



Reducción de la fertilización sintética con composta y optimización del riego sobre la pudrición del tallo (*Fusarium spp*) del maíz

Synthetic fertilization reduction with compost and irrigation optimization on maize stem rot (*Fusarium spp*)

Blanca E. López Valenzuela¹; Adolfo D. Armenta B.²; Miguel A. Apodaca S.¹; Jesús del Rosario Ruelas I.¹; Cesar A. Palacios Mondaca¹; Fernando A. Valenzuela Escoboza¹

¹ Universidad Autónoma de Sinaloa. Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte. Calle 16 y Av. Japaraquí, Juan José Ríos, C.P 81110. Ahome, Sinaloa, México.

² CIIDIR-IPN. Instituto Politécnico Nacional. Centro interdisciplinario de investigación para el desarrollo integral regional. Boulevard Juan de Dios Batiz paredes #250. Colonia San Joaquín. Guasave, Sinaloa, México.

Recibido 12 julio 2014. Aceptado 21 septiembre 2014.

Resumen

El maíz es el cultivo agrícola de grano más importante de México por ser sembrado con mayor superficie y ser la base de la alimentación en toda la nación siendo Sinaloa el principal productor. La siembra repetitiva del cultivo efectuada a través de los años, ha favorecido la proliferación de enfermedades como la pudrición de tallos y la pudrición de mazorcas, atribuidas principalmente a *Fusarium spp*, las cuales representan un potencial de riesgo y han alertado al productor a poner mucha atención en el manejo del cultivo. Con el objetivo de evaluar el efecto de la fertilización sintética con composta y riego sobre la pudrición de tallos y mazorcas de maíz en el Valle del Fuerte; experimentos de campo se condujeron en el ciclo agrícola primavera-verano 2009 en el INIFAP. El experimento fue diseñado en parcelas divididas en bloques completos al azar con tres repeticiones; al final del ciclo se encontró que no hubo diferencias significativas del factor fertilización y riego respecto al rendimiento así como las variables fenológicas evaluadas. La incidencia de pudrición de tallos evaluada a los 53 días después de la siembra fue de 100%. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas en cuanto a la severidad de mazorcas podridas donde se aplicaron menos riegos. Finalmente, el estudio morfológico mostro que el principal agente asociado en pudrición de tallos fue *Fusarium verticillioides* y en cuanto a pudrición de mazorcas se detectó una mayor diversidad de agentes asociados tales como *Apergillus spp*, *Penicillium pinophilum*, y con mayor incidencia *Fusarium verticillioides*.

Palabras clave: incidencia, severidad, pudrición de tallo/mazorca, fertilización.

Abstract

Maize is the most important grain crop in Mexico due to the largest area grown and as the main source of feeding nationwide; being Sinaloa de major producer. The same crop over repeated seasons has favored disease proliferation of stem and ear rot mainly attributed to *Fusarium spp* which represents a risk potential so that growers are warned to pay close attention to crop management. With the purpose of evaluating the effect of synthetic fertilization with compost and irrigation on maize stem and ear rot at Valle del Fuerte. Field experiments were conducted in the growing season of 2009 at INIFAP. The experiments were arranged under a split plot in randomized complete block design with three replicates. At the end of the season, it was found that fertilization or irrigation by themselves did not have any significant effect in yield and phenology variables evaluated. However, incidence on stem rot which was evaluated at 53 days after planting was that of 100%. Moreover, there were significant differences regarding severity of rotten ears when less irrigation was applied. Finally, morphological study showed that the main agent associated in maize stem rot was *Fusarium verticillioides*. In contrast to that of ear rot that the main agents involved were *Apergillus spp*, *Penicillium pinophilum*, and with a higher incidence was *Fusarium verticillioides*.

Keywords: Incidence, severity, stem rot, ear rot, fertilization.

* Autor para correspondencia

E-mail: blancavzla.18@uas.edu.mx (B. López).

1. Introducción

El maíz (*Zea mays* L.) es el cereal más ampliamente distribuido a nivel mundial ocupando la tercera posición en producción, seguido por el trigo y el arroz (SIACON, 2007; Figueroa *et al.*, 2010; Oropeza *et al.*, 2004.). En México, la superficie dedicada al cultivo del maíz se ha reducido en los últimos años, con pérdidas de alrededor del 30%, debido principalmente a la falta de abastecimiento hídrico necesario para el desarrollo del cultivo (SIAP/SAGARPA, 2010). Otros factores limitantes son las enfermedades causadas por patógenos como *Fusarium spp.* A nivel mundial, esta especie causa pudrición de mazorca y tallo, así como tizón en las plántulas (CIMMYT, 2004). Además de causar efectos negativos en la producción y calidad de la semilla, el hongo es de gran importancia por la producción de micotoxinas como las fumonisinas B1 y B2 que tienen efectos tóxicos cuando son consumidos por animales y humanos (Vigier *et al.*, 1997; Levin *et al.*, 2003; Bush *et al.*, 2004; Ariño *et al.*, 2009).

En el maíz, la pudrición de tallo y mazorca está asociado con *F. verticillioides* (=moniliforme) Sheld y *F. graminearum* Schwabe. Sin embargo, la incidencia de enfermedades está relacionada con la susceptibilidad intrínseca de algunos materiales de maíz, el manejo del riego y fertilización como un bajo nivel de potasio en relación al nitrógeno, heridas mecánicas o por insectos y las condiciones ambientales (sequía, altas temperaturas y extensos períodos nublados) a las que se exponen las plantas durante su desarrollo (González *et al.*, 2007; De Souza, 2007; Plantpro, 2010). El manejo de esta enfermedad requiere la rotación de cultivos, incorporación de materia orgánica como compostas y antagonistas al suelo como el hongo *Trichoderma*.

Ireta-Moreno *et al.* (2006) realizaron un muestreo aleatorio en lotes de la región del Bajío (Jalisco, Michoacán y Guanajuato) donde encontraron una epidemia de esta

enfermedad estimando que los periodos prolongados de sequía en la época previa y durante la floración del maíz aumentó la incidencia de la pudrición de tallos.

Abd El-Rahim *et al.* (1998), evaluaron la planta de maíz con diferentes sistemas y láminas de riego y encontraron que bajo condiciones de estrés hídrico se incrementó la severidad de la marchitez tardía por *Cephalosporium maydis*. No obstante, Solano *et al.* (2011) evaluaron la pigmentación de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) como factor de virulencia en plántulas de maíz donde encontraron que los aislamientos obtenidos de semillas sintomáticas y asintomáticas fueron patógenos, el de color morado de semillas sintomáticas fue más virulento que el blanco, caso contrario en semillas asintomáticas, donde el blanco fue más virulento; indicando con ello la gran susceptibilidad de las plantas a pudrición de tallos y/o mazorcas.

