

Comparación entre técnicas de inoculación de *Fusarium verticillioides* en espigas de maíz

POULSEN HORNUM, M.¹; RIDAO, A. DEL C.²; CASTAÑO, F.³

RESUMEN

Se compararon Técnicas de Inoculación (TI) de *Fusarium verticillioides* en espigas de maíz a través del comportamiento de 15 cultivares frente a la Incidencia (I%) y Severidad (S%) de la podredumbre. Se realizó un ensayo en la localidad de Camet (Gral. Pueyrredón, Buenos Aires), en 2006/07, en el que las plantas recibieron las siguientes TI: 1) aspersión de una Suspensión de Inóculo (SI) sobre los Estigmas (ASE), 2) inyección de una SI en el Canal de los estigmas (ICE), 3) inserción de un palillo colonizado con micelio (IE) y 4) control, sin inoculación (C). Para la I%, se detectó interacción híbrido x TI. El método IE produjo mayor I% en todos los híbridos. En cambio, no hubo interacción híbrido x TI para S%, ni diferencia entre híbridos. Hubo correlación significativa según la I% según la infección natural ocurrida en Camet durante 2006/07 y la obtenida por ASE, ICE y C. Aunque ASE simuló mejor a una infección natural, los resultados de I% mostraron que ICE permitiría una mejor evaluación de la podredumbre.

Palabras clave: *Zea mays*, Pudrición de espigas, Híbridos, Inoculación

ABSTRACT

Inoculation techniques (TI) of Fusarium verticillioides on corn ears were compared through the incidence (I%) and severity (S%) showed by 15 cultivars. Experimentation was carried out in Camet (Gral. Pueyrredón, Buenos Aires), during 2006/07. The TI were: 1) aspersion of an aqueous inoculum (SI) onto the silk (ASE); 2) injection of SI into the silk channel (ICE), 3) insertion in the mid-ear of a toothpick colonized with mycelium (IE), 4) control without inoculation (C). No interaction hybrid x TI and variability among hybrids were found for S%. Inoculations caused more severe symptoms than C. For I% the interaction hybrid x TI was significant, suggesting that I% produced by TI depended on the hybrids. IE method produced the highest I% overall hybrids. A correlation was found in the hybrids' order according to I%, when the data for the natural infection 2006/07 and ASE, ICE and C were compared. Although ASE showed the best simulation of a natural infection, ICE would permit the best evaluation of differences in F.verticillioides attack on ears.

Keywords: *Zea mays*, Ear corn rot, Hybrids, Inoculation.

¹Tesista Grado Ing. Agr.

^{2,3}Facultad de Ciencias Agrarias (UNMdP), Unidad Integrada Balcarce, Argentina. Correo electrónico: ridao.azucena@inta.gov.ar

INTRODUCCION

El maíz, segundo cereal de importancia después del arroz, es utilizado para alimentar ganado y humanos. En la última década, la Argentina ha incrementado su producción de 15.044.529 a 32.119.211 t en 2012/13 (SIIA, 2013). Este volumen ubica al país en los primeros puestos como exportador.

Varias especies de *Fusarium* son los patógenos más comunes del maíz. *F. graminearum* (Schwade) teleomorfo *Gibberella zeae* (Schwein. Petch) y *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg [synonym *F. moniliforme* (Sheldon)], telemorfo *G. moniliformis* (Wineland) [synonym, *G. fujikuroi* (Swada) Ito in Ito and K. Kimura] son predominantes en la pudrición de la espiga en el mundo. Debido a las condiciones ambientales que le favorecen, *F. verticillioides* es la especie más importante en la región maicera en la Argentina (Saubois *et al.*, 1996).

F. verticillioides, además de infectar tejidos vegetativos y reproductivos asintóticamente, marchita plántulas, pudre raíces, tallos y espigas de maíz (Munkvold *et al.*, 1997a). Este patógeno penetra a través de los estigmas, con infección y crecimiento de las hifas hasta los granos (Warren, 1978) o por heridas de insectos (Kommedahl y Windels, 1981), pájaros y granizo. Produce gran cantidad de conidios en rastros infectados, siendo la semilla otra fuente de inóculo (Munkvold *et al.*, 1997b). La enfermedad que causa, también llamada "fusariosis", disminuye el rendimiento y afecta la calidad de los granos por acumulación de micotoxinas. *F. verticillioides* produce, entre otros, fumonisinas (FB) (Gelderblom *et al.*, 1988), que están asociadas a enfermedades en animales y humanos. Por ello, la Unión Europea reglamentó los límites de fumonisinas en granos vinculados a *Fusarium* (Agrinea, 2005).

