

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA TROPICAL



**IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL Y CONTROL QUÍMICO
DE LA MANCHA FOLIAR EN MAÍZ AMARILLO DURO (Zea mays
L.) A NIVEL IN VITRO EN EL DISTRITO DE SANTA ANA – LA
CONVENCIÓN – CUSCO.**

Tesis Presentada por la Bachiller. **LEIDY
SHARLY DELGADO OLAVE** para optar
al título profesional de **INGENIERO
AGRÓNOMO TROPICAL**

Asesora:

M. Sc. Flor Pacheco Farfán

La Convención - Cusco - Perú

2016

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos por su apoyo incondicional y continuo durante toda la investigación. Por su infinito amor, a quienes debo todo lo que soy con todo mi cariño y gratitud.

A mis compañeros de la Escuela Profesional de Agronomía Tropical – Quillabamba. Por estar presentes en cada momento de mi formación profesional, alentándome y apoyándome para no decaer. Pero lo más importante por el valor de la amistad.

AGRADECIMIENTO

- A Dios por su amor infinito y por lo que soy.
- A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- A la Facultad de Ciencias Agrarias – Escuela Profesional de Agronomía Tropical.
- A la M. Sc. Flor Pacheco Farfán, asesora de la presente tesis por su orientación constante e invaluable apoyo en la ejecución y culminación del presente trabajo.
- A la Ing. Beatriz por su apoyo incondicional.
- A mis docentes de la Escuela Profesional de Agronomía Tropical - UNSAAC por sus valiosas enseñanzas para mi formación profesional.
- A todas aquellas personas que de una u otra manera colaboraron con el desarrollo de la tesis, expresar mi gratitud por haber hecho posible la culminación del presente trabajo de investigación.
- Al M. Sc. Luis Lizárraga Valencia Vice Decano de la Facultad de Ciencias Agrarias, por su apoyo constante en la ejecución del trabajo.

INDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	x
I. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACION	1
1.1. Identificación del problema	1
1.2. Planteamiento del problema	1
1.2.1. Problema general	1
1.2.2. Problemas específicos	1
II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACION	3
2.1. Objetivo General	3
2.2. Objetivos Específicos	3
2.3. Justificación	3
III. HIPÓTESIS.....	4
3.1. Hipótesis general	4
3.2. Hipótesis específicas.....	4
IV. MARCO TEORICO	5
4.1. Generalidades sobre el maíz.....	5
4.1.1. Centro de origen del maíz	5
4.1.2. Maíz amarillo duro	5
4.1.3. Morfología de la planta del maíz	6
4.1.4. Etapas fenológicas del cultivo de maíz	9
4.1.5. Clasificación taxonómica del maíz	6
4.2. Enfermedades foliares del maíz amarillo duro.....	12
4.2.1. <i>Bipolaris sp.</i> (mancha marrón).....	13
4.3. Tipos de fungicidas	16
4.3.1. Fungicidas de contacto o protectores	16
4.3.2. Fungicidas sistémicos	17

4.3.3.	Descripción de los fungicidas utilizados	17
V.	DISEÑO DE LA INVESTIGACION	19
5.1.	Tipo de investigación	19
5.2.	Ubicación espacial	19
5.2.1.	Ubicación política	19
5.2.2.	Ubicación geográfica	19
5.2.3.	Ubicación hidrográfica	19
5.3.	Zona de vida	19
5.4.	Ubicación temporal	19
5.5.	Materiales y métodos.....	20
5.5.1.	Materiales.....	20
5.5.2.	Métodos.....	23
VI.	RESULTADOS	37
6.1.	Identificar el agente causal de la mancha foliar en maíz amarillo duro en el distrito de Santa Ana.	37
6.2.	Establecer el análisis micológico de las semillas de maíz amarillo duro a nivel in vitro.....	37
6.3.	Determinar el mejor medio de cultivo para el agente causal aislado del maíz amarillo duro a nivel in vitro.	38
6.4.	Evaluar el efecto de los fungicidas en el crecimiento radial de la colonia del fitopatógeno a nivel in vitro	40
VII.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	43
7.1.	Identificar el agente causal de la mancha foliar en maíz amarillo duro en el distrito de Santa Ana.	43
7.2.	Establecer el análisis micológico de las semillas de maíz amarillo duro a nivel in vitro.....	43
7.3.	Determinar el mejor medio de cultivo para el agente causal aislado del maíz amarillo duro a nivel in vitro.	43
7.4.	Evaluar el efecto de los fungicidas en el crecimiento radial de la colonia del fitopatógeno a nivel in vitro	44
VIII.	CONCLUSIONES.....	46

IX. SUGERENCIAS	47
X. BIBLIOGRAFÍA	48
ANEXO	51

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Distribución de los tratamientos en estudios a nivel “in vitro”.....	22
Cuadro 2. Fungicidas utilizadas en la prueba "in vitro" para el control de <i>Bipolaris</i> sp.	35
Cuadro 3. Resultados obtenidos en la clínica de diagnosis de fitopatología y nematología de la Universidad Nacional Agraria la Molina de los aislamientos obtenidos a partir de muestras de maíz del distrito Santa Ana (Ver Anexo 4.)	37
Cuadro 4. Resultados del análisis micológico de las semillas de maíz amarillo duro procedentes de la parcela del agricultor, garantizada y del mercado.	37
Cuadro 5. Diámetro promedio (mm) del crecimiento micelial de <i>Bipolaris</i> sp. en diferentes medios de cultivo, a los 7 días después de la siembra.....	38
Cuadro 6. Análisis de variancia del crecimiento micelial promedio (mm) de <i>Bipolaris</i> sp. En los diferentes medios de cultivo.	39
Cuadro 7. Prueba de tukey al 5% para el promedio del crecimiento micelial de <i>Bipolaris</i> sp. en los diferentes medios de cultivo a los 7 días de siembra.....	39
Cuadro 8. Análisis de variancia del crecimiento micelial promedio “in vitro” de <i>Bipolaris</i> sp. Con tratamientos y dosis de fungicidas.....	40
Cuadro 9. Prueba de Tukey al 5% para el crecimiento micelial promedio (mm) de <i>Bipolaris</i> sp. en tratamientos con fungicidas.	40
Cuadro 10. Prueba de Tukey al 5% para el crecimiento micelial promedio de <i>Bipolaris</i> sp. en tratamientos con diferentes dosis.	41
Cuadro 11. Análisis de variancia del crecimiento micelial “in vitro” de efectos simples de la interacción (Fungicidas en diferentes dosis, Diferentes dosis en fungicidas)...	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Partes de la hoja	7
Figura 2. <i>Estructura de Bipolaris sp.</i> (Conidióforos ramificados, células conidiógenas cicatrizadas y conidios elipsoidales).....	15
Figura 3. Porcentaje de semillas de maíz infestadas.....	38
Figura 4. Crecimiento micelial promedio (mm) de <i>Bipolaris sp.</i> en diferentes medios de cultivo.....	39
Figura 5. Crecimiento del micelio promedio (mm) de <i>Bipolaris sp.</i> en los tratamientos con fungicidas.....	41
Figura 6. Crecimiento micelial en mm de <i>Bipolaris sp.</i> en diferentes dosis.....	41

RESUMEN

El presente trabajo de investigación intitulado “Identificación del agente causal y control químico de la mancha foliar en maíz amarillo duro (*Zea mays* L.) a nivel in vitro en el distrito de Santa Ana – La Convención – Cusco” se llevó a cabo en el Laboratorio de fitopatología de la escuela profesional de Agronomía Tropical – UNSAAC (sede Quillabamba), ubicado en el distrito de Santa Ana, Provincia de La Convención Región Cusco, entre los meses de enero a mayo del 2013. Los objetivos fueron: identificar el agente causal de la mancha foliar en maíz amarillo duro, establecer el análisis micológico de las semillas de maíz amarillo duro, determinar el mejor medio de cultivo para el agente causal aislado y evaluar el efecto de los fungicidas en el crecimiento radial de la colonia del fitopatógeno a nivel in vitro. El tipo de investigación fue el diseño completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial de 11 x 3 que consta 10 fungicidas (Azoxystrobin, Triadimenol, Carbendazin, Tebuconazole, Azoxystrobin + Triadimenol, Azoxystrobin + Carbendazin, Azoxystrobin + Tebuconazole, Triadimenol + Carbendazin, Triadimenol + Tebuconazole, Carbendazin + Tebuconazole) más un 1 testigo (EM) en 3 dosis diferentes para cada uno, haciendo un total de 33 tratamientos y 5 repeticiones. Cuando existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) se utilizó la prueba de comparación de medias de Tukey. La variable evaluada al finalizar el experimento fue el crecimiento micelial del hongo.

Las conclusiones a la que se llegó fue:

- Se identificó como fitopatógeno responsable a *Bipolaris sp.*
- El análisis de semilla nos permitió determinar que *Bipolaris sp.*, no se disemina por semilla.
- El extracto hoja de maíz amarillo duro es el medio de cultivo que favoreció el crecimiento y desarrollo de *Bipolaris sp.*
- En las pruebas realizadas “in vitro” los fungicidas que inhibieron el crecimiento micelial de *Bipolaris sp.* al 100% fueron: T9 (Bayfidan +

Cardazina), T8 (Amistar + Folicur), T11 (Cardazina + Folicur), T6 (Amistar + Bayfidan), T4 (Folicur), T2 (Bayfidan), T10 (Bayfidan + Folicur).

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.), es una especie vegetal originaria del continente americano y se encuentra ampliamente cultivada en la Costa, Sierra y Selva; desde una altitud que va desde el nivel del mar hasta los 3600 m. Se cultiva en todas las regiones del Perú ya que tiene una gran adaptación a las diferentes zonas ecológicas del medio. Así mismo, como todo cultivo el maíz amarillo duro se ve afectado por diversos factores bióticos y abióticos que merman el rendimiento y afectan la calidad de los granos Uno de estos factores bióticos son las enfermedades causadas por hongos, las que se consideran como las más importantes porque causan daños durante cualquier fase de desarrollo de la planta y después de la cosecha.

En la provincia de La Convención - Cusco, se conoce muy poco sobre las pérdidas ocasionadas por estas manchas foliares, pero se estima que la reducción de los rendimientos es significativa. Durante la temporada del cultivo de maíz amarillo duro, existe un alto nivel de inóculo de las manchas foliares del patógeno, esto es a causa del uso de semilla susceptible a esta enfermedad y a ello se suma las condiciones ambientales que favorecen el desarrollo de enfermedades como es la alta humedad. Paralelo a este problema es la falta de identificación del patógeno que se hace complicado debido a que presenta sintomatología similar a otras enfermedades causadas por hongos.

Las manchas foliares del maíz se han manejado fundamentalmente mediante la tolerancia o resistencia genética de los híbridos. En estos últimos tres años se está haciendo uso del control químico aplicando fungicidas de estrobilurinas y triazoles en diferentes estados vegetativos de la planta, desde V8 (octava hoja) hasta el estado reproductivo de R1 (floración femenina). Esta aplicación se realiza sin la identificación previa del agente causal de esta enfermedad lo cual puede traer problemas posteriores como es la resistencia de este patógeno a los productos químicos aplicados.

Es por ello, que con el objetivo de identificar el agente causal de la mancha foliar en el cultivo de maíz amarillo duro y buscar alternativas de control con fungicidas, se realizó el presente trabajo de investigación a nivel de laboratorio con muestras recolectadas en parcelas de diferentes agricultores más representativos del distrito de Santa Ana, las cuales fueron llevadas a las instalaciones del Laboratorio de Fitopatología de la Escuela Profesional de Agronomía Tropical de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco – Sede Quillabamba, para el estudio correspondiente.

La autora

I. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACION

1.1. Identificación del problema

En la provincia de la Convención el “maíz amarillo duro” es utilizado principalmente por los agricultores como alimento para aves y porcinos, siendo así un cultivo de mucha importancia debido a que lo compran en grandes cantidades y con mucha frecuencia. Actualmente existen varios factores que limitan la producción de este cultivo entre los cuales se encuentran: calidad de los suelos, densidad de siembra, deficiencias en el manejo de fertilización, el uso de semillas no certificadas, falta de apoyo técnico por parte de las instituciones públicas, deficiente manejo de malezas, presencia de plagas y enfermedades foliares.

El factor más relevante de los bajos rendimientos es la incidencia de enfermedades foliares, las que se presentan en los diferentes estados vegetativos de la planta y provocan síntomas como son: marchitamiento y lesiones necróticas en la lámina foliar disminuyendo así su capacidad fotosintética.

1.2. Planteamiento del problema

1.2.1. Problema general

- ¿Cuál es el agente causal y qué efecto tendrá el control químico de la mancha foliar en maíz amarillo duro a nivel in vitro en el distrito de Santa Ana – La Convención – Cusco?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cuál es el agente causal de la mancha foliar en maíz amarillo duro en el distrito de Santa Ana?
- ¿Cómo es la diseminación del agente causal de la mancha foliar en maíz amarillo duro?
- ¿Qué medio de cultivo favorecerá el desarrollo del agente causal de la mancha foliar en maíz amarillo duro a nivel in vitro?

- ¿Qué efecto tendrá los fungicidas en el crecimiento radial de la colonia del fitopatógeno a nivel in vitro?

II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACION

2.1. Objetivo General

Identificar el agente causal y evaluar el efecto del control químico de la mancha foliar en maíz amarillo duro (*Zea mays L.*) a nivel in vitro en el distrito de Santa Ana – La Convención – Cusco.

2.2. Objetivos Específicos

- Identificar el agente causal de la mancha foliar en maíz amarillo duro en el distrito de Santa Ana.
- Establecer el análisis micológico de las semillas procedentes de la parcela del agricultor, semillas obtenidas del mercado y semillas garantizadas de maíz amarillo duro a nivel in vitro.
- Determinar el mejor medio de cultivo para el agente causal aislado del maíz amarillo duro a nivel in vitro.
- Evaluar el efecto de los fungicidas en el crecimiento radial de la colonia del fitopatógeno a nivel in vitro

2.3. Justificación

- La Identificación del agente causal se hizo para realizar el estudio con el determinado patógeno.
- El análisis micológico de la semilla se realizó para descartar la presencia del inóculo primario.
- Al evaluar la capacidad de esporulación en los cinco medios de cultivo, tendrá como fin establecer el mejor medio de esporulación y desarrollo para el agente causal y obtener resultados en menor tiempo para posteriores evaluaciones como la prueba in vitro con el uso de fungicidas.
- Prueba in vitro de los fungicidas se realizó con el fin de determinar la eficacia de cada fungicida evaluado en un medio de cultivo envenenado.

III. HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis general

Bipolaris sp. es el agente causal y el efecto del control químico es positivo en la mancha foliar en maíz amarillo duro (*Zea mays L.*) a nivel in vitro en el distrito de Santa Ana – La Convención – Cusco.

3.2. Hipótesis específicas

- El agente causal de la mancha foliar en maíz amarillo duro, es *Bipolaris sp.*
- El agente causal de la mancha foliar en maíz amarillo duro, es diseminado por semilla.
- El mejor medio de cultivo para el agente causal de la mancha foliar en maíz amarillo duro, es extracto de hojas de maíz (EM).
- Entre los fungicidas a nivel “in vitro” hay efecto de control de uno o más productos químicos.

IV. MARCO TEORICO

4.1. Generalidades sobre el maíz

4.1.1. Centro de origen del maíz

MARTÍNEZ, J. (2011) indica que el origen exacto del maíz actualmente, no ha llegado a esclarecerse plenamente. Se han sugerido varios sitios de origen que van desde Paraguay en Sur América hasta Guatemala y México en Mesoamérica. El lugar de origen que sugiere la evidencia científica como más razonable identifica a México como el lugar más probable de origen o a Guatemala como segunda.

SILVA, C. (2005) menciona que otras revisiones coinciden en afirmar que el maíz se originó en una parte restringida de México y los tipos más desarrollados emigraron hacia otros sitios de América desde Chile hasta Canadá. Por otro lado, la evidencia más antigua sobre la domesticación de maíz proviene de sitios arqueológicos de México, donde pequeñas tuzas con edad estimada de 7000 años han sido excavadas. **SERRATOS, J. (2009)** informa que el origen del maíz no ha sido sencillo de rastrear, la mazorca es única entre los cereales y de ahí que la dilucidación de su origen haya sido un gran desafío científico.

En el Perú el maíz pop corn se ha encontrado en las antiguas tumbas, en donde se han descubierto también utensilios para reventar el grano.

4.1.2. Maíz amarillo duro

IICA, (2012) informa que los cultivares locales originales de maíz fueron en general tipos de maíz duro. Los granos de este tipo de maíz son redondos, duros y suaves al tacto. El endospermo está constituido sobre todo de almidón duro córneo con solo una pequeña parte de almidón blando en el centro del grano. El maíz duro germina mejor que otros tipos de maíz, particularmente en suelos húmedos y fríos. Es por lo general de madurez temprana y se seca más rápidamente una vez que alcanzó la madurez fisiológica. Sin embargo, los maíces duros rinden por lo general menos que los maíces dentados. Los maíces duros son preferidos para alimento humano y para hacer fécula de maíz ("maicena").