En otros estudios Peiretti *et al.* (2007) caracterizaron la variabilidad genética de caracteres de mazorca y su susceptibilidad a la pudrición por *Fusarium verticillioides* (Sacc.) indicando que una mayor longitud de brácteas y un mayor volumen de granos disminuyó significativamente el grado de susceptibilidad y que los valores de heredabilidad entre híbridos resistentes fueron bajos ($h^2=0,0675$).

Con el propósito de buscar alternativas sostenibles de manejo que minimicen el impacto negativo de los patógenos los objetivos principales de este estudio consistieron en: 1) evaluar el efecto de la fertilización sintética y composta en la pudrición de tallos y rendimiento de grano en el cultivo de maíz; 2) evaluar la pudrición de tallos de maíz respecto al número de riegos; 3) determinar las especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de tallos de maíz; 4) evaluar el efecto de la fertilización sintética, composta y número de riegos sobre la pudrición de mazorcas en el cultivo de maíz.

2. Material y métodos

El trabajo se realizó durante el ciclo agrícola Primavera-Verano 2009 en el Campo Experimental del Valle del Fuerte del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), norte de Sinaloa ($25^{\circ} 45' 49''$ Latitud Norte y $108^{\circ} 51' 41''$ Longitud Oeste) con una altura de 32 metros sobre el nivel del mar (Figura 1). La temperatura media anual es de 25°C con máximas de 43°C , que generalmente se presentan en agosto y septiembre y mínimas hasta de 2°C que se registran en enero. Los suelos de esta zona son de textura arcillosa localizados en la parte central del distrito de riego 075 Río Fuerte colindando con los distritos de 063 Guasave y 076 Valle del Carrizo.

Se realizaron dos muestreos de suelo; el primero previo a la siembra, el segundo después de cosechado el cultivo de maíz. En cada muestreo se procedió a tomar una cantidad aproximada a 1 kg de suelo, específicamente al lateral del lomo del surco. Las características físicas y químicas de cada muestra, se determinaron mediante los criterios establecidos en la Norma Oficial Mexicana (NOM-021-RECNAT-2000). Las determinaciones realizadas a las muestras de suelo se realizaron en igualdad de condiciones a la muestras de composta, excepto textura.

La preparación del terreno se realizó, de acuerdo a la tecnología utilizada por los productores de maíz en la región, la cual

consistió en barbecho, rastreo cruzado, marca de surcos, riego de asiento (por gravedad); después de la aplicación del riego de asiento se dieron dos pasos de rastra para la eliminación de maleza y preparación de cama de siembra.

La fertilización se realizó en dos aplicaciones, la primera dosis de $160\text{ kg de nitrógeno ha}^{-1}$, empleando como fuente nitrogenada úrea y $52\text{ kg de fósforo ha}^{-1}$. La segunda consistió en una dosis de $160\text{ kg de nitrógeno ha}^{-1}$, esto con la finalidad de completar la dosis referente a $320\text{ kg de nitrógeno por hectárea}$ en base al análisis previo del suelo. Para la siembra se utilizó semillas del híbrido Bisonte® de ASGROW. Se depositaron siete semillas por metro lineal, al lomo del surco húmedo, en hilera simple, a 80 cm entre surcos. Se alcanzó una densidad de siembra aproximada a 90 mil plantas/ha.

El diseño del experimento consistió en parcelas divididas en bloques al azar con tres repeticiones (Figura 2). Se establecieron 14 tratamientos, producto de la combinación de dos factores: riego y fertilización. Se probaron cinco y seis riegos de auxilio y estos se calendarizaron en base a la etapa fenológica del cultivo; en combinación con fertilización química convencional (320 kg ha^{-1} de N a base de urea); la combinación de una dosis media (256 kg ha^{-1} de N) o baja de N (208 kg ha^{-1} de N) con tres dosificaciones de lombricomposta: 1, 2 y 3 t ha^{-1} (Tabla 1).

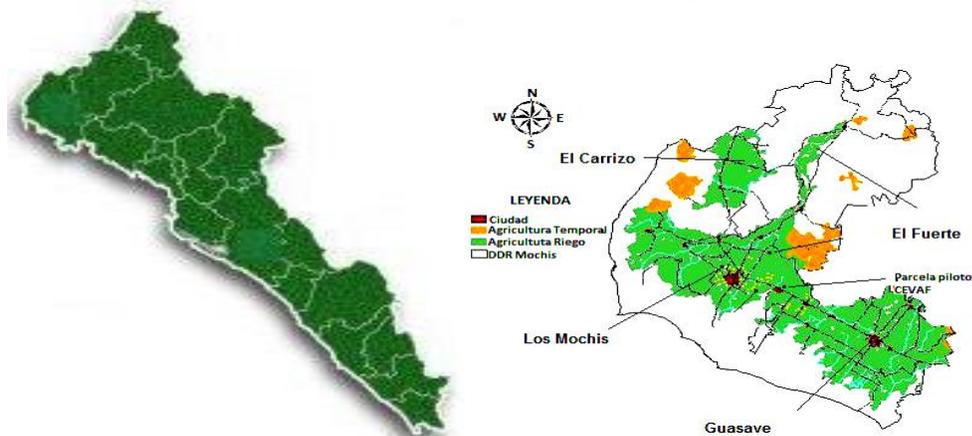


Figura 1. Localización del área de estudio.



Figura 2. Distribución de tratamientos en el sitio experimental.

Tabla 1
Tratamientos a comparar en el experimento

Factor riego	Factor fertilización	
	Nitrógeno sintético (kg ha ⁻¹) ⁺	Lombricomposta (t ha ⁻¹)
5 riegos de auxilio	320	0,0
	256	1,0
6 riegos de auxilio	256	2,0
	256	3,0
	208	1,0
	208	2,0
	208	3,0

El área de cada unidad experimental estuvo representada por cuatro surcos, cada uno de 0,80 m por 10 m. Cada parcela experimental consistió de 32 m² de área total, de los cuales 11,2 m² representaban la parcela útil.