F. verticillioides es cosmopolita, sobrevive en semillas y en desechos vegetales, por lo cual la rotación y el tratamiento químico son técnicas de manejo poco efectivas. El uso de cultivares resistentes es la medida más eficiente. La evaluación y selección de híbridos se realiza con infección artificial, aunque no existe un criterio único respecto a la metodología a utilizar (De León y Pandey, 1989).

Hay métodos de inoculación artificial y sus variantes (Mesterházy *et al.*, 2011) que se diferencian por la vía de entrada. Entre ellos: depósito de micelio en la espiga (Young, 1943), la aspersión de esporas sobre los estigmas (Ullstrup, 1970) y la inyección de esporas en el canal de los estigmas (Drepper y Renfro, 1990).

Los métodos que provocan heridas son los más agresivos porque al perforar las chalas, granos y/o marlo generan una puerta de entrada al patógeno. Aquellos métodos que no producen daños simulan una infección natural la cual contribuye a la resistencia basada en rasgos morfológicos, asumiendo que los insectos están controlados.

La enfermedad se desarrolla sobre los cariopses lastimados y la resistencia depende de la fisiología del grano (Gareth-Jones, 1987). Comparativamente hay pocos datos sobre la relación entre la resistencia de los granos y el canal de los estigmas (Mesterházy *et al.*, 2011) y no se han

encontrado trabajos comparando estas técnicas entre sí y con los controles naturales.

Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar distintas técnicas de inoculación con *F. verticillioides*, a través del comportamiento de cultivares de maíz, a fin de poder detectar la más apropiada para ser utilizada en los planes de mejoramiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante la campaña agrícola 2006/07 se realizó un ensayo, en la localidad de Camet (Gral. Pueyrredón) en el que se utilizaron los siguientes híbridos semidentados: 32F07, AD6601EZA, AW160MG, AW190MG, AX882MG, DK615MG, DK670MG, DK682MG, DK690MG, EG806, H2755RR2, LT610MGCL, LT630MG, NK795TDMAX, PAN-6148MG pertenecientes a los Criaderos Don Mario, Monsanto, Nidera, Pannar, Pioneer, Producers y Syngenta.

El diseño empleado fue bloques completos aleatorizados en parcela dividida con tres repeticiones. A los híbridos se les asignó la parcela principal. Hubo cuatro subparcelas, cada una conformada por un surco de 5 x 0,50 m, las que recibieron luego un tratamiento de inoculación.

Un aislamiento de *F. verticillioides*, de patogenicidad probada, conservado y multiplicado en el Criadero Monsanto se utilizó como inóculo. El patógeno se sembró en la superficie de un medio sólido de agar (APD 2%). Luego, se inocularon escarbadiantes esterilizados, en erlenmeyers, con discos de APD colonizados con micelio del patógeno, según Clements *et al.* (2003). Estos erlenmeyers se incubaron durante nueve días hasta la fecha de inoculación.

También se inocularon granos de sorgo esterilizados, con discos de APD con micelio del hongo. Luego de la colonización, los granos fueron oreados, colocados en bolsas de papel y conservados en frío hasta la inoculación. A partir de esos granos se preparó una suspensión acuosa, a una concentración de 5×10^6 conidios/mL.

Se utilizaron tres técnicas de inoculación asistida, las que se asignaron a las plantas de tres subparcelas: 1) Asperjado Sobre Estigmas (ASE), según Ullstrup (1970): se depositaron 3 mL de la suspensión de inóculo, con un pulverizador manual, sobre los estigmas que permanecieron siempre descubiertos; 2) Inyección en el Canal de los Estigmas (ICE): se inyectaron 3 mL de inóculo en el canal estigmático, con una jeringa de 10 mL y una aguja de 15 mm de largo, procurando no herir la mazorca y 3) Inserción de Escarbadiantes (IE), según Young (1943): se introdujo un palillo colonizado con el hongo (que permaneció inserto hasta el final), en la mitad de la espiga, traspasándola de lado a lado. Se utilizaron unas 21 plantas/surco/técnica, las que fueron inoculadas a los 10 días de la polinización (Drepper y Renfro, 1990). Las plantas de la restante subparcela no fueron inoculadas y se usaron, consecuentemente, como control.

