

**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS  
Escuela de Ingeniería Agronómica**

**EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DE POBLACIONES LOCALES DE  
MAÍZ (*Zea mays* L.) DE COTACACHI Y SARAGURO A MANCHA  
NORTEÑA DE LA HOJA (*Exserohilum turcicum*).**

**TESIS DE GRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
INGENIERA AGRÓNOMA**

**MAYRA BELEN CATHME ROMERO**

**QUITO – ECUADOR**

**2011**

## 7. RESUMEN

Uno de los principales limitantes del cultivo de maíz en los valles de la Sierra de Ecuador, son las enfermedades foliares y de estas la mancha norteña de la hoja (*Exserohilum turcicum*), en la zona de Saraguro la severidad puede llegar hasta 59%. La resistencia a *E. turcicum* es el medio más eficaz de control para la cual se conocen dos tipos de resistencia, la resistencia cualitativa, basada en los genes *Ht* que producen hipersensibilidad, y la resistencia cuantitativa gobernada por varios genes, que se basa en la reducción de período de incubación, tamaño, número de lesiones y esporulación.

En la agricultura tradicional muchas poblaciones de maíz no se ven afectadas aún en condiciones climáticas favorables para el desarrollo del patógeno, lo que podría deberse a la resistencia y al manejo que el agricultor da a su diversidad, lo cual necesita ser estudiado. Es por esto que en la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos: Identificar la variabilidad genética de *E. turcicum* de Cotacachi y Saraguro, Identificar fuentes de resistencia a *E. turcicum* en poblaciones locales de maíz de Cotacachi y Saraguro en condiciones de invernadero y campo.

El estudio se llevo a cabo en tres fases: La primera consistió en la identificación de razas patógeno, realizada en la Estación Experimental Santa Catalina del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), para lo cual se recolectaron muestras de plantas afectadas con la enfermedad en las zonas de Cotacachi y Saraguro en un número de 10 aislamientos por localidad, las cuales se aislaron en Lactosa Caseína Hidrolizada Agar (LCH) y se reprodujo en Papa Dextrosa Agar (PDA). Cada aislamiento se inoculó en un set de variedades diferenciales utilizadas en la determinación de razas del patógeno, las bandejas sembradas con las diferenciales se dispusieron en un diseño completamente al azar (DCA) con tres observaciones por diferencial. Las variables consideradas fueron: período de incubación, tipo de reacción (escala de *Bigirwa*), número y tamaño de lesión, las cuales ayudaron a determinar compatibilidad de cada aislamiento para cada diferencial determinada como + cuando existió compatibilidad y como - cuando no hubo compatibilidad.

La segunda fase consistió en la evaluación de la resistencia a *E. turcicum* en variedades locales de maíz (plántula), para lo cual se sembraron 83 variedades de maíz, colectadas en ferias de semillas y encuestas realizadas en la zona de Cotacachi y Saraguro. Las plantas se sembraron en bandejas a una densidad de 40 plántulas por bandeja y se inocularon en el estado de tres hojas (V3) con dos aislamientos contrastantes (más y menos virulento), seleccionados en el estudio de razas del patógeno. Para el análisis se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con diferente número de observaciones, las variables evaluadas fueron

período de incubación, tipo de reacción (escala de Bigirwa), número y tamaño de lesión.

Para el análisis de los datos primero se clasificó a cada planta de cada variedad como: Resistencia tipo 1, cuando no tuvieron ningún tipo de síntoma. Resistencia tipo 2, aquellas plantas que presentaron períodos de incubación mayores a 12 días, tipo de reacción de hasta 2, número de lesiones menores a 3, tamaños de lesión menores a 4 cm. Resistencia intermedia, aquellas plantas que presentaron períodos de incubación de 10 y 11 días, tipo de reacción entre 2 y 3, número de lesiones hasta 10 lesiones tamaño de lesión hasta 8 cm. Susceptibles, aquellas que presentaron períodos de incubación menores a 10 días, tipo de reacción desde 3, número de lesiones mayores a 10, tamaños de lesión mayores a 8 cm. Posteriormente se realizó un análisis de la varianza para las variedades con reacciones de resistencia intermedia para evitar inconsistencia en los datos.

La tercera fase consistió en la evaluación de la resistencia a *E. turcicum* en variedades locales de maíz en planta adulta, ésta fase se llevó a cabo en la zona de Tandapi, cantón Mejía, zona caracterizada por un clima adecuado para el desarrollo de la enfermedad. Se sembraron 16 variedades de maíz seleccionadas en base a los resultados obtenidos en estudios realizados en las zonas de Cotacachi y Saraguro además de una variedad testigo inoculado, la siembra consistió en dos surcos de cada variedad, intercalados con un surco de la variedad INIAP 101 inoculado a los 60 días de la siembra, para asegurar la presencia del patógeno en el ensayo, se utilizó un diseño completamente al azar DCA con muestras. Las variables evaluadas fueron severidad, número, tamaño de lesión, y AUDPC para la cual se realizaron tres evaluaciones cada 15 días. Para el análisis de la varianza se calculó el porcentaje de variación entre plantas y entre variedades, para determinar cuál de las dos aporta con mayor variabilidad en la resistencia.