La preparación del inoculo se realizó en el Laboratorio de Fitopatología de la ESAVF-UAS. El hongo se sembró inicialmente (a partir de inoculo mantenido en tubos con arena esterilizada) en medio papa-dextrosa-agar+ ampicilina 100 ppm. El hongo se dejó crecer por una semana a temperatura ambiente (aproximadamente 20-28 °C). El sustrato se preparó con anticipación, triturando el maíz en un

molino doméstico común, luego se humedeció durante 24 horas; se sometió a autoclave a 120°C y se dejó enfriar al ambiente, antes de inocularlo en condiciones asépticas.

En la campana de flujo laminar, cada bolsa con 1,5 kg de grano, se inoculó con cinco rodajas de *F. verticillioides*. Las bolsas se agitaron para dispersar los conidios sobre el sustrato y después de cerrarlas se incubaron durante 20 días a temperatura ambiente. Una vez que el grano fue colonizado, a los 20 días de incubación, el inoculo de las bolsas se vació en charolas de plástico y se secó a la sombra a temperaturas de aproximadamente 28 °C.

Por último la aplicación del inoculo en campo, consistió en esparcirlo de forma manual, específicamente sobre el lomo del surco, en cada una de las unidades experimentales. El inoculo se tapó de inmediato, con el mismo suelo utilizando un azadón.

La lombricomposta fue proporcionada por un productor cooperante y se obtuvo a partir de estiércol de borrego sometido a lombriz californiana (*Eisenia foétida*). La composta se aplicó de forma localizada a un costado del surco, en una zanja superficial trazada con un azadón,

posteriormente se cubrió con el mismo suelo.

En cada una de las 42 unidades experimentales, se seleccionaron cinco plantas al azar por cada repetición donde se estimó la altura total de la planta con relación al suelo mediante un estadal graduado. Este parámetro se midió a los 52 días después de la siembra (dds) y en la etapa de maduración a los 119 dds. Posteriormente, se midieron 5 plantas al azar y se calculó el promedio del grosor total de tallo de la planta; este parámetro se evaluó mediante un vernier. La altura de mazorca se estimó tomando los datos de tres plantas al azar y se calculó el promedio de la altura de la primera mazorca. Para el cálculo de número de hojas se tomaron datos en tres plantas al azar igualmente y se realizó el promedio.

El análisis foliar de nutrimentos se hizo en el Laboratorio de Nutrición Vegetal perteneciente al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional del Instituto Politécnico Nacional (CIIDIR-IPN). El material vegetal se colectó a los 79 dds. Se tomaron muestras de hojas en cinco plantas al azar de cada una de las unidades experimentales; en cada planta se cortó una hoja ubicada en V6 del lado opuesto de la mazorca. Las muestras foliares fueron lavadas para eliminar las impurezas y después se secaron a temperatura ambiente; luego se metieron en un horno de secado a temperatura de 55° C durante 72 horas. Cada muestra seca, se procesó por medio de un molino eléctrico con una malla de 40 cavidades. Este material se utilizó para el análisis foliar con el fin de determinar la concentración de nitrógeno total, fósforo total, potasio y microelementos (Fe, Zn, Mn y Cu).

Para evaluar la severidad de pudrición de tallos se realizaron dos monitoreos: el primero a los 53 dds y el segundo a los 145 dds seleccionando cinco plantas al azar del primer y cuarto surco y cada planta se cortó desde raíz. Las muestras se colocaron en bolsas de plástico y fueron llevadas al

Laboratorio de fitopatología para su análisis. Los tallos se cortaron longitudinalmente para observar si presentaban daño en el sistema vascular, con el fin de calcular la incidencia de pudrición de tallos y estimar su severidad.

Para estimar la severidad de la pudrición de tallos, en los dos muestreos, se utilizó la escala utilizada por la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte (JLSVVF, 2008). Al momento de la cosecha se estimó la incidencia y severidad de mazorcas podridas al total de mazorcas cosechadas, alrededor de 70-80 mazorcas por parcela útil y para medir la severidad de mazorcas podridas se utilizó la escala reportada por Briones (2007).

La incidencia de hongos asociados a la semilla de maíz se realizó en el mismo laboratorio donde se determinó la incidencia a cada muestra de semilla mediante la técnica de papel secante y congelación, descrita como una de las adecuadas por el Centro de Mejoramiento del Maíz y Trigo (CIMMYT) para este tipo de estudios (Warham *et al.*, 1997). A partir del grano cosechado se analizó una submuestra de 40 semillas; éstas se sumergieron durante 3 minutos en una solución de hipoclorito de sodio (Cloralex® 5,25% de cloro activo) al 2% y se dio un triple lavado con agua destilada estéril.

Las semillas se secaron con servilletas de papel esterilizadas y se colocaron sobre papel secante húmedo, en charolas de plástico transparente con medidas de 6 x 10 cm. Dichas semillas se incubaron por dos días a temperatura ambiente para propiciar la germinación de la semilla; posteriormente se colocaron en el congelador de uso doméstico a - 4° C, durante 24 horas para inactivar el embrión de la semilla. Finalmente, las charolas se incubaron durante 10 días a temperatura ambiente (18-22 °C) para que se desarrollaran los hongos presentes en la semilla, mismos que se hallaban en la mazorca.

A los diez días de incubación, se procedió a identificar a cada una de las colonias de

los diferentes géneros, bajo microscopio compuesto a 10 X y 40 X, con la ayuda de las claves propuestas por CIMMYT (Warham *et al.*, 1997). Esta identificación preliminar de las colonias, permitió diferenciar a los granos que estaban infectados por *Fusarium* spp., ya que era el hongo de mayor interés en este trabajo.

La Preservación de aislados de *Fusarium* spp se realizó a partir de los granos que presentaban desarrollo de colonias fúngicas, se tomaron pequeños trozos de micelio y esporas, que se sembraron en medio de cultivo agua-agar + ampicilina (100 ppm). Se consideraron cinco aislados de cada tipo de colonia por muestra. Una vez que las colonias crecieron, en el agua-agar, se purificaron en medio de cultivo papa-dextrosa-agar. Los aislados purificados se preservaron en tubos con arena de río esterilizada, para la confirmación definitiva de la identidad a nivel de género o de especie, mediante métodos morfológicos y moleculares.

Posteriormente, se realizó la identificación morfológica de 70 aislados a nivel género utilizando el manual de Barnett y Hunter (1998); mientras que la identificación a nivel especie se sustentó en los criterios de Booth (1971), así como en los de Leslie y Summerell (2006). A partir de los aislados de *Fusarium* spp preservados en tubos con arena, se espolvoreó inóculo en placas petri con distintos medios de cultivo para favorecer el crecimiento de diversas estructuras, que ayudarían a identificar las especies asociadas a la pudrición de tallo y semilla.

