



50 AÑOS
PENSANDO
EL FUTURO

XIII
CONGRESO
NACIONAL
DE MAÍZ

EVALUACIÓN COMPARATIVA DE MÉTODOS DE INOCULACIÓN ARTIFICIAL DE *Exserohilum turcicum* CON FINES EXPERIMENTALES

Solowiej AV²; Mahuad SL³; Mariño EP³; Paz JR; Cordi A³; Plazas MC⁴; Lorea RD¹²

¹Estación Experimental Agropecuaria Pergamino, INTA, Buenos Aires, Argentina

²Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires, Pergamino, Buenos Aires

³Universidad Nacional de Rosario, Santa Fe, Argentina

⁴Universidad Católica de Córdoba, Córdoba, Argentina

COMPARATIVE EVALUATION OF ARTIFICIAL INOCULATION METHODS OF *EXSEROHILUM TURCICUM* FOR EXPERIMENTAL PURPOSES

Northern corn leaf blight, caused by *Exserohilum turcicum*, is one of the most important diseases affecting maize in Argentina's core corn-growing region. Its management relies largely on the development of genetically resistant germplasm; therefore, breeding programs require artificial inoculation methods that are efficient, uniform, and reproducible. In this context, the present study evaluated the effectiveness of different artificial inoculation methodologies in two maize inbred lines exhibiting contrasting responses to the disease. Three treatments were compared: drone-based inoculation (DDD), a traditional system consisting of tractor spraying combined with the application of colonized sorghum inoculum (TTS), and a non-inoculated control (BCO). The trials were conducted over two growing seasons. The results showed that during the 2022-2023 growing season, characterized by extreme drought conditions, the TTS treatment produced the highest levels of disease damage and severity in the susceptible genotype. In contrast, during the 2023-2024 season, which experienced higher rainfall, drone inoculation generated the highest levels of disease damage, as evidenced by a greater number of lesions. However, mean disease severity did not differ significantly between the two inoculation methods. These findings indicate that drone-based inoculation is a viable and innovative alternative that can complement or potentially replace traditional inoculation methods in maize breeding programs aimed at improving resistance to northern corn leaf blight.

Palabras Clave: inoculación artificial, programas de mejoramiento, maíz, tizón foliar del maíz.

Keywords: Artificial inoculation, maize breeding programs, maize, northern corn leaf blight.

Introducción

El tizón foliar común del maíz (TFC), es causado por el hongo *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs (1974). La enfermedad prospera en temperaturas moderadas (entre 18 y 26 °C) y periodos prolongados de mojado foliar por lluvias o rocío (más de 6 horas) (Aapresid, 2020). Las lesiones causan una reducción del área foliar de la planta limitando la fotosíntesis y con ello, el llenado de grano. Cuantas más lesiones haya en una planta y cuanto más temprano en la temporada se desarrollen, mayor será la pérdida en el rendimiento. Se sabe que el establecimiento de *E. turcicum* puede ocasionar pérdidas del rendimiento de entre el 30 y 50% si las lesiones alcanzan antes (2 semanas) o durante floración las hojas de la espiga o las



superiores a esta. Y son mínimas si la enfermedad ocurre después de este estadio (6 semanas) (Venciese, 2020). En ataques graves, la enfermedad avanza hacia arriba, las hojas se deforman, marchitan y finalmente se secan, se rajan longitudinalmente y la planta muere, pudiendo confundir estos síntomas con el efecto de heladas o sequías extremas. Las hojas externas de las espigas también presentan manchas similares a “habanos” de diversos tamaños (Formento, 2010).

El cambio en la agricultura en las últimas décadas tiene como misión mejorar y aumentar la producción y reducir el impacto ambiental. Desde hace tiempo en esa revolución tecnológica se han incorporado los drones para el control y vigilancia de los cultivos (FAO, 2018). Disponer de información sobre fuentes genéticas de resistencia al TFC es de gran valor para el mejoramiento de la resistencia a la enfermedad, ya que el uso de híbridos de maíz con tolerancia a la enfermedad es la principal estrategia de manejo. En la industria semillera, el éxito de los programas de mejoramiento para resistencia a enfermedades depende de un proceso de entendimiento de la reacción planta hospedante y patógeno en un ambiente definido. Seleccionando individuos superiores para la tolerancia a enfermedades, y para ello es necesario contar con técnicas de inoculación artificial robustas y eficientes.

