en Entre Ríos. F-50. Libro de Resúmenes de las XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. p. 66. 9 – 11 octubre. Santa Fe.

Formento A.N., Couretot L., Parisi L., Scandiani M.M. 2017. Detección de *Stenocarpella maydis* en rastrojo, base del tallo y semillas de maíz. A2-041. Libro de Resúmenes p. 221. 4° Congreso Argentino de Fitopatología. 19 al 21 de abril de 2017. Mendoza.

Francisco E.A., Mochi D.A., Correia A.C.B., Monteiro A.C. 2006. Influence of culture media in viability test of conidia of entomopathogenic fungi. *Ciência Rural* 36(4):1309-1312.

Francl L.J. 2001. The disease triangle: A plant pathological paradigm revisited. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-T-2001-0517-01. Reviewed 2007

Frederiksen R.A. 1980. Sorghum leaf blight. In *Proceedings of the International Workshop on Sorghum Diseases*. p. 243-248. 11-15 dec 1978. ICRISAT, India.

Frederiksen R.A., Odvody G.N. 2000. *Compendium of Sorghum Diseases*. 2nd ed. APS, St. Paul MN, USA. 78 pp.

French E.R., Hebert T.T. 1980. *Métodos de Investigación Fitopatológica*. IICA, San José, Costa Rica. 289 pp.

- Frezzi M.J. 1972.** Mancha ocular del maíz (*Kabatiella zeae*) y tizón amarillo de la hoja del maíz en la Argentina. INTA, Rev. Investigaciones Agropecuarias Serie 5, Patología Vegetal IX (2):101-108.
- Frezzi M.J., Teyssandier E.E. 1978.** Summary and historical review of sorghum diseases in Argentina. In: ICRISAT. Proceedings of the International Workshop on Sorghum Diseases. p. 11–14. Hyderabad, India. 11–15 december 1978.
- Fullerton R.A., Fletcher J.D. 1974.** Observations on the survival of *Drechslera turcica* in maize debris in New Zealand. New Zealand Journal of Agricultural Research 17(2):153-155.
- Fumero M., Reynoso M., Chulze S. 2015.** *Fusarium temperatum* and *Fusarium subglutinans* isolated from maize in Argentina. International Journal of Food Microbiology 199:86-92.
- Galiano-Carneiro A.L., Miedaner T. 2017.** Genetics of resistance and pathogenicity in the Maize / *Setosphaeria turcica* pathosystem and implications for breeding. Review. Frontiers in Plant Science 8. Article 1490.
- Galich M.T. 1987.** Importancia y difusión de la fusariosis del trigo en Argentina. En: Taller sobre la fusariosis de la espiga en América del Sur. p. 7-26. Kohli M.M. (Ed.). 07 – 11 septiembre 1986. Encarnación, Paraguay.
- Galli M.C., González Russo R., Etienot R. 2015.** Comportamiento de híbridos de maíz a tizón foliar común (*Exserohilum turcicum*) en el centro oeste santafesino, campaña 2014/15. <http://www.monitoreodecultivos.com/sitio/fotos/noticias/18.pdf>
- Gally T.A., Sillon M.R., Litardo m.C., Yabar M.M. 2014.** Microflora asociada a semillas de maíz. Actas del 3er Congreso Argentino de Fitopatología. Et-HyS-15. 4 al 6 de junio de 2014. San Miguel de Tucumán.
- Garcés Fiallos F.R., Aguirre Calderón, Á.J., Liu-ba Delfini G.A., Carbo Morán J.J. 2012.** Severidad de *Curvularia* en 67 líneas autofecundadas S4 de maíz amarillo. Ciencia y Tecnología 4(2):39-44. <https://doi.org/https://doi.org/10.18779/cyt.v4i2.69>
- García-Aguirre G., Martínez-Flores R. 2010.** Especies de *Fusarium* en granos de maíz recién cosechado y desgranado en el campo en la región de Ciudad Serdán, Puebla. Revista Mexicana de Biodiversidad 81:15- 20.
- Garrido C.E., Hernández Pezzani C., Pacin A. 2012.** Mycotoxins occurrence in Argentina maize (*Zea mays* L.), from 1999 to 2010. Food Control 25:660-665.
- Gates L.F., Mortimore C.G. 1969.** Three diseases of corn (*Zea mays*) new to Ontario:razy

top, a *Phyllosticta* leaf spot, and eyespot. *Can. Plant Dis. Surv.* 49(4):128-131.

Gates L.F., Bolwyn B. 1972. Southern leaf blight of corn in southwestern Ontario in 1971. *Plant Dis. Survey* 52(2):64-69.

Ghany T.M.A. 2012. Fungal leaf spot of maize: pathogen isolation, identification and host biochemical characterization. *Mycopathology* 10(2):41-49.

Ghini R., Hamada E., Bettiol W. 2008. Climate change and plant diseases. *Sci. Agric.* 65. Special Issue: p. 98-107.

Gilabert A., Gauffre B., Parisey N., Le Gallic J.F., Lhomme P., Bretagnolle V., Dedryver CH.A., Baudry J., Plantegenest M. 2017. Influence of the surrounding landscape on the colonization rate of cereal aphids and phytovirus transmission in autumn. *J. Pest. Sci* 90:447-457. DOI 10.1007/s10340-016-0790-3

Gilbert G.S., Webb C.O. 2007. Phylogenetic signal in plant pathogen–host range. *PNAS* 104:4979-4983.

Gilbertson R.L., Brown W.M., Ruppel E.G. 1985. Prevalence and virulence of *Fusarium* spp. associated with stalk rot of corn in Colorado. *Plant Dis.* 69:1065-1068.

Gilchrist-Saavedra I., Fuentes-Dávila G., Martínez-Cano C., López Atilano R.M. Duveiller E., Singh R.P., Henry M., García I. 2005. Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. Seg. Ed. México, D.F. CIMMYT. 68 pp.

Giraud T., Gladieux P., Gavrillets S. 2010. Linking emergence of fungal plant diseases and ecological speciation. *Trends Ecol. Evol.* 25(7):387-395. NIH Public Acces.

Goh T.K., Hyde K.D., Lee D.K.L. 1998. Generic distinction in the *Helminthosporium*-complex based on restriction analysis of the nuclear ribosomal RNA gene. *Fungal Diversity* 1:85-107.

González M., Incremona M., Ghio A., Botta G. 2004. Patógenos fúngicos prevalentes en granos de maíz en la zona maicera núcleo argentina. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias –UNR. Año IV, N°6.*
[http://www.cienciasagronomicas.unr.edu.ar/revista/articulos/RIFCA-2004_a4\(06\)065-068.pdf](http://www.cienciasagronomicas.unr.edu.ar/revista/articulos/RIFCA-2004_a4(06)065-068.pdf)

González M. 2007. Enfermedades de maíz.
http://www.engormix.com/enfermedades_maiz_s_articulos_1226_AGR.htm

González A., Cruciani M., Incremona M., González M., Ghio A., Papucci S. 2005. Influencia del ambiente en la calidad sanitaria de semillas de maíz. Libro de Resúmenes HEP-21, p. 359. XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. 19 al 22 de abril de 2005. Villa Carlos Paz, Córdoba.

- González A.J., González-Varela G. 2007.** Ensayo *in vitro* de fungicidas frente a *Exserohilum turcicum*, agente causal del tizón norteño del maíz en Asturias. Bol. San. Veg. Plagas 33:289-295.
- Guerra G.D., De Rossi R.L. 2010.** Panorama sanitario del cultivo de maíz en la región centro norte de Córdoba. Jornada de Actualización Técnica de Cultivos de Verano. CREA, Campaña 2009/10. p. 34-36.
- Gulbis K., Bankina B., Bimšteina G., Neusa-Luca I., Roga A., Fridmanis D. 2016.** Fungal diversity of maize (*Zea mays* L.) grains. Rural Sustainability Research 35(330). 6 pp.
- Haasbroek M.P., Craven M., Barnes I., Crampton B.G. 2014.** Microsatellite and mating type primers for the maize and sorghum pathogen, *Exserohilum turcicum*. Australasian Plant Pathology 43(5):577-581.
- Harlapur S.I. 2005.** Epidemiology and management of turcicum leaf blight of maize caused by *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard and Suggs. Thesis University of Agricultural Sciences, Dharwad. 150 pp. <http://krishikosh.egranth.ac.in/bitstream/1/69190/1/Th8538.pdf>
- Harlapur S.I., Kulkarni M.S., Hegde Y., Kulkarni S. 2007.** Variability in *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard and Suggs, causal agent of turcicum leaf blight of maize. Karnataka J. Agric. Sci. 20(3):665-666.
- Harman G.E. 1983.** Mechanisms of seed infection and pathogenesis. Symposium: Deterioration mechanisms in seeds. Phytopathology 73: 326-329.
- Harvey J.M. 1951.** An anthracnose disease of *Umbellularia californica*. Madroño 11(4):162-171.
- Hofgaard I.S., Seehusen T., Aamot H.U., Riley H., Razzaghian J., Vinh H. Le V.H., Hjelkrem A.G., Dill-Macky R., Brodal G. 2016.** Inoculum potential of *Fusarium* spp. relates to tillage and straw management in norwegian fields of spring oats. Front Microbiol. 7:556. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4841101/#B3>
- Hollandbeck G. 2016.** Effect of volunteer corn density on deoxynivalenol production by *Fusarium graminearum* in hybrid corn. A Thesis Degree of Master of Science. Faculty of Purdue University. West Lafayette, Indiana. 24 pp. <http://docs.lib.purdue.edu/dissertations/AAI10146711/>
- Hoog G.S., Yurlova N.A. 1994.** Conidiogenesis, nutritional physiology and taxonomy of *Aureobasidium* and *Hormonema*. Antonie van Leeuwenhoek 65: 41–54.
- Hou M., Ma B.C., Zuo Y.H., Guo L.L., Gao S.G., Wang Y.Y., Liu T. 2013.** Rapid and sensitive detection of *Curvularia lunata* associated with maize leaf spot based on its Clg2p