Los medios utilizados fueron: papa-dextrosa-agar (PDA), hojas de clavel-agar (Carnation Leaf Agar, CLA) y hojas de clavel-agar + Cloruro de Potasio (CLA+KCl). El medio PDA se utilizó como un medio estándar para determinar el color de la colonia. Las placas sembradas se mantuvieron a temperatura ambiente (18-22 °C) durante 20 días y al término de los cuales se evaluó el color de la colonia y la formación de clamidosporas.

El medio CLA, se utilizó para observar la formación de macro y microconidios; luego se cortaron trozos de hojas $\pm 6 \text{ cm}^2$. Las hojas de clavel se lavaron con detergente y agua abundante; se deshidrataron en un horno, durante 30 min y enseguida se envolvieron en papel aluminio y se esterizaron en una autoclave (120 °C por 15 min). Se preparó la media base (Agar-Agua) y se vació sobre las placas petri cuando se encontraba a 40°C aproximadamente. Los trozos de hoja de clavel tomados con unas pinzas esterilizadas se depositaron sobre la superficie del medio al estar semi-gelificado. Después se espolvoreó la arena con inóculo para inducir el crecimiento del hongo y transcurridos 15 días se revisaron los cultivos con el fin de observar las características de los micro y macroconidios con el auxilio de un microscopio de luz compuesto.

El análisis de identificación molecular se realizó en el Laboratorio de Ecología Molecular de la Rizósfera, del CIIDIR-IPN. Los aislados preservados en arena, fueron sembrados sobre medio de cultivo PDA. A los 15 días después de la siembra del hongo en las placas y cuando las colonias estaban bien desarrolladas se procedió a extraer el ADN.

La extracción del ADN genómico se realizó utilizando el método del DNAzol (Invitrogen Cat. No. 10503-027) siguiendo las recomendaciones del fabricante con algunas modificaciones. La Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó en un termociclador BIORAD (My Cycler thermal cycler).

Las condiciones de electroforesis fueron 90 V por 40 min y el gel fue visualizado con luz UV en un fotodocumentador CHEMIDOC UNIVERSAL HOOD II de BIORAD. La purificación del ADN se realizó siguiendo las recomendaciones del fabricante utilizando el kit QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN cat 28106); así como la cuantificación de ADN utilizando el kit Quant-iT™ dsDNA HS (Invitrogen, EUA, cat Q32854).

Para el Análisis de las secuencias, se enviaron las muestras al Laboratorio de Secuenciación de Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV-Irapuato) y una vez que estas se determinaron se comparó su homología con las de la base de datos del GenBank utilizando el programa Blast del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

La cosecha se realizó de forma manual y el mismo día se estimó la humedad a los granos. Con este dato se calculó el rendimiento por hectárea ajustando el resto de humedad a hasta un 14% en todas las unidades experimentales. Las mazorcas se desgranaron en forma mecánica. La humedad del grano fue determinada con el equipo Moisture Chek Plus™. En cada tratamiento el tamaño de la parcela útil fue de 7 m de largo por 1,60 m de ancho de la cama de siembra, en cada repetición se cosecharon los dos surcos centrales.

En cuanto al peso específico del grano, el procedimiento consistió en seleccionar 1000 semillas de cada una de las unidades experimentales y posteriormente se pesaron en una balanza granataria para reportar cada uno de los datos en unidades por gramo.

3. Resultados y discusión

El análisis de suelo previo a la siembra realizado a la muestra indicó una textura arcillosa con valor de pH neutro, con

contenido de sales dentro de los parámetros estándar de un suelo de barrial, materia orgánica baja y las demás propiedades se presentaron en rango normal representativo de los suelos de barrial de la región.

En relación con los resultados del análisis de suelo realizado cuando el cultivo ya había sido cosechado se encontró que solamente para el factor riego, se presentaron diferencias significativas (ANOVA; $p \leq 0,05$) en el pH, obteniendo el valor mayor 6,8 en el nivel con menos humedad del suelo (5 riegos) y el valor menor 6,6 con mayor humedad del suelo (6 riegos). En cuanto a las demás propiedades no se presentaron diferencias significativas en ninguno de los factores (Tabla 2).

El análisis realizado a la muestra de composta, indicó un pH ligeramente alcalino, una alta conductividad eléctrica y salinidad; una alta concentración de materia orgánica y fósforo así como una alta capacidad de intercambio catiónico.

La evaluación de variables de crecimiento de la planta realizada a los 52 dds, indicó que no existen diferencias significativas (ANOVA; $p \leq 0,05$) en cuanto a la altura de planta ni tampoco en el grosor de tallo como lo muestra la tabla 3.

En la etapa de maduración se presentaron diferencias significativas (ANOVA; $p \leq 0,05$) en el riego y fertilización, solamente en el número de hojas.

Tabla 2

Resultado del análisis químico del suelo después de cosechado el cultivo de maíz

Efecto Principal	pH	CE ds m ⁻¹	MO %
Riego 6	6,6 b	0,09 a	1,3 a
Riego 5	6,8 a	0,08 a	1,2 a
320 kg N ha ⁻¹ + 0 t ha ⁻¹ Composta	6,7 a	0,09 a	1,3 a
256 kg N ha ⁻¹ + 1 t ha ⁻¹ Composta	6,7 a	0,08 a	1,3 a
256 kg N ha ⁻¹ + 2 t ha ⁻¹ Composta	6,8 a	0,08 a	1,2 a
256 kg N ha ⁻¹ + 3 t ha ⁻¹ Composta	6,7 a	0,10 a	1,3 a
208 kg N ha ⁻¹ + 1 t ha ⁻¹ Composta	6,8 a	0,07 a	1,3 a
208 kg N ha ⁻¹ + 2 t ha ⁻¹ Composta	6,6 a	0,10 a	1,3 a
208 Kg N ha ⁻¹ + 3 t ha ⁻¹ Composta	6,7 a	0,07 a	1,2 a

Medias con letras iguales dentro de cada columna y de cada factor son iguales según Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabla 3

Efectos principales de riego y fertilización en la altura de planta y grosor de tallo