Todas las espigas, inoculadas y controles, se cosecharon a mano cuando la humedad de los granos en cada parcela principal alcanzó alrededor de 21%. Se midió la severidad

de la enfermedad (S%), según Reid y Hamilton (1996): 1= espiga sin síntomas; 2= 1-3 % de la espiga con síntomas; 3= 4-10%; 4= 11-25%; 5= 26-50%; 6= 51-75%; 7= 76-100%. En las subparcelas, se estimó la incidencia de enfermedad (1%-porcentaje de espigas enfermas respecto del total).

Previo a los análisis, los valores de S% se convirtieron según Campbell y Madden (Presello *et al.*, 2006b), a la media aritmética de los intervalos de proporción de espiga con síntoma: 1= 0%, 2= 2%, 3 =7%, 4= 18%, 5= 38%, 6= 63%, 7= 88%.

Los datos se sometieron a análisis de la variancia (ANOVA) para el diseño de parcelas divididas en el que se incluyeron los factores híbridos y técnicas de inoculación. Ante la aparición de efecto híbridotécnica significativo, se procedió a abrir la interacción y ejecutar un ANOVA para un diseño en bloques a un sólo factor (híbridos o técnicas). Es de destacar que, previo a los ANOVA, se testeó si las muestras utilizadas poseían variancias semejantes mediante el test de Bartlett. Se realizó la prueba de comparaciones múltiples de medias según Tukey ($\alpha = 0,05$).

Se validaron las técnicas de inoculación a través de la correspondencia del comportamiento de los híbridos luego de la infección asistida, respecto del observado por ellos pero bajo infección natural. Así se utilizaron datos de 1%, luego de la aparición natural de fusariosis en los híbridos 32F07, AW160MG, AW190MG, AX882MG, DK615MG, DK670MG, DK682MG, DK690MG y NK795TDMAX, que se encontraban en una red de ensayos del Criadero Monsanto, en Camet, durante las campañas 2005/06 y 2006/07 (resultados no publicados). El ordenamiento de dichos cultivos se valoró mediante el coeficiente de correlación de Spearman. En todos los casos, los análisis se realizaron de acuerdo a Steel y Torrie (1988).

RESULTADOS

A) Comportamiento según técnica de inoculación empleada

El ANOVA realizado mostró efectos significativos ($p < 0,001$) de híbridos y técnicas de inoculación para la 1%

	&Técnicas de Inoculación				Media
	C	ASE	ICE	IE	
Híbridos					
32F07	0 b ^(#)	7 c	22 C	26 c	14
AD 6601EZA	13 ab	31 abc	54 abc	86 a	46
AW 160MG	15 ab	34 abc	57 abc	78 ab	46
AW 190MG	8 ab	44 abc	66 Ab	86 a	51
AX 882MG	0 b	23 abc	55 abc	86 a	41
DK 615MG	15 ab	31 abc	55 abc	72 ab	43
DK 670MG	0 b	21 abc	31 Bc	64 ab	29
DK 682MG	0 b	43 abc	57 abc	78 ab	45
DK 690MG	0 b	23 abc	35 Bc	69 ab	32
EG806	0 b	25 abc	56 abc	81 ab	40
H 2755RR2	17 ab	54 a	66Ab	86 a	56
LT 610MG CL	25 a	40 abc	67 Ab	91 a	56
LT 630MG	30 a	49 ab	75 A	88 a	61
NK 795 TDMAX	0 b	12 bc	33 Bc	63 ab	27
PAN 6148MG	0 b	11 bc	32 Bc	50 bc	23
Media	8	30	51	74	
CV	85	40	26	15	

Tabla 1. Incidencia (1%) de la fusariosis de la espiga en 15 híbridos de maíz lograda luego de aplicar cuatro técnicas de inoculación.

&Técnicas de Inoculación

(&)C= Control; ASE = Asperjado Sobre los Estigmas; ICE = Inyección en Canal de los Estigmas; IE = Inserción de Escarbadietes.