gene using semi-nested PCR. Letters in Applied Microbiology ISSN 0266-8254.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/lam.12040/pdf>

Humber, R.A. 2012. Preservation of entomopathogenic fungal cultures. In: Lacey, L.A., Ed. Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. Chapter 10. London, UK: Academic Press. p. 317-328.

Hurni S., Scheuermann D., Krattinger S.G., Kessel B., Wicker T., Herren G., Fitze M.N., Breen J., Prestler T., Ouzunova M., Keller B. 2015. The maize disease resistance gene *Htn1* against northern corn leaf blight encodes a wall-associated receptor-like kinase. PNAS 112(28):8780-8785.

Hussain N., Hussain A., Ishtiaq M., Azam S., Hussain T. 2013. Pathogenicity of two seed-borne fungi commonly involved in maize seeds of eight districts of Azad Jammu and Kashmir, Pakistan. African Journal of Biotechnology Vol. 12:1363-1370.

Ibatsam K., Rukhsana B., Nasim G. 2012. Preservation of *Penicillium* species by liophylization. African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development 12:6055-6064.

ICAR, 2012. Inoculations methods and disease rating scales for maize diseases. In: Directorate of Maize Research, Shekhar M., Kumar S. (eds.). 31 pp.
<http://dmr.res.in/download/Inoculation%20Methods%20and%20Disease%20Rating%20Scales%20for%20Maize%20Diseases.pdf>

IICA 1986. Roya de los cereales. Reunión de especialistas em ferrugens de cereais de inverno. Diálogo XIII. CNPT/EMBRAPA. Passo Fundo, RS, Brasil. 15 a 18 de outubro de 1985. Ed. IICA, Montevideo, Uruguay.

Incremona M., Salinas A., González M. del P., Cragolini C., Pioli R. 2008. Determinación de la calidad sanitaria y la ubicación de *Fusarium graminearum* en los tejidos de cariopsis de maíz. Libro de Resúmenes HET-21, p. 112. 1° Congreso Argentino de Fitopatología. 28 al 30 de mayo de 2008. Córdoba.

Incremona M., Ghío A., Gonzalez M., Gonzalez A., Cruciani M., Papucci S., Pedrol H. 2013. Incidencia de patógenos fúngicos en granos de maíz en un cultivo con fertilización nitro-azufrada. XV Congreso y XXXIII Reunión de la Sociedad de Biología de Rosario. Zavalla, 28 y 29 de noviembre de 2013.

Index Fungorum 2017. *Kabatiella zae*.

<http://www.indexfungorum.org/Names/NamesRecord.asp?RecordID=283372> maize.
www.inra.fr/Internet/Produits/HYP3/pathogene/6kabzea.htm

- INRA 2005.** Hypermedia en Protection des Plantes (Section Pathologie). Eyespot of maize. www.inra.fr/Internet/Produits/HYP3/pathogene/6kabzea.htm
- Ishfaq A., Dar Z.A., Lone A.A., Ali G., Gazal A., Hamid B., Mohiddin F.A. 2014.** Disease reaction studies of maize (*Zea mays* L.) against turicum leaf blight involving indigenously identified cytosterile source. African Journal of Microbiology Research 8(27):2592-2597.
- Jackson T., Ziems A. 2009.** Corn disease update: eyespot confirmed in Nebraska. <http://cropwatch.unl.edu/corn-disease-update-eyespot-confirmed>.
- Jeschke M., Doerge T. 2008.** Crop Insights Pioneer. Managing Volunteer Corn. Cornfields 18(3):3:1-4.
- Jiménez-Díaz R.M., Boothroyd C.W. 1979.** Role of ascospores of *Mycosphaerella zeae-maydis* in the epidemics of yellow leaf blight of maize. Phytopathologia Mediterranea XVIII: 3-9.
- Jiménez Díaz R.M. 2008.** Impactos potenciales del cambio climático sobre las enfermedades de los cultivos. Phytoma 203. 5 pp.
- Jinnah M.A. 2014.** Seed health status of commonly used three selected hybrid maize varieties in Bangladesh. A Thesis Master of Science. Faculty of Agriculture, Sher-e-Bangla Agricultural University, Dhaka. 47 pp.
- Jones D.R., Baker R.H.A. 2007.** Introductions of non-native plant pathogens into Great Britain, 1970-2004. Plant Pathology 56:891-910.
- Jordan E.G., Perkins J.M., Schall R.A., Pedersen W.L. 1983.** Occurrence of race 2 of *Exserohilum turcicum* on corn in the central and eastern United States. Plant Dis. 67:1163-1165.
- Juroszek P., von Tiedemann A. 2013.** Climatic changes and the potential future importance of maize diseases: a short review. Journal of Plant Diseases and Protection 120:49-56.
- Kaimei J., Jinghua F., Qun L. 2012.** RAPD Analysis among Isolates of *Exserohilum turcicum* in maize from Yunnan province. Chinese Agricultural Science Bulletin. 27 (Abstract). http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-ZNTB201227044.htm
- Kavak H. 2012.** Some biological parameters in *Sordaria fimicola*. Pak. J. Bot. 44(3):1079-1082.
- Kieh H.K. 2014.** Assessment of maize ear rot in major maize growing areas of Ashanti region of Ghana. Thesis de Master of Science in Crop Protection (Plant Pathology). Kwame Nkrumah Univ. of Science and Technology, Kumasi, Ghana.

- <http://dspace.knust.edu.gh/bitstream/123456789/6681/1/HERBERT%20KLAY%20KIEH.pdf>
- King K.M., West J.S., Dyer P.S., Fitt B.D.L. 2011.** Development of typical and atypical *Rhynchosporium* lesions on different grass hosts. *Aspects of Applied Biology* 106:137-142.
- Kirby W. 1998.** Eyespot of corn. <http://ipm.illinois.edu/bulletin/pastpest/articles/v9817g.html>
- Kleczewski N. 2016.** Bacterial leaf streak- Something to look for in 2017 Corn. <http://extension.udel.edu/fieldcropdisease/2016/10/23/bacterial-leaf-streak-something-to-look-for-in-2017-corn/> October 23, 2016.
- Koenning S.R., Frye J.W., Pataky J.K., Gibbs M., Cotton D. 2007.** First report of *Phoma terrestris* causing red root rot on sweet corn (*Zea mays*) in North Carolina. *Plant Dis.* 91(1):1054.
- Kraan G., Nisi J.E. 1995.** Septoriosi del trigo en la República Argentina, situación del cultivo frente a la enfermedad. p. 1-8. En: Proceedings of a *Septoria tritici* Workshop. Gilchrist S.L., van Ginkel M., McNab A., Kema G.H.J. (Eds). Mexico, DF. CIMMYT.
- Krnjaja V., Lević J., Tomić Z., Nešić Z., Stojanović Lj., Trenkovski S. 2007.** Dynamics of incidence and frequency of populations of *Fusarium* species on stored maize grain. *Biotechnology in Animal Husbandry* 23 (5-6):589-600.
- Krnjaja V., Lević J., Stanković S., Petrović T., Lukić M.D. 2013.** Molds and mycotoxins in freshly harvested maize. *Jour. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad* 124:111—119.
- Kumar S., Pardurange Gowda K.T., Pant S.K., Shekhar M., Kumar B., Kaur B., Hettiara K., Singh O.N., Parsanna B.H. 2011.** Sources of resistance to *Exserohilum turcicum* (Pass.) and *Puccinia polysora* (Underw.) incitant of turcicum leaf blight and polysora rust of maize, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 44:6, 528-536, DOI: 10.1080/03235400903145558
- Kumar S., Shekhar M., Sharma A., Prasanna B.M. 2012.** Genetic and morphological diversity in *Exserohilum turcicum*, incitant of turcicum leaf blight in maize. S2.4. 11th Asian Maize Conference, Beijing, China. November 7 – 11, 2011.
- Kutawa A.B., Sijam K., Ahmad K., Seman Z.A., Ab Razak S.F., Abdullah N. 2017.** Characterization and pathological variability of *Exserohilum turcicum* responsible for causing northern corn leaf blight (NCLB) disease in Malaysia. *Malaysian Journal of Microbiology* 13(1):41-49.
- 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., Sillon M., Truol G., Copia P., Botta G. 2010. Enfermedades de *Zea mays* L. (maíz). En: Atlas Fitopatológico 3(1). Eds. Nome S.F., Docampo D.M., Conci L.R. y Pérez B.A. <http://www.fitopatoatlas.org.ar/default.asp?Hospedante=1048>.