Este trabajo propone evaluar el uso de Drones como herramienta de soporte alternativo a las metodologías tradicionales de inoculación artificial de fitopatógenos utilizados en Argentina. La integración de esta innovadora tecnología a los protocolos actuales de inoculación artificial permitiría trabajar de manera más precisa y eficiente.

Materiales y métodos:

Los ensayos fueron sembrados en fechas tardías, el 5 de enero de 2023 y 19 de enero de 2024 en la localidad de Fontezuela, partido de Pergamino, Provincia de Buenos Aires. Se evaluaron diferentes métodos de inoculación artificial con *Exserohilum turcicum*, sobre dos líneas endocriadas experimentales de maíz que presentan un comportamiento diferencial conocido a la enfermedad, línea susceptible (S) y línea moderadamente resistente (MR). Se estableció un diseño en parcelas divididas, donde la parcela principal fue el método de inoculación (TRATAMIENTO) y las dos líneas endocriadas (GENOTIPO) la parcela secundaria. La unidad muestral consistió en parcelas de 2 surcos distanciados a 0,52 metros y de 2,5 metros de largo (5,2 m²).

Los aislamientos se realizaron a partir de tejido foliar sintomático provenientes de distintas localidades del país. Para la obtención de cultivo puro se sembró en medio de cultivo Agar V8 y se colocó en condiciones controladas. Para favorecer la esporulación, se utilizó granos de sorgo lavados, secados y autoclavados, a los que se le colocaron placas colonizadas con el hongo y se incubó en condiciones controladas. Las inoculaciones a campo se realizaron una vez por semana por tres semanas consecutivas en los estadios fenológicos V3, V4 y V5-V6. Se realizó una suspensión de esporas a una concentración de 30.000 conidios/ml de agua destilada estéril. Los tratamientos fueron:

Aplicación con Drones (DDD): Se utilizaron Drones DJI Agras T16 y T10 con sistema de rociado compuesto por 8 y 4 aspersores, con una velocidad máxima de rociado de 4.8 L/min y 2,2 L/min, respectivamente. Se voló a una altura de 1,5 metros aproximadamente y a una velocidad de 3,0 km.h⁻¹.

Aplicación con Foliar Sprayer seguida de inoculación con grano de sorgo colonizado (TTS): Se utilizó un tractor con barral pulverizador suspendido Foliar Sprayer de 2 metros de botalón, que además del inóculo asperja agua. Para la inoculación con granos de sorgo como vía de inóculo se colocó, manualmente, alrededor de 15 granos de sorgo colonizado en el cogollo de cada planta (Figura 1).

Sin aplicación, blanco (BCO): en líneas S y MR como testigo sin inocular.

En R4 se evaluó la severidad de *E. turcicum* [SEt (Frec)] por parcela con escala de 1-9 (1: resistente; 9: altamente susceptible) utilizando la escala de planta entera propuesta por Bergamín Filho (1996). Para evaluar el nivel de daño de cada tratamiento, se registró 25 días después de la última inoculación (25 ddi), la cantidad de lesiones de tamaño mayores a 1 cm [LES >1cm] y las lesiones en las hojas que rodean a la espiga [LES_ 2°Ter], dado la diferencia de aporte de las hojas de este estrato de la planta, que contribuyen en un 90% al llenado de grano (Carlini, 2024).

Los datos se analizaron mediante un análisis de Modelos Lineales Mixtos (MLM). Las comparaciones múltiples se realizaron con la prueba de LSD Fisher ($\alpha=0,05$). Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico InfoStat (Di Renzo *et al.*, 2008).



Figura 1. a. Dron (DDD) y foliar sprayer (TTS) para aplicación de suspensión de esporas. b. Sorgo colonizado con *E. turcicum* en el cogollo de la planta.