(#) Letras distintas indican diferencias significativas entre híbridos a $p < 0,05$

de la enfermedad. Asimismo, hubo interacción significativa híbridotécnica de inoculación ($p=0,013$). El comportamiento relativo de los cultivares varió, por lo tanto, según la técnica utilizada. Todos los híbridos incrementaron la I% en el orden: C, ASE, ICE e IE (tabla 1).

Dentro de cada técnica, los híbridos mostraron respuestas disímiles ($p<0,01$). El híbrido 32F07 mostró el valor mínimo de I% en las técnicas ASE (7%), ICE (22%) e IE (26%) así como en C (0%), aunque en esta última hubo otros siete híbridos (AX882MG, DK670MG, DK682MG, DK690MG, EG806, NK795TDMAX y PAN6148MG) sin enfermedad. Según el test de Tukey, para las técnicas con inóculo hubo híbridos que no se diferenciaron de 32F07. En efecto para ASE, se detectaron 12 híbridos (i.e. AD6601EZA, AW160MG, AW190MG, AX882MG, DK615MG, DK670MG, DK682MG, DK690MG, EG806, LT610MGCL, NK795TDMAX, PAN6148MG), para ICE hubo 10 (i.e. AD6601EZA, AW160MG, AX882MG, DK615MG, DK670MG, DK682MG, DK690MG, EG806, NK795TDMAX, PAN6148MG), mientras que para IE solo uno (PAN6148MG).

La correlación de rangos de los híbridos inoculados mostró valores significativos ($p<0,05$): $r_s=0,76$ (ASE-ICE), $r_s=0,64$ (ASE-IE), $r_s=0,55$ (ICE-IE). Las técnicas detectaron un ordenamiento estadísticamente, en mayor o menor medida, similar de los híbridos según la importancia de su I%.

Para S%, el ANOVA mostró la ausencia de interacción híbridotécnica. La S% relativa de los híbridos no varió con la técnica. El comportamiento provocado por las técnicas fue independiente del híbrido. El análisis mostró también que los híbridos, a diferencia de la I%, no tuvieron S% distintas ($p>0,01$). La menor variabilidad entre híbridos para S% podría estar asociada al alto valor del coeficiente de variación del error (80%).

No obstante, se detectaron diferencias ($p<0,001$) entre las técnicas. El valor de Tukey ($p<0,05$) fue de 5%. La S% máxima promedio fue para IE (16%, tabla 2), valor no distinto al de ICE (12%). La técnica ASE provocó una S% promedio menor (10%) que IE aunque estadísticamente similar a ICE. El control mostró la S% promedio mínima (3%).

&Técnicas de Inoculación					
	C	ASE	ICE	IE	Media
Híbridos					
32F07	0	1	5	7	3
AD 6601EZA	3	19	25	20	17
AW 160MG	5	10	12	14	10
AW 190MG	2	23	32	18	19
AX 882MG	0	7	19	13	10
DK 615MG	3	8	8	12	8
DK 670MG	0	4	8	13	6
DK 682MG	0	15	11	22	12
DK 690MG	0	4	5	9	5
EG806	0	21	8	14	11
H 2755RR2	5	16	17	29	16
LT 610MG CL	9	7	10	18	11
LT 630MG	11	13	16	22	16
NK 795 TDMAX	0	3	6	7	4
PAN 6148MG	0	4	5	21	8
Media	3a	10b	12bc	16c	10

Tabla 2. Severidad (S%) de la fusariosis de la espiga en 15 híbridos de maíz lograda luego de aplicar cuatro técnicas de inoculación.

&Técnicas de Inoculación

(&)C= Control; ASE = Asperjado Sobre los Estigmas; ICE = Inyección en Canal de los Estigmas; IE = Inserción de Escarbadientes.

Letras distintas indican diferencias significativas entre técnicas a $p<0,05$

B) Relación entre el comportamiento de los híbridos manifestado bajo infección asistida y natural

El ordenamiento de los nueve híbridos, según la I% de fusariosis aparecida naturalmente durante las dos campañas, fue estadísticamente similar ($r_s=0,83$) (tabla 3). La correlación entre la infección natural de 2005/6 y las técnicas de este trabajo fueron todas no significativas. No obstante, los coeficientes obtenidos, desde los datos de 2006/07, entre la infección natural y las técnicas ASE ($r_s=0,80$) e ICE ($r_s=0,77$), pero así también el control ($r_s=0,82$), fueron significativos. La técnica IE fue la única que no correlacionó con la infección natural de 2006/07.