Lanfranchi R., Landa M., Dotta A. Rodriguez F., Belgorodsky L., Manna M.E., Gómez M. 2014. Protocolo de detección para *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* en la certificación de semillas de maíz para exportación. Actas del 3er Congreso Argentino de Fitopatología. D-8. 4 al 6 de junio de 2014. San Miguel de Tucumán.

Langemeier C.B., Jackson-Ziems T.A., Kruger G.R. 2014. Four common *Setaria* species are alternative hosts for *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis*, causal agent of Goss's bacterial wilt and blight of corn. Plant Health Progress doi: 10.1094/PHP-RS-12-0160.

Leach C.M., Fullerton R.A., Young K. 1977. Northern leaf blight of maize in New Zealand: release and dispersal of conidia of *Drechslera turcica*. Phytopathology 67:380-387.

Leonard K.J., Thakur R.P., Leath S. 1988. Incidence of *Bipolaris* and *Exserohilum* species in corn leaves in North Carolina. Plant Disease 72:1034-1038.

Leslie J.F., Summerell B.A. (Eds.) 2006. The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell Publishing. 388 pp.

Lević J., Pencic V. 2008. Utilization of carbon, nitrogen and sulphur compounds by *Kabatiella zae* Narita et Hiratsuka. Journal of Phytopathology 128(4):321-332.

Lević J.T., Petrović T.M., Stanković S.Z., Ivanović D.M. 2013. The incidence of *Pyrenochaeta terrestris* in root of different plant species in Serbia. Jour. Nat. Sci. Matica Srpska Novi Sad, 125:21-30. DOI:102298/ZMSPN1325021L

Levy Y., Cohen Y. 1983. Differential effect of light on spore germination of *Exserohilum turcicum* on corn leaves impressions. Phytopathology 73:249-252.

Levy Y. 1984. The overwintering of *Exserohilum turcicum* in Israel. Phytoparasitica 12 (3):177-182.

Levy Y., Pataky J.K. 1992. Epidemiology of northern leaf blight on sweet corn. Phytoparasitica 20 (1):53-66. (Abstract).

Levy Y. 1995. Inoculum survival of *Exserohilum turcicum* on corn between and during growing periods. Canadian Journal of Plant Pathology (2). DOI: 10.1080/07060669509500705.

- Linares A., Martínez C. 1971.** Mancha amarilla del maíz (*Kabatiella zea*). Boletín de Divulgación Técnica 10. INTA - EEA Pergamino. 2 pp.
- Lipps P.E. 1998.** Gray leaf spot: a global threat to corn production. *APSnet Features*. Online. doi: 10.1094/APSnetFeature-1998-0598.
- Lipps P.E., Mills D.R. 2001.** Eyespot disease of corn. Extension Fact Sheet. The Ohio State University. <http://ohioline.aosu.edu/ac-fact/0021.html>
- Liu Y., Zhang M., Wu Z., Li J. 2012.** Artificial inoculation methods for *Exserohilum turcicum* on maize. *Acta Phytopathologica Sinica* 42 (Abstract).
- Looseley M.E., Newton A.C. 2014.** Assessing the consequences of microbial infection in field trials: seen, unseen, beneficial, parasitic and pathogenic. *Review. Agronomy* 4: 302-321. doi: 10.3390/agronomy4020302.
- Luongo L., Galli M., Corazza L., Meekes E., de Hass L., Van der Plas C.L., Köhl J. 2005.** Potential of fungal antagonists for biocontrol of *Fusarium* spp. In wheat and maize through competition in crop debris. *Biocontrol Science and Technology* 15(3):229-242.
- Luque A.G., Pioli R., Bonel B., Alvarez D.P. 2005.** Cellulolytic fungi populations in stubble and soil as affected by agricultural management practices. *Biological Agriculture and Horticulture* 23:121-142.
- Macagno J. 2015a.** *Exserohilum turcicum* patógeno de maíz: caracterización fenotípica y detección de metabolitos secundarios. <http://web10.unl.edu.ar:8080/colecciones/handle/123456789/8054>
- Macagno J., Turino L.N., Argaraná M.F., Latorre Rapela M.G. 2015b.** Caracterización e identificación molecular del hongo *Exserohilum* patógeno de maíz mediante el uso de marcadores ITS e ISSR-PCR. III Congreso Bioquímico del Litoral y XVI Jornadas Argentinas de Microbiología. Santa Fe.
- Macagno J., Argaraña M.F., Latorre Rapela M.G. 2015c.** Importancia de la aplicación de marcadores moleculares en el estudio del género *Exserohilum*, patógeno de maíz. XXIII Jornadas de Jóvenes Investigadores de la Asociación de Universidades Grupo Montevideo. La Plata.
- MAGyP 2017.** Estimaciones agrícolas. Maíz. <http://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/estimaciones/>
- Mahmoud M., Al-Othman M.R., Abeer R.M., El-Aziz A. 2013.** Mycotoxigenic fungi contaminating corn and sorghum grains in Saudi Arabia. *Pak. J. Bot.* 45:1831-1839.
- MAIZAR 2008.** Desafíos y oportunidades para las cadenas de valor del maíz y sorgo

argentinos. 2008/2017. www.maizar.org.ar/documentos/282_desyopor.pdf

MAIZAR 2011. Aportes para el Desarrollo Agroindustrial Sustentable al 2020. Metas PEA para los productos de la cadena del maíz y del sorgo argentinos. <https://sites.google.com/a/agro.uba.ar/clarin-rural---edicion-40-anos/home/metas-pea-para-los-productos-de-la-cadena-del-maz-y-del-sorgo-argentinos>.

Malaguti G. 1993. Principales enfermedades del maíz en el área andina. En: IICA-Prociandino. Experiencias en el cultivo de maíz en el área andina. Vol. II. Ed. Prociandino. Quito, Ecuador. 56 pp.

Maloy O.C. 2005. Plant Disease Management. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2005-0202-01.

<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/topics/Pages/PlantDiseaseManagement.aspx>

Mao W., Lewis J.A., Hebbar P.K., Lumsden R.D. 1997. Seed treatment with a fungal or a bacterial antagonist for reducing corn damping-off caused by species of *Pythium* and *Fusarium*. Plant Dis. 81:450-454.

Manamgoda D.S., Rossman A.Y., Castlebury L.A., Crous P.W., Madrid H., Chukeatirote E., Hyde K.D. 2014. The genus *Bipolaris*. Studies in Mycology 79: 221–288. Online. doi: 10.1016/j.simyco.2014.10.002

Marquardt P.T., Terry R.M., Johnson W.G. 2013. The impact of volunteer corn on crop yields and insect resistance management strategies. Agronomy 3:488-496. www.mdpi.com/journal/agronomy

Marín Sánchez J.P. 1986. Podredumbre radicular del maíz causada por *Exserohilum pedicellatum* (Henry) Leonard et Suggs. Bol. San. Veg. Plagas 12:19-23.

Martin T. 2011. *Setosphaeria turcica*, fungal mating and plant defence. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala. 53 pp.

Martins Cardozo A. 2013. Diversidade de fungos endofíticos e severidade de *Exserohilum turcicum* em cultivares isogênicas de milho (*Zea mays* L.) convencional e transgênico. Universidade Federal de Santa Catarina.

Martins Reis G., Oliveira Rocha L., Morais Barroso V., Pereira Duarte A., Corrêa B. 2012. Distribuição de fungos em grãos de milho transgênico (presença do gene cry1F de *Bacillus thuringiensis*), do florescimento à colheita. XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Águas de Lindóia. 26 a 30 de agosto de 2012.

Maurino M.F., Raspanti J. G., Ferrer Lanfranchi M., Laguna I. G., Giménez Pecci M.P. 2014. Expansión de enfermedades causadas por virus y hongos en maíz, en Argentina.