Resultados:

Durante el ciclo del cultivo de la campaña 22-23 se presentó el fenómeno climático “La Niña” que provocó sequías severas y altas temperaturas. En la zona núcleo, en enero, los registros de precipitaciones oscilaron entre 80 a 120 mm, pero en febrero decayeron de 60 a 80 mm (Balchunas, 2023). En Fontezuela, localidad donde se llevaron a cabo los ensayos, las precipitaciones acumuladas de enero a abril registraron valores de 155 mm (Figura 2 a). En la campaña 23-24, varias olas de calor afectaron al país. Durante el ciclo del cultivo en Fontezuela se registraron temperaturas máximas elevadas y precipitaciones acumuladas de 545,2 mm (Figura 2 b).

En ambas campañas evaluadas, los tratamientos presentaron un comportamiento diferencial para el desarrollo de la enfermedad (tabla N°1)



50 AÑOS
PENSANDO
EL FUTURO

XIII
CONGRESO
NACIONAL
DE MAÍZ

caracterizada a través de la severidad (**SEt (Frec)**) y el nivel de daño (**LES >1cm, LES_2°Ter**). Para el análisis de SEt (Frec) y LES_2°Ter se aplicó un modelo lineal mixto heterocedástico en el cual se modelaron las variancias heterogéneas a nivel del genotipo, mientras que para LES >1cm se aplicó un modelo lineal mixto heterocedástico en el cual se modelaron las variancias de las diferentes campañas evaluadas

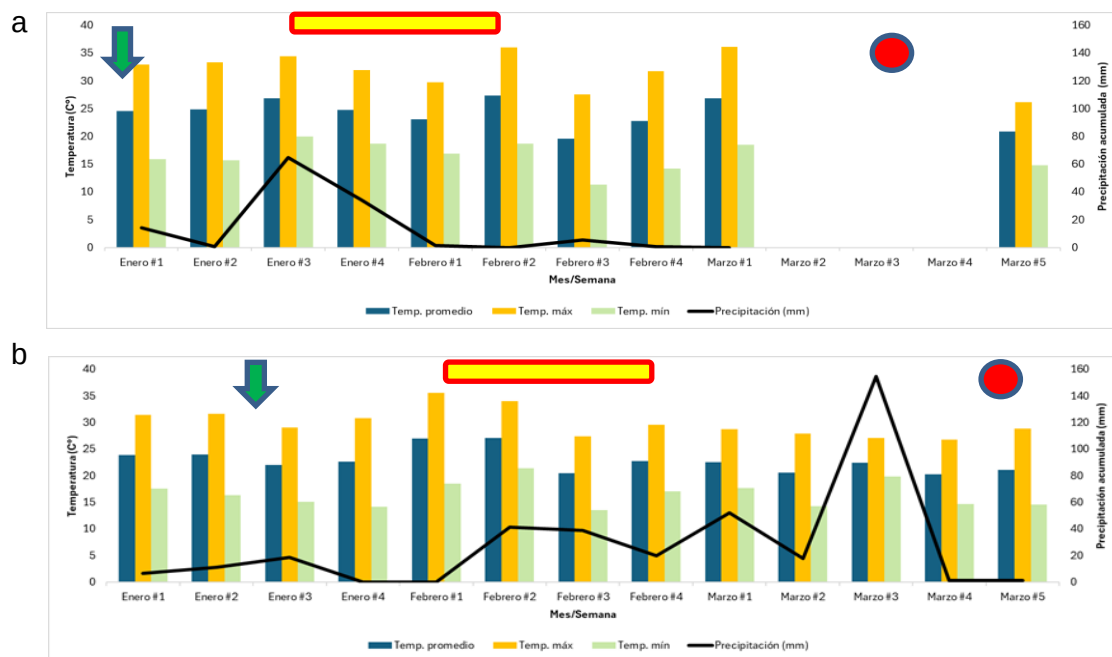


Figura 2. Temperatura promedio, máxima y mínima (°C) y precipitación acumulada (mm) semanales en el ciclo del cultivo para la campaña 2023 (a) y 2024 (b) en Fontezuela. La flecha indica fecha de siembra, el rectángulo el período de inoculación y el círculo el período de evaluación.