Los principales resultados en el estudio fueron: para la primera fase de la investigación. Las reacciones en el set de diferenciales para *E. turcicum*, de acuerdo a la nomenclatura propuesta por Leonard (1989), permitieron clasificar los 20 aislamientos estudiados en la raza 23, identificada en un aislamiento de Saraguro, que es virulenta para los genes *Ht* y *Ht3*; y la raza 123 presente en el resto de aislamientos de Cotacachi y Saraguro la que presenta virulencias para los genes *Ht1*, *Ht2* y *Ht3*. Los 20 aislamientos fueron avirulentos (incompatibles) para la diferencial *HtN*; sin embargo para este gen se observaron dos tipos de reacción de incompatibilidad: a) Reacción tipo 1, ausencia de lesiones, con puntuaciones cloróticas de aproximadamente 1 mm conocidas como "yellow pinhead" y b) Reacción tipo 2, pocas y pequeñas lesiones necróticas con períodos de incubación largos. El tipo de reacción 1 aparentemente está asociado con aislamientos menos agresivos de *E. turcicum*.

Para la fase dos, estudio de la resistencia de variedades locales de maíz a *E. turcicum* en plántula, todas las variedades evaluadas presentaron pequeñas

puntuaciones amarillas 48 horas después de ser inoculadas. Los primeros síntomas necróticos aparecieron a partir de los 8 días. Reacciones de a) Resistencia de tipo 1, cuando no se observó ningún síntoma, b) Resistencia tipo 2, estuvieron presentes en la mayoría de las variedades de Cotacachi y Saraguro; sin embargo, existió variación en las frecuencias de estas reacciones dentro de las variedades lo que se debe a la polinización abierta la que permite una segregación continua. Las variedades Morocho Amarillo y Killu Kanguil, Killu de Cotacachi y las variedades Dulce del Caliente, Morochillo Blanco, Amarillo Cusi, Amarillo Tamal y Pintado Criollo de Saraguro presentaron la mayor cantidad de plantas con reacciones de tipo 1 y 2. Además cabe señalar que existieron variedades complejas que fueron resistentes para uno de los dos aislamientos y otras variedades con susceptibilidad a los dos aislamientos.

Al analizar las diferencias entre las variedades con resistencia intermedia, se encontró diferencias estadísticas altamente significativas para variedades y aislamientos, en el cual las variedades Rosado Puka, Tomate y Morocho Criollo, Canguil Puka, Hantsi Iriticu de Cotacachi y la variedad Perla Blanca de Saraguro ocupan los primeros rangos siendo las de mayor nivel de resistencia intermedia. De los dos aislamientos estudiados se observó que el aislamiento 2 proveniente de Cotacachi presentó mayor agresividad que el aislamiento 12 proveniente de Saraguro. De la colección de variedades de maíz estudiadas se pudo observar que las variedades provenientes de Cotacachi presentaron mayores niveles de resistencia en Invernadero.

Para el estudio de la resistencia de variedades locales de maíz en planta adulta, se encontró diferencias estadísticas altamente significativas para variedades en número, tamaño de lesiones, severidad y AUDPC; por lo tanto existen diferencias en la resistencia de las variedades. Al realizar la prueba de Tukey al 5% se observó que las variedades más resistentes fueron: Morochillo de Cotacachi, Tusilla, y Floreado de Saraguro, mientras que, la variedad testigo referencial INIAP 101 ocupó el último rango. Comparando las variedades de Saraguro y Cotacachi en los ensayos de campo las variedades que presentaron mayores niveles de resistencia fueron las variedades de Saraguro.

Al analizar el comportamiento de las variedades tanto en campo como en invernadero se encontró que la mayoría de variedades que fueron resistentes en invernadero presentan también, altos niveles de resistencia en campo, este es el caso de la variedad Morochillo de Cotacachi, este tipo de reacción es característico en genes mayores que se están expresando tanto en plántula como en planta adulta, pero además de ser resistente presenta reacciones similares en todas sus plantas que puede deberse a que es una variedad tardía y alta que tiene menor probabilidad de contaminación con granos de polen de diferentes variedades y segrega menos que otras.

