

# ETIOLOGÍA Y MANEJO DE LA MANCHA DE ASFALTO (*Phyllachora maydis* Maubl.) DEL MAÍZ EN GUERRERO, MÉXICO

## ETIOLOGY AND MANAGEMENT OF TAR SPOT (*Phyllachora maydis* Maubl.) OF MAIZE IN GUERRERO STATE, MÉXICO

Juan Pereyda-Hernández<sup>1\*</sup>, Javier Hernández-Morales<sup>1</sup>, J. Sergio Sandoval-Islas<sup>1</sup>,  
Sergio Aranda-Ocampo<sup>1</sup>, Carlos de León<sup>1</sup>, Noel Gómez-Montiel<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fitopatología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México (juanpereyda@colpos.mx). <sup>2</sup>CEIGUA/INIFAP. Iguala, Guerrero. Carretera Iguala-Tuxpan, km 2.5.

### RESUMEN

La mancha de asfalto del maíz es importante en el trópico de México por su impacto en el rendimiento. Se detectaron los agentes causales *Phyllachora maydis* Maubl., *Monographella maydis* Müller & Samuels y *Coniothyrium phyllachorae* Maubl., en el Valle de Mochitlán y otros Municipios del Estado de Guerrero. La enfermedad causó pérdidas del 55.1 % de la producción. Ochenta y un híbridos y 25 variedades de polinización libre de maíz evaluadas en esta zona contra este complejo de fitopatógenos no escaparon a la infección; sin embargo, los híbridos H-513×CML47, HEIixH-H-513 y H-513×CM374 exhibieron 7.29, 7.35 y 7.95 % de severidad, y fueron los más tolerantes. H-513 fue consistente en sus atributos de tolerancia, y su progenie representó 77 % de los 22 genotipos más tolerantes a la enfermedad. Por rendimiento, destacaron RCO38×HEI<sub>4</sub> y H-513×ST-549 con 8.2 y 8.1 t ha<sup>-1</sup> (19.89 y 13.18 % de severidad). Las variedades evaluadas fluctuaron de moderadamente a muy susceptibles; no obstante, 72 % de éstas superó las 4.0 t ha<sup>-1</sup>. La utilidad en el valor de la producción de grano fue 5.4 veces más alta con la aspersión de Benomil (0.200 kg ha<sup>-1</sup>) que sin aspersión del fungicida; mientras que la utilidad fue 2.2 veces más alta en elote que en grano en el tratamiento con Benomil, y 12 veces mayor con aspersión del producto que sin aspersión.

**Key words:** *Coniothyrium phyllachorae*, *Monographella maydis*, *Phyllachora maydis*, genetic and chemical control, maize.

### INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es la base en la alimentación de más de cien millones de mexicanos, sembrándose anualmente más de 2 000 000 ha. La humedad y temperatura favorecen el desarrollo de tizones foliares, como sucede con la mancha de asfalto, que ocurre con mayor severidad en áreas con alta humedad relativa, localizadas entre 1300 y 2300 m (Hock *et al.*, 1989).

### ABSTRACT

Tar Spot complex of maize is important in the tropic of México due to its impact on yield. The causal agents *Phyllachora maydis* Maubl., *Monographella maydis* Müller & Samuels and *Coniothyrium phyllachorae* Maubl. were detected in the Valley of Mochitlán and other municipalities of the state of Guerrero. The disease caused losses of 55.1% of the production. Eighty one hybrids and 25 varieties of free pollination of maize evaluated in this zone against this complex of phytopathogens did not escape the infection; however, the hybrids H-513×CML47, HEIixH-H-513 and H-513×CM374 exhibited 7.29, 7.35 and 7.95% severity, and were the most tolerant. H-513 was consistent in its attributes of tolerance, and its progeny represented 77% of the 22 genotypes most tolerant to the disease. Per yield, RCO38×HEI<sub>4</sub> and H-513×ST-549 were outstanding with 8.2 and 8.1 t ha<sup>-1</sup> (19.89 and 13.18% severity). The varieties evaluated fluctuated from moderately to very susceptible; however, 72% of these surpassed 4.0 t ha<sup>-1</sup>. The utility in the value of grain production was 5.4 times higher with the spraying of Benomyl (0.200 kg ha<sup>-1</sup>) than without the spraying of fungicide, while the utility was 2.2 times higher in ear than in grain in the treatment with Benomil, and 12 times higher with spraying of the product than without spraying.

**Key words:** *Coniothyrium phyllachorae*, *Monographella maydis*, *Phyllachora maydis*, genetic and chemical control, maize.

### INTRODUCTION

Maize (*Zea mays* L.) is the base in the diet of more than one hundred million Mexicans, and over 2 000 000 ha of this grain are sown annually. Humidity and temperature favor the development of leaf blights, as is the case of tar spot complex, which occurs with greater severity in areas with high relative humidity, located between 1300 and 2300 m (Hock *et al.*, 1989).