- Maíz HD. X Congreso de Maíz p. 93. 3 al 5 septiembre, Rosario (Santa Fe).
<http://www.congresodemaiz.com.ar/areas/manejo/>
- Mayada Beshir M., Abdelbagi Ali M., Okori P. 2012.** Generation mean analysis for turcicum leaf blight in ugandan sorghum. Third RUFORUM Biennial Meeting 24-28 sept. 2012. Entebbe, Uganda.
- McGee D.C. 1998.** Maize Diseases: A Reference Source for Seed Technologists. APS Press. St. Paul, MN. 150 pp.
- McKay S.F., Freeman S., Minz D., Maymon M., Sedgley M., Collins G.C., Scott E.S. 2009.** Morphological, genetic, and pathogenic characterization of *Colletotrichum acutatum*, the cause of anthracnose of almond in Australia. *Phytopathology* 99:985-995.
- Medić-Pap S.S., Maširević S.N., Šofhauzer I.P. 2011.** Mycoflora of comercial maize seed in 2010. *Proc. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad* 120:127-133.
- Melani M.D., Carena M.J. 2006.** Identification of quantitative trait loci for resistance to eyespot in maize. In *Agronomy Abstracts* [CD-ROM computer file]. ASA, Madison, USA.
- Mena Portales J. de J. 2004.** Taxonomía del complejo *Bipolaris, Curvularia, Drechslera* y *Exserohilum* en Cuba. Tesis de Doctorado. Inst. Ecología y Sistemática. La Habana, Cuba. 56 pp.
- Mezzalama M. 2013.** Sanidad de semilla: Promover la distribución segura de semilla de maíz y de trigo: Lineamientos generales. Tercera ed. México, D.F.: CIMMYT. <http://repository.cimmyt.org/xmlui/bitstream/handle/10883/3213/97983.pdf?sequence1>
- Micca M.V., Andrada N.R., Larusse A.S. 2015.** Análisis exploratório espacial del tizón común (Leonard and Suggs) en estratos foliares de maíz en Villa Mercedes, San Luis. *Revista FAVE – Ciencias Agrarias* 14(2). 12 pp.
- Miranda A., Figueruelo A., Comerio R., Corró Molas A., Ghironi E., Bermejo V. 2016.** Presencia de *Stenocarpella maydis* (= *Diplodia maydis*) en planta de maíz en la provincia de La Pampa: alerta ante posibles micotoxicosis en bovinos.
aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/mod/resource/view.php?id=16366
- Morais Barroso V., Oliveira Rocha L., Martins Reis G., Jalaim de Andrade L., Atayde D.D., Pereira Duarte A., Corrêa B. 2012.** Distribuição de fungos em diferentes genótipos de milho transgênico recém-colhido. XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Águas de Lindóia. 26 a 30 de agosto de 2012.
- Morrison R.H. 1999.** Sampling in seed health testing. *Phytopathology* 89:1084-1087.
- Mourellos C.A., Malbran I., Balatti P.A., Ghiringhelli P.D., Lori G.A. 2014.** Gramineous

and non-gramineous weed species as alternative hosts of *Fusarium graminearum*, causal agent of Fusarium head blight of wheat, in Argentina. *Crop Protection* 65:100-104.

Mubeen S., Rafique M., Munis M.F.H., Chaudhary H.J. 2015. Study of southern corn leaf blight (SCLB) on maize genotypes and its effect on yield. *Journal of Saudi Society of Agricultural Sciences* (2015). In press.

Mueller D., Pope R. 2009. *Corn Field Guide. A reference for identifying diseases, insect pests and disorders of corn.* Iowa State Univ. IPM, CSI 0001. 84 pp.

Muiru W.M., Mutitu E.W., Kimenju J.W. 2008. Distribution of turcicum leaf blight of maize in Kenia and cultural variability of its causal agent, *Exserohilum turcicum*. *Journal of Tropical Microbiology and Biochemistry* Vol. 4 (1):32-39.

Muiru W.M., Koopmann B., Tiedemann A.V., Mutitu E.W., Kimenju J.W. 2010. Evaluation of genetic variability of kenyan, german and austrian isolates of *Exserohilum turcicum* using amplified fragment length polymorphism DNA marker. *Biotechnology* 9:204-211. DOI:10.3923/biotech.2010.204.211

Mwangi, S.F.M. 1998. Status of northern leaf blight, *Phaeosphaeria maydis* leaf spot, southern leaf blight, rust, maize streak virus and physiologic specialization of *Exserohilum turcicum* in Kenya. Chapter 4. Physiologic specialization of *Exserohilum turcicum*, in Kenya. p. 146-163. Thesis PhD. Virginia Polytechnic Institute and State University, USA.

Munkvold G., Martinson C. 2001. Eyespot of corn.
www.extension.iastate.edu/Publications/PM963.pdf

Munkvold G., Flynn P. 2002. Early-season leaf diseases on corn.
<http://www.ipm.iastate.edu/ipm/icm/2002/5-20-2002/earlycorndis.html>

Munkvold G., White D.G. 2016. *Compendium of Corn Diseases.* 4th ed. APS Press. 165 pp.

Murillo-Williams A., Munkvold G.P. 2008. Systemic infection by *Fusarium verticillioides* in maize plants grown under three temperature regimes. *Plant Dis.* 92:1695-1700.

Namtz Y., Cúndom M.A., Gutiérrez S. A. 2012. Mancha ocular del maíz en Corrientes. XVIII Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Ed. 2012. UNNE, 1p.
<http://www.unne.edu.ar/unnevieja/investigacion/com2012/CA-016.pdf>

Narayanasamy P. 2011. Detection of fungal pathogens in plants. Chapter 2. Microbial Plant Pathogens-Detection and Disease Diagnosis: Fungal Pathogens, Vol. 1. DOI 10.1007/978-90-481-9735-4_2.

Navi S.S., Bandyopadhyay r., Hall A.J., Bramel-Cox P.J. 1999. *A Pictorial Guide for the*

Identification of Mold Fungi on Sorghum Grain. Information Bulletin no. 59. ICRISAT, India, 118 pp.

NCBI 2015. National Center for Biotechnology Information. Search database. Search term. Taxonomy ID: 93612. *Setosphaeria turcica*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>

Nerbass F.R. 2008. Tratamento de sementes de milho: qualidade comercial, erradicação e transmissão de *Fusarium verticillioides*. 79 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias / UDESC.

Ngugi H.K., Julian A.M., King S.B., Peacocke B.J. 2000. Epidemiology of sorghum anthracnose (*Colletotrichum sublineolum*) and leaf blight (*Exserohilum turcicum*) in Kenya. Plant Pathology 49:129-140 (Abstract).

Niaz I., Dawar S. 2009. Detection of seedborne mycoflora in maize (*Zea mays* L.). Pak. J. Bot. 41(1):443-451.

Niaz I., Dawar S., Sitara U. 2011. Effect of different moisture and storage temperature on seed borne mycoflora of maize. Pak. J. Bot. 43:2639-2643.

Njeru N.K., Muthomi J.W., Mutegi C.K., Wagacha J.M. 2016. Effect of cropping systems on accumulation of Fusarium head blight of wheat inocula in crop residues and soils. J. Plant Sci. 11:12-21.

Nocelli Pac S. 2016. Estimación de superficie en siembra directa. Campaña 2014/15. <http://www.aapresid.org.ar/superficie/>

NSHS, 2015. Regulated Non-Seedborne Pests. Reference Manual B. <http://www.seedhealth.org/files/page/files/Regulated%20Nonseedborne%20v0815.pdf>

Nuñez G., Catenaccio M.C., Ravinale C. 2015. Determinación de la presencia de hongos fitopatógenos y su incidencia en la germinación de semillas de maíz y soja de la región pampeana. Libro de Resúmenes. F-95, p. 118. XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Santa Fe, octubre de 2015.

Nwanosike M.R.O., Mabagala R.B., Kusolwa P.M. 2014. Effect of northern leaf blight (*Exserohilum turcicum*) severity on yield of maize (*Zea mays* L.) in Morogoro, Tanzania. International Journal of Science and Research. ISSN (online):2319-7064.

Nwanosike M.R.O., Magabala R.B., Kusolwa P.M. 2015. Disease intensity and distribution of *Exserohilum turcicum* incitant of northern leaf blight of maize in Tanzania. Int. J. Pure App. Biosci. 3(5):1-13.