Efecto Principal	Altura de Grosor	
	planta (m)	de tallo (cm)
Riego 6	1,50 ^a	2,62 ^a
Riego 5	1,53 ^a	2,60 ^a
320 kg N ha ⁻¹ + 0 t ha ⁻¹ Composta	1,53 ^a	2,61 ^a
256 kg N ha ⁻¹ + 1 t ha ⁻¹ Composta	1,52 ^a	2,64 ^a
256 kg N ha ⁻¹ + 2 t ha ⁻¹ Composta	1,48 ^a	2,60 ^a
256 kg N ha ⁻¹ + 3 t ha ⁻¹ Composta	1,47 ^a	2,56 ^a
208 kg N ha ⁻¹ + 1 t ha ⁻¹ Composta	1,54 ^a	2,69 ^a
208 kg N ha ⁻¹ + 2 t ha ⁻¹ Composta	1,54 ^a	2,55 ^a
208 kg N ha ⁻¹ + 3 t ha ⁻¹ Composta	1,51 ^a	2,61 ^a

En el nivel de 6 riegos se obtuvo significativamente un mayor número de hojas (15,55) que con 5 riegos (15,31). En

la fertilización, las dosis 256 kg N/ha + 1 t/ha de composta y 256 kg de N/ha + 2 t/ha de composta expresaron diferencias significativas (ANOVA; $p \leq 0,05$) respecto a la dosificación 208 kg de N/ha + 2 t/ha de composta; no se detectaron diferencias con los demás niveles de fertilización; tampoco se presentaron interacciones en los factores respecto al número de hojas (Tabla 4). En relación con las variables altura de planta, grosor de tallo y altura de mazorca, no se presentaron diferencias significativas para los factores estudiados, ni en las interacciones (Tabla 4), esto indica que la composta aplicada, compensó la fertilización nitrogenada sintética, aun en los tratamientos con menor aplicación de nitrógeno.

Tabla 4

Efectos principales del riego y fertilización sobre variables de crecimiento

Efecto Principal	Altura de planta (m)	Grosor de tallo (cm)	Altura de mazorca (m)	Número de hojas
Riego 6	2,62 ^a	2,62 ^a	1,49 ^a	15,55 ^a
Riego 5	2,57 ^a	2,66 ^a	1,49 ^a	15,31 ^b
320 kg N ha ⁻¹ + 0 t ha ⁻¹ Composta	2,62 ^a	2,62 ^a	1,50 ^a	15,37 ^{ab}
256 kg N ha ⁻¹ + 1 t ha ⁻¹ Composta	2,55 ^a	2,59 ^a	1,44 ^a	15,53 ^a
256 kg N ha ⁻¹ + 2 t ha ⁻¹ Composta	2,62 ^a	2,65 ^a	1,51 ^a	15,63 ^a
256 kg N ha ⁻¹ + 3 t ha ⁻¹ Composta	2,57 ^a	2,66 ^a	1,46 ^a	15,40 ^{ab}
208 kg N ha ⁻¹ + 1 t ha ⁻¹ Composta	2,61 ^a	2,77 ^a	1,51 ^a	15,40 ^{ab}
208 kg N ha ⁻¹ + 2 t ha ⁻¹ Composta	2,59 ^a	2,60 ^a	1,53 ^a	15,20 ^b
208 kg N ha ⁻¹ + 3 t ha ⁻¹ Composta	2,60 ^a	2,60 ^a	1,48 ^a	15,50 ^{ab}

Medias con letras iguales dentro de cada columna y de cada factor son iguales según Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabla 5

Efectos principales del riego y fertilización sobre la concentración de nutrimentos en el follaje del cultivo de maíz

Efecto Principal	N %	P ppm	K Cmol ⁺ kg ⁻¹	Ca Cmol ⁺ kg ⁻¹	Mg ppm	Fe ppm	Mn ppm	Zn ppm	Cu ppm
Riego (6)	3,1 b	0,34 b	2,29 a	0,49 b	0,50 a	330 a	88 a	33 a	23 a
Riego (5)	5,2 a	0,35 a	2,27 a	0,65 a	0,52 a	342 a	82 a	25 a	22 a
320 N	4,5 a	0,33 a	2,20 a	0,43 a	0,48 a	321 a	96 a	11 a	30 a
256 N + 1 C	3,3 a	0,33 a	2,35 a	0,66 a	0,52 a	319 a	86 a	14 a	21 a
256 N + 2 C	6,2 a	0,36 a	2,38 a	0,53 a	0,51 a	319 a	93 a	52 a	28 a
256 N + 3 C	2,7 a	0,35 a	2,40 a	0,62 a	0,54 a	334 a	82 a	33 a	22 a
208 N + 1 C	2,7 a	0,34 a	2,18 a	0,56 a	0,49 a	332 a	74 a	39 a	27 a
208 N + 2 C	5,0 a	0,36 a	2,23 a	0,68 a	0,53 a	379 a	82 a	11 a	17 a
208 N + 3 C	4,3 a	0,34 a	2,20 a	0,49 a	0,47 a	348 a	81 a	42 a	13 a

Medias con letras iguales dentro de cada columna y de cada factor son iguales según Tukey ($p \leq 0,05$).

En cuanto al análisis de concentración de nutrimentos, se presentaron diferencias significativas (ANOVA; $p \leq 0,05$) en el número de riegos pero no en la fertilización como lo muestra la Tabla 5. En la primera evaluación de la incidencia de la pudrición de tallos realizada los 53 dds fue de 100 %, en base a la escala de severidad (0 – 6), todas las plantas muestreadas presentaron el grado 1 (daño a la corona de raíz). Los resultados de la segunda evaluación realizada a los 145 dds, muestran que en el riego se presentaron diferencias significativas (ANOVA; $p \leq 0,05$) entre los tratamientos;

en el nivel con menor humedad del suelo (5 riegos) se encontró mayor severidad y la menor severidad se presentó en el nivel con mayor humedad (6 riegos) (Figura 2). Esto sugiere que el estrés hídrico favoreció la pudrición de tallos coincidiendo con lo reportado por Ireta-Moreno *et al.* (2006) y Abd El Rahim *et al.* (1998). Sin embargo, la incidencia de mazorcas podridas, fue significativamente mayor con 5 riegos y para en la fertilización no hubo diferencias significativas (ANOVA; $p \leq 0,05$) en los niveles estudiados como lo muestran las figuras 2 y 3.