The first report of tar spot in maize by the fungus *Phyllachora maydis* Maubl., was made in México (Maublanc, 1904). This disease produces dark raised

\* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: Febrero, 2008. Aprobado: Enero, 2009.

Publicado como ARTÍCULO en Agrociencia 43: 511-519. 2009.

El primer reporte de mancha de asfalto en maíz por el hongo *Phyllachora maydis* Maubl., se hizo en México (Maublanc, 1904). Esta enfermedad produce lesiones elevadas oscuras, estromáticas de aspecto liso y brillante, de forma oval a circular, con 0.5 a 2.0 mm de diámetro y forma estrías hasta de 10 mm de longitud (Parbery, 1967; Hamlin, 1999). Un segundo hongo asociado a la enfermedad es *Monographella maydis* Müller & Samuels, el cual provoca lesiones alrededor de las producidas por *P. maydis*. Al principio se observa un halo de forma elíptica, color verde claro de 1-4 mm, posteriormente es necrótico y provoca el síntoma conocido como ojo de pescado. En lesiones jóvenes, es común encontrar a *Microdochium* sp, anamorf de *Monographella maydis*. También, en tejido necrótico se puede observar a *Coniothyrium phyllachorae* Maubl. (Müller y Samuels, 1984), que confiere una textura ligeramente áspera al tejido dañado.

Bajo condiciones ambientales favorables, varias de estas especies actúan en sinergia causando el síndrome complejo mancha de asfalto (CMA). El follaje puede ser atizonado en menos de ocho días, debido a coalescencia de lesiones inducidas por los distintos hongos y atribuido a la producción de una toxina. Factores adicionales que favorecen la enfermedad son: alta humedad en el ambiente (10 a 20 días nublados en el mes), niveles altos de fertilización nitrogenada, dos ciclos de maíz por año, genotipos susceptibles, baja luminosidad, edad de alta vulnerabilidad del hospedante, virulencia de los patógenos involucrados (Hock *et al.*, 1989).

Muestreos realizados entre 1985 y 1988 en México, revelaron alta incidencia y severos daños al maíz en Jalisco, Michoacán, Hidalgo, Veracruz, Oaxaca y Chiapas, que afectaron aproximadamente 500 000 ha del cultivo y provocaron pérdidas hasta de 50 % en infecciones previas a la floración (Hock *et al.*, 1989).

De 2001 a 2005, aproximadamente 40 % de 3100 ha de maíz establecidas en el valle de Mochitlán, Guerrero, fueron afectadas por la enfermedad con pérdidas severas en el rendimiento de grano; en 2005, se reportó perdida total en 600 ha en el municipio de Tixtla, Guerrero, y para 2007, la enfermedad se presentó en más de 10 municipios de Guerrero (González *et al.*, 2008).

Respecto al manejo de la enfermedad, Ceballos y Deutsch (1992) encontraron resistencia a mancha asfalto atribuible a un gen dominante. El control químico con aspersiones preventivas o curativas han sido efectivas (Bajet *et al.*, 1994).

Por los severos daños a la producción de maíz en el estado de Guerrero, el objetivo de este trabajo fue determinar la etiología local de la mancha de asfalto, evaluar la tolerancia en genotipos de maíz adaptados a

lesiones, que son stromatic o smooth and shiny appearance, oval to circular in shape, with 0.5 to 2.0 mm diameter and forming striae of up to 10 mm in length (Parbery, 1967; Hamlin, 1999). A second fungus associated with the disease is *Monographella maydis* Müller & Samuels, which provokes lesions around those produced by *P. maydis*. At first an elliptic shaped halo is observed, light green and 1-4 mm in size, which later becomes necrotic and provokes the symptom known as fish eye. In young lesions it is common to find *Microdochium* sp, anamorph of *Monographella maydis*. In addition, *Coniothyrium phyllachorae* Maubl. can be observed in necrotic tissue (Müller and Samuels, 1984), which confers a slightly rough texture to the damaged tissue.

Under favorable environmental conditions, various of these species act sinergically, causing the tar spot complex syndrome (TSC). The foliage can become blighted in less than eight days, due to coalescence of lesions induced by the different fungi and attributed to the production of a toxin. Additional factors that favor the disease are: high humidity in the environment (10 to 20 cloudy days in the month), high levels of nitrogenized fertilization, two cycles of maize per year, susceptible genotypes, low luminosity, age of high vulnerability of the host, virulence of the pathogens involved and (Hock *et al.*, 1989).

Samplings made between 1985 and 1988 in México revealed high incidence and severe damage to maize in Jalisco, Michoacán, Hidalgo, Veracruz, Oaxaca and Chiapas, which affected approximately 500 000 ha of the crop and caused losses of as much as 50 % in infections prior to flowering (Hock *et al.*, 1989).

From 2001 to 2005, approximately 40 % of 3100 ha of maize established in the valley of Mochitlán, Guerrero, were affected by the disease, with severe losses in grain yield; in 2005, total loss was reported in 600 ha in the municipality of Tixtla, Guerrero, and for 2007, the disease appeared in more than 10 municipalities of Guerrero (González *et al.*, 2008).