Una parte importante del área sembrada con maíces duros es cosechada para ser consumida como mazorcas verdes o como alimento animal, si bien datos concretos al respecto no están aún disponibles. Muchos de los maíces duros cultivados comercialmente tienen granos anaranjado- amarillentos o blanco cremosos, aunque existe una amplia gama de colores, por ejemplo, amarillo, anaranjado, blanco, crema, verde, púrpura, rojo, azul y negro. En los trópicos, los tipos de maíz duro color amarillo-anaranjado alcanzan un área de 20 millones de hectáreas, mientras que los de color blanco-cremoso llegan a 12,5 millones de hectáreas.

4.1.3. Clasificación taxonómica del maíz

CRONQUIST, A. (1993) reporta la clasificación taxonómica de la siguiente manera:

Reino: Vegetal
División: Magnoliophyta
Clase: Liliopsida
Subclase: Commelinidae
Orden: Poales
Familia: Poaceae (Graminae)
Subfamilia: Panicoideae
Tribu: Maydeae
Género: *Zea*
Especie: *Zea mays* L.
Nombre Vulgar: Maíz, choclo.

4.1.4. Morfología de la planta del maíz

El maíz (*Zea mays*) es una especie de gramínea y es el cereal con el mayor volumen de producción a nivel mundial, aquí la descripción botánica.

➤ Raíz

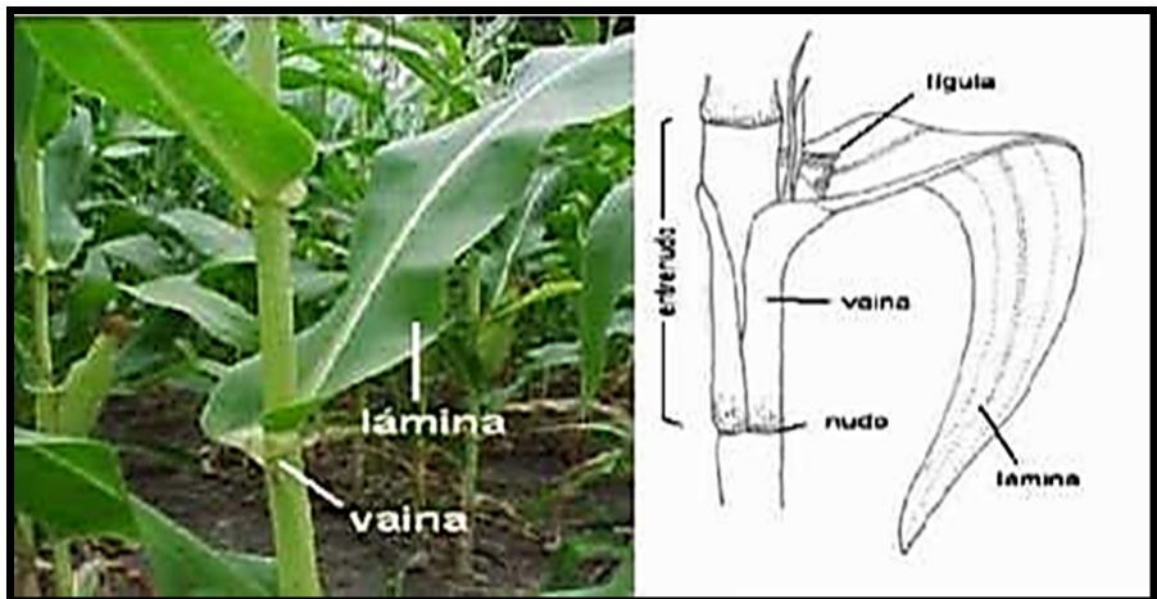
MANRIQUE, A. (1997) señala que la planta de maíz está constituida por un sistema radicular que consta de dos clases de raíces: las fasciculadas o raíces subterráneas y las adventicias o aéreas. Las primeras dan fijación, transporte y absorción de agua y solutos a las partes aéreas básicamente, mientras las

raíces adventicias tienen por misión de aportar un perfecto anclaje a la planta. En algunos casos sobresalen unos nudos de las raíces a nivel del suelo y suele ocurrir en aquellas raíces adventicias.

➤ Hojas

MANRIQUE, A. (1997).indica que las hojas están constituidas por vainas que abrazan al tallo, el cuello que representa la zona de transición entre la vaina envolvente y la lámina abierta que se denomina lígula, que es una membrana translúcida de posición vertical, y finalmente la lámina que es una banda angosta y delgada que termina en un ápice muy agudo con una nervadura central bien desarrollada y nervaduras secundarias numerosas, paralelas a la principal y prominentes en ambas caras. El maíz posee de 14 a 16 hojas por planta. Por el haz presentan vellosidades y los extremos de las hojas son muy afilados y cortantes.

Figura 1. Partes de la hoja



Fuente: www.biologia.edu.ar

➤ Tallo

MANRIQUE, A. (1997) informa que el tallo o eje central erecto, de elevada longitud pudiendo alcanza los 4 metros de altura, formado por nudos y entrenudos cuyo número y longitud varían considerablemente. La parte inferior termina en

corona que tiene entrenudos muy cortos, de las cuales salen raíces adventicias y la parte terminal finaliza en una panoja que es la inflorescencia terminal. El tallo está compuesto a su vez por tres capas: una epidermis exterior, impermeable y transparente, una pared por donde circulan las sustancias alimenticias y una médula de tejido esponjoso y blanco donde almacena reservas alimenticias, en especial azúcares.

➤ **Inflorescencia**

MANRIQUE, A. (1997) señala que el maíz es un especie monoica, es decir, que en la misma planta existen flores estaminadas y flores pistiladas en inflorescencias separadas.

La inflorescencia estaminada.- Llamada panoja, panícula o espiga; está localizada en el ápice de la planta. Compuesta por un eje central o raquis y ramas laterales; a lo largo del eje central se distribuyen los pares de espiguillas de forma polística y en las ramas con arreglo dístico y cada espiguilla está protegida por dos brácteas o glumas, que a su vez contienen en forma apareada las flores estaminadas; en cada florecilla componente de la panícula hay tres estambres donde se desarrollan los granos de polen.

La inflorescencia pistilada.- Es una estructura llamada mazorca, se localizan en las yemas axilares de las hojas; son espigas de forma cilíndrica que consisten de un raquis central u olote donde se insertan las espiguillas por pares, cada espiguilla con dos flores pistiladas una fértil y otra abortiva, estas flores se arreglan en hileras paralelas, las flores pistiladas tienen un ovario único con un pedicelo unido al raquis, un estilo muy largo con propiedades estigmáticas donde germina el polen.

➤ **Semilla**

MANRIQUE, A. (1997) menciona que en la mazorca, cada grano o semilla es un fruto independiente llamado cariósipide que está insertado en el raquis cilíndrico u olote; la cantidad de grano producido por mazorca está limitada por el número de granos por hilera y de hileras por mazorca.

4.1.5. Etapas fenológicas del cultivo de maíz

DELGADO, W. (1999) indica que en el ciclo vegetativo del maíz pueden destacarse cinco fases importantes y son:

1. **Germinación:** cuya duración aproximada es de seis a ocho días.
2. **Crecimiento:** en esta fase de crecimiento es cuando más se notan las diferencias varietales, prolongándose este periodo en los ciclos largos más que en otra etapa de la vida de la planta.
3. **Floración:** se considera como floración al momento en que la panoja se encuentra emitiendo polen y se produce el alargamiento de los estilos. La emisión de polen dura de cinco a ocho días.
4. **Fructificación:** con la fecundación de los óvulos por el polen se inicia la fructificación.
5. **Maduración y secado:** hacia el final de la octava semana después de la polinización, el grano alcanza su máximo de materia seca, pudiendo entonces considerarse que ha llegado a su madurez fisiológica, entonces suele tener el 35% de humedad.

4.1.5.1. Producción de maíz amarillo duro

➤ Situación nacional del maíz amarillo duro

IICA, (2012) informa que la producción de maíz amarillo duro ha venido creciendo a una tasa promedio de 1.8% en los últimos nueve años. La producción a nivel nacional tuvo un decrecimiento de 7.3% en el año 2012 con respecto al año anterior.

MINAG, (2012).indica que la superficie cosechada promedio del 2000 al 2012 fue de 298,625.8 hectáreas, con un rendimiento promedio de 3,988.5 kilos por hectárea, a nivel nacional. Los departamentos con mayor rendimiento promedio son San Martín (2,044 kg), Loreto (2,355 kg), La Libertad (8,916 kg), Lima (9,044 kg), Cajamarca (3,113 kg), Piura (4,343 kg) y Lambayeque 6,668 kilogramos por hectárea respectivamente; fueron los principales productores, siendo las regiones de costa y selva baja las que abarcan la mayoría de cosechas de este producto.

CENAGRO, (2012) menciona que la superficie agrícola bajo cultivos alcanza las 4 155 678 Hectáreas, que es el 58% del área productiva, el restante 42% es área que se encuentra en barbecho, descanso o no trabajada. La superficie no agrícola está compuesta por áreas de pastos naturales en un 57% y por montes y bosques en un 35%. Del total de la superficie agrícola (7'125,008 Has), la mayor proporción se ubica en la Región de la Sierra que absorbe el 46,3%, seguida por la Región Selva que abarca el 30,1%; en la Región de la Costa se tiene el 23,7% de la superficie agrícola. De las superficies agrícolas con cultivos (4'155,678 hectareas), destacan las dedicadas tanto a cultivos industriales, como para el consumo humano directo, entre ellos podemos mencionar el café que constituye el 10,2% del total de superficie, papa el 8,8%, maíz amarillo duro 6,3%, maíz amiláceo 5,8%, arroz 4,3%, plátano 3,5%, cacao 3,5%, caña de azúcar 3,4%, yuca 2,3% y maíz choclo el 1,6%. Entre los cultivos transitorios destacan, la papa con 367,7 mil hectáreas, el maíz amarillo duro 261,6 mil hectáreas, el maíz amiláceo 240,8 mil hectáreas, arroz 167,1 mil hectáreas, y caña de azúcar 141,3 mil hectáreas, que en conjunto representan el 59,6% del total de la superficie de cultivos transitorios.

➤ **Rendimientos**

CENAGRO, (2012) informa que en cuanto a los rendimientos promedios en cada una de las zonas en que se siembra maíz amarillo duro, se observa que los cambios tecnológicos más importantes (expresados en kg/ ha.) empiezan el año 1970. Aunque bajos, frente a los rendimientos de terceros países, se tornan sostenidos a partir del año 1985, fecha en que según fuentes, la Cooperación Internacional contribuye y aporta con nuevo material de siembra; finalmente en el cuadro de rendimientos por ha. en las diferentes zonas productoras, se observa que los cambios tecnológicos más importantes, se dan en la costa, esto se debe a la introducción de híbridos de períodos vegetativos más cortos que el primer material aportado por los programas de mejoramiento y que se deben buscar soluciones creativas referentes al empleo de nuevos paquetes tecnológicos en la Selva, estos deben tener mayores posibilidades con relación a los mercados de consumo de maíz amarillo duro.

MINAG, (2012) señala que en cuanto a los indicadores de productividad se aprecia que los rendimientos por ha. hasta el año 1985 se mantenían casi constantes, en promedio de 2,512 kg/ha, sin embargo a partir del año 1991 ya se pueden apreciar en las series históricas incrementos sostenidos en los promedios nacionales, esto se debe al aporte de la inversión privada en semillas que posibilita la introducción de híbridos obtenidos por empresas productoras extranjeras así como a la acción estatal, que aporta la "Marginal T 28".no se debe dejar de señalar que hemos heredado un pasivo negativo con la desactivación de la investigación hecho que ha negado al país la mínima posibilidad de contar con su propia tecnología sin embargo debemos señalar que esperamos que las empresas productoras de semillas realicen inversiones en el sector; tienen toda la garantía para asegurar el éxito de su gestión, esperamos alianzas estratégicas en este rubro. Finalmente, al analizar la evolución de la producción nacional de maíz amarillo duro, entre los años 1960 - 2001, se puede apreciar que en los últimos cuarenta y dos años la superficie cosechada creció por encima de 200 %, mientras que los rendimientos solamente lo hicieron en 77%.

4.1.5.2. Historia del maíz híbrido

LONNQUIST, H. & GARDNER, O. (1966).mencionan que el uso intencional de la hibridación para el desarrollo de maíces híbridos fue iniciado por Beal en 1880; sembró dos variedades en surcos adyacentes, una de las cuales fue elegida como progenitor femenino y por lo tanto, fue despanojada, mientras que la otra variedad sirvió como polinizadora masculina; este híbrido entre variedades rindió más que las variedades parentales de polinización abierta. Sin embargo, los híbridos entre variedades no encontraron gran aceptación entre los agricultores estadounidenses, posiblemente porque las ganancias en rendimiento eran modestas.

POEHLMAN, M. & ALLEN, D. (2003) señalan que el mejoramiento genético de los cultivares híbridos comenzó en 1909 cuando Shull propuso un método para producir híbridos de maíz, producir líneas endogámicas (líneas puras) en el maíz; y cruzando estas líneas para obtener cultivares híbridos de cruzamiento simple; revolucionando así el mejoramiento genético del maíz.

PALIWAL, R. (2001).informa que el maíz híbrido fue una realidad comercial después que Jones en 1918 sugirió que dos cruza simples podían ser cruzadas entre sí para producir híbridos dobles

4.2. Enfermedades foliares del maíz amarillo duro.

MANRIQUE, A. (1997) informa que las enfermedades foliares son las más visibles en la planta de maíz y, por lo tanto, a primera vista, son más alarmantes. Muchas enfermedades foliares avanzan desde las hojas inferiores hacia las superiores a medida que los azúcares son traslocados de las hojas a las mazorcas. Las enfermedades foliares de importancia global que se encuentran en el maíz en la zona tropical son: los tizones, las manchas y las royas de las hojas. Todas estas enfermedades matan una importante área de la hoja y reducen de este modo la superficie fotosintetizadora.

CASTILLO, J. (2004) menciona que los daños de las enfermedades foliares son causantes del mal funcionamiento y de la destrucción de los tejidos fotosintéticos, debido al aumento del número de lesiones que pueden determinar la necrosis de toda la hoja. La necrosis y la muerte prematura de las hojas limitan la captación de energía solar y la translocación de fotosintatos hacia los granos. Las hojas de la espiga y las dos superiores e inferiores representan el 33 a 40% del área total de la planta. Una reducción del 50% de la radiación incidente 15 días antes y 15 días después de la floración puede provocar una reducción del 40 al 50% del rendimiento de los granos. En el caso de los maíces forrajeros, el total de materia seca disminuye y la calidad del forraje es menor.

SEVILLA, R. (2010) indica que su control se puede hacer utilizando semillas híbridas, genéticamente resistentes o tolerantes a las enfermedades, o bien aplicando buenas prácticas de cultivo, eligiendo suelos y épocas apropiadas para su cultivo así como, control de malezas, aplicación de fungicidas y adecuado uso de fertilizantes y riegos.

Así tenemos las siguientes enfermedades más importantes:

- *Giberella Zeae* (Golpe blanco)
- *Cephalosporium maydis* (marchitez tardía)

- *Helminthosporium maydis* (tizón)
- *Phyllachora maydis* (Complejo Mancha de Asfalto)
- *Cercospora* (Complejo Mancha Gris)
- *Colletotrichum graminícola* (Antracnosis)
- *Curvularia sp.* (mancha de la hoja)
- *Puccinia sorghi* (Roya)
- *Ustilago maydis* (Carbón común)
- Virus del Mosaico del Enanismo del Maíz (MDMV)
- Virus del Rayado Fino (MRFV)
- Virus del Mosaico del Maíz (MMV)
- *Bipolaris sp.* (mancha marrón)

4.2.1. **Bipolaris sp. (mancha marrón)**

BARRÓN, L. (1968) menciona que en 1959 Shoemaker crea el género *Bipolaris sp.*, que tiene como especie tipo a *Bipolaris maydis* (Nisikado) Shoemaker. **ELLIS, B. (1966), (1971)** y **SIVANESAN, A. (1987)** indican que las especies del género *Bipolaris sp.* presenta patrones de distribución geográfica amplios como cosmopolita o pantropical (zonas tropicales y húmedas), aunque algunos de sus representantes pueden presentar áreas de distribución más limitados.

El género *Bipolaris* contiene cerca de 45 especies que son en su mayoría parásitos de plantas subtropicales y tropicales; sin embargo varias especies, en particular *B. maydis* y *B. australiensis*.

4.2.1.1. **Clasificación Taxonómica de Bipolaris sp.**

Shoemaker (1959), lo clasifica de la siguiente manera:

Reino: Fungi
 Phylum: Ascomycota
 Clase: Dothideomycetes
 Orden: Pleosporales
 Familia: Pleosporaceae
 Género: *Bipolaris*
 Especie: *Bipolaris sp.*
 Nombre común: Mancha marrón

4.2.1.2. Distribución Geográfica

ELLIS, B. (1966), (1971), (1976); SIVANESAN, A. (1987); FARVET, F, et al., (1995) señalan que las plantas actúan como patógenos, son muy conocidos e importantes de gramíneas silvestres y cultivadas como el maíz, que es su hábitat fundamental; sin embargo ocasionalmente también pueden afectar otros grupos. Las enfermedades más comunes que producen son manchas foliares, marchitamiento de hojas, plántulas y afecciones de semillas y granos. En el análisis de la distribución geográfica mundial de los táxones registrados en nuestro país se determinó que 18 son cosmopolitas, 11 presentan distribución pantropical, ocho tienen distribución disyunta, dos se han colectado solamente en Cuba y uno se encuentra mayormente en países de clima templado.