Tabla 1: Análisis de variancias a través de MLM de los tratamientos de inoculación evaluados durante las campañas 22-23 y 23-24.

Fuente de Variación	SEt (Frec)	LES >1cm	LES_2°Ter
Año (A)	*	**	**
Tratamiento (T)	**	**	**
Genotipo (G)	**	**	**
Interacción AxT	*	*	**
Interacción GxA	**	ns	**
Interacción GxT	**	**	**
Interacción AxTxG	ns	**	**

Fuentes de variación: A: campañas 22-23 y 23-24; T: tratamientos DDD, TTS y BCO; G: genotipos S y MR. **: p valor < 0.01, *: p valor < 0.05, ns: p valor no significativo.

En todas las variables evaluadas se encontró interacción entre las campañas estudiadas (A) y los tratamientos (T), por lo cual se procedió al análisis de los resultados diferenciados por cada campaña. Los efectos encontrados durante la campaña 22-23 se presentan en la tabla 2.a, mientras que los correspondientes a la campaña 23-24 se hallan detallados en la tabla 2.b.

Tabla 2: Análisis de variancias a través de MLM de los tratamientos de inoculación evaluados a través de las campañas 22-23 y 23-24.

Fuente de Variación	CAMPAÑA 22-23			CAMPAÑA 23-24		
	SEt (Frec)	LES >1cm	LES_2ºTer	SEt (Frec)	LES >1cm	LES_2º Ter
Tratamiento (T)	**	**	**	**	**	ns
Genotipo (G)	**	**	**	**	**	**
Interacción GxT	ns	**	**	ns	**	ns

Fuentes de variación: T: tratamientos DDD, TTS y BCO; G: genotipos S y MR. **: p valor < 0.01, *: p valor < 0.05, ns: p valor no significativo.

En la campaña 22-23 se hallaron diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0,01$) entre los tratamientos y genotipos evaluados para todas las variables evaluadas. Por su parte, los efectos de interacción entre ambas fuentes de variación fueron altamente significativos para LES>1cm y LES_2º Ter.

Mientras que en la campaña 23-24 para los genotipos se hallaron efectos altamente significativos ($p < 0,01$) en las tres variables en estudio. El efecto de (T) fue altamente significativo para las variables SEt (Frec), LES>1cm y no se encontraron diferencias significativas para la variable LES_2ºT. Así mismo, se hallaron efectos altamente significativos para la interacción solo para las lesiones mayores a 1 cm.

Al analizar la severidad (**SEt (Frec)**) de la enfermedad presente en nuestros ensayos, se puede observar que, en todos los tratamientos de ambas campañas evaluadas, el genotipo susceptible (S) se diferenció del moderadamente resistente (MR), excepto en el tratamiento BCO de la campaña evaluada 22-23, donde el genotipo (S) no presentó diferencias significativas respecto del MR. No se hallaron diferencias estadísticas significativas para severidad de los genotipos (MR) en los diferentes tratamientos evaluados.

En la campaña 22-23, para el genotipo (S) los tres tratamientos de inoculación presentaron diferencias estadísticas significativas en la severidad media de la enfermedad. El tratamiento TTS presentó mayor severidad media, seguido por el tratamiento DDD y finalmente el BCO. Mientras que en la campaña 23-24, para el genotipo (S) los tratamientos TTS y DDD no se diferenciaron entre sí, pero se diferenciaron estadísticamente del BCO.

En los tratamientos DDD y BCO la severidad media aumentó ligeramente entre campañas (23-24 con mayores valores), pero el BCO se mantuvo con la menor afectación en ambos periodos evaluados (Figura 3).