Nyvall R.F., Martinson C.A. 1997. Controlling corn diseases in conservation tillage. Iowa State University. Univ. Extension. 6 pp.

www.extension.iastate.edu/Publications/PM1096.pdf

- O'Donnell K., Sink S., Scandiani M., Luque A., Colletto A., Biasoli M., Lenzi L., Salas G., González V, Ploper L.D., Formento A.N., Pioli R.N., Aoki T., Yang X. B., Sarver B. A. J. 2010.** Soybean sudden death syndrome species diversity within North and South America revealed by multilocus genotyping. *Phytopathology* 100 (1) 58:71.
- Odrizola E., Odeón A., Canton G., Clemente G., Escande A. 2005.** *Diplodia maydis*: a cause of death of cattle in Argentina. *Clinical Communication. New Zealand Veterinary Journal* 53:160-161.
- Oerke E.C. 2006.** Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science* 144:31- 43. Cambridge University Press.
- Oerke E.C., Dehne H.W., Schönbeck F., Weber A. 1999.** *Crop Production and Crop Protection. Estimated losses in major food and cash crops.* 3th ed. Elsevier, 807 pp.
- Ogliari J.B., Guimarães M.A., Geraldi I.O., Aranha Camargo L.E. 2005.** New resistance genes in the *Zea mays – Exserohilum turicum* pathosystem. *Genetics and Molecular Biology* 28(3):435-439.
- Ohm R.A., Feau N., Henrissat B., Grigoriev I.V. 2012.** Diverse lifestyles and strategies of plant pathogenesis encoded in the genomes of eighteen Dothideomycetes fungi. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3516569/>
- Oliveira Sábato E. de, Almeida Pinto N.F.J. de, Tavares Fernandes F. 2013.** *Identificação e controle de doenças na cultura do milho.* 2ª ed. Embrapa, Brasília, DF. 198 pp.
- Orduño-Cota F.J., Félix-Gastélum R., Herrera-Rodríguez G., Espinoza-Castillo D.F. 2014.** Distribución, incidencia, severidad y control del tizón foliar del maíz en el norte de Sinaola. SAGARPA – UTEFI; Universidad de Occidente (UdeO). 40 pp.
- Otegui M., Mercou J. y F. Menéndez 2002.** Estrategias de manejo para la producción de maíz tardío y de segunda. En: Satorre E.H. (ed.). *Guía Dekalb del cultivo de maíz.* Buenos Aires: Servicios y Marketing Agropecuario. p. 171-184.
- Oulas A., Pavlodi C., Polymenakou P., Pavlopoulos G.A. Papanikolaou N., Kotoulas G., Arvanitidis C., Iliopoulos I. 2015.** Metagenomics: tools and insights for analyzing next-generation sequencing data derived from biodiversity studies. *Bioinform Biol Insights* 9:75-88.
- Oviedo M.S., Copia P.A., Fernández M., Favere M.V., Pessoa A., Presello D.A. 2017.** Caracterización de la flora fúngica y contaminación con micotoxinas en grano de maíz

cultivado en el valle medio de Río Negro. A2-046. Libro de Resúmenes p. 226. 4° Congreso Argentino de Fitopatología. 19 al 21 de abril de 2017. Mendoza.

Owen M.D.K. 2005. Maize and soybeans. Controllable volunteerism without fertility? Chapter 10. In: Crop Fertility and Volunteerism. Gressel J. (Ed.). CRC Press, p. 155.

Palacio C., Echeverría F., Turinetto F., Llorente E., Bordenave S. 2014. Efecto del fungicida foliar sobre los patógenos de semilla presentes en pos cosecha, en distintos ambientes: sudeste de Bs. As. y Sur de Santa Fe. X Congreso Nacional de Maíz. Trabajos presentados y resúmenes de conferencias. Rosario, 3 al 5 de septiembre de 2014. p. 94-95.

Paliwal R.L. 2001. Origen, evolución y difusión del maíz. En: Paliwal R.L., Granados G., Lafitte H.R., Violic A., Marathée J.P. El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción. FAO, Roma. <http://www.fao.org/docrep/003/x7650s/x7650s00.htm>

Panizo M.M., Reviákina V., Montes W., González G. 2005. Mantenimiento y preservación de hongos en agua destilada y aceite mineral. Rev. Soc. Ven. Microbiol. 25:35-40. ISSN 1315-2556.

Papaix J., Burdon J.J., Zhan J., Thrall P.H. 2015. Crop pathogen emergence and evolution In agro-ecological landscapes. Evol. Appl. 8(4):385-402. Doi:10.1111/eva.12251. PMID: PMC4408149

Papucci S., González A., Cruciani M., Tuttolomondo G., González, M. 2016. Maíces tempranos versus tardíos. Agromensajes 46:39-45. <http://www.fcagr.unr.edu.ar/wp-content/uploads/2016/11/5AM46.pdf>

Parisi L., Couretot L., Presello D. 2012. Perfil sanitario de híbridos de enfermedades foliares en maíces de siembra tardía. Campaña 2011/12. Libro de Resúmenes XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Fitopatología, p. 146. Potrero de los Funes, San Luis. 3 al 5 de octubre de 2012.

Parisi L., Couretot L., Magnone G., Gatti N. 2015a. Detecciones de roya polisora, mancha ocular y cercosporiosis en estadios avanzados en maíces tardíos y de segunda en el Norte de la provincia de Buenos Aires. Campaña 2014/15. <http://inta.gob.ar/documentos/detecciones-de-roya-polisora-mancha-ocular-y-cercosporiosis-en-estadios-avanzados-en-maices-tardios-y-de-segunda-en-el-norte-de-la-prov.-de-bs.-as/>

Parisi L.M., Couretot L.A., Ferraguti F., Magnone G., Gatti N., González M.P. 2015b. Primer reporte de *Puccinia polysora* en el norte de la provincia de Buenos Aires y sur de Santa Fe. Campaña 2014/15. F-105. Libro de Resúmenes de las XV Jornadas

Fitosanitarias Argentinas. p. 121. 9 – 11 octubre. Santa Fe.

Parisi L., Couretot L., Magnone G., Gatti N. 2015c. Evaluación de enfermedades foliares de híbridos comerciales de maíz de siembra tardía. Campaña 2014/15.

https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_pergamino_evaluacion_de_enfermedades_foliares_de_hibridos_comerciales_de_maiz_de_siembra_tardia.pdf

Parvathi K., Uma V., Begum M.S., Wesely E.G. 2014. Detection of fungal pathogens from maize seeds of Central Tamil Nadu, India. *Journal of Science* Vol 4:682-685.

Pasarella V.S., Savin R. 2003. Características físico-químicas de los granos y usos principales. En: *Producción de Granos. Bases funcionales para su manejo.*

Ed. Satorre E., Benech Arnold, R.L. y otros. 3ª reimp. 2008. p. 11-23.

Pataký J.K. 1992. Relationships between yield of sweet corn and northern leaf blight caused by *Exserohilum turcicum*. *Phytopathology* 82:370-375.

Pawlowski M.L., Hartman G.L. 2016. Infection mechanisms and colonization patterns of fungi associated with soybean. Chapter 2. In: *Fungal Pathogenicity.* Sultan S. (ed.). <https://www.intechopen.com/books/fungal-pathogenicity/infection-mechanisms-and-colonization-patterns-of-fungi-associated-with-soybean>

Pearson T.C., Wicklow D.T. 2006. Detection of corn kernels infected by fungi. *Transactions of the ASABE* 49(4):1235-1245.

Pedersen W.L., Oldham M.G. 1992. Effect of three tillage practices on development of northern corn leaf blight (*Exserohilum turcicum*) under continuous corn. *Plant Dis.* 76: 1161-1164.

Pereira O.A.P., Carvalho R.V. de, Camargo L.E.A. 2005. Doenças do milho (*Zea mays*). En: Kimati H., Amorim L., Rezende J.A.M., Bergamin Filho A., Camargo L.E.A. (eds). *Manual de Fitopatología Vol. 2. Doenças das plantas cultivadas.* 4ta ed. Ed. Agr. Ceres, SP. p. 477-488.

Pereira A.L., Silva G.S., Ribeiro V.Q. 2006. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. *Fitopatología Brasileira* 31:572-578.

Pérez Vicente L. 2014. Evolution of *Fusarium* taxonomy: morphological, biological and phylogenetic diagnostic concepts. INISAV, Regional Workshop. Port Spain, Trinidad and Tobago. April 28th – May 9th 2014.

www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/.../06Evolution.pdf

Perkins J.M., Pedersen W.L. 1987. Disease development and yield losses associated with

northern leaf blight on corn. *Plant Dis.* 71:940-943.

Peruzzo A.M, Pioli R.N. 2016. Micotoxinas en harinas derivadas de trigo y soja detectadas por prueba de Elisa. *Pesq. Agropec. Bras.* 51:647-653.

Pinto N.F.J. de A. 1998. Patología de semillas de milho. Circular Técnica N°29. Embrapa, CN Pesquisa de Milho e Sorgo. 44 pp.