With respect to the management of the disease, Ceballos and Deutsch (1992) found resistance to tar spot attributable to a dominant gene. In addition, chemical control with preventative or curative sprayings have been effective (Bajet *et al.*, 1994).

Because of the severe damages to maize production in the state of Guerrero, the objective of the present study was to determine the local etiology of tar spot complex, evaluate tolerance in maize genotypes adapted to the region and to determine the effectiveness of fungicides for controlling the disease.

la región y determinar la efectividad de fungicidas para el control de la enfermedad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Caracterización del área y colecta de material enfermo

El trabajo se realizó en el Valle de Mochitlán, Guerrero, ( $17^{\circ} 10'$  y  $17^{\circ} 30'$  N y los  $99^{\circ} 35'$  y  $99^{\circ} 14'$  O). El clima es cálido subhúmedo, temperatura y precipitación media anual de  $22^{\circ}$  C y 1100 mm. La orografía se integra por zonas accidentadas (60 %), semiplanas (25 %) y planas (15 %). La actividad agrícola se concentra en la zona semiplana y plana, donde el maíz es el principal cultivo (INEGI, 2002).

Con información de agricultores y técnicos, el 22 de septiembre de 2002, se ubicaron y visitaron 10 sitios de muestreo: cuatro parcelas de maíz sembradas con A-7573 (Asgrow), tres con DK-2002, una con DK-880 (Dekalb) y dos con VS-535 (INIFAP), con más de 3 km de distancia entre parcelas. Cada parcela se recorrió en zig-zag y cada 10 m se colectó la hoja que envuelve la mazorca, obteniéndose 20 muestras por sitio. Las muestras recolectadas se lavaron con agua destilada y conservaron en refrigeración a  $4^{\circ}$  C hasta a su análisis.

### Análisis de material enfermo y pruebas de patogenicidad

El material enfermo se examinó cuidadosamente con un microscopio estereoscópico (4X) y se realizaron cortes a mano de las estructuras estromáticas, se colocaron en KOH 3 % por 3 min, se montaron en portaobjetos con lactofenol adicionado con azul de algodón y se observaron con un microscopio de luz. Tejido enfermo se desinfestó por 60 s en hipoclorito de sodio 3 %, se lavó cinco veces en agua destilada y se secó en papel absorbente. Fragmentos de tejido del margen de lesiones jóvenes se colocaron en cajas Petri con medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) acidificado. Herramientas, medio de cultivo y espacio utilizados fueron esterilizados por métodos convencionales (Tuite, 1969). Las cajas se incubaron a  $22^{\circ}$  C y los hongos que crecieron se purificaron por punta de hifa y cultivos monospóricos. Adicionalmente, parte del tejido desinfectado en hipoclorito de sodio, se colocó en una cámara húmeda de cajas Petri, para inducir la esporulación.

Las pruebas de patogenicidad se condujeron en invernadero equipado con termostato: humedad superior a 70 %, temperaturas máximas de 30 y  $18 \pm 3^{\circ}$  C en el día y noche. Peritecios de *P. maydis* se colocaron en una película de agua destilada de un portaobjeto cóncavo y luego en cámara húmeda por 14 h; posteriormente se frotaron en la lámina foliar de plántulas de maíz, utilizando un pincel de cabello delgado a los 43 d después de la siembra (Parbery, 1963). De los cultivos de *Microdochium* y *Coniothyrium* en PDA se prepararon suspensiones individuales de cada hongo a una concentración de  $3 \times 10^4$  conidios mL<sup>-1</sup> las suspensiones se asperjaron de manera individual y mezcladas (2 mL de cada una) en la lámina foliar de seis plantas de VS535 (con alta susceptibilidad observada en campo) en etapa de seis hojas, y se cubrieron con bolsas de plástico durante 36 h.

## MATERIAL AND METHODS

### Characterization of the area and collection of diseased material

The work was carried out in the Valley of Mochitlán, Guerrero, ( $17^{\circ} 10'$  and  $17^{\circ} 30'$  N and  $99^{\circ} 35'$  and  $99^{\circ} 14'$  W). The climate is warm subhumid, with mean annual temperature and rainfall of  $22^{\circ}$  C and 1100 mm. The orography is integrated by accidented (60%), semilevel (25 %) and level (15 %) zones, where maize is the principal crop (INEGI, 2002).

With information of farmers and technicians, on September 22 of 2002, 10 sampling sites were located and visited; four plots of maize sown with A-7573 (Asgrow), 3 with DK-2002, one with DK-880 (Dekalb) and two with VS-535 (INIFAP), with more than 3 km distance between plots. Each plot was walked in zig-zag and every 10 m the leaf that envelops the ear was collected, obtaining 20 samples per site. The collected samples were washed with distilled water and kept in refrigeration at  $4^{\circ}$  C until analysis.