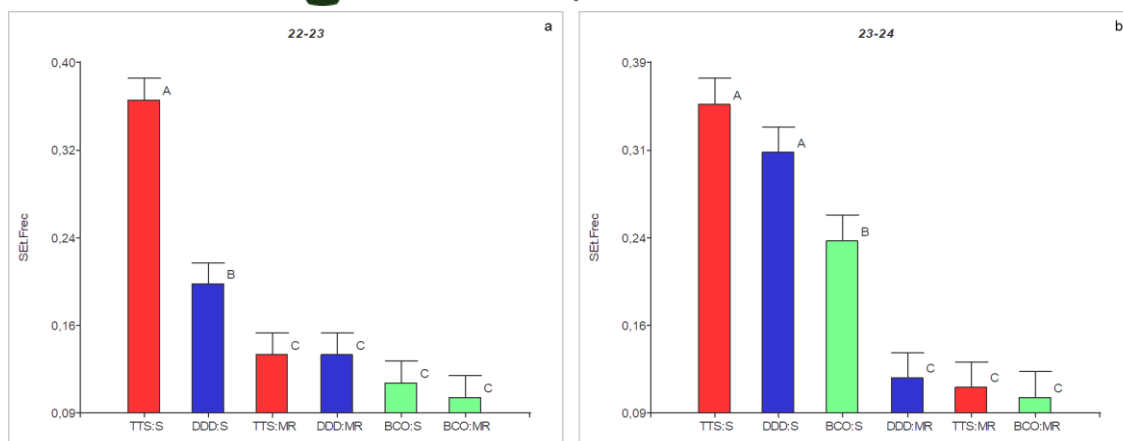


Figura 3. Histogramas de severidad media en los distintos tratamientos de inoculación para los genotipos susceptibles y moderadamente resistentes. a: campaña 22-23 y b: campaña 23-24. Variable **SEt (Frec)**: medias ajustadas (GxT). LSD Fisher (Alfa=0,05). Medias con misma letra indican que no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

En cuanto al (**LES >1cm**), en la campaña 22-23, el genotipo (S) del tratamiento TTS presentó diferencia estadística significativa respecto del genotipo (MR), evidenciando mayor número de lesiones. Mientras que los tratamientos DDD y BCO sus genotipos no presentaron diferencia estadística significativa (Figura 4a).

En la campaña 23-24, para el genotipo (S) los tres tratamientos de inoculación presentaron diferencias estadísticas significativas respecto del genotipo (MR) en las lesiones >1 cm. El tratamiento DDD presentó mayor cantidad de lesiones >1cm, seguido por el tratamiento TTS y finalmente el BCO (Figura 4b).

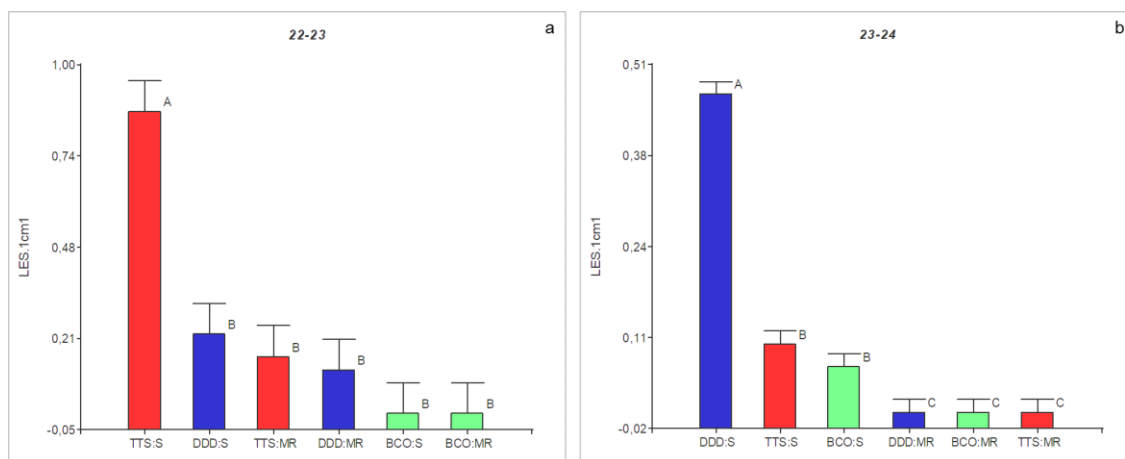


Figura 4. Histograma de número de lesiones mayores a 1cm en los distintos tratamientos para los genotipos susceptibles y moderadamente resistentes. a: campaña 22-23 y b: campaña 23-24.