Pioli R.N., Morandi E.N., Martínez M.C., Lucca F., Tozzini A., Bisaro V., Hopp H.E. 2003. Morphologic, molecular, and pathogenic characterization of *Diaporthe phaseolorum* variability in the core soybean-producing area of Argentina. *Phytopathology* 93:136-146.

Pioli R.N., Mozzoni L., Morandi E.N. 2004. First report on pathogenic association between *Fusarium graminearum* and soybean. *Plant Dis.* 88(2):220.

Pioneer 2013. Tizón del maíz. Revisión 1.

http://www.pioneer.com/CMRoot/International/Argentina_Intl/AGRONOMIA/con_agric_inv_lotes/boletinetizon.pdf

Pirone P.P. 1978. Diseases & Pests of Ornamental Plants. 5th ed. John Wiley & Sons, 584 pp.

Pradeep F. S., Begam M.S., Palaniswamy M., Pradeep B.V. 2013. Influence of culture media on growth and pigment production by *Fusarium moniliforme* KUMBF 1201 isolated from paddy field soil. *World Applied Sciences Journal* 22:70-77.

Pratt R.G. 2006. Johnsongrass, yellow foxtail, and broadleaf signalgrass as new hosts for six species of *Bipolaris*, *Curvularia*, and *Exserohilum* pathogenic to bermudagrass. *Plant Dis.* 90:528.

Rago A.M., Pérez Gómez S.G., Sopena R.A., Felipe A. 2010. La roya marrón en lotes comerciales de caña de azúcar en Tucumán. XVI Reunión Técnica Nacional de la Caña de Azúcar. Sociedad Argentina de Técnicos de la Caña de azúcar. Tucumán. Resumen 28.

Rajurkar S.K., Taware A.S. 2014. Distribution of postharvest mycoflora on some cereal grains. *Online International Interdisciplinary Research Journal.* Volume IV:138-144.

Ramathani I. 2010. Characterization of turcicum leaf blight epidemics and pathogen populations in the *Exserohilum turcicum* – sorghum pathosystem of Uganda. Thesis Master of Science Degree. Makerere University. Uganda. 108 pp.

Ramathani I., Biruma M., Martin T., Dixelius C., Okori P. 2011. Disease severity, incidence and races of *Setosphaeria turcica* on *Sorghum* in Uganda. *European Journal of Plant Pathology* 131:383-392.

Ramos Romero L., Koopmann B., von Tiedemann A. 2015. Inventory and validation of

pathogenic fungi occurring on maize leaves in central Europe. O New I-6. Abstracts XVIII Interantional Plant Protection Congress. 24-27 August 2015, Berlin, Germany.

Ravimannan N., Arulanantham R., Pathmanathan S., Niranjana K. 2014. Alternative culture media for fungal growth using different formulation of protein sources. *Annals of Biological Research* 5:36-39.

Reddy T.R., Reddy P.N., Reddy R.R., Reddy S.S. 2014. Genetic variability in isolates of *Exserohilum turcicum* causing turcicum leaf blight of maize. *Internat. J. Plant Protec.* 7(1):50-54.

Reid L.M., Zhu X. 2005. Screening corn for resistance to common diseases in Canada. Screening corn for resistance to common diseases in Canada. Agriculture and Agri-Food Canada Technical Bulletin, Ottawa, ON. 27 pp.

Reifschneider F.J.B.; Arny D.C. 1979a. A liquid medium for the production of *Kabatiella zea* conidia. *Canadian J Microbiol* 25. (Abstract).

Reifschneider F.J.B., Arny D.C. 1979b. Seed infection of maize (*Zea mays*) by *Kabatiella zea*. *Plant Disease Reporter* 63:352-354.

Reifschneider F.J.B., Arny D.C. 1980a. Cultural and morphological variability of *Kabatiella zea*. *Transactions of the British Mycological Society* 75:239-241.

Reifschneider F.J.B., Arny D.C. 1980b. Host range of *Kabatiella zea*, causal agent of eyespot of maize. *Phytopathology* 70:485-487.

Reifschneider F.J.B., Arny D.C. 1983. Yield losses of maize caused by *Kabatiella zea*. *Phytopathology* 73:607-609.

Reis E.M., Baruffi D., Remor L., Zanatta M. 2011a. Decomposition of corn and soybean residues under field conditions and their role as inoculum source. *Summa Phytopathologica* 37(1):65-67.

Reis E.M., Casa R.T., Bianchin V. 2011b. Controle de doenças de plantas pela rotação de culturas. *Summa Phytopathologica* 37(3):85-91.

Refai M., Al-Yazid H.A. 2014. Monograph on dematiaceous fungi.
https://www.researchgate.net/publication/261991787_Monograph_on_Dematiaceous_fungi

Reuveni R., Bar-Zur A., Shimoni M. 1993. A rapid detection procedure for the *HtN* gene under controlled inoculation of maize with *Exserohilum turcicum*. *Plant Dis.* 77:580-582.

Riley M.B., Williamson M.R., Maloy O. 2002. Plant disease diagnosis. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2002-1021-01.

Ritchie S.W., Hanway J.J., Benson G.O. 1992. How a corn plant develops. Iowa State

Univ. Coop. Ext. Serv. Spec. Rep. 48. 21 pp.

<http://www.ag.iastate.edu/departments/agronomy/corngrows.html>

Robertson A. 2009a. Eyespot, gray leaf spot hit corn.

<http://crops.extension.iastate.edu/cropnews/2009/07/eyespot-and-gray-leaf-spot-occurring-corn>

Robertson A. 2009b. Eyespot and gray leaf spot severity continue to increase in Iowa.

<http://www.extension.iastate.edu/CropNews/2009/0721Robertson.htm>

Robertson A., Mueller D. 2009. Decision for fungicide applications on corn looming.

<http://www.extension.iastate.edu/CropNews/2009/0706robertsonmueller.htm>

Robeson D.J., Strobel G.A. 1982. Monocerin, a phytotoxin from *Exserohilum turcicum* (*Drechslera turcica*). Agric. Biol. Chem. 46(11):2681-2682.

Roigé M.B., Aranguren S.M., Riccio M.B., Pereyra S., Soraci A.L., Tapia M.O. 2009.

Mycobiota and mycotoxins in fermented feed, wheat grains and corn grains in Southeastern Buenos Aires Province, Argentina. Rev Iberoam. Micol. 26:233–237.

Romero M.P., Wise K.A. 2015. Development of molecular assays for detection of *Stenocarpella maydis* and *Stenocarpella macrospora* in corn. Plant Dis. 99:761-769.

Rossetto L., Larios D.M., Castanha R.F., Morais L.A.S. de 2013. Sobrevivência de patógenos em grãos de milho tratados com produtos naturais. VII Congresso Interinst. De Iniciação Científica – CIIC 2013. 13-15 agosto. Campinas, SP. Embrapa meio Ambiente. Laboratorio de produtos naturais. N° 13418.

Sarasola A.A.; Rocca de Sarasola M.A. 1981. Enfermedades y daños sobre maíz, sorgo y girasol en la Argentina. Ed. Hem. Sur. 102 pp.

Sartori M., Nesci A., Formento A., Etcheverry M. 2015. Selection of potential biological control of *Exserohilum turcicum* with epiphytic microorganisms from maize. Revista Argentina de Microbiología 47(1):62-71.

Sartori M., Nesci A., García J., Passone M.A., Montemarani A., Etcheverry M. 2017a. Efficacy of epiphytic bacteria to prevent northern leaf blight caused by *Exserohilum turcicum* in maize. Revista Argentina de Microbiología 49(1):75-82.

Sartori M., Nesci A., Formento A., Montemarani A., Barros G., García J., Etcheverry M. 2017b. Preliminary evaluation of biocontrol agents against maize pathogens *Exserohilum turcicum* and *Puccinia sorghi* in field assays. Agricultural Sciences 8:1003-1013.