### Analysis of diseased material and pathogenicity tests

The diseased material was carefully examined with a stereoscopic microscope (4X), and manual sections were made from the stromatic structures and they were placed in KOH 3 % for 3 min, then mounted on slides with lactophenol added with cotton blue and observed with a light microscope. Diseased tissue was disinfested for 60 s in sodium hypochlorite 3 %, then rinsed five times in distilled water and dried in absorbant paper. Tissue fragments from the edge of young lesions were placed in Petri dishes with acidified Potato Dextrose Agar (PDA) culture medium. Tools, culture medium and space that were used were sterilized by conventional methods (Tuite, 1969). The dishes were incubated at  $22^{\circ}$  C and the fungi that grew were purified by hypha point and monosporic cultures. Additionally, part of the tissue disinfested in sodium hypochlorite was placed in Petri dishes in a humid chamber to induce sporulation.

The pathogenicity tests were conducted in a greenhouse equiped with a thermostat: humidity over 70 %, maximum temperatures of 30 and  $18 \pm 3^{\circ}$  C for day and night. Perithecia of *P. maydis* were placed in a film of distilled water on a concave slide, then placed in a humid chamber for 14 h. Next, it was applied on the foliar lamina of maize shoots, using a fine hair brush 43 d after sowing (Parbery, 1963). Individual suspensions of the cultures of *Microdochium* and *Coniothyrium* in PDA, were prepared at a concentration of  $3 \times 10^4$  conidia mL<sup>-1</sup>, they were leaf sprayed individually and mixed (2 mL each) on six plants of VS535 (with high susceptibility observed in the field) at the stage of six leaves and covered with plastic bags during 36 h.

### Evaluation of germplasm by tolerance

The tolerance to the pathogens associated with CMA was evaluated in 76 hybrids product of the crosses between 19 elite endogamic lines of the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales and Agropecuarias-Iguala (INIFAP-Iguala) and H-513, H-H-516 and

### Evaluación de germoplasma por tolerancia

La tolerancia a los patógenos asociados al CMA se evaluó en 76 híbridos producto de las cruzas entre 19 líneas endogámicas elite del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias-Iguala (INIFAP-Iguala) y el H-513, H-H-516 y Remaco 32 y 38 adaptados para el trópico húmedo, seco y subtropical. Los 76 híbridos experimentales más cinco comerciales se evaluaron en un diseño experimental látice triple  $9 \times 9$ . El experimento se realizó en la parcela de un agricultor de Mochitlán, Guerrero.

Otro ensayo consistió de 25 cultivares (cinco comerciales, seis sintéticos nuevos, dos tolerantes a sequía, cinco de calidad proteica, una población tropical, una población subtropical y cinco cultivares adaptados a la montaña), utilizando un diseño experimental lático triple  $5 \times 5$ . La parcela experimental consistió de un solo surco de 6.0 m de largo, 0.9 m de separación entre surcos, dos plantas cada 0.5 m y tres repeticiones. La siembra se realizó el 28 de junio del 2002.

El nivel de tolerancia de cada híbrido y cultivar a los organismos asociados al CMA se midió en campo mediante la escala descrita en el Cuadro 1, en epifitias que ocurrieron en forma natural. La primera evaluación se realizó a inicios de la floración, 60 d después de la siembra (dds) y la segunda en etapa de grano masoso (95 dds).

La severidad del daño aditivo por los hongos involucrados, se expresó como porcentaje del área total dañada de tres hojas; hoja envolvente de la mazorca y las dos hojas inferiores inmediatas a ella.

Durante la cosecha se registró el número de mazorcas con y sin daño indirecto por efecto de la enfermedad, en base a la experiencia de agricultores e investigadores, se reconoce por la apariencia deshidratada de los granos y la pérdida de peso de las mazorcas. El rendimiento de grano se ajustó a 15 % de humedad y se expresó en t  $\text{ha}^{-1}$ .

### Protección con fungicidas

En la misma fecha de siembra se estableció una parcela con semilla de la variedad sintética VS-535, de polinización libre y amplia aceptación por tamaño de mazorca, textura semidura y color blanco del grano (Gómez *et al.*, 1993). La parcela experimental fue de diez surcos de 10 m de largo, separación entre surcos de 0.9 m y 0.5 m entre matas. Cada mata tuvo dos plantas. Cuatro parcelas formaron un bloque. Por el número de tratamientos y pendiente unidireccional del terreno, el diseño experimental fue bloques al azar con tres repeticiones. La infección ocurrió de manera natural.

Los ingredientes activos y dosis (kg de i.a.  $\text{ha}^{-1}$ ) evaluados fueron: benomil (Benlate<sup>®</sup>) 50PH, 0.200; oxicloruro de cobre (Oximex<sup>®</sup>, 59PH), 0.350; sulfato de cobre pentahidratado (Comet<sup>®</sup>, 25.5 PH), 0.250, y testigo (sin fungicida). Cada producto fue suspendido en agua que contenía 0.02 % de Tween 80 (monoleato de sodio). La aspersión se realizó con una bomba de mochila accionada manualmente. La primera aplicación se hizo en prefloración (60 dds), y la siguiente en floración plena (75 dds).