Para el número de lesiones en el segundo tercio de la planta (**LES_2°Ter**) en la campaña 22-23, el genotipo (S) del tratamiento de inoculación con TTS presentó diferencias estadísticas significativas respecto del genotipo (MR) y se diferenció del

resto de los tratamientos de inoculación. Siendo el tratamiento TTS quien presentó mayor cantidad de lesiones en el segundo tercio de la planta (Figura 5a).

En la campaña 23-24 para el genotipo (S) los tres tratamientos de inoculación presentaron diferencias estadísticas significativas respecto del genotipo (MR). El tratamiento DDD presentó mayor (LES_ 2°Ter), no logró diferenciarse del tratamiento TTS, pero si del resto de los tratamientos (Figura 5b).

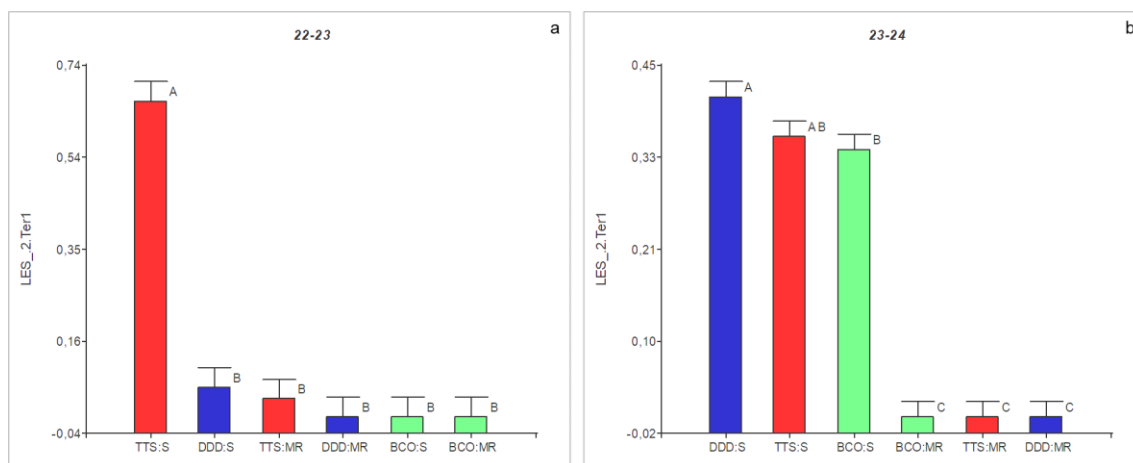


Figura 5. Histograma de número de lesiones en el segundo tercio de la planta, en los distintos tratamientos para los genotipos susceptibles y moderadamente resistentes, en los distintos tratamientos de ambas campañas evaluadas. a: campaña 22-23 y b: campaña 23-24.

Discusión:

La severidad del tizón foliar común del maíz causado por *E.m turcicum* depende de la interacción entre el genotipo y el ambiente. La enfermedad es favorecida por altas humedades relativas, períodos prolongados de mojado foliar y temperaturas moderadas, por lo que representa una problemática particularmente importante en siembras tardías. En este sentido, De Rossi (2015) observaron un aumento de la susceptibilidad al tizón desde el 3% hasta el 71% de los híbridos evaluados al retrasar la fecha de siembra. Asimismo, Nwanosike (2015) demostraron que el incremento de las temperaturas máximas y la disminución de la humedad relativa reducen la infección por *E. turcicum*. La sequía histórica ocurrida en Argentina entre 2020 y 2023, caracterizada por precipitaciones por debajo de lo normal (Conte, 2023), generó condiciones desfavorables para el desarrollo de la enfermedad. Bajo este escenario, durante la campaña 2022-2023, el método de inoculación mediante tractor pulverizador y sorgo colonizado (TTS) fue el más efectivo, registrando mayor severidad, mayor número de lesiones superiores a 1 cm y mayores niveles de reinfección. Esta respuesta se atribuye al aporte simultáneo de agua e inóculo, que favorece el mojado foliar necesario para la infección.