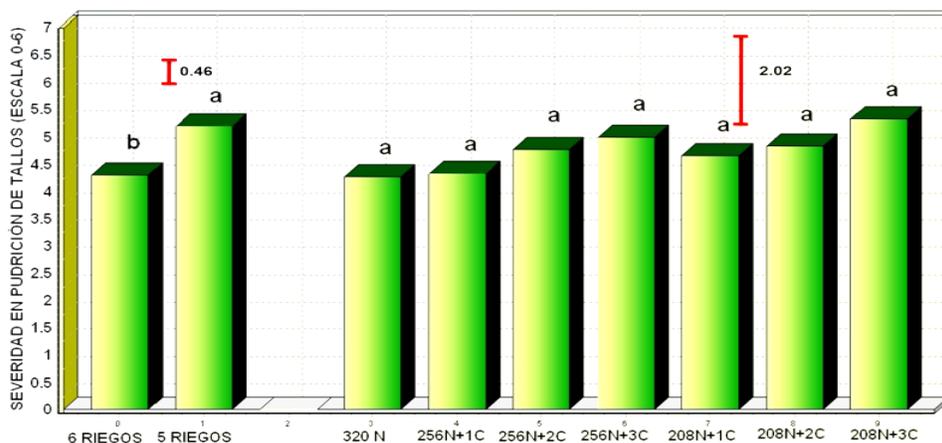


Figura 2. Efecto principal del riego y fertilización sobre la severidad de la pudrición de tallos. Medias con letras iguales no presentan diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0,05$).

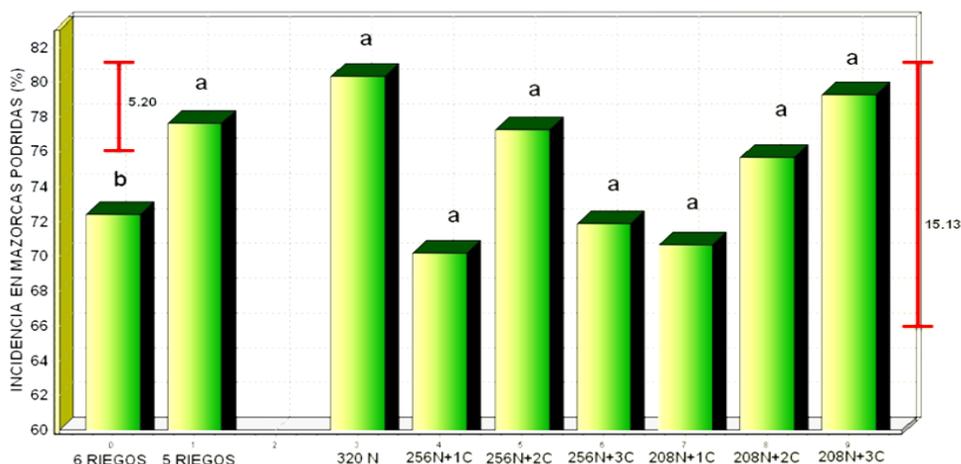


Figura 3. Efecto principal del riego y fertilización sobre la incidencia de la pudrición de la mazorca. Medias con letras iguales no presentan diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0,05$).

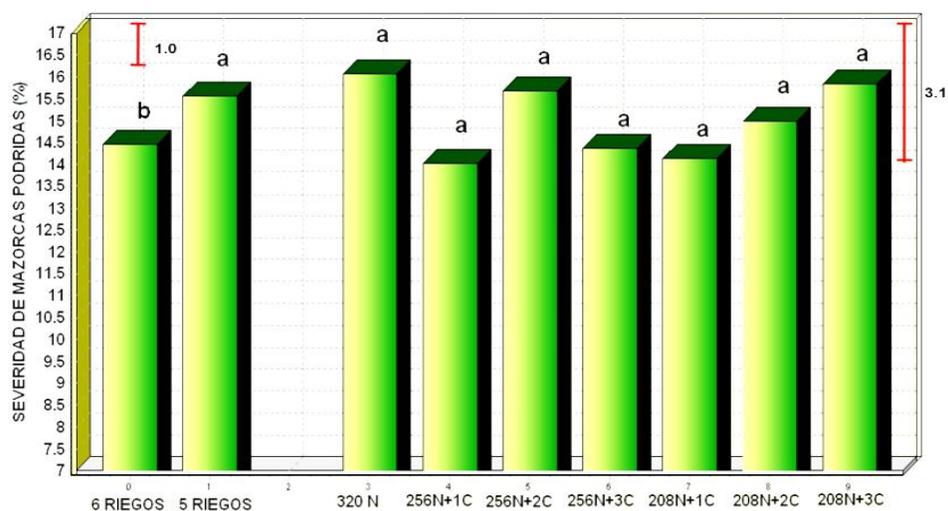


Figura 4. Efecto principal del riego y fertilización sobre la severidad de la pudrición de la mazorca. Medias con letras iguales no presentan diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0,05$).

Los resultados de la severidad de mazorcas podridas, indican que hubo diferencias significativas (ANOVA; $p \leq 0,05$) en el riego con una mayor severidad en las parcelas que recibieron 5 riegos. En contraste, en el factor fertilización no se presentaron diferencias significativas (ANOVA; $p \leq 0,05$) en los niveles estudiados (Figura 4). Los resultados anteriores son consistentes a lo reportado por Abd El-Rahim *et al.* (1998) quienes encontraron mayor severidad en pudrición de mazorca con presencia de estrés hídrico. Los resultados de la identificación morfológica de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de tallos, indicaron que la principal especie asociada fue *Fusarium*

verticillioides. Siendo este el primer asociado a esta enfermedad en el Valle del Fuerte contrastando lo encontrado por la Junta Local de Sanidad Vegetal (JLSVVF, 2008) quienes reportaron a *Fusarium oxysporum*.

En seguida se muestran los resultados de los aislados más representativos por tratamiento (Tabla 6).

Al analizar mediante PCR (Polimerase chain reaction) a los aislados de tallo BF1T, BF2T así como a los aislados de semilla BF1S, BF2S, BA1, BA3, BP1 y BP2, se determinó que se amplificó un producto de aproximadamente 600 pb (Figura 5).