Infección	^a Nat-05/06	C	ASE	ICE	IE
Nat-05/06	--	0,63	0,63	0,51	0,32
Nat-06/07	0,83*	0,82*	0,80*	0,77*	0,49

Tabla 3. Coeficientes de correlación de rangos (r_g) para la I% de fusariosis obtenida en nueve híbridos de maíz bajo infección asistida y natural (ver texto por detalles).

^aNat= Infección natural, C= Control; ASE= Asperjado Sobre los Estigmas; ICE= Inyección en el Canal de los Estigmas; IE= Inserción de Escarbadientes.; *significativo a $p=0,05$

DISCUSIÓN

En este trabajo todos los cultivares usados, salvo EG806 y H2755RR2, son BT. Es esperable que, en los híbridos modificados, haya habido pocas lesiones debidas al barrenador. Como se sabe, dichas heridas permiten la entrada de las esporas de *Fusarium* (Presello *et al.*, 2004). Por tanto, las respuestas mostradas por las plantas, al menos en los 13 cultivares transgénicos, se deberían exclusivamente al protocolo de inoculación desarrollado.

Las tres técnicas utilizadas generaron respuestas distintas en los híbridos, los que mantuvieron, desde un punto de vista estadístico, el mismo orden de mérito según la I% en cada método de inoculación. Sin embargo, no pudieron diferenciar los genotipos por la S%. Esta ausencia de diversidad no concuerda con lo manifestado por Presello *et al.* (2007) quienes evaluaron S% en híbridos de tipo duro, semidentado y pisingallo, inoculados mediante ICE en ensayos realizados durante dos años en Pergamino. El uso de otras técnicas de inoculación, las diferencias del germoplasma y de ambiente podrían ser los responsables de esos resultados divergentes.

Los resultados mostraron que las técnicas produjeron niveles de I% y S% de fusariosis más altos que el control. Otros autores arribaron a resultados similares, aunque, ninguno comparó simultáneamente las tres técnicas de inoculación con el control. Drepper y Renfro (1990) detectaron diferente S% en líneas endocriadas inoculadas con IE, ICE y C. Dichos autores señalaron que, coincidentemente con nuestro trabajo, la S% provocada por IE fue su-

perior, aunque no significativamente, a la obtenida por ICE. Por el contrario, Gulya *et al.* (1980), trabajando también con líneas, detectaron S% distintas con IE y ASE.

La técnica IE produjo los valores máximos promedio de I% y S%. Esto se debería, en oposición a las otras dos inoculaciones, al daño ocasionado por el escarbadientes. En efecto, la herida del palillo de madera permitió evitar las posibles barreras a la entrada y, en consecuencia, facilitó la penetración en los granos de la espiga.

Respecto a la I%, la variabilidad genotípica estimada a partir de los cuadrados medios del ANOVA fue de 0,031, valor que se diferenció ($p<0,05$), según el test de Bartlett, de los estimados para ICE (0,019), ASE (0,012) y Control (0,009). Por tanto, bajo nuestras condiciones, la aplicación de IE maximizó la diversidad genética entre híbridos. Según Mariotti (1986), la evaluación de genotipos en ambientes (=técnicas de inoculación) que exacerban la variabilidad genotípica ayuda a la distinción de los híbridos por su comportamiento. En consecuencia, la aplicación del IE facilitaría la selección de los genotipos. No obstante, la ejecución de IE bajo factores externos favorables al desarrollo de la enfermedad incrementaría, sobre todo, los valores mínimos de I%. Por lo que, en concordancia con Reid y Hamilton (1996), el beneficio sobre la maximización de la variabilidad podría no usufructuarse.

Entre las técnicas sin heridas, ASE e ICE, se considera a ASE como la más parecida a la infección natural, dado que los conidios se depositan por sobre los estigmas. ASE generó una I% significativamente menor que ICE (tabla 1), aunque la S% fue similar (tabla 2). La menor I% obtenida por ASE (30%), respecto de ICE (51%), se relacionaría con las barreras representadas por los estigmas y chalas que el patógeno debió sortear hasta llegar a los granos, como así también a las condiciones climáticas durante la inoculación.