**Cuadro 1. Escala de severidad de mancha de asfalto en maíz causada por *Phyllachora maydis* y *Monographella maydis*** (Ceballos y Deutsch, 1992; Hock *et al.*, 1995).

**Table 1. Severity scale of tar spot in maize caused by *Phyllachora maydis* and *Monographella maydis*** (Ceballos and Deutsch, 1992; Hock *et al.*, 1995).

Clase <sup>†</sup>	<i>P. maydis</i> (No. de lesiones)	<i>M. maydis</i> (% de área foliar enferma)
0	0 - 0.9	0 - 0.9
1	1 - 100	1.0 - 8.0
2	101 - 400	8.1 - 16.0
3	401 - 1000	16.1 - 24
4	1001 - 2700	24.1 - 32.0
5	2701 - 4000	32.1 - 40.0

<sup>†</sup> Cada clase se representó en un tercio del largo de la hoja, en su parte media.

Remaco 32 and 38 adapted for the humid tropic, dry and subtropic. The 76 experimental hybrids plus five commercial hybrids were evaluated in a  $9 \times 9$  triple lattice experimental design. The experiment was carried out in the plot of a farmer from Mochitlán, Guerrero.

Another test consisted of 25 cultivars (five commercial cultivars, six new synthetic cultivars, two tolerant to drought, five of proteic quality, one tropical population, one subtropical population and five cultivars adapted to mountains), using a  $5 \times 5$  triple lattice experimental design. The experimental plot consisted of a single row 6.0 m in length, 0.9 m of separation between rows, two plants every 0.5 m and three replicates. The sowing was made on June 28 of 2002.

The tolerance level of each hybrid and cultivar to the organisms associated with CMA was measured in the field with the scale described in Table 1, in epiphytes that occurred naturally. The first evaluation was made at the onset of flowering, 60 d after sowing (das) and the second in the stage of doughy grain (95 das).

Severity of additive damage from the fungi involved, was expressed as percentage of the total damaged area of three leaves; leaf enveloping the ear and the two leaves immediately below it.

During harvest, the number of ears was recorded with and without indirect damage from the disease, which based on the experience of farmers and investigators, is recognized by the dehydrated appearance of the grains and the weight loss of the ears. The grain yield was adjusted to 15% of moisture and was expressed in t  $\text{ha}^{-1}$ .

### Protection with fungicides

On the same date of sowing, a plot was established with seed of the synthetic variety VS-353, of free pollination and wide acceptance for the size of the ear, semidhard texture and white color of the grain (Gómez *et al.*, 1993). The experimental plot was of ten rows of 10 m in length, with a separation between rows of 0.9 m and 0.5 m between mounds. Each mound had two plants. Four plots formed one block. For the number of treatments and unidirectional slope of the terrain, the experimental design was of randomized blocks with three replicates. The infection occurred naturally.

El nivel de protección por la aplicación de fungicidas se evaluó en 10 plantas de cinco surcos centrales de la parcela, semejante al caso descrito anteriormente y de acuerdo a la escala del Cuadro 1. Se realizaron dos evaluaciones, una antes de la segunda aplicación de los fungicidas (75 dds) y la siguiente en estado masoso del grano, aproximadamente 95 dds (Bajet *et al.*, 1994).

A la cosecha se registró altura de planta (m), altura a inserción de mazorca (m), número de mazorcas en la parcela experimental con y sin daño por la enfermedad y rendimiento de grano (kg). El peso de grano se ajustó a 15 % de humedad y para expresarlo como rendimiento comercial ( $t\ ha^{-1}$ ), se eliminó un 20 % del rendimiento experimental. El análisis económico se realizó con la metodología propuesta por el CIMMYT (1988).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización del área y colecta de material enfermo

Con la valoración en campo y entrevista a productores de maíz del valle de Mochitlán, Guerrero, se estimó que aproximadamente 90 % de ellos utilizan semillas mejoradas, emplean maquinaria agrícola o tracción animal, aplican insecticidas en el control de plagas de la raíz y follaje, usan herbicidas y fertilizantes; también prefieren variedades de polinización libre e híbridos de porte mediano aceptables para comercializarse en elote con buen tamaño de mazorca, grano dulce y poca fibra. Esta área agrícola se localiza a 10 km de la ciudad de Chilpancingo y 100 km del puerto de Acapulco, situación estratégica que aprovechan los productores para comercializar su producto. En todos los sitios visitados, las hojas de maíz, incluso las que envolvieron la espiga, presentaron manchas oscuras de aspecto elevado, halo de forma elíptica, color verde claro, semejando un ojo de pescado; síntomas típicos asociados al CMA.