4.2.1.3. *Bipolaris maydis* (Tizón sureño, mancha marrón)

SIVANESAN, A. (1987) indica que el tizón del Sur es causado por el hongo *Bipolaris maydis* (*Helminthosporium maydis*); afecta al maíz, al teosinte y al sorgo. Prevalece en ambientes cálidos y húmedos y afecta los cultivos de maíz en la temporada de verano, tanto en las tierras bajas tropicales como en las tierras altas; también afecta al maíz al final de la temporada de invierno cuando la temperatura comienza a aumentar.

➤ Características morfológicas

BARRÓN, L. (1968) señala que existen dos ciclos vitales de *Bipolaris maydis*:

Anamorfo : *Bipolaris*

Teleomorfo : *Cochliobolus*

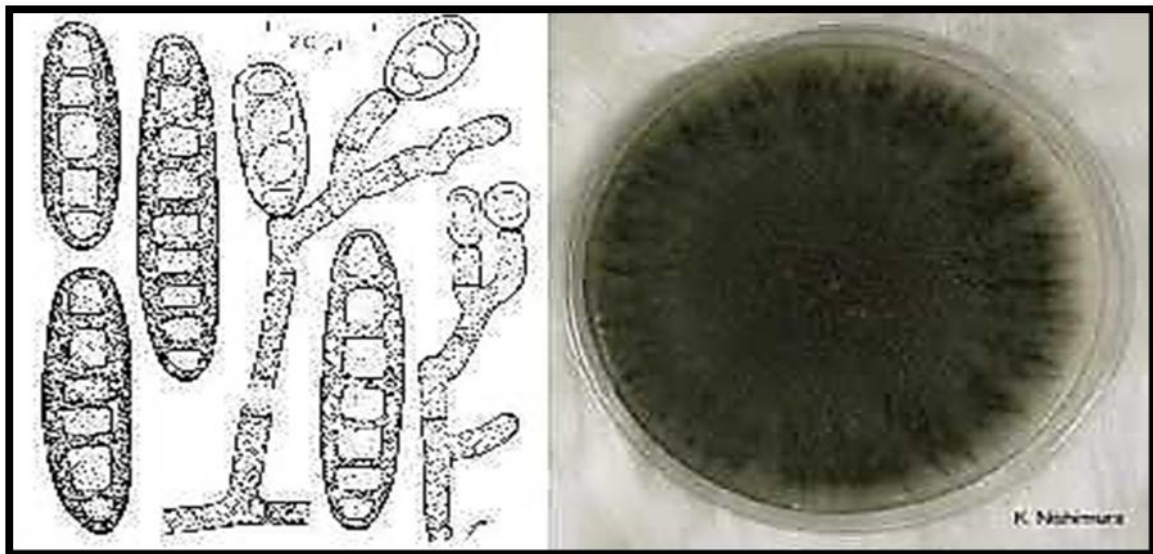
Posee colonias dispersas, pardas, grises o negras, mayormente pelosas en el substrato natural, algodonosas o aterciopeladas en cultivos puros. Micelio inmerso en el substrato. Estroma presente en algunas especies, erecto, cilíndrico, negro. Sin setas ni hifopodios.

Las colonias son moderadamente de crecimiento rápido de color gris. Con conidióforos marrones, que producen conidias a través de un poro apical y la formación de un nuevo ápice de crecimiento en la región subterminal, es

septado, solitario o en grupos, de crecimiento simpodial. Las conidias son acrógenas, pigmentadas, fusoides, rectos o curvados en un geniculado o en zigzag raquis, la germinación ocurre por el tubo germinativo de cada extremo, y la pared de la conidia es gruesa.

BARNETT, L. & BARRY, H. (1972) informan que los conidios son producidos a través de poros en la pared conidiophore (poroconidia) y son rectas, fusiforme a elipsoidal, redondeado en ambos extremos, liso a finamente rugosa y germinación sólo de los extremos (bipolares). Poseen un conidióforo pigmentado, pseudoseptado, de crecimiento simpodial, solitario o en grupos y el lugar donde forma la conidia presenta un poro. La conidia es acrógena pigmentada y pseudoseptada transversalmente, curvada, por ello que se le denomina *Bipolaris sp.*

Figura 2. Estructura de *Bipolaris sp.* (Conidióforos ramificados, células conidiógenas cicatrizadas y conidios elipsoidales).



Fuente: Mena, J. (2004)

➤ **Síntomas:**

CASTILLO, J. (2004); y **CIMMYT, (2004), (2005)** indican que los síntomas causados varían de acuerdo a la variedad de maíz y a la raza del patógeno que está infectando la planta. La raza más común de este patógeno produce lesiones elípticas de color cremoso y bordea marrón. Estas se alargan a medida

que maduran y su crecimiento se ve limitado por las venas de las hojas, resultando en lesiones rectangulares que al unirse llegan a cubrir gran parte de las hojas. Usualmente solo ataca el follaje. Prevalce en ambientes cálidos y húmedos y afecta los cultivos de maíz en la temporada de verano, tanto en las tierras bajas tropicales como en las tierras altas; también afecta al maíz al final de la temporada de invierno cuando la temperatura comienza a aumentar. Este hongo sobrevive en los residuos de cosecha y las conidias o esporas son diseminadas a otras plantas por el viento y en el agua al salpicar.

➤ **Ciclo de la enfermedad:**

MENA, J. (2004) señala que la raza O pasa el invierno en los restos vegetales como micelio y conidios. La raza T puede infectar también los granos y puede sobrevivir al invierno dentro de los granos como micelio. El patógeno (ambas razas) es muy termófilo, su óptimo está alrededor de 25°C. El patógeno necesita alta humedad ambiental. Cuando las condiciones ambientales son óptimas, la dispersión de las conidias es muy rápida (un ciclo necesita 60 a 72 horas). La transmisión por semillas (raza T) es la más importante, así el patógeno puede aparecer en varios campos previamente libres de él; la dispersión por conidias no es importante en la mayoría de los países europeos.

4.2.1.4. Control

DELGADO, W. (1999) y **SEVILLA, R. (2010)** mencionan que el control básicamente se da al sembrar variedades resistentes o tolerantes, hacer rotación de cultivos para reducir el inóculo del hongo presente, evitar excesos y déficit de nitrógeno, desinfección de semillas al momento del almacenamiento, incorporar residuos de cosecha y aplicación de fungicidas foliares con permiso de uso.

4.3. Tipos de fungicidas

4.3.1. Fungicidas de contacto o protectores

FAO, (2000). Informa que los fungicidas de protección no controlan los patógenos que están dentro de las semillas, solo protegen la parte externa de la semilla y las plántulas contra una amplia variedad de enfermedades causadas por hongos presentes dentro de la semilla y provenientes del suelo tales como:

Fusarium sp., *Rhizoctonia sp.*, *Aspergillus sp.*, *Rhizopus sp.*, y *Penicillium sp.*. Es esencial que los fungicidas protectantes estén sobre las hojas de plántulas o impregnados en la semilla, antes de la siembra, este fungicida no es fácilmente lavado después de terminado de secar. Algunos ejemplos de fungicidas de contacto que se encuentran en el mercado son Captan, Thiram, Quintozene y Tolyfluanid.

4.3.2. Fungicidas sistémicos

APABLAZA, G. (1997) menciona que estos productos son específicos, tienen propiedades terapéuticas y efecto prolongado ya que penetran en las hojas y pueden movilizarse a otros tejidos, dentro de la misma hoja o hacia otras partes de la planta, los ingredientes activos penetran en la planta, traslocándose desde el sistema radicular hasta las hojas, proporcionando una protección a la planta, generalmente actúa en un solo paso en la fisiología del patógeno (monositio), lo que incrementa la posibilidad de generar resistencia del hongo a estos productos y en la actualidad se cuenta con 4 familias químicas: Benzimidazoles, Triazoles, Pirimidinas y recientemente las estrobirulinas.

4.3.3. Descripción de los fungicidas utilizados

➤ Azoxystrobin (Amistar 50WG)

BAYER, (2011) informa que la formulación está dada por gránulos dispersables en agua (WG). Su modo de acción es de un fungicida preventivo, curativo, erradicante y antiesporulante, se moviliza tanto por xilema (sistémico) como translaminarmente a través de las células.

Por lo tanto su mecanismo de acción radica en inhibir la respiración de los hongos al unirse al Citocromo bc y así bloquear la transferencia de electrones entre el Citocromo b y el Citocromo c; de esta manera se evita la energía necesaria para su crecimiento y desarrollo. Pertenece al grupo químico de las estrobilurinas.

➤ Triadimenol (Bayfidan 250 DC)

BAYER, (2011) señala que este producto es perteneciente al grupo químico de los Triazoles, es un fungicida sistémico con acción preventiva, curativa y erradicativa

que es absorbido por las hojas y raíces con rápida translocación a los tejidos jóvenes y lenta translocación a los tejidos viejos. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la biosíntesis del ergosterol y otros procesos enzimáticos de los hongos. Su formulación es un concentrado dispersable, moderadamente peligroso.

➤ **Carbendazin (Cardazina 500 SC)**

BAYER, (2011) menciona que su modo de acción es de un fungicida preventivo y curativo con acción sistemática. Tiene poder residual y por su tamaño de partículas se adhiere y persiste sobre el follaje. Al ser un fungicida sistémico con acción protectora y curativa, con alta potencialidad fungitóxica. Es absorbido por las raíces y tejido verde translocándose acropétalmente a toda la planta. Pertenece al grupo químico de los benzimidazoles.

➤ **Tebuconazole (Folicur 250 EW)**

BAYER, (2011) indica que es un fungicida sistémico de amplio espectro, muy eficiente, acropétalo con acción preventiva, curativa y erradicativa. Su mecanismo de acción es de inhibir la biosíntesis del ergosterol y otros procesos enzimáticos de los hongos. Pertenece al grupo químico de los Triazoles.

V. DISEÑO DE LA INVESTIGACION

5.1. Tipo de investigación

Tipo experimental, por observación directa, medición y análisis estadísticos.

5.2. Ubicación espacial

5.2.1. Ubicación política

Región : Cusco
Provincia : La Convención
Distrito : Santa Ana
Lugar : FACAT – UNSAAC (El Arenal)
Laboratorio : Fitopatología

5.2.2. Ubicación geográfica

Coordenadas UTM : X: 743543
Y: 8572951
Latitud Sur : 12°51'23.0''
Longitud Oeste : 72°41'30.2''
Altitud : 1020 m

5.2.3. Ubicación hidrográfica

Se encuentra ubicado entre los ríos Vilcanota y Chuyapi

5.3. Zona de vida

Según Holdridge A. la zona de vida del distrito de Santa Ana está considerada en bosque húmedo Montano bajo Sub tropical (bh- MBS), presenta una temperatura media anual entre 18 y 24 °C, la precipitación total anual varía entre los 1800 a 2100 °C, la humedad relativa es de 85%.

5.4. Ubicación temporal

Se realizó durante los meses de enero a mayo del 2013.

5.5. Materiales y métodos

5.5.1. Materiales

a. Insumos

- Rastrojos de maíz amarillo duro de los campos de cultivo infectados.
- Semillas de maíz amarillo duro (mercado, del agricultor y garantizada).
- Fungicidas: Azoxystrobin, Triadimenol, Carbendazin, Tebuconazole.
- Medios de cultivos: PDA, CMA, OMA, AA y Extracto de hojas de maíz.

b. Materiales

- Bolsas de polietileno
- Hipoclorito de sodio
- Botellas de vidrio
- Papel toalla
- Algodón
- Pinzas
- Placas Petri
- Tijera
- Sacabocado
- Ligas
- Alcohol 98°
- Erlenmeyer
- Taper de plástico
- Tubos de ensayo
- Bagueta
- Olla
- Regla
- Plumón indeleble
- Calculadora
- Porta y cubre objeto
- Cuaderno de apuntes
- Fill sellante

c. Equipos

- Horno microondas
- Autoclave
- Balanza analítica
- Cámara de flujo laminar
- Microscopio electrónico
- Estereoscopio
- Cocina eléctrica
- Licuadora

Fotografía 1. Materiales y preparación del medio



Nota: Papa Dextrosa Agar (PDA), Corn Meal Agar (CMA), Oat Meal Agar (OMA), Agar Agua (AA) y Extracto Hojas de Maíz (EM).

d. Tratamientos en estudio

Cuadro 1. Distribución de los tratamientos en estudios a nivel “in vitro”

		T1			T2			T3			T4			T5			T6			T7			T8			T9			T10			T11		
DOSIS		D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
REPETICION	1																																	
	2																																	
	3																																	
	4																																	
	5																																	

Donde:

- T1: AMISTAR
- T2: BAYFIDAN
- T3: CARDAZINA
- T4: FOLICUR
- T5: AMISTAR + BAYFIDAN
- T6: AMISTAR + CARDAZINA
- T7: AMISTAR + FOLICUR
- T8: BAYFIDAN + CARDAZINA
- T9: BAYFIDAN + FOLICUR
- T10: CARDAZINA + FOLICUR
- T11: TESTIGO
- D1: Dosis baja (0.05%)
- D2: Dosis media (0.25%)
- D3: Dosis alta (0.5%)

5.5.2. Métodos

5.4.2.1. Identificación de *Bipolaris* sp. en maíz amarillo duro

- Colección de muestras

Las muestras se colectaron de campos de producción del cultivo de maíz amarillo duro, ubicadas en el distrito de Santa Ana. Se colectaron hojas de maíz con manchas foliares en estado de ataque inicial, intermedio y avanzado, se tomaron 10 hojas por campo de cultivo, las cuales fueron colocadas en papel periódico dentro de bolsas de polietileno para su traslado al laboratorio.

Fotografía 2. Colección de muestras con síntomas de mancha foliar causado por *Bipolaris* sp. en parcelas de maíz amarillo duro en el distrito de Santa Ana, Provincia de La Convención



- Aislamiento, siembra y purificación de *Bipolaris* sp.

Las hojas recolectadas de campo fueron procesadas en el laboratorio siguiendo la metodología de **FRENCH, E. (1982)** de la siguiente manera:

- a. Las muestras fueron lavadas con abundante agua corriente y se fraccionaron en pequeñas porciones rectangulares, con el cuidado de que al cortarse las porciones comprendan tanto tejido sano como enfermo.
- b. En el interior de una cámara aséptica, las porciones de hojas fueron sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio al 0.1% durante cinco minutos, luego se sacó los trozos sobre papel toalla, dejándolos orear hasta que estén secos y luego se procedió a sembrarlos. Para esta operación se utilizó un mechero donde se procedió a quemar la punta de la pinza para ser desinfectada y enjuagada en alcohol.
- c. Se sembraron cuatro porciones de tejido desinfectado por placa. Se empleó el medio papa – dextrosa - agar (PDA) el cual fue plaqueado previamente.
- d. Las placas sembradas fueron selladas, identificadas y colocadas en una incubadora a 25 °C para favorecer el crecimiento del hongo. En cámara húmeda, a los siete días de colocadas en incubación con ayuda del microscopio compuesto y el estereoscopio, se observó el desarrollo de colonias, con micelio afelpado, negruzco sobre las hojas de maíz amarillo duro, el cual conforme transcurrieron los días fueron cambiando a un color negro.
- e. A los 8 días de la siembra en medio PDA, las colonias presentaron abundante micelio. Seguidamente se procedió a realizar el repique de las diferentes colonias para su purificación, después este se almacenó en refrigeración a 10°C para su respectiva identificación.
- f. El hongo fue transferido a tubos de ensayo conteniendo PDA para ser mandados a la Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología de la Universidad Nacional Agraria la Molina. El aislamiento fue incubado a 25 °C y luego almacenado en refrigeración con la finalidad de mantener la viabilidad y patogenicidad del hongo.

Fotografía 3. Recolección, limpieza, desinfección, aislamiento y cámara húmeda del cultivo de maíz para la obtención del patógeno.