En efecto, al inocular se percibió, aunque no se cuantificó, una elevada temperatura y una baja humedad ambiental que pudieron favorecer la desecación del inóculo, en particular el depositado mediante asperjado. Para tratar de morigerar estos efectos, Ullstrup (1970) sugirió cubrir los estigmas, luego de inocular, para incrementar la efectividad de la técnica. No obstante, Reid y Hamilton (1996) indicaron que en las espigas cubiertas proliferaban, por exceso de humedad, bacterias que provocaban la reducción del nivel de infección de *Fusarium*.

F. verticillioides infecta el maíz endémicamente por lo que, en concordancia con Presello *et al.* (2006a), se dificulta lograr un testigo sin enfermedad que pueda servir de referencia. En nuestro experimento, más del 50% de las plantas de las subparcelas control tuvieron ausencia completa de fusariosis (tabla 1). No obstante, el híbrido LT-630MG, que mostró alta susceptibilidad con las técnicas, tuvo un 30% de I% en el control. Esto sugiere que, con estas condiciones, hubo inóculo suficiente y el ambiente apropiado para la aparición natural de la fusariosis. Este razonamiento coincide con el resultado de los híbridos control que mostraron el mismo ranking ($r_s=0,82$, tabla 3)

que cuando fueron evaluados bajo infección natural el mismo año (2006-07). La clasificación de dichos híbridos, sin embargo, no coincidió ($r_s=0,63$, tabla 3) con la infección natural del año anterior (2005-06) a este trabajo. Circunstancias predisponentes menos favorables a la aparición de la enfermedad durante 2005/06 podrían haber estado relacionadas a esa ausencia de correlación.

El ranking de nueve de los híbridos, según su I% debida a ASE e ICE, fue similar a la obtenida con la infección natural ocurrida en 2006-07 (tabla 3). Ambas técnicas predijeron el orden de los híbridos según la importancia de la I% en infección natural. Por el contrario, no hubo correlación entre la infección natural y los resultados generados por IE.

Además de generar la más alta correlación de rangos, ASE e ICE son bastante similares respecto del inóculo utilizado y en su simplicidad y uso de recursos. Pero, a diferencia de ASE y a pesar del cuidado durante la inoculación, la ejecución sistemática de ICE podría generar heridas en la punta de la espiga que facilite la entrada del patógeno. Este potencial inconveniente se subsanaría teniendo la precaución de no introducir demasiado la aguja en el canal estigmático.

No obstante, los resultados muestran que la aplicación del ICE sería más provechosa, respecto de la diferenciación de respuestas y también por la precisión con que se mide la I%. Con respecto a ASE, la aplicación de ICE permitió controlar más la variación debida al error ($CV=26\%$, tabla 1), así como generar un 58% más de diversidad genotípica y obtener una proporción superior de híbridos con I% significativamente menor al máximo ($LT630MG=75\%$, tabla 1). Lo anterior, realza el mérito de ICE. Esto coincide con Drepper y Renfro (1990) quienes expresan que ICE es el método utilizado por el CIMMYT.

Otros experimentos, en ambientes adicionales y utilizando híbridos modernos y/o líneas endocriadas devienen necesarios a fin evaluar la repetibilidad de los resultados obtenidos. No obstante, se destaca que la técnica ICE maximizó las diferencias de los híbridos de maíz por su I%. Asimismo, las ventajas enumeradas para ICE la convertiría en más apropiada que ASE e IE para evaluar el comportamiento del maíz frente a *Fusarium* de la espiga.