Tabla 6

Resultado de la identificación morfológica de especies de *Fusarium* asociada a la pudrición de tallos de maíz

Aislado	Microconidios	Macroconidios	Clamidosporas	Especie
B1	Abundantes Cadenas Largas	Ausencia	Ausencia	<i>F. verticillioides</i>
B2	Cabezuelas	Gruesos - Curvos	Presencia	<i>Fusarium</i> spp.
B3	Pocas Cadenas Largas	Ausencia	Ausencia	<i>F. verticillioides</i>
B4	Cadenas Largas - Falsas Cabezas	Presencia	Ausencia	<i>F. verticillioides</i>
B5	Cadenas Largas- Falsas Cabezas	Ausencia	Ausencia	<i>F. verticillioides</i>
B6	Abundantes Cadenas Largas	Ausencia	Ausencia	<i>F. verticillioides</i>
B7	Pocas Cadenas Largas	Presencia	Ausencia	<i>F. verticillioides</i>

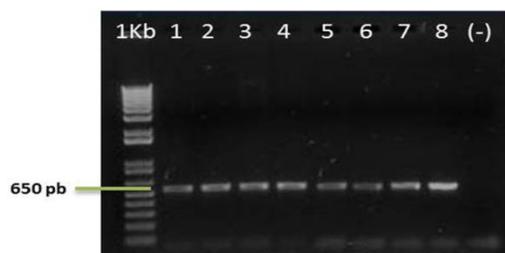


Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa (1%) de los productos de PCR amplificados a partir de ADN genómico de los aislados de tallo BF1T, carril 1; BF2T, carril 2; y de los aislados de semilla BF1S, carril 3; BF2S, carril 4; BA1, carril 5; BA3, carril 6; BP1, carril 7 y BP2, carril 8; marcador de peso molecular 1 kb ladder plus, carril 9 control negativo.

La comparación de las secuencias de BF1T, utilizando el programa Blast-N del Gene Bank indicó que esta presentaba una homología del 96% con *Giberella moniliformis*; así mismo los aislados BF2T en un 98%, BF1S una homología del 95% con *Fusarium proliferatum*; BF2S en un 99% de homología con *Giberella moniliformis*.

Tabla 7

Identificación molecular de aislados de hongos asociados a la pudrición del tallo y de la mazorca en el cultivo de maíz

Aislado	Acceso	% Homología	Descripción
BF1T	GU936113.1	96%	<i>Fusarium verticillioides</i>
BF2T	GU982311.1	98%	<i>Fusarium verticillioides</i>
BF1S	FJ798594.1	95%	<i>Fusarium proliferatum</i>
BF2S	GU982311.1	99%	<i>Fusarium verticillioides</i>
BA1	FJ827622.1	99%	<i>Aspergillus</i> sp.
BA3	FJ827622.1	99%	<i>Aspergillus</i> sp.
BP1	GQ422445.1	99%	<i>Penicillium pinophilum</i>
BP2	GQ422445.1	98%	<i>Penicillium pinophilum</i>

Por otra parte, los aislados BA1 y BA3 presentaron homología en un 99% a *Aspergillus* sp.; mientras que BP1 y BP2 tuvieron 99% y 98% de homología con *Penicillium pinophilum* como se pueden observar en la tabla 7.

En el rendimiento de grano, no hubo diferencias significativas en ninguno de los factores estudiados de riego y fertilización. Sin embargo, se observó una tendencia a mayor con el mayor número de riegos, diferencia que no fue significativa posiblemente debido a que el estrés hídrico en el estudio con 5 riegos se aplicó en una etapa muy cercana a madurez fisiológica (Figura 6). También se puede observar que los niveles de fertilización con compostas ejercieron un buen papel al compensar en gran parte el déficit de la fertilización sintética nitrogenada (Figura 6) basándose en lo reportado por SIAP/SAGARPA (2010).

En el presente estudio, en promedio se superó este rendimiento, pues se alcanzaron las 9 t ha⁻¹ con la adición de la mezcla de fertilizante nitrogenado sintético y el abono orgánico. Así por ejemplo, con la fórmula de fertilización de 208 kg de N ha⁻¹ + 1 tonelada de composta ha⁻¹ se obtuvo un rendimiento equivalente al logrado con 320 kg de N ha⁻¹, esto trae como beneficio un ahorro de \$1300/ha en cuanto a la fertilización del cultivo, además que se estaría introduciendo al productor a una agricultura más sustentable.

Los presentes resultados no coinciden plenamente con los obtenidos por Basel *et al.* (2008) demostraron que al aplicar la mezcla de la dosis más alta de fertilizante orgánico más la dosis mayor de fertilizante inorgánico obtuvieron la producción más alta del cultivo de brócoli (40,05 t ha⁻¹). Estas diferencias podrían deberse, a que el cultivo de maíz es una gramínea que demanda más nitrógeno; otra posible razón sería, que el maíz estuvo expuesto a la presencia del patógeno en el sistema radical y en las mazorcas.

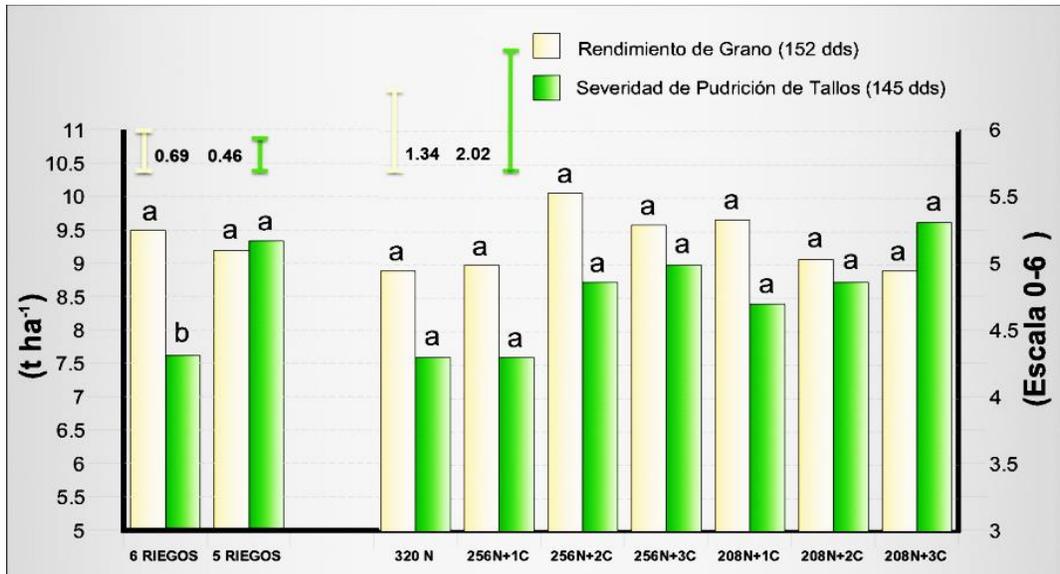


Figura 6. Efecto principal del riego y fertilización sobre el rendimiento en grano t ha⁻¹. Medias con letras iguales no presentan diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0,05$).