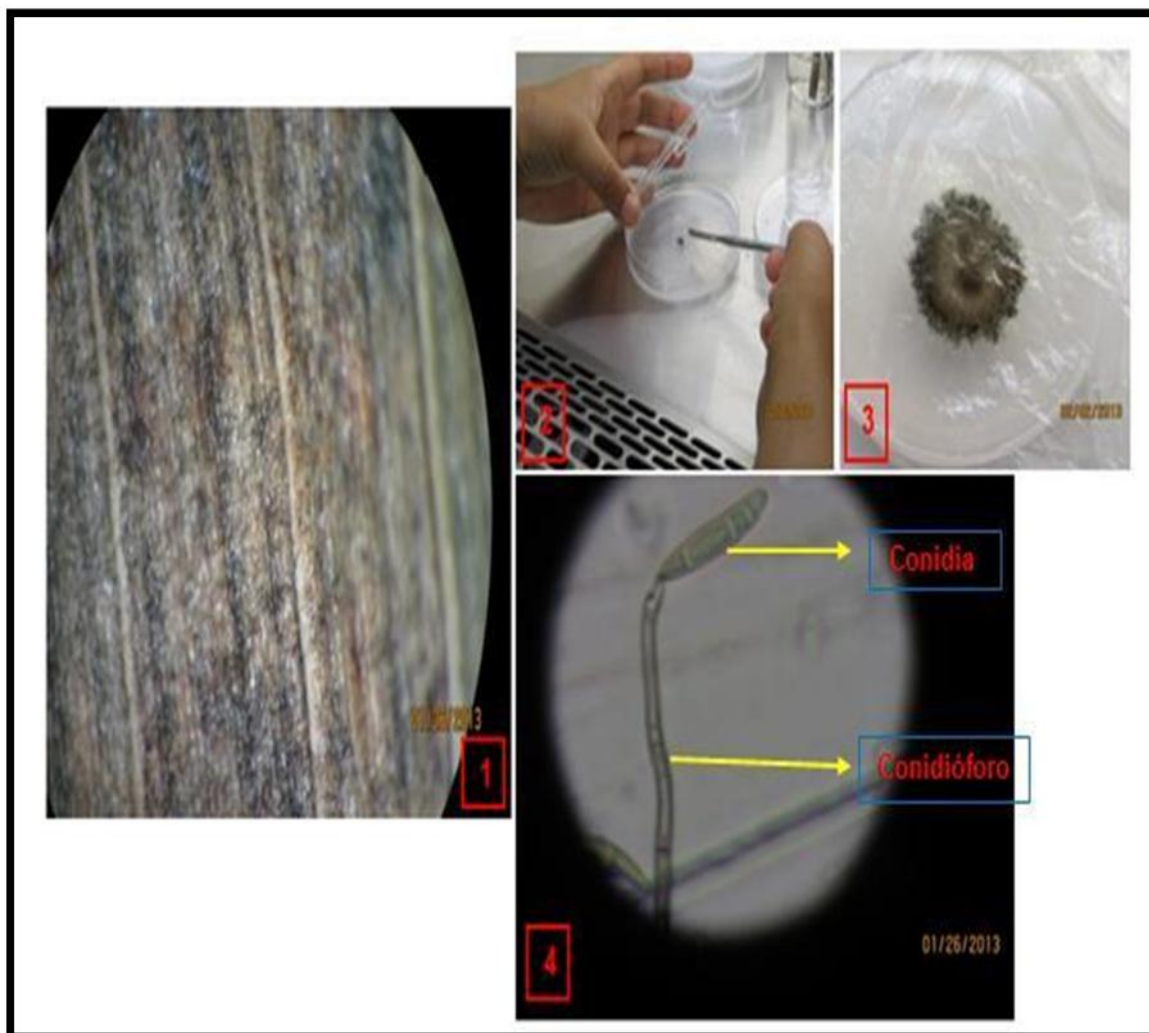


- Identificación del patógeno

Las placas sembradas fueron observadas en forma diaria para apreciar el desarrollo fungoso y la producción de conidias. Una vez obtenido el micelio del hongo en forma abundante e iniciada la esporulación a los 15 días, se procedió a la preparación de muestras para realizar las observaciones. Con la ayuda del

microscopio, estereoscopio y con una aguja muy fina se cogieron pequeñas masas de hifas con sus conidias respectivas, que fueron colocadas en el portaobjeto, la cual fue cubierta con el cubreobjetos para su observación.

Fotografía 4. Identificación del patógeno.



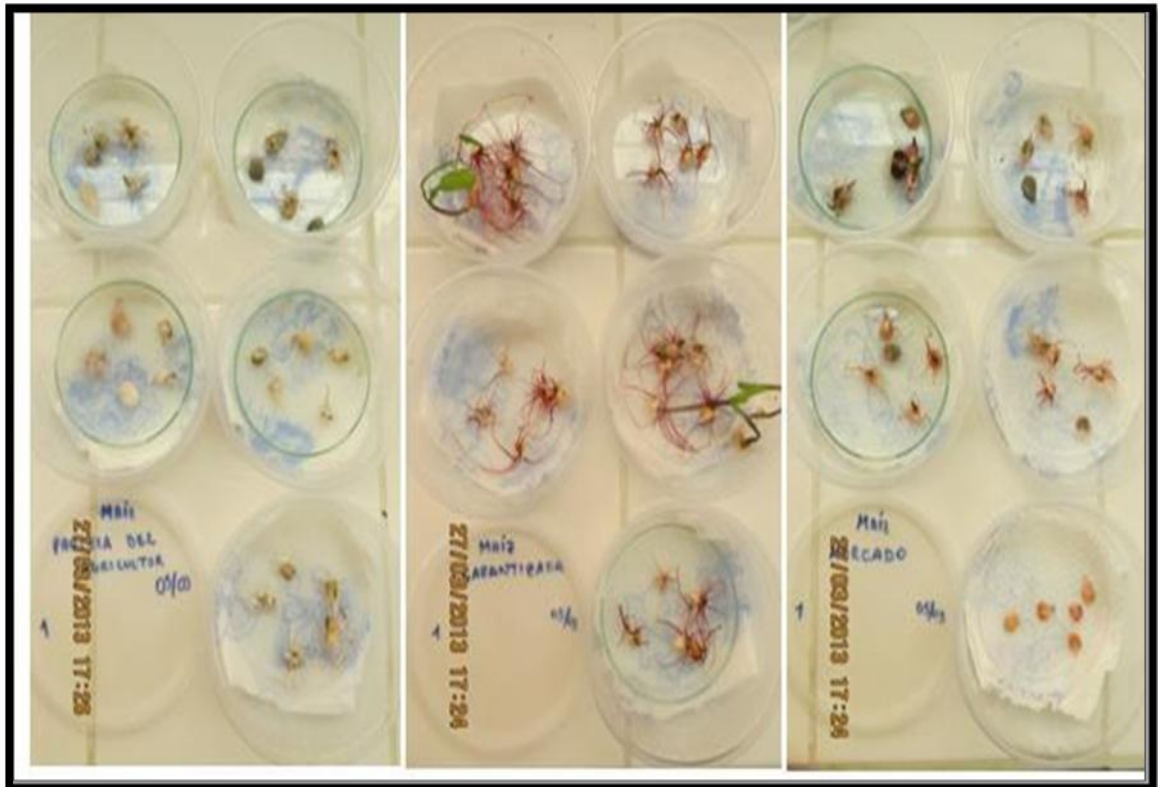
Nota: 1- Vista a través del microscopio de una muestra de cámara húmeda del cultivo del maíz. 2- Siembra de conidias en medio PDA. 3- Desarrollo y producción de conidias en medio PDA. 4-Estructura de *Bipolaris* sp.vista a través del microscopio.

También se trajeron muestras de hojas con manchas foliares, a las cuales se les hizo cámara húmeda y se aisló directamente las conidias para realizar el montaje respectivo y su identificación. La identificación a nivel de género del hongo se realizó en la Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología de la Universidad Nacional Agraria la Molina para tener un resultado válido y que garantice la identificación.

5.4.2.2. Análisis micológico de las semillas de maíz amarillo duro

Las semillas de maíz amarillo duro fueron seleccionadas al azar y analizadas mediante el método del papel toalla elaborado por el **CYMMYT, (2005)** para determinar si existe transmisión del patógeno por medio de la semilla. Se usaron 100 semillas de maíz provenientes de la parcela del agricultor, semillas obtenidas del mercado y semilla garantizada.

Fotografía 5. Desinfestación y preparación de cámaras húmedas para el análisis micológico de semillas de maíz procedentes de la parcela del agricultor (izquierda), del mercado (medio) y garantizada (derecha).



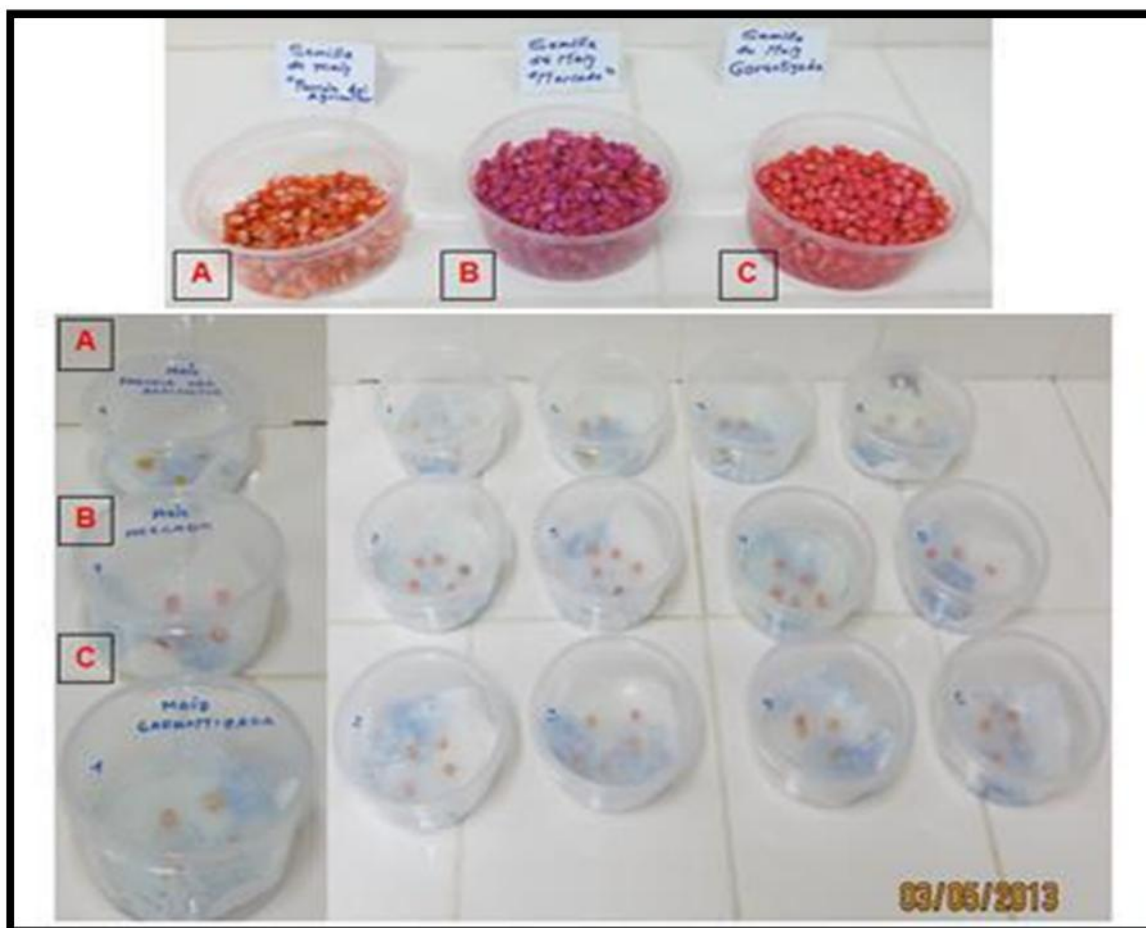
- Método papel toalla:

Este método crea condiciones de alta humedad relativa favorables para el desarrollo de microorganismos. Se prepararon cámaras húmedas empleando cinco envases descartables los cuales fueron desinfectados con alcohol previamente, donde se usó placas petri estériles que fueron puestas en la base conteniendo papel toalla en su interior, donde se adicionó aproximadamente 2 ml de agua estéril.

Las semillas de maíz amarillo duro fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 1% por cinco minutos, luego se dejó secar y haciendo uso de una pinza estéril se colocó sobre las placas petri estériles en cada envase cinco semillas por cada cámara húmeda. Dichas cámaras fueron incubadas a 25 °C por siete días.

Una vez que desarrollaron los hongos en la semilla, estos fueron identificados mediante la clave de identificación de **BARNETT, L: & BARRY, H. (1972)** y **BARRÓN, L. (1968)** y también se determinó el porcentaje de semilla afectada.

Fotografía 6. Evaluación del método papel toalla para el análisis micológico de semillas de maíz.



Nota: Semillas de maíz procedentes de la parcela del agricultor (A), semilla procedente del mercado (B) y semilla garantizada (C).

5.4.2.3. Determinación del mejor medio de cultivo para *Bipolaris* sp.

Se realizó este procedimiento con la finalidad de seleccionar el mejor medio que favorezca el crecimiento, desarrollo y esporulación del hongo en estudio. Se evaluaron los siguientes medios de cultivos: Corn Meal Agar (CMA), Oat Meal Agar (OMA), Papa Dextrosa Agar (PDA), Agar Agua (AA) y Extracto Hojas de Maíz (EM); los cuales se prepararon y plaquearon siguiendo la metodología de **FRENCH, E. (1982)**:

1. Medio de Cultivo Corn Meal Agar (CMA)

Para 1 L de CMA, se utilizó la siguiente formulación:

- 60 g de harina de maíz (se molió granos de maíz) en un litro de agua
- 12 g de agar

Preparación: Se procedió a cocinar la harina en un poco de agua hasta que se forme una pasta luego se coló, seguidamente se mezcla con el agar y se enraza hasta 1 litro.

Esterilización: Se distribuye el litro de CMA en frascos de vidrio de 250

ml que luego se envuelve en papel crac y se amarra con un hilo pabilo se colocan los frascos dentro de una bolsa de polietileno para ser esterilizados utilizando el autoclave durante 15 minutos a 1.5 lb de presión y una temperatura de 121 °C.

Plaqueo: Los frascos contenidos con CMA se derriten en un horno microondas se le agrega un gramo de Oxitetraciclina (antibiótico) para evitar el crecimiento de bacterias, luego se agita el medio hasta conseguir la dilución completa del antibiótico. Posteriormente se vierte el CMA de los envases de vidrio a las placas petri un espesor de 2-4 mm, se deja durante 1 hora para que enfríe y se solidifique el medio de cultivo CMA.

2. Medio de Cultivo Oak Meal Agar (OMA)

Para 1 litro de OMA, se utilizó la siguiente formulación:

- 60 g de avena en un litro de agua
- 12 g de agar

Preparación: Se licua la avena hasta tener una mezcla pareja luego se incorpora el agar previamente disuelto se mezcla bien y se enraza hasta 1 litro.

Esterilización: Se distribuye el litro de OMA en frascos de vidrio de 250 ml que luego se envuelve en papel crac y se amarra con un hilo pabilo se colocan los frascos dentro de una bolsa de polietileno para ser esterilizados utilizando el autoclave durante 15 minutos a 15 lb de presión y una temperatura de 121 °C.

Plaqueo: Los frascos contenidos con OMA se derriten en un horno microondas se le agrega un gramo de Oxitetraciclina (antibiótico) para evitar el crecimiento de bacterias, luego se agita el medio hasta conseguir la dilución completa del antibiótico. Posteriormente se vierte el OMA de los envases de vidrio a las placas petri un espesor de 2-4 mm, se deja durante 1 hora para que enfríe y se solidifique el medio de cultivo OMA.

3. Medio de Cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA)

Para 1 litro de PDA, se utilizó la siguiente formulación:

- 250 g de papa en un litro de agua
- 15 g de glucosa
- 8 g de sacarosa
- 12 g de agar

Preparación: Se hace hervir la papa hasta obtener un caldo de esta, luego se disuelve el agar en agua y con ayuda del horno microondas. Inmediatamente se mezcla el agar diluido con el caldo de papa y la sacarosa para enrazar a 1 litro.

Esterilización: Se distribuye el litro de PDA en frascos de vidrio de 250 ml que luego se envuelve en papel crac y se amarra con un hilo pabilo se colocan los frascos dentro de una bolsa de polietileno para ser esterilizados utilizando el autoclave durante 15 minutos a 15 lb de presión y una temperatura de 121 °C.

Plaqueo: Los frascos contenidos con PDA se derriten en un horno microondas se le agrega un gramo de Oxitetraciclina (antibiótico) para evitar el crecimiento de bacterias, luego se agita el medio hasta conseguir la dilución completa del antibiótico. Posteriormente se vierte el PDA de los envases de vidrio a las placas petri un espesor de 2-4 mm, se deja durante 1 hora para que enfríe y se solidifique el medio de cultivo PDA.

4. Medio de cultivo Agar Agua (AA)

Para 1 litro de PDA, se utilizó la siguiente formulación:

- 30 g de agar en un litro de agua

Preparación: Este medio se preparó agregando 30 g de agar granulado en 1 L de agua destilada, se disolvió los 30g de agar en un vaso de precipitación en el horno microondas y se agregó agua poco a poco para que no rebalse, una vez diluido el agar se procedió a enrajar a 1L.

Esterilización: Se distribuye el litro de AA en frascos de vidrio de 250 ml que luego se envuelve en papel crac y se amarra con un hilo pabilo se colocan los frascos dentro de una bolsa de polietileno para ser esterilizados utilizando el autoclave durante 15 minutos a 15 lb de presión y una temperatura de 121 °C.

Plaqueo: Los frascos contenidos con AA se derriten en un horno microondas se le agrega un gramo de Oxitetraciclina (antibiótico) para evitar el crecimiento de bacterias, luego se agita el medio hasta conseguir la dilución completa del antibiótico. Posteriormente se vierte el AA de los envases de vidrio a las placa petri un espesor de 2-4 mm, se deja durante 1 hora para que enfríe y se solidifique el medio de cultivo AA.