En la campaña 2023-2024, con mejores condiciones hídricas, todos los tratamientos inoculados expresaron la enfermedad, aunque la inoculación con dron (DDD) presentó el mayor número de lesiones y evidencias de reinfección. Este comportamiento coincide con lo descrito por Pant (2001), la enfermedad progresa desde las hojas inferiores hacia los estratos superiores en infecciones severas.

En conclusión, el método TTS resultó más adecuado bajo condiciones de sequía extrema, mientras que la inoculación mediante drones mostró mejores resultados en ambientes con precipitaciones favorables. Además, esta tecnología ofrece ventajas operativas y ambientales, relacionadas con una mayor eficiencia de aplicación, menor consumo de agua y reducción del uso de maquinaria agrícola convencional.

Conclusiones:

El método de inoculación artificial de *Exserohilum turcicum* utilizado en la caracterización de germoplasma de maíz afecta el nivel de daño y la severidad de infección obtenido.

De acuerdo a las condiciones climáticas que variaron con los años de evaluación, las respuestas de los tratamientos fueron diferentes. En la campaña 2022-2023, de extrema sequía, el uso del tractor pulverizador en el genotipo susceptible generó mayor nivel de daño (mayor [LES >1cm] y mayor [LES_ 2°Ter]) y mayor severidad media que el resto de los tratamientos. Mientras que en la campaña con mayores precipitaciones (2023-2024), se observó un mayor nivel de daño comparado con el año anterior y en estas condiciones el tratamiento de inoculación con dron (DDD) fue el que arrojó mayor nivel de daño (mayor [LES >1cm] y mayor [LES_ 2°Ter]) que el resto de los tratamientos evaluados. En cuanto a la severidad media, ambos métodos de inoculación no mostraron diferencia significativa.

Es innegable el potencial de los drones para revolucionar la agricultura, el análisis de los datos plantea la necesidad de continuar estudiando y evaluando los métodos de inoculación artificial con esta tecnología considerando los nuevos escenarios climáticos.

Apoyo Financiero:

La presente investigación se enmarca en proyectos de BAYER Crop Science.

Referencias bibliográficas:

- Aapresid. 2020. Tizón en maíz. Alternativas de manejo para la enfermedad que más golpea los maíces tardíos. Disponible en <https://www.aapresid.org.ar/blog/tizon-en-maiz>.
- Bergamin Filho A, Amorim L. 1996. Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico. Piracicaba. Agronômica Ceres 299.
- Carlini R.B., Micca Ramirez M.V. y Andrada N. R. 2024. Roya común del maíz, el rol en el sistema epidemiológico fitosanitario en San Luis, Argentina. Revista Científica de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de San Luis.
- Conte, Analía S. 2023. La sequía 2020-2023 en la Argentina y su impacto en la agricultura. Disponible en <https://ri.conicet.gov.ar/>
- De Rossi, R.L.; Guerra, F.A.; Vuletic, E.; Plazas, M.C.; Brücher, E.; Guerra, G.D. 2015. Informes fitosanitarios región Centro Norte de Córdoba. ISSN: 2451-5949.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada., y Robledo, C.W. 2008. InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- FAO. 2018. E-agriculture in action: drones for agriculture. Bangkok.
- Formento A.N. 2010. Enfermedades foliares reemergentes del cultivo de maíz: Royas (*Puccinia sorghi* y *Puccinia polysora*), Tizón foliar (*Exserohilum turcicum*) y Mancha ocular (*Kabatiella zae*). INTA Paraná.
- Nwanosike, M. R., R. B. Mabagala, and P. M. Kusolwa. 2015. Disease intensity and distribution of *Exserohilum turcicum* incitant of northern leaf blight of maize in Tanzania.
- Pant SK, Pramod K, Chauhan VS. 2001. Effect of turcicum leaf blight on photosynthesis in maize.
- Venciese M. 2020. EL ABC RURAL: Tizón foliar o Tizón común en maíz: recomendaciones para su manejo.