### Análisis de material enfermo

En las muestras de maíz con síntomas de mancha de asfalto se observaron estructuras correspondientes a los hongos *Phyllachora maydis* (Parbery, 1967), *Monographella maydis* y *Coniothyrium phyllachorae* Müller y Samuels (1984). Estos patógenos fueron reportados previamente por Hock *et al.* (1992) causando el CMA en otras regiones de México.

En tejido con lesiones jóvenes, se observaron picnidios con conidios septados que corresponden a *Microdochium maydis*, anamorfo de *Monographella maydis*. *C. phyllachorae* indujo lesiones necróticas en forma de cáncer. La acción conjunta de los tres hongos desarrolló el complejo mancha de asfalto.

The active ingredients and doses (kg of i.a.  $ha^{-1}$ ) evaluated were as follows: benomyl (Benlate<sup>®</sup>) 50 PH, 0.200; copper oxychloride (Oximet<sup>®</sup>, 59PH), 0.350; pentahydrated copper sulphate (Comet<sup>®</sup>, 25.5 PH), 0.250, and control (without fungicide). Each product was suspended in water containing 0.02 % Tween 80 (sodium monoleate). The spraying was made with a manually operated portable pump. The first application was made in preflowering (60 das), and the next was made during flowering (75 das).

The protection level from the application of fungicides was evaluated in 10 plants of five central rows of the plot, similar to the case described above and according to the scale of Table 1. Two evaluations were made, one prior to the second application of the fungicides (75 das) and the next in the doughy stage of the grain, approximately 95 das (Bajet *et al.*, 1994).

Plant height (m) was recorded at harvest, height at the insertion of the ear (m), number of ears in the experimental plot with and without damage from the disease and grain yield (kg). The grain weight was adjusted to 15 % of moisture and to express it as commercial yield ( $t\ ha^{-1}$ ), 20 % of the experimental yield was eliminated. The economic analysis was made with the methodology proposed by CIMMYT (1988).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Characterization of the area and collection of the diseased material

With the field valuation and interview of maize producers of the valley of Mochitlán, Guerrero, it was estimated that approximately 90 % of the producers use improved seeds, use agricultural machinery or animal traction, apply insecticides in the control of pests of root and foliage, and use herbicides and fertilizers; they also prefer varieties of free pollination and medium sized hybrids acceptable for the commercialization of ear of a good size, sweet grain and little fiber. This agricultural area is located 10 km from the city of Chilpancingo and 100 km from the port of Acapulco, a strategic location taken advantage of by the producers to commercialize their product. In all of the sites visited, the maize leaves, even those enveloping the ear, presented dark raised spots, an elyptical shaped halo, light green color, resembling a fish eye; typical symptoms associated with CMA.

### Analysis of diseased material

In the maize samples with symptoms of tar spot, structures were observed corresponding to the fungi *Phyllachora maydis* (Parbery, 1967), *Monographella maydis* and *Coniothyrium phyllachorae* Müller and Samuels (1984). These pathogens were previously reported by Hock *et al.* (1995) causing CMA in other regions of México.

En muestras provenientes de los Municipios de Teloloapan y Taxco, Guerrero, *Phyllachora maydis* se asoció con una alta incidencia de *Coniothyrium phyllachorae*, pero baja frecuencia de *Monographella maydis*, siendo poco evidente el síntoma ojo de pescado; la superficie enferma de la hoja fue de aspecto rugoso.

### Evaluación de germoplasma

Todos los materiales evaluados manifestaron la enfermedad en un 100 % de incidencia, pero con diferente severidad (Cuadro 2). Fue notable que esta respuesta diferencial se debiera principalmente al nivel de tolerancia de los materiales, puesto que hubo homogeneidad en la fecha de siembra, fertilización, labores culturales, agroquímicos aplicados y manejo. De los 81 híbridos, sólo tres (H-513×CML47, HEIi×H-H-513, H-513×CM374) se agruparon en la clase 1 de la escala. Estadísticamente, estos tres genotipos formaron parte de los 22 híbridos con mayor tolerancia. Este

In tissue with young lesions, pycnidia were observed with septated conidia which correspond to *Microdochium maydis*, anamorph of *Monographella maydis*. *C. phyllachorae*, induced necrotic lesions in the form of chancre. The joint action of the three fungi developed the tar spot complex.

In samples from the municipalities of Teloloapan and Taxco, Guerrero, *Phyllachora maydis* was associated with a high incidence of *Coniothyrium phyllachorae*, but low frequency of *Monographella maydis*, with little evidence of the fish eye symptom; the diseased surface of the leaf was of rough appearance.