5. Medio de Cultivo Extracto Hojas de Maíz (EM)

Para 1 litro de EM, se utilizó la siguiente formulación:

- 50 g de hojas frescas de maíz en un litro de agua
- 12 g de agar
- 15 g de glucosa

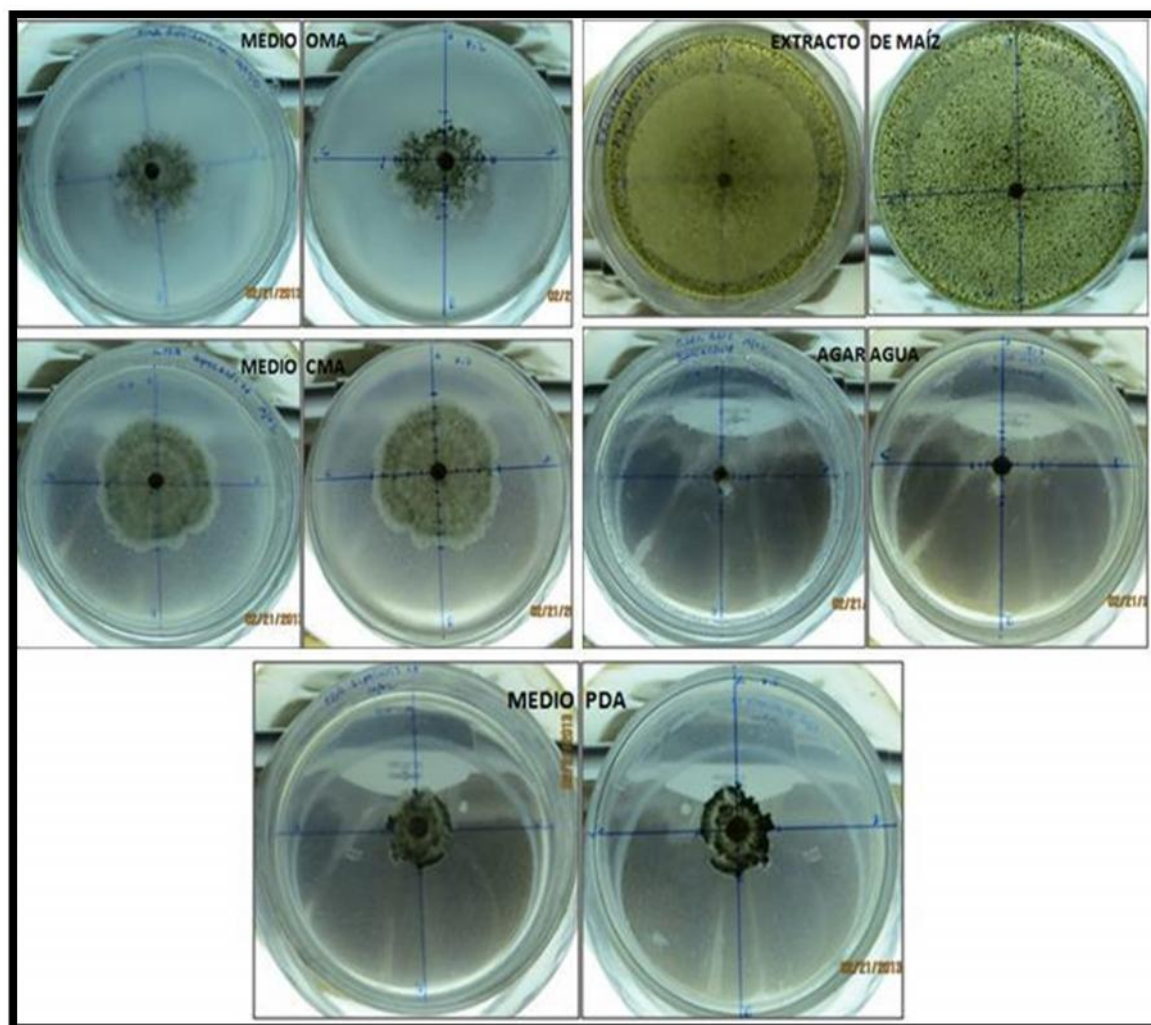
Preparación: Se licua las hojas de maíz hasta tener una mezcla homogénea luego se coló esta mezcla y se incorpora el agar previamente disuelto se mezcla bien hasta enrazar a 1 litro.

Esterilización: Se distribuye el litro de EM en frascos de vidrio de 250 ml que luego se envuelve en papel crac y se amarra con un hilo pabilo se colocan los frascos dentro de una bolsa de polietileno para ser esterilizados utilizando el autoclave durante 15 minutos a 15 lb de presión y una temperatura de 121 °C.

Plaqueo: Los frascos contenidos con EM se derriten en un horno microondas se le agrega un gramo de Oxitetraciclina (antibiótico) para evitar el crecimiento de bacterias, luego se agita el medio hasta conseguir la dilución completa del antibiótico. Posteriormente se vierte el EM de los envases de vidrio a las placas petri un espesor de 2- 4 mm, se deja durante 1 hora para que enfríe y se solidifique el medio de cultivo EM.

6. Para cada medio de cultivo contenido en las placas, se sembró una rodaja de 0.6 cm de cultivo fresco de *Bipolaris sp.* Estos cultivos fueron incubados a temperatura de 25 °C.
7. Se realizaron mediciones diarias del diámetro de crecimiento micelial del patógeno con ayuda de una regla milimétrica, hasta que el micelio cubra totalmente el medio de cultivo y adicionalmente se observó en cuál de ellos se producía la esporulación. El mejor medio se seleccionó para las pruebas de los fungicidas efectuadas posteriormente.

Fotografía 7. Desarrollo, crecimiento y medición micelial de *Bipolaris sp.* en los diferentes medios de cultivos.



5.4.2.4. Prueba "in vitro" de fungicidas para el control de *Bipolaris sp.* en maíz amarillo duro.

Se evaluaron diferentes fungicidas: Azoxystrobin, Triadimenol, Carbendazin, Tebuconazole, Azoxystrobin + Triadimenol, Azoxystrobin + Carbendazin, Azoxystrobin + Tebuconazole, Triadimenol + Carbendazin, Triadimenol + Tebuconazole, Carbendazin + Tebuconazole, a fin de determinar la eficacia de cada uno de ellos en el control de *Bipolaris sp.* aislado de las hojas de maíz amarillo duro. Se probó dosis baja (0.05%), media (0.25%) y alta (0.5%) según recomendado por la casa comercial.

Los fungicidas evaluados se muestran en el **Cuadro 2**. La eficacia de cada fungicida evaluado fue determinado por medio de la técnica del medio de cultivo envenenado de **FRENCH, E. (1982)** de la siguiente manera:

1. Se preparó el medio de cultivo EM (extracto de hojas de maíz amarillo duro), el cual se esterilizó, luego 100 ml del medio a punto de plaqueo fue mezclado y homogenizado con cada uno de los ingredientes activos (Azoxystrobin, Triadimenol, Carbendazin, Tebuconazole, Azoxystrobin + Triadimenol, Azoxystrobin + Carbendazin, Azoxystrobin + Tebuconazole, Triadimenol + Carbendazin, Triadimenol + Tebuconazole, Carbendazin + Tebuconazole), después 20 ml de la mezcla fue vertido a cada placa petri estériles y se les dejó reposar el tiempo necesario para su solidificación.
2. El aislamiento se obtuvo del margen de crecimiento activo de un cultivo de *Bipolaris sp.* de 10 días de incubación se obtuvo el crecimiento activo de la colonia.
3. Con un sacabocado se extrajo una rodaja de 0.6 cm del crecimiento activo conteniendo el hongo y es ubicado en el centro de la superficie, teniendo cuidado de poner en contacto el micelio del hongo con el medio de cultivo.
4. Se realizaron mediciones diarias del diámetro de crecimiento micelial del hongo. Cuando la placa del testigo mostro toda la superficie cubierta por el micelio del hongo, se dio por concluida la prueba.
5. La eficacia de los fungicidas evaluados fue determinado por cálculo del porcentaje de inhibición en el crecimiento radial de la colonia usando la siguiente formula **PLATT, W. y REDIN, R. (1996)**.

$$PI = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Dónde:

PI: Porcentaje de inhibición (%)

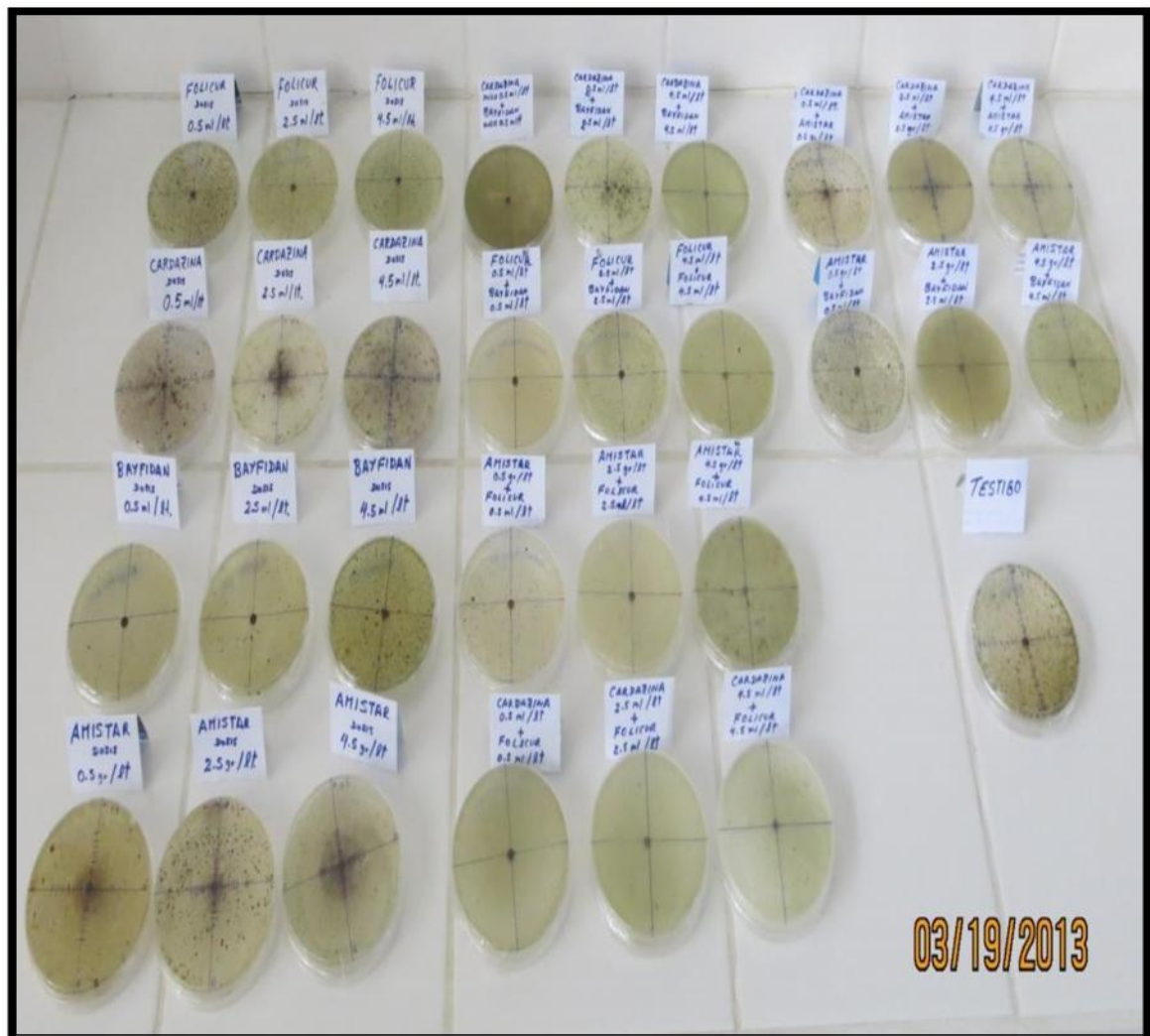
C: Crecimiento radial en el testigo (mm o cm)

T: Crecimiento radial en cada tratamiento (mm o cm)

Cuadro 2. Fungicidas utilizadas en la prueba "in vitro" para el control de *Bipolaris sp*

Tratamientos	Fungicidas	Ingrediente activo
T	AMISTAR	Azoxystrobin
T	BAYFIDAN	Triadimenol
T	CARDAZINA	Carbendazin
T	FOLICUR	Tebuconazole
T	AMISTAR + BAYFIDAN	Azoxystrobin + Triadimenol
T	AMISTAR + CARDAZINA	Azoxystrobin + Carbendazin
T	AMISTAR + FOLICUR	Azoxystrobin + Tebuconazole
T	BAYFIDAN + CARDAZINA	Triadimenol + Carbendazin
T	BAYFIDAN + FOLICUR	Triadimenol + Tebuconazole
T	CARDAZINA + FOLICUR	Carbendazin + Tebuconazole
T	TESTIGO	EM

Fotografía 8. Prueba "in vitro" con diferentes fungicidas para el control de *Bipolaris sp*. en el cultivo del maíz.



5.4.2.5. Diseño estadístico

Se realizó para el experimento en estudio el Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial de 11 x 3 que consta de 10 tratamientos más 1 testigo y 3 dosis con 5 repeticiones y también la Prueba de Tukey para la comparación de medios, con un nivel de significación de 5%.

VI. RESULTADOS

6.1. Identificar el agente causal de la mancha foliar en maíz amarillo duro en el distrito de Santa Ana.

Cuadro 3. Resultados obtenidos en la clínica de diagnóstico de fitopatología y nematología de la Universidad Nacional Agraria la Molina de los aislamientos obtenidos a partir de muestras de maíz del distrito Santa Ana (Ver **Anexo 4.**)

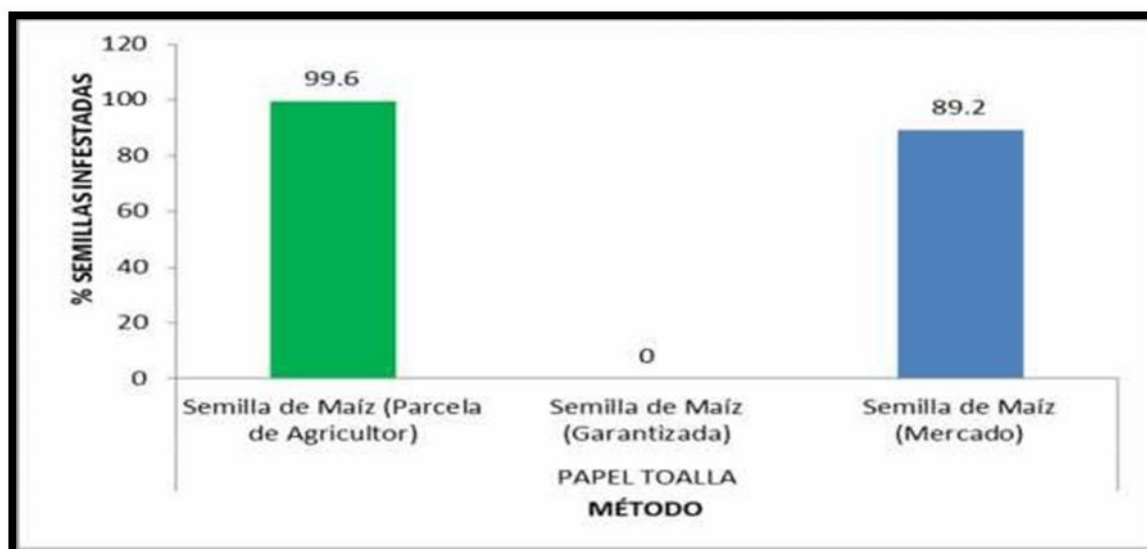
Órgano en estudio	Método	Resultado
Hojas de maíz	Examen microscópico Cámara húmeda	<i>Bipolaris sp.</i>

6.2. Establecer el análisis micológico de las semillas de maíz amarillo duro a nivel in vitro.

Cuadro 4. Resultados del análisis micológico de las semillas de maíz amarillo duro procedentes de la parcela del agricultor, garantizada y del mercado.

Método	Tratamientos	N° de semillas	Semillas infectadas (%)	Patógeno
Papel toalla	Semilla de Maíz "Parcela del"	100	99.6	<i>Penicillium sp.</i>
	Semilla de Maíz "Garantizada"	100	0	Ninguno
	Semilla de Maíz "Mercado"	100	89.2	<i>Penicillium sp.</i> y <i>Aspergillus sp.</i>

Figura 3. Porcentaje de semillas de maíz infestadas.



6.3. Determinar el mejor medio de cultivo para el agente causal aislado del maíz amarillo duro a nivel in vitro.

Cuadro 5. Diámetro promedio (mm) del crecimiento micelial de *Bipolaris sp.* en diferentes medios de cultivo, a los 7 días después de la siembra.