Sasse S. 2008. Caracterização de variedades locais de milho procedentes de Anchieta-SC

- quanto à resistência a *Exserohilum turcicum*. Mestrado. Universidad Federal de Santa Catarina. 101 pp.
- Saunders M., Kohn L.M. 2008.** Host-synthesized compounds influence the in vitro interactions between fungal endophytes of maize. *Applied and Environmental Microbiology* 74(1):136-142.
- Scandiani M.M., Luque A.G. 2009.** Identificación de Patógenos en Semilla de Soja. Suplemento Especial N°2. Análisis de Semillas. 148 pp.
- Schumann G.L., D'Arcy C.J. 2006.** *Essential Plant Pathology*. APS Press, St. Paul, Minnesota, U.S.A. 338 pp.
- Sharma G., Pandey R.R. 2010.** Influence of culture media on growth, colony character and sporulation of fungi isolated from decaying vegetable wastes. *Journal of Yeast and Fungal Research* 1:157-164.
- Shauck T.C. 2011.** Competition and management of volunteer corn (*Zea mays* L.) in corn. Thesis of Master of Science Degree. University of Missouri, 106 pp.
<https://mospace.umsystem.edu/xmlui/bitstream/handle/10355/11509/research.pdf?sequence=3>
- Shenoy B.D., Jeewon R., Hyde K.D. 2007.** Impact of DNA sequence-data on the taxonomy of anamorphic fungi. *Fungal Diversity* 26:1-54.
- Shi N.N., Du Y.X., Ruan H.C., Yang X.J., Dai Y.L., Gan L., Chen F.R. 2017.** First report of northern corn leaf blight caused by *Setosphaeria turcica* on corn (*Zea mays* L.) in Fujian Province, China. *Plant Dis.* 101(5):831.
- Shiferaw B., Prasanna B.M., Hellin J., Bänziger M. 2011.** Crops that feed the world 6. Past successes and future challenges to the role played by maize in global food security. *Food Sec.* 3:307-327.
- Shin J-H., Han J-H., Lee J.K., Kim K.S. 2014.** Characterization of the maize stalk rot pathogens *Fusarium subglutinans* and *F. temperatum* and the effect of fungicides on their mycelial growth and colony formation. *Plant Pathology J.* 30(4):397-406.
- Shurtleff M.C. 1993.** *Compendium of Corn Diseases*. APS Press. 105 pp.
- Shurtleff M.C., Averre III C.W. 1997.** *The Plant Disease Clinic and Field Diagnosis of Abiotic Diseases*. APS Press, 245 pp.
- Sigulas K.M., Hill R.R., Ayers J.E. 1988.** Genetic analysis of *Exserohilum turcicum* and lesion expansion on corn. *Phytopathology* 78:149-153.
- Sillon M. 2009.** Maíz: aspirar a altos rendimientos requiere estrategias para manejo

integrado de enfermedades. XVII Congreso AAPRESID. Rosario, 15-17 agosto.p. 203-210.

Sillon M. 2011. Taller de enfermedades en maíz. Vicuña Mackenna (Córdoba). Diciembre 2011. http://www.aapresid.org.ar/wp-content/uploads/sites/7/2013/03/taller_de_enfermedades_en_ma%23U00c3%23U00adz_vm.pdf

Sillon M. 2013. Las principales enfermedades fúngicas del cultivo de maíz. Reconocimiento y recomendaciones de manejo. Horizonte A. <http://horizonteadigital.com/investigacion/ha54/Principales%20enfermedades%20fungicas%20maiz.pdf>

Sillon M., Magliano M.F., Gally T.; Litardo C., Yabar M., Maumary R., Favaro M.A., Valetto L., Martinotti J., Sobrero L., Nocenti D., Baiz P., Boretto G. 2015. Epidemiología e importancia de patógenos que afectan al cultivo de maíz (*Zea mays*) en el centro de Santa Fe. Período-2010/2015. Libro de Resúmenes. F-119. p.133. XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Santa Fe, octubre de 2015.

Silva Lago H.M., Ferreira Damaso L., Rodrigues Costa f., Ribeiro M.C., Costa Carvalho D.D., Rodrigues F. 2012. Incidência de fungos fitopatogênicos em sementes de sorgo em pós-colheita. Resumos XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Águas de Lindóia, SP. Brasil. p. 442-446. 26 a 30 de agosto de 2012.

Simcox K.D., Pedersen W.L., Nickrent D.L. 1993. Isozyme diversity in *Setosphaeria turcica*. Can. J. Plant Pathol. 15:91-96 (Abstract).

Simpson M.E., Marsh P.B., Sikora L.J. 1986. Fungal associations on field-weathered plants and their role in residue decomposition. American Journal of Alternative Agriculture 1(2):89–94. doi: 10.1017/S0889189300000953 (Abstract).

Singh D., Mathur S.B. 2004. Histopathology of Seed-Borne Infections. CRC Press. 281 pp.

Singh R., Srivastava R.P., Ram L. 2012. Northern corn leaf blight-an important disease of maize: An Extension Fact Sheet. Indian Research Journal of Extension Education, Special Issue Volume II:239.

Siqueira C., Barrocas E.N., Machado J., Abreu S., Dias I.E. 2014. Effects of *Stenocarpella maydis* in seeds and in the initial development of corn. Journal of Seed Science 36:079-086.

Sisterna M. N. 1984. Hongos fitopatogênicos. Conceptos sobre la segregación del género *Helminthosporium* en *Drechslera*, *Bipolaris* y *Exserohilum*. Rev. Facultad de Agronomía. Tomo LX. Entrega 1-2:117-120.

Sivanesan A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*. *Exserohilum* and their teleomorphs. Mycological Papers N°158. C.A.B International

Mycological Institute. 261 pp.

Smith D.L. 2015. Corn diseases of 2015 and should I spray fungicide.

<https://fyi.uwex.edu/fieldcroppathology/2015/07/13/corn-diseases-of-2015-and-should-i-spray/>

Somda I., Sanou J., Sanon P. 2008. Seed-borne infection of farmer saved maize seeds by pathogenic fungi and their transmission to seedlings. *Plant Pathology Journal* 7:98-103.

Sosa-Moss C., Perdomo Roldán F., Brathwaite C.W.D., Salazar Cruz J.J. 1997. Manual de Técnicas para el Diagnóstico de Enfermedades de las Plantas. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. México, D.F. 223 pp.

Sree S.U., Reddy R.N., Mohan S.M., Madhusudhana R., Mathur K., Bhat V., Rathore S. 2012. Genetic diversity and pathogenic variation in the isolates of *Exserohilum turcicum* causing common leaf blight of sorghum. *Indian Phytopathology* 65(4):2-6.

Stahl L., Potter B. 2013. Control volunteer corn for yield protection and corn rootworm management.

<https://www.extension.umn.edu/agriculture/corn/pest-management/control-volunteer-corn-for-yield-protection-and-corn-rootworm-management/docs/UM-Extension-VolunteerCornFactSheet-2013.pdf>

Stanković S., Lević J., Ivanović D. 2007. Genetic variability of maize pathogens in Serbia. *Genetika* 39(2):227-240.

Stuckey R.E., Niblack T.L., Nyvall R.F., Krausz J.P. 1993. Corn disease management.

<http://corn.agronomy.wisc.edu/Management/pdfs/NCH04.pdf>

Sucher J., Boni R., Yang P., Rogowsky P., Büchner H., Kastner C., Kumlehn J., Krattinger S.G., Keller B. 2016. The durable wheat disease resistance gene Lr34 confers common rust and northern corn leaf blight resistance in maize.

<http://onlinelibrary.wiley.com/enhanced/exportCitation/doi/10.1111/pbi.12647>

Sutton B., Waller J. 1988. Taxonomy of *Ophiocladium hordei* causing leaf lesions on triticale and other Gramineae. *Trans. Brit. Mycol. Society* 90:55–61.

Sweets L.E., Wright S. 2008. Integrated Pest Management. Corn Diseases. University of Missouri. IPM 1001, 24 pp.

Tang L., Gao Z.G., Yao Y., Liu X. 2015. Identification and genetic diversity of formae specialis of *Setosphaeria turcica* in China. *Plant Dis.* 99(4):482-487.

Tanova K., Raikov S., Momchylova P., Marinova Z. 2015. Mycoflora of maize seeds from Novi Pazar. *Int. J. Agri. & Agri. R.* Vol. 7:09-13.