### Evaluation of germplasm

All of the materials evaluated manifested the disease in 100 % incidence, but with different severity (Table 2). It was notable that this differential response was mainly due to the tolerance level of the materials, given that there was homogeneity in the date of sowing, fertilization, cultural tasks, agrochemicals applied and

**Cuadro 2. Híbridos tropicales y subtropicales sobresalientes en tolerancia al complejo mancha de asfalto en Mochitlán, Guerrero, durante el ciclo agrícola primavera-verano 2002.**

**Table 2. Tropical and subtropical hybrids outstanding in tolerance to the tar spot complex in Mochitlán, Guerrero, during the spring-summer agricultural cycle 2002.**

Genealogía	Severidad (%)	Número de mazorcas			Rendimiento (ton ha <sup>-1</sup> )
		Total	dañadas <sup>†</sup>	daño(%) <sup>‡</sup>	
H-513 × CML 47	7.29 a <sup>§</sup>	16.0 a	1.52 ab	8.96 a	5.541 c
HEIi × H-H-513	7.35 ab	20.6 b	1.40 ab	6.91 a	6.335 b
H-513 × CM 374	7.95 abc	20.0 a	1.81 ab	8.41 a	7.474 ab
HEIi × CO2314	8.18 abcd	24.6 c	1.17 ab	1.17 a	7.319 ab
H-513 × B43	8.96 abcde	21.0 b	2.01 ab	9.24 a	6.736 b
H-513 × 2186	9.02 abcdef	21.3 b	1.46 ab	7.14 a	6.526 b
H-513 × T12RC	9.62 abcdefg	17.3 a	1.02 ab	5.79 a	7.805 ab
H-513 × T37	9.66 abcdefg	21.6 b	2.6 ab	11.98 a	7.342 ab
H-513 × T39	9.87 abcdefg	20.6 b	1.23 ab	5.47 a	7.296 ab
HEIi × T43	9.87 abcdefg	18.0 a	0.01 a	1.48 a	5.028 c
CML311×CML269×H-513	9.95 abcdefg	19.0 a	1.07 ab	4.84 a	7.564 ab
H-513 × CML311	10.64 abcdefg	21.0 b	0.63 ab	3.46 a	7.771 ab
CML142×CML150XCML 176	11.56 abcdefg	22.6 b	1.93 ab	8.34 a	5.347 c
H-513 × ST30	11.94 abcdefg	21.3 b	1.30 ab	5.69 a	7.585 ab
HEIi × T12	13.00 abcdefg	22.0 b	6.43 c	29.82 c	6.267 ab
H-513 × ST-549	13.18 abcdefg	23.0 b	0.54 ab	2.44 a	8.144 ab
H-513 × TTC63	13.57 abcdefg	21.3 b	3.38 b	16.01 a	6.88 ab
H-513 × HUIT	13.73 cdefg	18.0 a	1.78 ab	10.47 a	6.549 ab
RCO38 × CML311	14.33 defg	21.6 b	1.53 ab	7.23 a	6.88 ab
H-513 × D471	15.17 efg	21.6 b	1.21 ab	5.03 a	7.51 ab
RCO38 × HEI <sup>4</sup>	19.89 fg	17.0 a	1.90 a	12.82 a	8.241 a
H-513 × CML258	15.35 g	20.6 b	2.54 ab	11.61 a	6.84 ab
DMS	6.28	4.37	2.94	13.79	1.432
Promedio	2.81	21.15	3.13	14.70	5.997
C.V.	16.4	12.8	5.5	13.1	13.9

<sup>†</sup> Mazorcas con grano de apariencia deshidratada y bajo de peso.

<sup>‡</sup> Número de mazorcas dañadas entre total de mazorcas de la parcela.

<sup>§</sup> Promedios con la misma letra diferente significativamente (Tukey, p≤0.05).

resultado indicó suficiente inóculo en el sitio y descartó la posibilidad de escape a la infección. Por consiguiente, resultaron consistentes los atributos de tolerancia en el probador H-513 (cruza doble obtenida en el INIFAP-campo Cotaxtla, Veracruz y que se adapta a condiciones ambientales de alta humedad), pues genotipos con su descendencia representaron el 77 % de los 22 mejores genotipos con tolerancia a patógenos de la mancha de asfalto.

En rendimiento, destacaron los híbridos experimentales RCO38×HEI<sub>4</sub> y H-513×ST-549 con 8.2 y 8.1 t ha<sup>-1</sup> a un nivel de 19.89 y 13.18 % de severidad. Estos materiales mostraron vigor, sin acame, mazorcas de buen tamaño y buena cobertura.

Las variedades fluctuaron de moderada a muy susceptible (Clase 3 a 5 de la escala), pero fue relevante el comportamiento productivo, pues 72 % de éstas superaron las 4.0 tn ha<sup>-1</sup> de grano. Inclusive algunas tuvieron alto rendimiento, como fueron Sintético Dialélico 6, Sintético Dialélico 5 y VS-535 (Testigo) con 7.089, 6.380 y 6.248 t ha<sup>-1</sup> (Cuadro 3).