La variedad Tzapa Sara de Cotacachi presentó buenos niveles de resistencia en invernadero pero fue susceptible en campo, lo que quiere decir que esta variedad probablemente presenta genes de resistencia que solo se expresan en plántula. La variedad Floreado de Saraguro y la variedad Yura Sara de Cotacachi, en cambio fueron resistentes en invernadero pero susceptibles en campo, lo que puede deberse a la presencia de genes de resistencia de planta adulta, es decir que la efectividad de los genes para resistencia cuantitativa es dependiente del estado de desarrollo de la planta, en estos casos aparentemente las reacciones de plántula no se correlacionan con las reacciones de campo.

Analizando la variabilidad entre plantas y la variabilidad entre variedades para los experimentos de invernadero y campo, se observó que la mayor variabilidad se encuentra entre variedades, sin embargo la variación dentro de cada variedad está aportando a la expresión de la resistencia total de la variedad; siendo un buen indicativo la diferencia en el tamaño de lesión, además se obtuvieron coeficientes de variación altos debido al origen del material genético utilizado que proviene de polinización abierta pone a disposición una gran diversidad en sus segregantes.

Las conclusiones de la investigación fueron: En las zonas de Cotacachi y Saraguro la raza 123 fue la más frecuente y la raza 23 se encontró solo en un aislamiento de Saraguro. En los aislamientos de la raza 123 se observó diferentes niveles de agresividad. En la mayoría de los cultivares de Cotacachi y Saraguro la resistencia a *E. turcicum* varió de la resistencia a la susceptibilidad, en las fases de invernadero y campo. La variedad Morochillo de Cotacachi presenta genes mayores, asociados con reacciones de resistencia tipo 1 y 2. La variabilidad entre variedades fue mayor que la variabilidad dentro de las variedades; Sin embargo, el aporte de la variabilidad dentro de las variedades contribuyó a la resistencia total de cada variedad. La mayoría de variedades presentaron altos niveles de resistencia cualitativa y cuantitativa las que contribuyen a reducir la vulnerabilidad del cultivo de maíz en Cotacachi y Saraguro. Las variedades de Cotacachi mostraron mayores niveles de resistencia en plántula que en planta adulta; mientras que con un en las variedades Saraguro, ocurrió lo inverso. El tamaño de lesión fue una componente de la resistencia a *E. turcicum* que permitió de mejor manera diferenciar los niveles de resistencia en las variedades de maíz, en las evaluaciones de campo e invernadero. Las variedades de Cotacachi aparentemente presentaron mayores niveles de resistencia de genes mayores, mientras que las variedades de Saraguro mayores niveles de genes menores.

En este estudio se recomienda Ampliar el número de aislamientos de otras localidades para una mejor identificación de razas. Utilizar en los estudios de identificación de razas fuentes de resistencia locales. Estudiar con mayor detalle la resistencia parcial que es más frecuente en las variedades especialmente de Saraguro. Agilizar las evaluaciones en invernadero eliminando la variable tipo de reacción, ya que se basa en otros componentes de la resistencia como tamaño y número de lesiones.

Descriptores: Genes, Biodiversidad, Conservación, virulencia.

## 8. SUMMARY

Diseases are main constrains of maize in the Ecuadorian valleys. Northern leaf flight (*Exserohilum turcicum*) is an important disease that can produce 59 % of Disease Severity (DS). Plant resistance is the most effective mean of *E. turcicum* control and cualitative and cuantitative resistace have been reported for this disease. Cualitative resistanve is governed by Ht genes and quantitative resistance is based on the reduction of incubation period, size, number of lesions and sporulation. Maize varieties are not seriously affected by the disease in traditional farming maize systems even in favorable climatic conditions for pathogen development, which can be due to the resistance and its management available in the crop diversity farmers conserve. The study sought the following objectives: a) identify the genetic variability of *E. turcicum* of Cotacachi and Saraguro, and b) study the resistance to *E. turcicum* available in local maize populations of Cotacachi and Saraguro at seedling (greenhouse) and adult plant (field).

The study was carried out in three phases: a) races identification of 10 isolates from Cotacachi and 10 isolates from Saraguro. The isolates were isolated on LCH and PDA and then inoculated on a differential set used globally for race identification. The varieties were planted in trays in a completely randomized design (CRD) pattern. Incubation period, type of reaction (Bigirwa scale), number and size of lesion were evaluated anfer inoculation. No symptom or necrotic small lesions with long incubation periods were considered incompatibility, while many big lesions with short incubation period were considered compatibility.

The second phase consisted in the evaluation at seeling stage the resistance of 83 maize varieties from Cotacachi and Saraguro to isolates Et 2 and Et 12 of *E. turcicum*. Ten plants per variety were sown with a density of 40 seedlings per tray and inoculated at three leaves stage (V3) with the isolates. Seedlings were distributed in the traits in a complete randomized design (CRD) with different observations. Incubation period, reaction types (Bigirwa scale), number and size of lesion were also evaluated in this study.