Bipolaris sp.						
Medios de cultivo		PDA	CMA	OMA	AGAR AGUA	Extracto de hojas de maíz
Repeticiones	1	23.40	68.00	50.00	22.00	85.00
	2	23.25	63.00	44.25	17.75	85.00
	3	25.00	61.50	44.75	21.45	85.00
	4	25.00	72.15	48.00	19.85	85.00
	5	26.50	64.00	41.00	18.00	85.00
Promedio		24.63	65.73	45.60	19.81	85.00

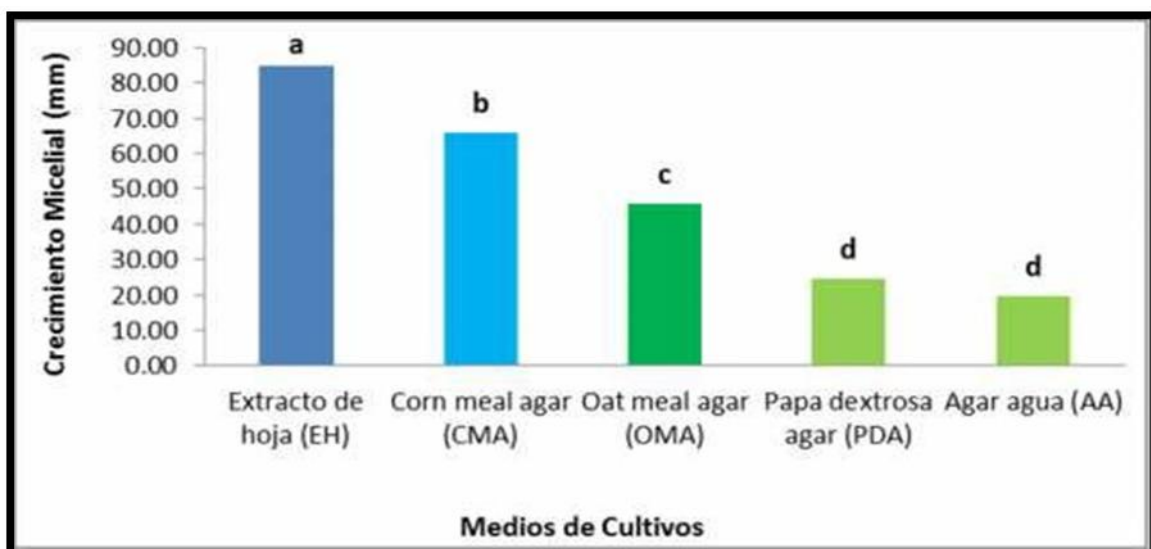
Cuadro 6. Análisis de variancia del crecimiento micelial promedio (mm) de *Bipolaris sp.* En los diferentes medios de cultivo.

Fuentes de variabilidad	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	F.T. 5%	Signif. 5%
Tratamientos	4	15149.14	3787.28	519.77	2.87	*
Error experimental	20	145.73	7.29			
Total	24	15294.86	C.V. = 5.60 %			

Cuadro 7. Prueba de tukey al 5% para el promedio del crecimiento micelial de *Bipolaris sp.* en los diferentes medios de cultivo a los 7 días de siembra.

Tratamientos	Crecimiento micelial (Promedio mm)	Significación
Extracto de hoja (EH)	85.00	a
Corn meal agar (CMA)	65.73	b
Oat meal agar (OMA)	45.60	c
Papa dextrosa agar	24.63	d
Agar agua (AA)	19.81	d

Figura 4. Crecimiento micelial promedio (mm) de *Bipolaris sp.* en diferentes medios de cultivo.



6.4. Evaluar el efecto de los fungicidas en el crecimiento radial de la colonia del fitopatógeno a nivel in vitro

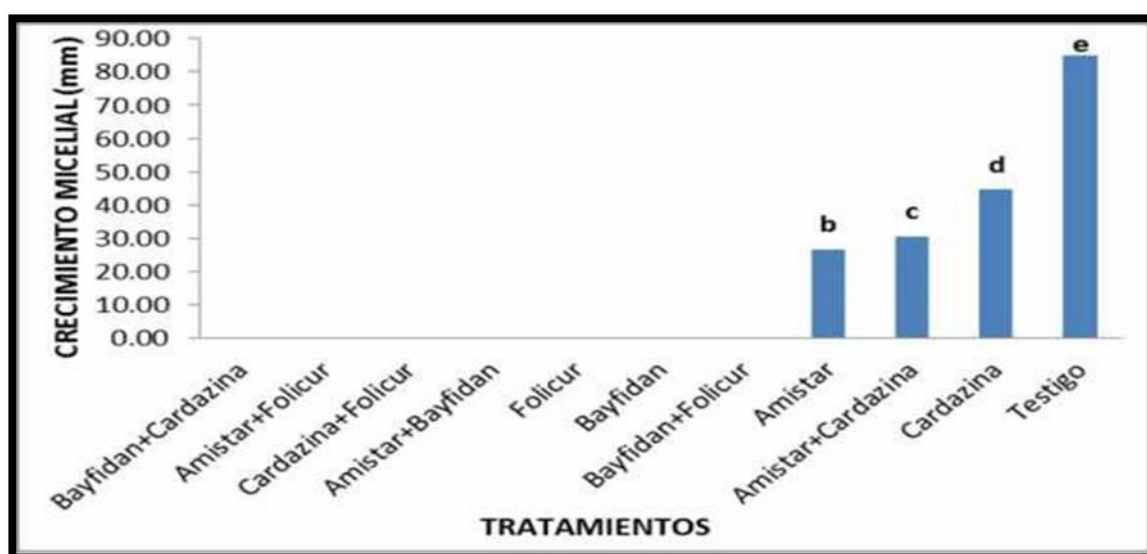
Cuadro 8. Análisis de variancia del crecimiento micelial promedio “in vitro” de *Bipolaris sp.* Con tratamientos y dosis de fungicidas.

Fuente de variación	G.L.	S.C.	C.M.	F. C.	F.T. 5%	Signif. 5%
Tratamiento	32	119093.86	3721.68	4710.77	1.54	*
Fungicidas	10	115361.63	11536.16	14602	1.91	*
Dosis	2	487.51	243.76	308.54	3.07	*
Fungicidas*dosis	20	3244.72	162.24	205.35	1.66	*
Error	132	104.29	0.79			
Total	164	119198.15				
CV (%)				5.22		
Promedio				17.00		

Cuadro 9. Prueba de Tukey al 5% para el crecimiento micelial promedio (mm) de *Bipolaris sp.* en tratamientos con fungicidas.

Tratamientos	Fungicidas	Crecimiento micelial (Promedio)	Significación 5%
T9	Bayfidan+Cardazina	0	a
T8	Amistar+Folicur	0	a
T11	Cardazina+Folicur	0	a
T6	Amistar+Bayfidan	0	a
T4	Folicur	0	a
T2	Bayfidan	0	a
T10	Bayfidan+Folicur	0	a
T1	Amistar	26.72	b
T7	Amistar+Cardazina	30.68	c
T3	Cardazina	44.6	d
T5	Testigo	85	e

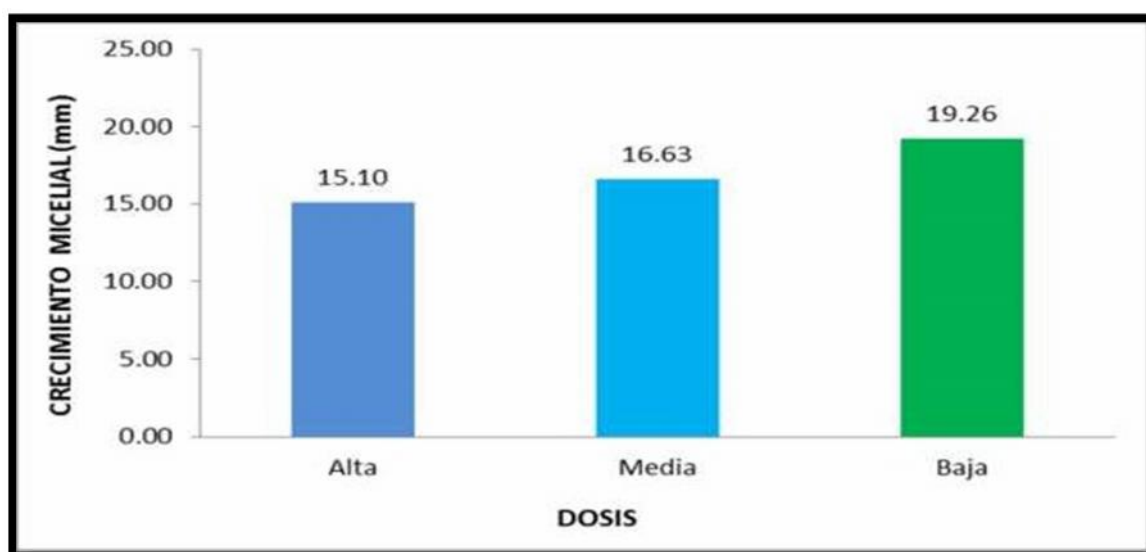
Figura 5. Crecimiento del micelio promedio (mm) de *Bipolaris sp.* en los tratamientos con fungicidas.



Cuadro 10. Prueba de Tukey al 5% para el crecimiento micelial promedio de *Bipolaris sp.* en tratamientos con diferentes dosis.

Tratamientos	Dosis	Crecimiento micelial (Promedio mm)	Significación 5%
D2	Alta	15.10	a
D3	Media	16.63	b
D1	Baja	19.26	c

Figura 6. Crecimiento micelial en mm de *Bipolaris sp.* en diferentes dosis.



Cuadro 11. Análisis de variancia del crecimiento micelial “in vitro” de efectos simples de la interacción (Fungicidas en diferentes dosis, Diferentes dosis en fungicidas).

Fuente de variación	G.L.	S.C.	C.M .	F. C.	F T. 5%	Signif. 5%
Amistar en diferentes dosis	2	714.4083	357.2042	452.14	3.07	*
Bayfidan+Folicur en diferentes dosis	2	0.0000	0.0000	0.0000	3.07	ns
Cardazina+Folicur en diferentes dosis	2	0.0000	0.0000	0.0000	3.07	ns
Bayfidan en diferentes dosis	2	0.0000	0.0000	0.0000	3.07	ns
Cadazina en diferentes dosis	2	2462.1943	1231.0972	1558.28	3.07	*
Folicur en diferentes dosis	2	0.0000	0.0000	0.0000	3.07	ns
Testigo en dosis	2	0.0000	0.0000	0.0000	3.07	ns
Amistar +Bayfidan en diferentes dosis	2	0.0000	0.0000	0.0000	3.07	ns
Amistar+Cardazina en diferentes dosis	2	555.6333	277.8167	351.65	3.07	*
Amistar+Folicur en diferentes dosis	2	0.0000	0.0000	0.0000	3.07	ns
Bayfidan+Cardazina en diferentes dosis	2	0.0000	0.0000	0.0000	3.07	ns
Dosis baja en fungicidas		43359.0000	4335.8682	5488.18	1.91	*
Dosis media en fungicidas		34596.0000	3459.6327	4379.07	1.91	*
Dosis alta en fungicidas		40651.0000	4065.1341	5145.49	1.91	*
Error	132	104.2850	0.79			

VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

7.1. Identificar el agente causal de la mancha foliar en maíz amarillo duro en el distrito de Santa Ana.

El fitopatógeno aislado e identificado de las hojas de maíz procedentes del distrito Santa Ana – Quillabamba es *Bipolaris sp.*. **IICA, 2012** menciona que este fitopatógeno es reportado en los distritos de norte y sur chico (Cañete, Huaura). **ELLIS, B. (1966), (1971); SIVANESAN, A. (1987) y CASTILLO, J. (2004)** indican que este fitopatógeno esta reportado como agente causal de las manchas necróticas en el maíz, y esta es favorecida por condiciones de alta humedad relativa o precipitaciones. (Ver **Anexo 4**)

7.2. Establecer el análisis micológico de las semillas de maíz amarillo duro a nivel in vitro.

Según este análisis las semillas de maíz provenientes de la parcela del agricultor presentó solo el crecimiento de *Penicillium sp.*, mientras en las semillas procedentes del mercado se encontró *Penicillium sp.* y *Aspergillus sp.*, este problema se origina mayormente por las condiciones en la cual están almacenadas. Por otro lado, en las semillas de maíz garantizada provenientes de una casa comercial no se encontró ningún patógeno ni contaminantes secundarios, estos resultados están relacionados con lo mencionado por **DELGADO, W. (1999)** quien informa que los patógenos que se encuentran en las semillas de maíz se deben al traslado y almacenamiento de los granos quienes crecen en la superficie como es *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Rhizopus sp.*, *Nigrospora sp.*

7.3. Determinar el mejor medio de cultivo para el agente causal aislado del maíz amarillo duro a nivel in vitro.

En el **Cuadro 6**, se muestra el análisis de variancia para el desarrollo micelial promedio (mm), donde se observa que existen diferencias significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variación es de 5.60 % que se ubica dentro del rango estadístico para este tipo de investigación. **CALZADA, J. (1882)** indica que en condiciones asépticas existe un mejor control del experimento. Al

encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y quedando aun por establecer si son iguales, se procedió a realizar la prueba de comparación de Tukey a un nivel de significancia de 5 % .

Según la prueba de comparación Tukey (**Cuadro 7** y **Figura 4**) el patógeno *Bipolaris sp.* tuvo un mejor crecimiento y desarrollo micelial en el medio extracto hojas de maíz con un promedio de 85.00 mm de crecimiento micelial, seguido del CMA con 65.73 mm de crecimiento micelial, en tercera posición se encuentra OMA con 45.60 mm de crecimiento micelial, y ocupando la última posición tenemos a PDA y AA con promedios de 24.63 mm y 19.81 mm de crecimiento micelial. El medio de cultivo extracto hojas de maíz nos permitió observar a los 7 días después de la siembra la esporulación abundante de conidias oscuras debido a que son ricos en un 74% de hidratos de carbono. **FRENCH, E. (1982)** señala que los compuestos orgánicos favorecen el abundante crecimiento y desarrollo del fitopatógeno y sus conidias.

7.4. Evaluar el efecto de los fungicidas en el crecimiento radial de la colonia del fitopatógeno a nivel in vitro

En el **Cuadro 8**, se observa el análisis de variancia para el crecimiento micelial promedio de *Bipolaris sp.* en tratamientos con fungicidas, donde indica que existen diferencias estadísticamente significativas a nivel de tratamientos, fungicidas, dosis e interacción. El coeficiente de variabilidad es de 5.22%, **CALZADA, J. (1982)** señala que cuando se trabaja bajo condiciones controladas (asepsia) existe un mejor control del experimento.

El **Cuadro 9** y **Figura 5**, muestra la prueba de comparación Tukey la cual indica que los fungicidas que sobresalieron por inhibir el desarrollo de *Bipolaris sp.* fueron T9 (Bayfidan + Cardazina), T8 (Amistar + Folicur), T11 (Cardazina + Folicur), T6 (Amistar + Bayfidan), T4 (Folicur), T2 (Bayfidan), T10 (Bayfidan + Folicur) que son recomendados básicamente para manchas foliares, cada uno de ellos con diferente ingrediente activo de amplio espectro. **APABLAZA, G. (1997)** indica que una vez que los fungicidas penetran alcanzan rápidamente el sitio de acción del fitopatógeno antes de que este penetre. Así mismo se observó que los tratamientos T1 (Amistar), T7 (Amistar + Cardazina) y T3 (Cardazina) no fueron

efectivos para inhibir el desarrollo de *Bipolaris sp.* pues *Bipolaris sp.* pudo desarrollar micelio, debido a que son fungicidas preventivos, con rango reducido y poca residualidad los cuales no son recomendables para integrar un programa de manejo de enfermedades. **FAO, (2000)** y **BAYER, (2011)** informan que al pasar el periodo de carencia del producto, el fitopatógeno desarrolla rápidamente ocasionando graves daños. El testigo tuvo un crecimiento micelial total de 85 mm, es decir creció en toda la placa como se esperaba ya que al tener todas las condiciones necesarias de temperatura, humedad y nutrientes de carbono no tuvo ningún problema en su crecimiento con respecto de los fungicidas que no inhibieron el crecimiento de *Bipolaris sp.*.

La prueba de comparación Tukey para el crecimiento micelial promedio de *Bipolaris sp.* en tratamientos con diferentes dosis (**Cuadro 10**), indica que la mejor dosis que logro inhibir el crecimiento y desarrollo de *Bipolaris sp.* es la D2 (Dosis alta), seguido de D3 (Dosis media) y D1 (Dosis baja).

En el **Cuadro 11**, la interacción entre los fungicidas y las dosis fue significativa, esto indica que se debe realizar un análisis de variancia de efectos simples. Vemos que en el Cuadro 8 los tratamientos T1 (Amistar), T7 (Amistar + Cardazina) y T3 (Cardazina) estadísticamente son significativos, es decir que el crecimiento y desarrollo micelial de *Bipolaris sp.* a dosis baja, media y alta fue distinta; mientras los tratamientos T9 (Bayfidan + Cardazina), T8 (Amistar + Folicur), T11 (Cardazina + Folicur), T6 (Amistar + Bayfidan), T4 (Folicur), T2 (Bayfidan), T10 (Bayfidan + Folicur) estadísticamente son no significativos, quiere decir que *Bipolaris sp.* fue inhibido completamente por estos fungicidas, tanto a dosis baja, media y alta. El testigo tuvo un crecimiento micelial de 85 mm, es decir creció en toda la placa como se esperaba y por ello se compara con todos los tratamientos en cuanto al crecimiento.

VIII. CONCLUSIONES

1. El agente causal principal de la mancha foliar aislado e identificado de las hojas del maíz amarillo duro es *Bipolaris sp.*
2. De la prueba de análisis de las semillas de maíz amarillo duro procedentes de la parcela del agricultor y del mercado se aislaron *Penicillium sp.* y *Aspergillus sp.*, mientras en la semilla garantizada de maíz amarillo duro no se encontró ningún patógeno.
3. Los mejores medios de cultivo para el crecimiento y desarrollo micelial de *Bipolaris sp.* fueron Extracto de Hoja de Maíz (EM) y CMA (Corn meal agar).
4. Los tratamientos T9 (Bayfidan + Cardazina), T8 (Amistar + Folicur), T11 (Cardazina + Folicur), T6 (Amistar + Bayfidan), T4 (Folicur), T2 (Bayfidan), T10 (Bayfidan + Folicur) trabajados a nivel "in vitro" lograron un 100% de inhibición del desarrollo de *Bipolaris sp.* a dosis Alta, Media y Baja. Mientras los tratamientos T1 (Amistar), T7 (Amistar + Cardazina) y T3 (Cardazina) no fueron efectivos para inhibir el desarrollo de *Bipolaris sp.* debido a que son fungicidas preventivos. Asimismo las dosis Altas no dejaron desarrollar mucho al patógeno seguido de las dosis medias y bajas.