BIBLIOGRAFIA

- AGRINEA. 2005. Micotoxina: Límites regulatorios y recomendados en la Unión Europea-Sept 2004. <http://www.engormix.com/MA-micotoxinas/articulos/micotoxinas-limites-regulatorios-recomendados-t543/253-p0.htm> (verificado: octubre 2012).
- CLEMENTS, M.; KLEINSCHMIDT, C.; MARAGOS, C.; PATTARKY, J. y WHITE, D. 2003. Evaluation of techniques for *Fusarium* ear and fumonisin contamination of corn. *Plant Dis.* 87:147-153.
- DE LEON, C. y PANDEY, S. 1989. Improvement of resistance to ear and stalk rots and agronomic traits in tropical maize gene pools. *Crop Sci.* 29:12-17.
- DREPPER, W. y RENFRO, B. 1990. Comparison of methods for inoculation of ears and stalks of maize with *Fusarium moniliforme*. *Plant Dis.* 74:952-956.
- GARETH-JONES, D. 1987. *Plant Pathology, Principles and practices*. Open University Press, United Kingdom. 208 p.
- GELDERBLOM, W.C.A.; JASKIEWICZ, K.; MARASAS W.F.O. y THIEL P.G. 1988. Fumonisin: Novel micotoxin with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microb.* 54, 1806-1811.
- GULYA, T.; MARTINSON, C. y LOESCH, P. 1980. Evaluation of inoculation techniques and rating dates for *Fusarium* ear rot of opaque-2 maize. *Phytopathology* 70:1116-1118.
- KOMMEDAHL, T. y WINDELS, C.E. 1981. Root-, stalk-, and ear-infecting *Fusarium* species on corn in the USA. In: Nelson, P.E.; Toussoun, T.A. and Cook, R.J. eds. *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. Pennsylvania State University Press. University Park. pp. 94-103
- MARIOTTI, J., 1986. Fundamentos de Genética Biométrica. Aplicaciones al Mejoramiento Genético Vegetal. Monografía N.º 32, Serie de Biología. Secretaría general de la OEA, Washington, 152p
- www.inta.gov.ar/pergamino/info/documentos/t_maiz/megoetal-2005maiz.pdf. (verificado: octubre 2012).
- MESTERHÁZY, A.; LEMMENS, M. y REID, L.M. 2011. Breeding for resistance to ear rots caused by *Fusarium* spp. in maize - a review. *Plant Breed.*, 131:1-19.
- MUNKVOLD, G.P.; HELLMICH, R.L. y SHOWERS W.B. 1997a. Reduced *Fusarium* ear rot and symptomless infection in kernels of maize genetically engineered for European corn borer resistance. *Phytopathology* 87:209-217.
- MUNKVOLD, G.P.; MCGEE, D.C. y CARLTON, W.C. 1997b. Importance of different pathways by *Fusarium moniliforme*. *Phytopathology* 84:1144.
- PRESELLO, D.; BOTTA, G. y IGLESIAS, J. 2004. Podredumbres de espiga de maíz y micotoxinas asociadas. *IDIA XXI: Cereales* 6: 152-156 .
- PRESELLO, D.; BOTTA, G.; IGLESIAS, J. y EYHERABIDE, G. 2006a. Efecto de la severidad de síntomas de podredumbre de espiga causada por *Fusarium verticillioides* sobre el rendimiento y la concentración de fumonisin en grano de maíz. www.maizar.org.ar/vertext.php?id=162 (verificado: octubre 2012).
- PRESELLO, D.; IGLESIAS, J.; BOTTA, G.; REID, L.; LORI, G. y EYHERABIDE, G. 2006b. Stability of resistance to the ear rots caused by *Fusarium graminearum* and *F. verticillioides* in Argentinian and Canadian environments. *Euphytica* 147:403-407.
- PRESELLO, D.; BOTTA, G.; IGLESIAS, J. y EYHERABIDE, G. 2007. Severity of *Fusarium* ear rot and concentration of fumonisin in grain of Argentinian maize hybrids. *Crop Prot.*, 26: 852-855.
- REID, L. y HAMILTON, R. 1996. Effect of inoculation position, timing, macroconidial concentration and irrigation on resistance of maize. *Can J. Plant Pathol.* 18: 279-285.
- SAUBOIS, A.; NEPOTE, M.C. y PIONTELLI, E. 1996. Regional distribution of *Fusarium* strains in corn from the Province of Santa Fe, Argentina. *Bol. Micológico* 11: 75-80.
- SIIA, SISTEMA INTEGRADO DE INFORMACIÓN AGROPECUARIA, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, Argentina 2013. <http://www.siia.gov.ar> (verificado: octubre 2013).
- STEEL, R. y TORRIE, J., 1988. *Bioestadística. Principios y procedimientos*. 2ª Ed, Mc Graw – Hill. 622p.
- ULLSTRUP, A. 1970. Method for inoculating corn ears with *Gibberella zeae* and *Diplodia maydis*. *Plant Dis. Report* 54:658-662.
- WARREN, H.L. 1978. Comparison of normal and high-lysine maize inbreds for resistance to kernel rot caused by *Fusarium moniliforme*. *Phytopathology* 68:1331-1335.
- YOUNG, H. 1943. The toothpick method of inoculating corn for ear and stalk rots. *Phytopathology* 33:16.