For the seedling resistance study, the disease evaluation was classified as, a) **resistance type 1**, when no disease symptoms were obserbed, b) **resistance type 2**, when the incubation period was longer than 12 days, the reaction type belonged to 2, the number of lesions were less than 3 and the lesion size were lower than 4 cm., c) **intermediate**, when the incubation period ranged between 10 to 11 days, the reaction type belonged to 2 to 3, the number of lesions were less than 10 lesions and the size of lesion was loger than 8 cm., and d) **susceptibility**, when the incubation period was lower than 10 days, the reaction type belonged to 3, the number of lesions were more than 10, and the lesion size larger than 8 cm. These variables were submitted to variance analysis and Duncan mean analysis.

In the third phase, 16 varieties from Cotacachi and Saraguro were evaluated at adult plant in Tandapi-Mejia. The varieties were planted in two rows of 8 m long spaced at 0.8 m. A row of the susceptible variety INIAP-101 was intercalated between varieties. The varieties were set up in a completely randomized design with samples (plants) within varieties. The disease severity (DS), number of lesions, size of lesions and AUDPC were evaluated during three occasions every 15 days. In addition to the analysis of variance, the variation among varieties and within varieties was also calculated for each variety.

Using the *Leonard 1989* nomenclature, two races of *E. turcicum* were classified among the 20 isolates evaluated. The race 23, carrying virulence to Ht2 and Ht3 was identified in an isolate from Saraguro; while the race 123, carrying virulences to Ht1, Ht2 and Ht3 were identified in the rest 19 isolates from Cotacachi and Saraguro. All isolates were avirulent (incompatible) to HtN gene, and two phenotypic resistance reactions were observed for this gene: a) resistance reaction type 1, showing 1 mm chlorotic spots called "yellow pinhead", and b) resistance reaction type 2, showing few small necrotic lesions with long incubation period. In this study resistance reaction type 1 is apparently associated with low aggressive isolates.

In the resistance study of maize local varieties from Cotacachi and Saraguro to *E. turcicum* at seedling stage, the first symptoms appeared as small yellow points 48 hours after inoculation and the first necrotic lesions in susceptible plants appeared 8 days after inoculation. In this study, resistance reactions were also of type 1 and 2 for both isolates Et 2 and Et 12, and both isolates belonged to race 123. Resistance reactions type 1 and 2 were present in most varieties of Cotacachi and Saraguro, but the frequency of these reactions within a variety varied greatly among varieties. The variation in reactions from resistance to susceptibility within varieties is due to the open pollination of maize and the high variability of maize varieties in Ecuador. The variety Morocho Amarillo was complete resistance to both isolates, while varieties Morocho Amarillo and Killu Kanguil, from Cotacachi and the varieties: Dulce del Caliente, Morochillo Blanco, Amarillo and Amarillo Cusi, Amarillo Tamal, Pintado Criollo from Saraguro contained high fractions of resistance reaction type 1 and 2. Plant pathogen interaction was evident for both races in varieties Chulpi and Tusilla, showing that the races evaluated are pathogenically different, although, they were considered similar (race 123) with the standard differential set.

Statistical differences among varieties were observed for all variables evaluated in the analysis of variance. The varieties Rosado Puka, Tomate and Morocho criollo, Canguil Puka, Hantsi Iriticu of Cotacachi and the variety Perla Blanca of Saraguro, ranges occupy the performed better and probably carries partial resistance.

Differences in aggressiveness were also observed in this study. Isolate Et 2 from Cotacachi appeared more aggressive than isolate 12 from Saraguro. Similarly, taking in consideration resistance reaction type 1 and resistance reaction type 2, varieties from Cotacachi were more resistant at seedling stage than varieties from Saraguro.

Differences among varieties was also evident at the adult plant experiment in Tandapi for number and size of the lesions, severity and AUDPC. The variety Morochillo from Cotacachi, and Tusilla, and Floreado from Saraguro were the most resistant varieties. In the field, in average, varieties coming from Saraguro showed higher levels of resistance than Cotacachi varieties.

The resistance found in green house was regularly confirmed at the field. This is the case of Morochillo from Cotacachi that was complete resistant in the green house and in the field, and might carry a major gene different than those carried by the differentials.

For intermediate reactions, the results of tests conducted in the green house did not associate with results from the field. The variety Zapak Sara from Cotacachi showed good levels of resistance in the green house, but it was susceptible in the field. On the other hand, the variety Floreado from Saraguro and Yura Sara from Cotacachi were susceptible in the green house, but resistant in the field. Seedling tests are apparently not accurate for assessing quantitative resistance.

For greenhouse and field experiments, the variability among varieties was higher than the variability within varieties for all variables evaluated: number and size of the lesion, severity and AUDPC. In the field, size of the lesion allowed a better evaluation, since this variable was not affected by the natural variable epidemic in the field.

Keywords: Race, Genes, Biodiversity, Conservation, Virulence.