IX. SUGERENCIAS

El presente trabajo tuvo como finalidad obtener información del agente causal que ataca al cultivo de maíz amarillo duro y saber que fungicidas y dosis aplicar; para realizar experimentos similares a este se recomienda:

1. Realizar más estudios del agente causal para determinar el comportamiento de la enfermedad en diferentes condiciones de la provincia de La Convención.
2. Usar semilla certificada de maíz amarillo duro para evitar la contaminación de fitopatógenos secundarios.
3. Realizar trabajos de control químico en condiciones de campo con los mejores fungicidas obtenidos en el estudio "in vitro", como son los tratamientos: T4 (Folicur), T2 (Bayfidan), T6 (Amistar + Bayfidan), T8 (Amistar + Folicur), T9 (Bayfidan + Cardazina), T10 (Bayfidan + Folicur), T11 (Cardazina + Folicur).
4. Elaborar una propuesta de manejo integrado de enfermedades para disminuir pérdidas ocasionadas por la mancha foliar de las hojas y evitar los bajos rendimientos del maíz amarillo duro.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. **APABLAZA, G., 1997.** Patología de Cultivos. Epidemiología y Control Holístico. Colección en Agricultura Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, p. 283 – 305
2. **BARNETT, H. L. AND BARRY B. H. 1972.** Illustrated genera of imperfect fungi. Third edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. USA. 241p.
3. **BARRÓN, G.L. 1968.** The genera of Hiphomycetes from soil. E. Preston Street. U.S.A. 364p.
4. **BAYER, 2011.** “Boletín Informativo Técnico”. Los Fungicidas 150 F. C. Lima – Perú. Pág. 12.
5. **CALZADA, J. 1982.** Métodos estadísticos para la investigación. Lima – Perú.
6. **CASTILLO, J. 2004.** Identificación y evaluación de enfermedades y virus de maíz en el Perú. 38p.
7. **CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y MEJORAMIENTO DE MAÍZ Y TRIGO (CIMMYT). 2004.** Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en el campo. Cuarta edición. México, D.F.: CIMMYT. Pág. 112.
8. **CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y MEJORAMIENTO DE MAÍZ Y TRIGO (CIMMYT). 2005.** Guía para las Enfermedades de plantas, Enfermedades fungosas, Epidemiología, Identificación y Métodos. Segunda edición. México, D.F. Pág. 75.
9. **DELGADO, F. W. 1999.** Fenología y control del cultivo de maíz. Separata INIA. Cusco- Perú. 79p.
10. **ELLIS, M. B. 1966.** Dematiaceous Hyphomycetes VII. *Curvularia, Bipolaris, etc.* Mycol. Pap. 106: 1-57.
11. **ELLIS, M. B. 1971.** Dematiaceous Hyphomycetes. C.A.B. International Mycological Institute Kew, England. 608p.

12. **ELLIS, M. B. 1976.** More Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew.
13. **FAO, 2000.** El código internacional de la FAO sobre la distribución y utilización de pesticidas.
14. **FRENCH, E. 1982.** Métodos de investigación fitopatológica. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica. 290 p.
15. **IV CENSO NACIONAL AGROPECUARIO, 2012.** Resultados definitivos. Ministerio de agricultura y riego e Instituto nacional de estadística e informática. Lima- 2013. 62p.
16. **INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACIÓN PARA LA AGRICULTURA (IICA).** 2012. Manual tecnológico del maíz amarillo duro y sus buenas prácticas para el valle de Huara. Lima-Perú. P. 103-115.
17. **MENA, J. (2004).** Taxonomía del complejo Bipolaris, Curvularia, Drechslera y Exserohilum en Cuba RESUMEN DE TESIS EN OPCIÓN AL GRADO CIENTÍFICO DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS, La Habana.
18. **LONNQUIST, J.H; GARDNER, C.O. 1966.** Heterosis in intervarietal crosses in maize and its implications in breeding procedures. Crop Sci., 1:179-183.
19. **MANRIQUE, CHÁVEZ. P.A. 1997.** El maíz en el Perú. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Lima-Perú. 240p.
20. **MARTÍNEZ, BORRERO. J. 2011.** El maíz en América. Una breve visión sobre su historia Precolombino. Universidad de Cuenca. México.
21. **MINISTERIO DE AGRICULTURA, 2012.** Cultivo del maíz en la costa. Boletín de divulgación. Lima – Perú. 56p.
22. **PALIWAL, L. R. 2001.** El maíz en los trópicos mejoramientos y producción. Colección FAO N° 28. Roma-Italia. 146p.
23. **PLATT, H.W.AND R. REDIN. 1996.** Evaluation of fungicides for control of Potato Early Blight. Annals of Applied Biology (supplement) 122: 48-49.
24. **POEHLMAN, J.M; ALLEN, S.D. 2003.** Mejoramiento de las cosechas. Editorial Limusa. México 511p.

25. **SERRATOS, HERNÁNDEZ. J. 2009.** El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. Editorial Review. México. 5p.
26. **SEVILLA PANIZO, RICARDO. 2010.** El Cultivo del Maíz en e Perú. Anales Científicos. Universidad Nacional Agraria La Molina. 2008.
27. **SILVA, CASTRO. C. 2005.** Maíz genéticamente modificado. Agri-Bio. Colombia. 3p.

ANEXO

Anexo 1. Resultados obtenidos en el análisis micológico de las 100 semillas de maíz amarillo duro, procedentes de la parcela del agricultor, garantizada y del mercado.

		PAPEL TOALLA		
		Semilla de Maíz (Parcela de Agricultor)	Semilla de Maíz (Garantizada)	Semilla de Maíz (Mercado)
REPETICIONES	I	100	0	86
	II	100	0	91
	III	98	0	88
	IV	100	0	83
	V	100	0	98
PROMEDIO		99.6	0	89.2



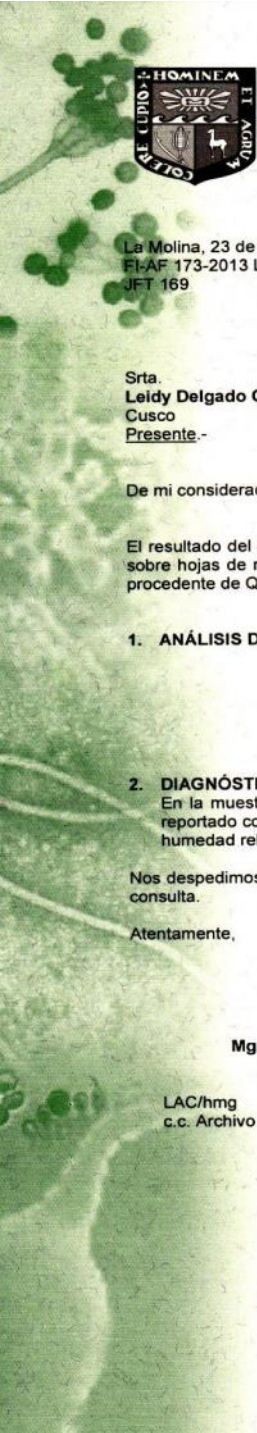
Anexo 2. Datos del crecimiento micelial promedio (mm) de *Bipolaris sp.* en los diferentes medios de cultivo.

TRATAMIENTOS	DÍAS	DESARROLLO MICELIAL (mm)					PROMEDIO
		Repeticiones					
		1	2	3	4	5	
PDA	17/02/2013	10.25	11.25	11.25	10.25	11.50	
	18/02/2013	14.00	15.00	16.25	15.75	14.30	
	19/02/2013	17.80	19.30	22.00	21.00	21.25	
	20/02/2013	19.00	21.00	20.50	21.50	23.25	
	21/02/2013	20.00	22.00	23.50	23.00	25.00	
	22/02/2013	21.40	22.50	24.00	24.00	25.50	
	23/02/2013	23.40	23.25	25.00	25.00	26.50	24.63
CMA	17/02/2013	11.25	12.25	12.00	13.00	14.00	
	18/02/2013	20.00	20.75	20.25	22.75	24.00	
	19/02/2013	29.25	28.25	29.00	31.00	34.00	
	20/02/2013	37.00	34.75	37.00	43.50	41.00	
	21/02/2013	45.50	41.75	44.75	45.00	47.00	
	22/02/2013	57.50	53.00	53.25	69.25	56.00	
	23/02/2013	68.00	63.00	61.50	72.15	64.00	65.73
OMA	17/02/2013	11.50	10.00	11.50	11.75	11.25	
	18/02/2013	22.00	17.50	17.50	18.50	17.50	
	19/02/2013	30.00	22.75	23.00	26.00	26.75	
	20/02/2013	36.00	34.60	29.25	31.00	34.00	
	21/02/2013	41.00	39.00	37.70	38.00	37.00	
	22/02/2013	47.00	40.25	41.20	46.50	40.40	
	23/02/2013	50.00	44.25	44.75	48.00	41.00	45.60
AGAR AGUA	17/02/2013	7.25	6.25	6.50	6.50	6.00	
	18/02/2013	8.00	6.75	7.50	7.00	8.00	
	19/02/2013	9.00	7.40	7.00	8.50	9.00	
	20/02/2013	10.00	8.75	11.75	9.50	10.50	
	21/02/2013	14.00	12.50	14.50	11.00	12.50	
	22/02/2013	18.30	15.50	18.25	14.00	15.50	
	23/02/2013	22.00	17.75	21.45	19.85	18.00	19.81
EXTRACTO DE MAÍZ	17/02/2013	14.50	15.50	19.75	16.00	18.50	
	18/02/2013	31.25	29.00	35.25	35.50	39.00	
	19/02/2013	48.25	45.25	48.50	51.25	51.00	
	20/02/2013	60.50	58.50	69.00	73.00	63.00	
	21/02/2013	76.00	70.50	78.75	78.60	79.00	
	22/02/2013	83.75	84.20	82.00	83.00	81.00	
	23/02/2013	85.00	85.00	85.00	85.00	85.00	85.00

Anexo 3. Crecimiento micelial promedio (mm) in vitro de *Bipolaris sp.* utilizando diferentes fungicidas y dosis.

		TRATAMIENTOS																																			
FUNGICIDAS		AMISTAR (T1)			BAYFIDAN (T2)			CARDAZINA (T3)			FOLICUR (T4)			TESTIGO (T5)			AMISTAR+ BAYFIDAN (T6)			AMISTAR+ CARDAZINA (T7)			AMISTAR+ FOLICUR (T8)			BAYFIDAN+ CARDAZINA (T9)			BAYFIDAN+ FOLICUR (T10)			CARDAZINA+ FOLICUR (T11)					
DOSIS		D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3			
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
REPETICIONES	1	38.50	25.75	17.75	0.00	0.00	0.00	55.50	26.50	54.50	0.00	0.00	0.00	85.00	85.00	85.00	0.00	0.00	0.00	38.00	30.25	24.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			
	2	34.00	24.00	18.50	0.00	0.00	0.00	52.00	26.75	55.00	0.00	0.00	0.00	85.00	85.00	85.00	0.00	0.00	0.00	39.25	27.25	27.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			
	3	34.75	25.00	19.25	0.00	0.00	0.00	50.50	26.25	54.25	0.00	0.00	0.00	85.00	85.00	85.00	0.00	0.00	0.00	39.25	28.50	22.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			
	4	33.00	25.75	19.75	0.00	0.00	0.00	50.00	26.50	55.00	0.00	0.00	0.00	85.00	85.00	85.00	0.00	0.00	0.00	37.50	29.75	20.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			
	5	38.50	26.50	19.75	0.00	0.00	0.00	54.25	26.70	55.40	0.00	0.00	0.00	85.00	85.00	85.00	0.00	0.00	0.00	39.75	30.50	26.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			
PROMEDIO		35.75	25.40	19.00	0.00	0.00	0.00	52.45	26.54	54.83	0.00	0.00	0.00	85.00	85.00	85.00	0.00	0.00	0.00	38.75	29.25	24.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			

Anexo 4. Resultados obtenidos de las muestras de maíz enviada a la Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología de la Universidad Nacional Agraria la Molina.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología
Av. La Universidad s/n - La Molina Apdo. 056 L-12
Telefax: 349-6631 Nextel: 416*9694
e-mail: clinica@lamolina.edu.pe

La Molina, 23 de mayo de 2013
FI-AF 173-2013 LAC 085
JFT 169

Srta.
Leidy Delgado Olave
Cusco
Presente.-

De mi consideración:

El resultado del análisis fitopatológico de dos muestras de cámara húmeda con micelio afelpado, negruzco sobre hojas de maíz amarillo duro, con síntomas de manchas necróticas, para la identificación de género, procedente de Quillabamba, Cusco; es el siguiente:

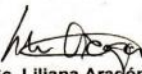
1. ANÁLISIS DEL TEJIDO.

METODO	RESULTADO
Examen microscópico	<i>Bipolaris</i> sp.

2. DIAGNÓSTICO.
En la muestra remitida por ustedes se ha detectado la presencia del hongo *Bipolaris* sp. el cual está reportado como agente causal de manchas necróticas en el maíz. Es favorecido por condiciones de alta humedad relativa o precipitaciones.

Nos despedimos de ustedes recordándoles que la Clínica de Diagnóstico está a su disposición para cualquier consulta.

Atentamente,


Mg. Sc. Liliana Aragón Caballero
COORDINADORA
CLINICA DE DIAGNOSIS

LAC/hmg
c.c. Archivo

Anexo 5. Ubicación de parcela de maíz amarillo duro con presencia de manchas foliares en el sector de San Pedro, distrito de Santa Ana, provincia de La Convención.



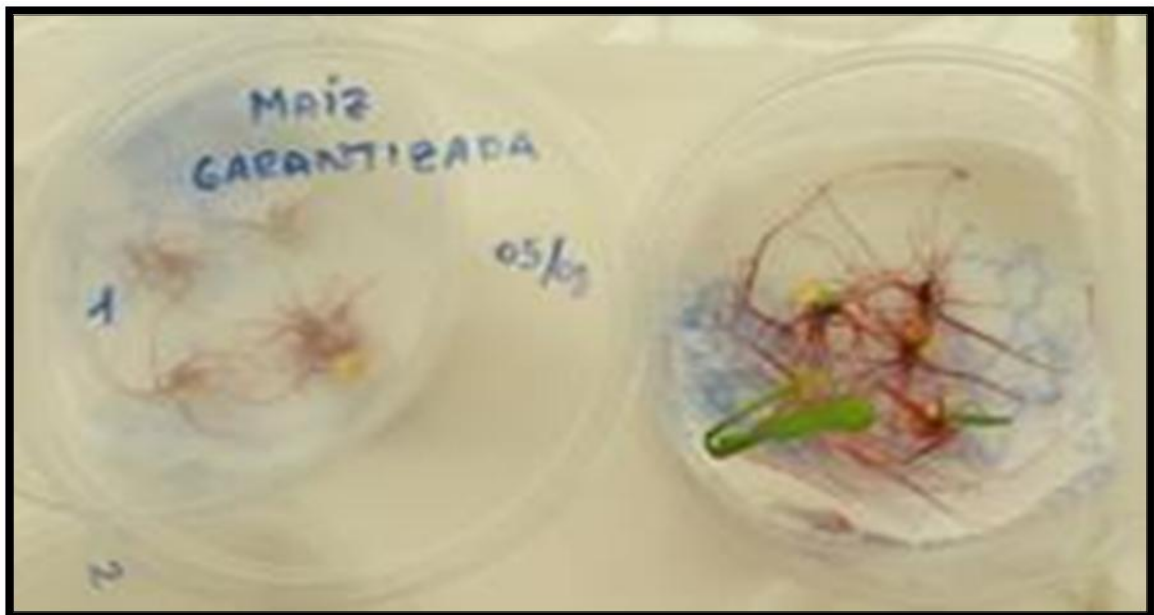
Anexo 6. Área foliar de maíz amarillo duro con lesiones necróticas causadas por *Bipolaris* sp. en el distrito de Santa Ana, provincia de La Convención.