- Tarr S.A.J. 1962.** Diseases of sorghum, sudangrass and broom corn. CAB, CMI, Kew, Surrey. 380 pp.
- Teyssandier E. 2005.** Cómo predecir y controlar la ocurrencia de enfermedades limitantes de la producción de maíz. VIII Congreso Nacional de Maíz. Rosario, 16-18 de noviembre. p. 448-450.
- Tong L., Liu Z., Hu J., Zhang R.Y. 2017.** First report of leaf blight caused by *Setosphaeria turcica* on sweet sorghum (*Sorghum bicolor*) in China. Plant Dis. 101(11):1952.
- Trainor M.J. 1980.** *Alternaria* leaf blight of maize. Retrospective theses and dissertations. Iowa State University. Digital Repository. 93 pp. <http://lib.dr.iastate.edu/rtd/6768/>
- Treikale O, Javoisha B, Pugacheva E, Vigule Z, Feodorova-Fedotova L. 2014.** Northern leaf blight *Helminthosporium turcicum* on maize in Latvia. Commun. Agric. Appl. Biol. Sci. 79(3):481-485 (Abstract).
- Tsai J., Miller J. 1995.** Corn Stunt Spiroplasma. Plant Pathology Circular 373. Florida Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry. <http://www.doacs.state.fl.us/pi/enpp/pathology/pathcirc/pp373.pdf>
- Tsedaley B., Adugna G. 2016.** Detection of fungi infecting maize (*Zea mays* L.) seeds in different storages around Jimma, Southwestern Ethiopia. J Plant Pathol Microbiol 7:3. <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7471.1000338>
- Tubajika K.M. 1992.** Epidemiological study of foliar diseases with strip intercropping rotation in Iowa. Retrospective Teses and Dissertations. Paper 9814. <http://lib.dr.iastate.edu/rtd>
- Tunali B., Obanor F., Erginbas G., Westecott R.A., Nicol J., Chakraborty S. 2016.** Fitness of three *Fusarium* pathogens of wheat. FEMS Microbiol Ecol 81:596–609.
- Ueyama A., Tsuda M. 1975.** Formation in culture of *Cochliobolus miyabeanus*, the perfect state of *Helminthosporium oryzae*. Ann. Phytopathol. Soc. Japan41: 434–440.
- Ullstrup A.J., Miles S.R. 1957.** The effects of some leaf blights of corn in the American corn belt. Plant. Dis. 64:216-217.
- USDA - APHIS 2002.** Pathogen: *Kabatiella zae*. In: Reference Manual b. section 1. Seed Health Testing Methods. Field Crops. Maize. p. 90. https://www.aphis.usda.gov/plant_health/acns/downloads/seedhealthprogram/ref-man-b.pdf
- USDA 2017.** World agricultural supply and demand estimates. Wasde -568. Aug. 10. <https://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf>
- Vassiljevsky N.I., Karakulin B.P. 1950.** Fungi Imperfecti Parasitici Pars. II. Melanconiales. Leningrad, 680 pp.
- Vega J., Owen M., Pitty A. 1995.** Organisms associated with johnsongrass [*Sorghum*

- halepense* (L.) Pers.] in Honduras. CEIBA 36(2):189-195.
- Velasco V.A.V. 1999.** Papel de la nutrición mineral en la tolerancia a las enfermedades de las plantas. <https://chapingo.mx/terra/contenido/17/3/art193-207.pdf>
- Velazquez P.D., Formento A.N., Penco R. 2014.** Comportamiento de híbridos de maíz de siembra tardía a enfermedades foliares. Ciclo agrícola 2013/14. Revista Técnica Siembra Directa Maíz. Aapresid julio 2014. p. 76-79.
- Vincelli P.C., Hershman D.E. 1993.** Kentucky plant disease management guide for corn and sorghum. PPA-10a. Coop. Ext. Service. University of Kentucky.
http://uknowledge.uky.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1063&context=anr_reports
- Vincelli P., Tisserat, N. 2008.** Nucleic acid-based pathogen detection in applied plant pathology. Plant Disease 92:660-669.
- Von Arx J.A. 1970.** A revision of the fungi classified as *Gloesporium*. Bibliotheca Mycologia 24. 203 pp.
- Walters D.R., Havis N.D., Oxley S.J.P. 2008.** *Ramularia collo-cygni*: the biology of an emerging pathogen of barley. FEMS Microbiology Letters. 279 (1):1-7.
- Wang H., Xiao Z.X., Wang F.G., Xiao Y.N., Zhao J.R., Zheng Y.L., Qiu F.Z. 2012.** Mapping of *HtNB*, a gene conferring non-lesion resistance before heading to *Exserohilum turcicum* (Pass.), in a maize inbred line derived from the Indonesian variety Bramadi. Genetics and Molecular Research 11 (3):2523-2533.
- Wani T.A. 2015.** Status and management of turcicum leaf blight of maize [*Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard and Suggs.] in Kashmir Valley. Thesis. Faculty of Agriculture Sher-e-Kashmir University of Agricultural Sciences & Technology of Kashmir. India. 150 pp.
- Warhman E.J., Butler L.D., Sutton R.C. 1997.** Seed Testing of Maize and Wheat. A Laboratory Guide. CIMMYT. 84 pp. <http://libcatalog.cimmyt.org/download/cim/63511.pdf>
- Wathaneeyawech S., Sirithunya P., Smitamana P. 2015.** Study of the host range of northern corn leaf blight disease and effect of *Exserohilum turcicum* toxin on sweet corn. Journal of Agricultural Technology 11:953-963. <http://www.ijat-aatsea.com>
- Weikert-Oliveira R.C.B., Resende M.A., Valério H.M., Caligiorne R.B., Paiva E. 2002.** Genetic variation among pathogens causing “Helminthosporium” diseases of rice, maize and wheat. Fitopatología Brasileira 27:639-643.
- Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V. 1990.** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18: 6531 – 6535.

Wise K. 2011. Diseases of corn. Northern corn leaf blight. Purdue Extension. BP-84-W. <http://www.extension.purdue.edu/extmedia/BP/BP-84-W.pdf>

Xue C., Wu D., Condon B.J., Bi Q., Wang W., Turgeon B.G. 2013. Efficient gene knock out in the maize pathogen *Setosphaeria turcica* using *Agrobacterium tumefaciens* – mediated transformation. *Phytopathology* 103:641-647.

Zalar P., Gostinčar C., Hoog G.S., Uršič V., Sudhadham M., Gende-Cimerman N. 2008. Redefinition of *Aureobasidium pullulans* and its varieties. *Studies in Mycology* 61:21-38. Doi: 103114/sim. 2008.61.02

Zeiders K.E. 1980. A variable-spore isolate of *Drechslera dactylidis* pathogenic on orchardgrass and corn. *Plant Dis.* 64:211-213.

Zitter T. 2005. A checklist of sweet corn diseases and suggested control measures. http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/CornDiseases_News.htm

ANEXO

Medios de cultivo utilizados en la caracterización de los hongos *Kabatiella zaeae* y *Exserohilum turcicum*

Medios nutritivos	Preparación
AA 3% - agar agua	30 g agar, 1000 mL AD
AAv – agar avena	30 g avena arrollada, 15 g agar y 1000 mL AD
AC – agar colza	decocción de 200 g granos colza, 20 g agar y 1000 mL AD
ACV – agar caldo de verduras	caldo de verduras sin sal, 17 g agar y 800 mL AD
AET – agar extracto de tomate	25 g puré de tomates, 20 g agar y 1000 mL AD
AGMz – agar granos de maíz	5-6 granos de maíz esterilizados en autoclave dentro de una caja de Petri, más APG 2%
AHM – agar harina de maíz	40 g harina de maíz, 20 g agar y 1000 mL AD
AL – agar lenteja	decocción de 200 g de lentejas previamente remojadas 12 h en agua, 17 g agar y 800 mL AD
AM - agar malta	20 g extracto de malta, 20 g agar y 1000 mL AD
APG – agar papa glucosado	20 g de agar papa glucosado y 1000 mL AD
APG acidificado – agar papa glucosado acidificado	APG más ácido láctico 25%
AV8 - agar jugo 8 vegetales	200 mL de jugo V8, 3 g CaCO ₃ , 17 g agar y 800 mL AD
Czapek Dox – agar Czapek Dox	2 g nitrato sódico, 0,5 g cloruro potásico, 0,5 g sulfato magnésico, 0,01 g sulfato ferroso, 1,0 g fosfato dipotásico, 30 g sacarosa, 12 g agar y 1000 mL AD
LCHA – agar lactosa caseína hidrolizada	37,5 g lactosa, 3 g caseína hidrolizada, 0,5 g de MgSO ₄ 7 H ₂ O, 10 g agar, 2 mL de solución de microelementos [439,8 mg ZnSO ₄ 7H ₂ O, más 203 mg MnSO ₄ H ₂ O 723,5 mg Fe (NO ₃) 9H ₂ O en 1 L agua] en 1 L agua (Sosa-Moss et al., 1997).
ME - medio ecológico	50 granos de maíz sin tegumentos (extraídos con agua caliente), molidos y agarizados al 2% (com. pers. Dra. Lurá, FCByN - UNL)
MLC – medio líquido	20 g glucosa, 5 g extracto de levadura, 1 g NH ₄ H ₂ PO ₄ , 0,2 g KCl, 0,2 g MgSO ₄ .7H ₂ O, 1 mL de una solución de ZnSO ₄ .7H ₂ O al 0,1%, 1 mL de una solución CuSO ₄ .5H ₂ O al 0,5% y 1000 mL de AD. Todo mezclado, disuelto y esterilizado a 115 °C durante 25 minutos (com. pers. Dra. Lurá, FCByN - UNL).
SNA – agar Spezieller Nährstoffarmer	1 g KH ₂ PO ₄ , 0,5 g KCl, 0,2 g glucosa, 0,2 g sacarosa, 20 g agar y 1000 mL AD
YGCA – agar extracto de levadura más cloranfenicol	5 g extracto de levadura, 20 g glucosa, 0,1 g cloranfenicol, 15 g agar y 1000 mL AD