4. Conclusiones

Este estudio demuestra que es posible reducir el grado de severidad de la pudrición de tallos y de mazorcas evitando estrés hídrico en la planta ya que la mayor severidad se obtuvo con la menor humedad en el suelo (5 riegos de auxilio). Además, la lombricomposta presentó un efecto significativo en la nutrición de la planta pero no en el control de la pudrición de tallos y mazorcas, esto indica que se pueden reducir significativamente los gastos de fertilizantes así como el impacto ambiental que estos producen tanto al suelo como a las aguas. No obstante, *Fusarium verticillioides* fue el organismo más frecuentemente asociado a la pudrición de tallos en contraste con diversos agentes asociados, como *Aspergillus* spp., *Penicillium pinophilum* y con mayor incidencia *Fusarium verticillioides* para la pudrición de la mazorca.

5. Referencias bibliográficas

Abd El-Rahim, M. F.; Fahmy, G. M.; Fahmy, Z. M. 1998. Alterations in transpiration and stem vascular tissues of two maize cultivars under conditions of water stress and late wilt disease. *Journal of Plant Pathology* 47: 216-223.

- Ariño, A.; Herrera, M.; Estopañan, G.; Carramiñana, J. J.; Rota, C.; Herrera, A. 2009. Influence of agriculture practices on the contamination of maize by fumonisin mycotoxins. *Journal of Food Protection* 72 (5):898-902.
- Barnett, H.L.; Hunter, B.B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Edición 4th. The American Phytopathological Society. Saint Paul, Minnesota, USA. 218 p.
- Basel, A.; Ouda, B.A.; Mahadeen, A.Y. 2008. Effect of fertilizers on growth, yield, yield components, quality and certain nutrient contents in Broccoli (*Brassica oleracea*). *International Journal of Agriculture & Biology* 10: 627-632.
- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. CAB International. Kew, Surrey, England. 237 pp.
- Bush, B.J.; Carson, M.L.; Cubeta, M.A.; Hagler, N.M.; Payn, G.A. 2004. Infection and fumonisin production by fusarium verticillioides in developing maize kernels. *Phytopathology*. 94: 93-99.
- Briones, R.D. 2007. Resistencia a pudrición de mazorca en poblaciones de maíz bajo mejoramiento participativo en el Altiplano de México. Tesis de Maestro en Ciencias. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Edo. de México, México. 57 p.
- CIMMYT Maize Program 2004. Maize diseases: A guide for field identification. 4th edition. Mexico, D.F. CIMMYT: 1-119
- De Souza, J. 2007. Enfermedades del Maíz en "Entre Ríos". Actualización Técnica: Maíz, Girasol y Sorgo. INTA-EEA Paraná. Serie Extensión 44:83.
- Figuroa, R.M.G.; Rodríguez, G.R.; Guerrero, A.B.Z.; González, C.M.M.; Hernández, J.L.; Jiménez, B.J.F.; Ramírez, P.J.G.; Andrio, E.; Mendoza, E. M. 2010. Caracterización de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de raíz de maíz en Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28: 124-134.

- González, H.A.; Vázquez, G.L.M.; Sahagún, C.J.; Rodríguez, P.J.E.; Pérez, L.D. 2007. Rendimiento del maíz de temporal y su relación con la pudrición de mazorca. *Agric. Tec. Méx.* 33(1): 33-42.
- Ireta-Moreno, J.; Flores, L.J.; Pérez, D.H.; Medina, O.J. F.; Soltero, D.L. 2006. La pudrición del tallo (*Fusarium* sp.) del maíz: análisis de una epifitía en El Bajío, México. *Memorias del XXXIII Congreso Internacional de Fitopatología*. Manzanillo, México. C-11.
- JLSVVF, 2008. Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte. Detección de daños por *Fusarium* en maíz. Folleto de divulgación. SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Los Mochis, Sinaloa, México. 6 pp.
- Levin, L.; Ridao, A.; Castaño, F. 2003. Fusariosis de la espiga en el maíz. Facultad de Ciencias Agrarias., INTA. 20^a Jornada de actualización profesional en cultivos de verano. Universidad Nacional de Mar de Plata. 165pp.
- Leslie, J.F.; Summerell, B.A. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell, Publishing. 388 pp.
- NOM-021-RECNAT-2000. Aprobada por el Comité Consultivo Nacional de Normalización para la Conservación, Protección, Restauración y Aprovechamiento de los Recursos Forestales de Suelos y Costas. Norma Oficial Mexicana. 227 pp.
- Oropeza, R.M.; Molina, G.J.; Cervantes, T.S. 2004. Logros del programa de mejoramiento genético de maíz del Campus Veracruz – C.P. al 2004. *Agrociencia*. 36(4): 421-431.
- Peiretti, U.D.A.; Nazar, L.M.C.; Biasutti, V.C.A.; Giorda, L.L.M. 2007. Susceptibilidad a *Fusarium verticillioides* (SACC.) Nirenberg en la población de maíz mpb-fca 8561. *Agronomía mesoamericana* 18(2): 171-176.
- Plantpro. 2010. Plan protección maize Consulta: 06 de Abril de 2010. Disponible en: http://www.plantprotection.hu/modulok/spanyol/maize/morf01_maize.htm
- SIAP/SAGARPA. 2010. Sistema de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera/ Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Base de Datos Estadísticos de Producción. Disponible en: http://www.campomexicano.gob.mx/portal_siap/Integracion/EstadisticaDerivada/ComercioExterior/Estudios/Perspectivas/maiz96-10.pdf
- SIACON. 2007. Sistema de Información Agropecuaria de Consulta. Anuario Estadístico de Producción Agrícola. SAGARPA. México D.F., México. 603 pp.
- Solano, B.A.R.; De Leon, G.C.; Valdovinos, P.G.; Silva, R. H.; Soto, R.L. 2011. La pigmentación de *Fusarium verticillioides* (SACC) como factor de virulencia en plantas de maíz. *Agronomía Mesoamericana*. 22 (2): 297-307.
- Vigier, B.; Reid, M.L.; Seifert, A. K.; Stewart, W.D.; Hamilton, R.I. 1997. Distribution and prediction of *Fusarium* species associated with maize ear rot in Ontario. *Canadian Journal Plant Pathology* 19(1): 60-65.
- Warham, E.J.; Butler, L.D.; Sutton B.C. 1997. Ensayos para la semilla de maíz y de trigo. Manual de laboratorio. CIMMYT. México D.F. 1-84. Disponible en: <http://www.cimmyt.mx>