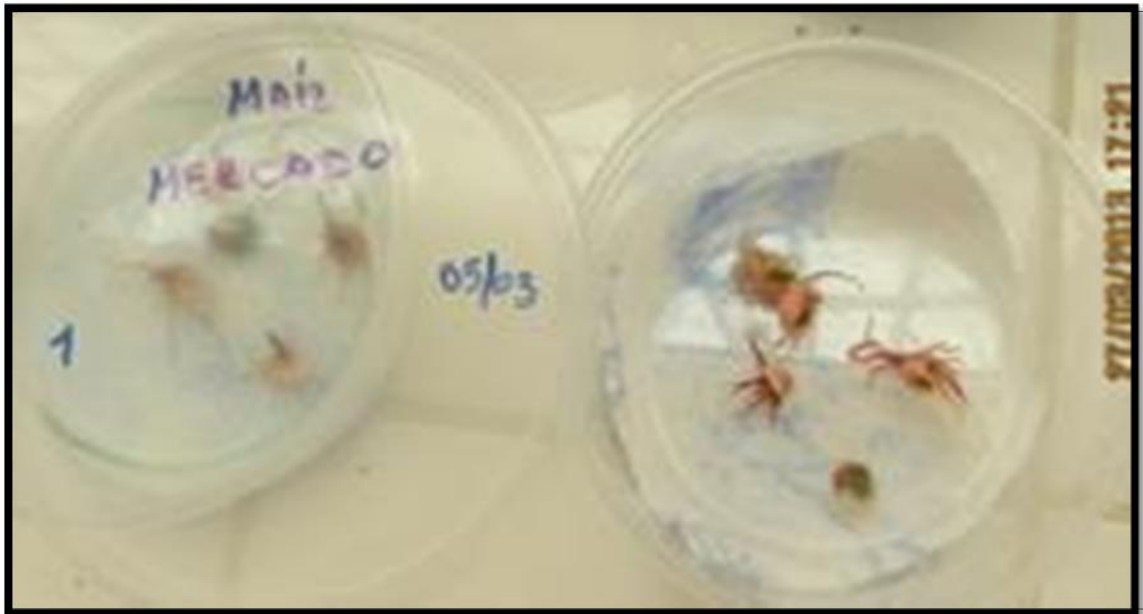
Anexo 7. Resultado del análisis micológico para la semilla de la parcela del agricultor, donde se observa el crecimiento de *Penicillium* sp.



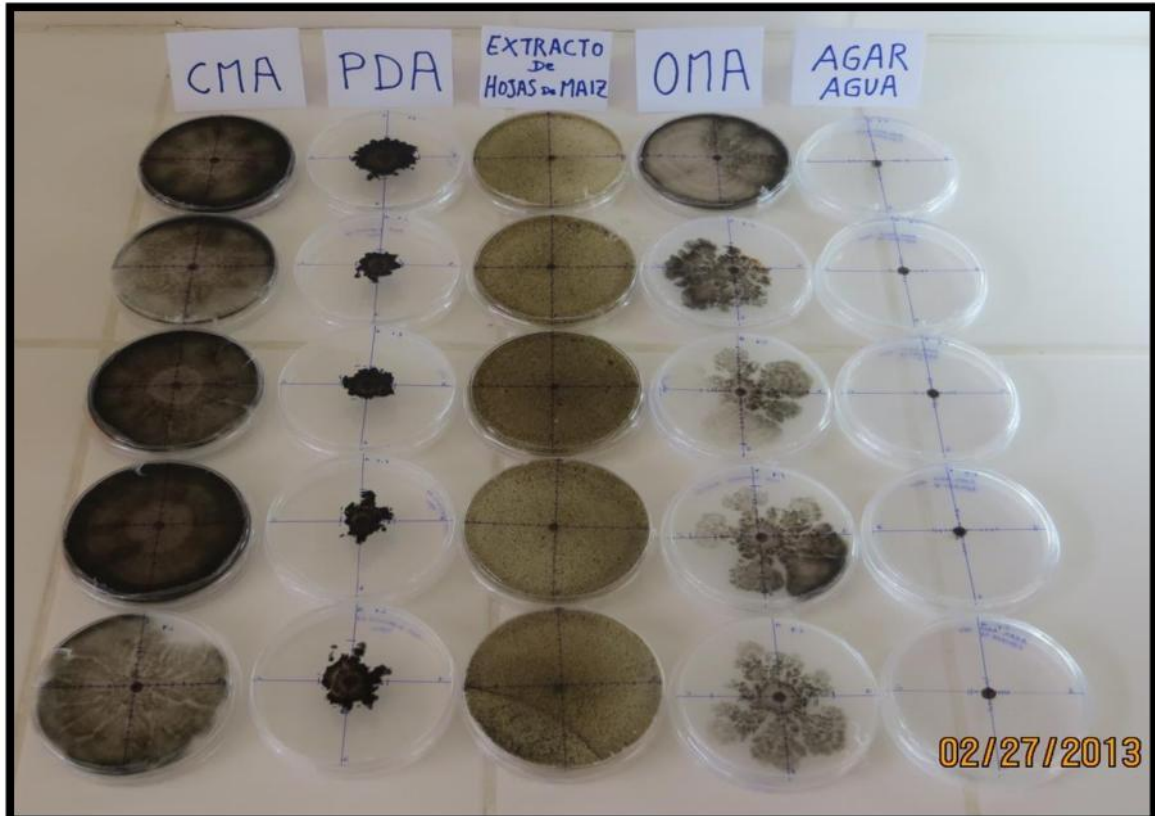
Anexo 8. Resultado del análisis micológico para la semilla garantizada de una tienda comercial, se observa una buena germinación y no hubo contaminación de otros patógenos secundarios.



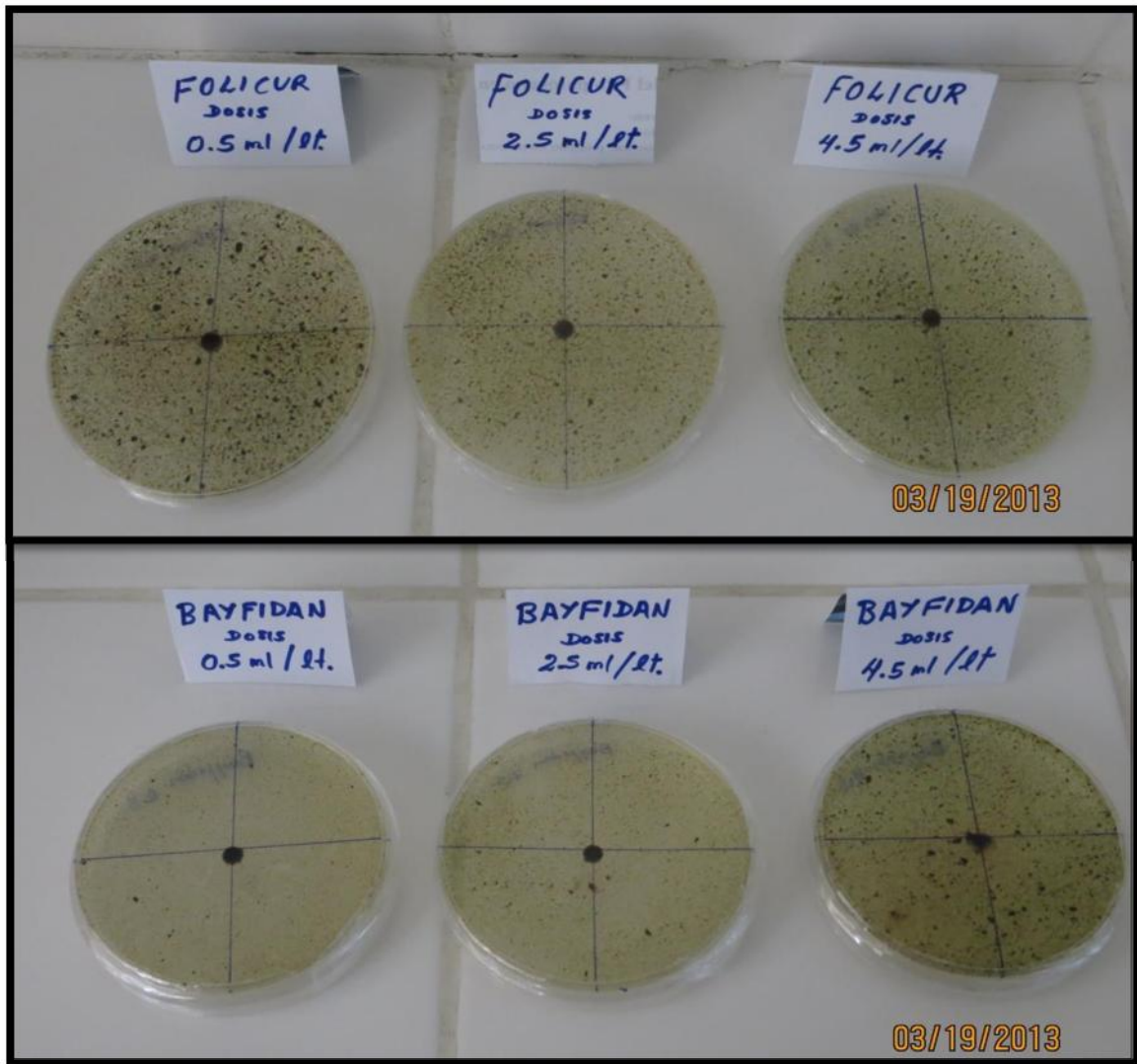
Anexo 9. Resultado del análisis micológico para semilla de mercado, donde se observa la presencia de *Penicillium sp.* y *Aspergillus sp.*



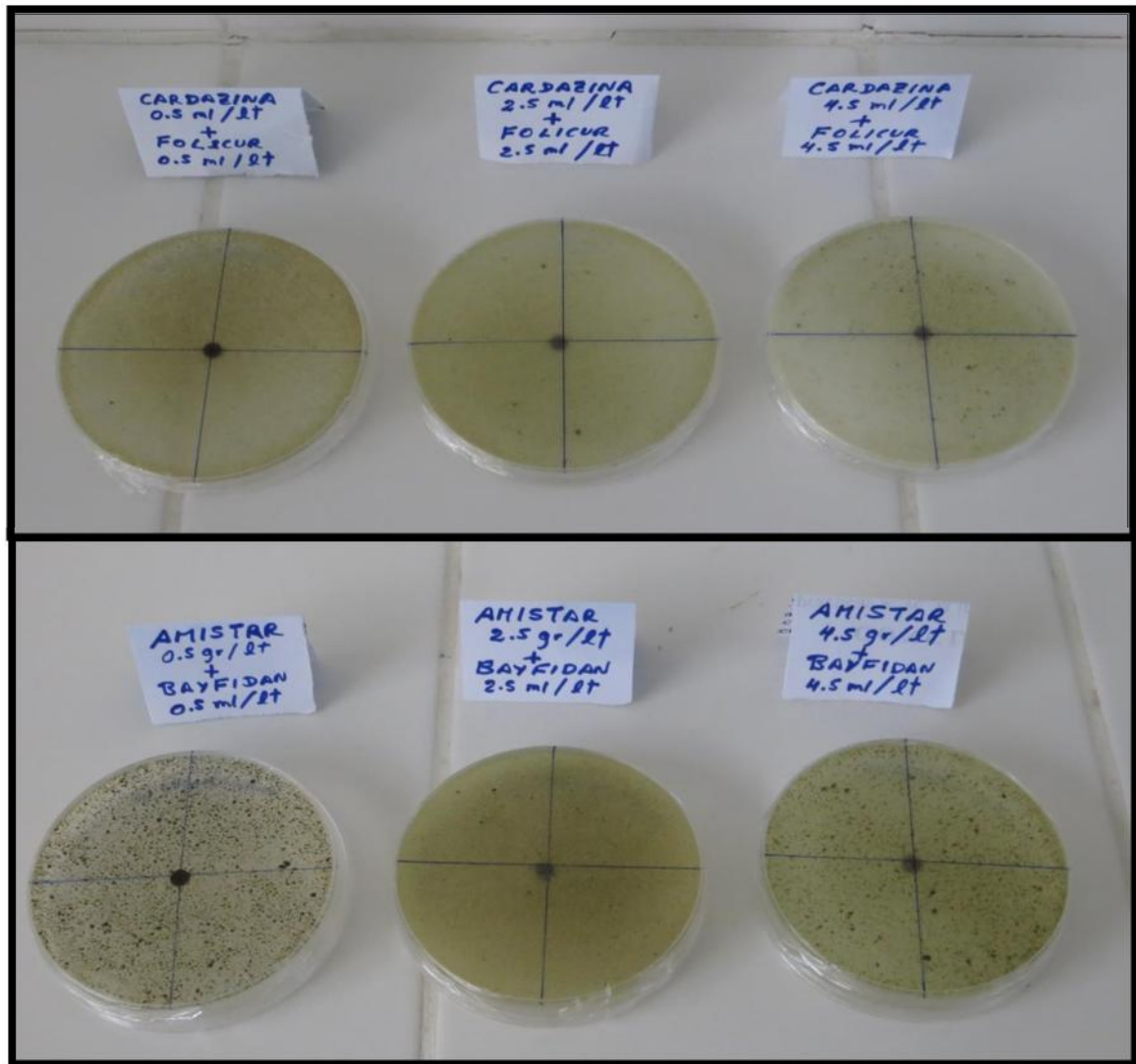
Anexo 10. Diferencia del crecimiento de *Bipolaris sp.* en los diferentes medios de cultivos



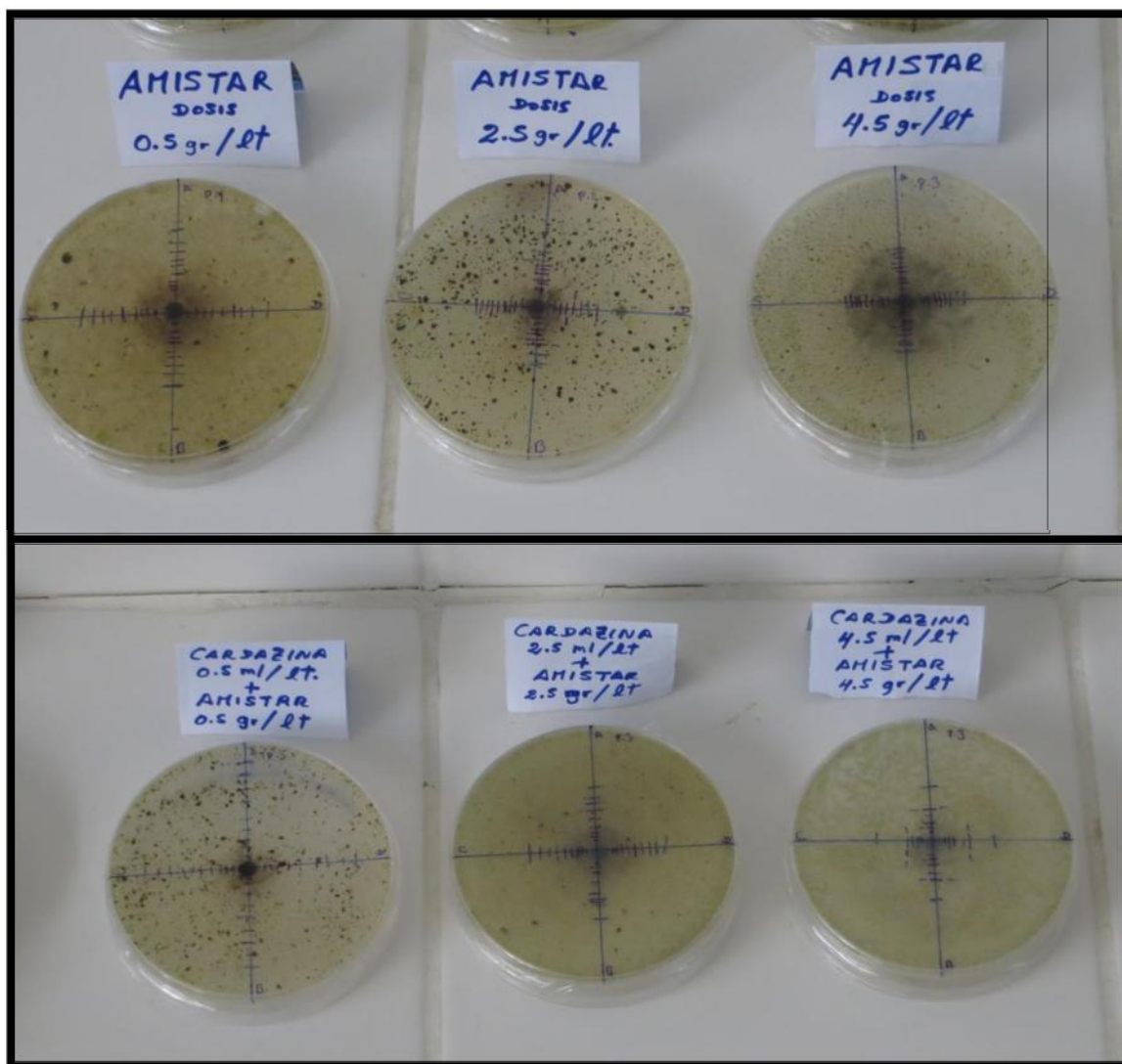
Anexo 11. Tratamientos en medio extracto hojas de maíz envenenado con diferentes fungicidas y dosis de "Folicur" y "Bayfidan" controlando el desarrollo micelial (mm) de *Bipolaris* sp.



Anexo 12. Tratamientos en medio extracto hojas de maíz envenenado con diferentes mezclas de fungicidas y dosis de "Cardazina+Folicur" y "Amistar+Bayfidan" controlando el desarrollo micelial (mm) de *Bipolaris* sp.



Anexo 13. Tratamientos en medio extracto hojas de maíz envenenado con diferentes mezclas de fungicidas y dosis de "Cardazina+ Amistar " y "Amistar" donde se observa el desarrollo micelial (mm) de *Bipolaris* sp.



Anexo 14. Desarrollo y crecimiento micelial total de la placa con *Bipolaris* sp.
(Testigo) en el medio de cultivo extracto hojas de maíz.