La correlación severidad del CMA con rendimiento de grano ( $p \leq 0.05$ ) resultó negativa y con valor relativamente bajo ( $R = -0.626$ ). Desarrollando el modelo  $y = a + bx$ , se tuvo que por cada 8 % de incremento en la severidad de la enfermedad, el rendimiento

management. Of the 81 hybrids, only three (H-513×CML47, HEIi×H-H-513, H-513×CM374) were grouped in class 1 of the scale. Statistically, these three genotypes formed part of the 22 hybrids with highest tolerance. This result indicated sufficient inoculum in the site and discarded the possibility of escape from the infection. Consequently, the attributes of tolerance were consistent in the tester H-513 (double cross obtained in INIFAP-campo Cotaxtla, Veracruz and which adapts to environmental conditions of high humidity), as genotypes with its descendence represented 77 % of the 22 best genotypes with tolerance to pathogens of the tar spot complex.

In yield, the experimental hybrids RC038×HEI and H-513×ST-549 were outstanding with 8.2 and 8.1 t ha<sup>-1</sup> at a level of 19.89 and 13.18 % of severity. These materials showed vigor, without flattening, good size ears and good cover.

The varieties fluctuated from moderate to very susceptible (class 3 to 5 on the scale), but the productive behavior was relevant, given that 72% of these surpassed 4.0 t ha<sup>-1</sup> of grain. Some even had high yield, such as Sintético Dialélico 6, Sintético Dialélico 5 and VS-535 (Control) with 7.089, 6.380 and 6.248 t ha<sup>-1</sup> (Table 3).

The correlation severity of CMA with grain yield ( $p \leq 0.05$ ) was negative and with relatively low value

**Cuadro 3. Comportamiento de variedades de maíz al complejo mancha de asfalto en Mochitlán, Guerrero, durante el ciclo agrícola primavera-verano 2002.**

**Table 3. Behavior of varieties of maize to the tar spot complex in Mochitlán, Guerrero, during the spring-summer agricultural cycle of 2002.**

Variedad	Severidad (%)	Mazorcas dañadas (%) <sup>†</sup>	Rendimiento (kg ha <sup>-1</sup> )
Sintético Dial. 6	23.0 a <sup>‡</sup>	5.1 abcdefgh	7.089 a
VS-536	23.2 ab	11.2 abcdefgh	5.321 defghi
Sintético Trop. Op	24.8 abc	5.8 abcdefgh	5.174 defghi
Sintético A	25.6 abcd	14.6 bcdefgh	5.735 cdefghi
Sintético Dial. 3	28.0 abcde	11.0 abcdefgh	5.745 cdefghi
VS-535 (T)	29.6 abcdef	9.9 abcdefghi	6.248 bcdefghi
Sintético Dial. 5	32.0 abcdefg	11.2 abcdefghi	6.380 bcdefghi
Sintético Dial. 7	33.2 bcdefg	20.8 efghi	5.395 defghi
V-538 C	33.6 cdefg	3.7 abcdefg	5.114 fghi
V-537C	33.9 cefg	42.3 j	4.288 k
V-538C	35.4 cefg	22.6 ghi	4.225 k
H-559C	36.0 efg	19.5 dfghi	4.825 ghik
HV-521C	36.3 efg	24.8 hi	4.805 ghik
V - 531	36.8 efg	22.6 ghi	5.321 defghi
H-558C	37.6 efg	13.9 abcdefghi	5.748 cdefghi
V - 537 C	38.2 fg	21.0 efghi	5.404 defghi
PET	38.4 fg	21.1 efghi	5.239 efghi
V1	40.0 g	23.7 ghi	5.176
DMS	9.6	10.3	0.620
PROMEDIO	32.4	17.3	5.161
C.V.	16.0	3.6	7.3

<sup>†</sup> Mazorcas con grano de apariencia deshidratada y bajo de peso.

<sup>‡</sup> Promedios con la misma letra diferente significativamente (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

disminuyó 0.626 t ha<sup>-1</sup>. Asimismo, la correlación severidad con número de mazorcas dañadas ( $p \leq 0.05$ ) resultó positiva pero también con un valor bajo ( $R=0.51$ ).

### Protección con fungicidas

Los fungicidas ejercieron diferente efecto sobre el CMA (Cuadro 4). los productos a base de cobre provocaron toxicidad y fueron superados por el testigo en 15.2 y 19.4 % en rendimiento de grano. Benomil ejerció excelente control del CMA, registró el porcentaje más bajo en mazorcas dañadas (6.2%) y superó 55.1 % en rendimiento al testigo.

Para el análisis económico se contaron elotes de calidad comercial en 100 plantas de cada repetición. El parámetro calidad fue más alto en Benomil (80 %) seguido del testigo (64 %), oxicloruro de cobre (52 %) y cobre pentahidratado (49 %). El precio de venta en dólares fue de \$ 7.27 por doce docenas.

Al comercializar la producción de grano, la utilidad fue de US \$ 64.84 en el testigo y de US \$ 359.96 con aplicación de benomil, utilidad 5.4 veces más alta con aplicación de benomil. Al comercializar la producción en elote, la utilidad fue de US \$ 359.96 en el testigo y de US \$ 784.32 en el tratamiento con benomil, es decir, 2.2 veces más alta.

### CONCLUSIONES

Se confirmó la presencia de *Phyllachora maydis* Maubl., *Monographella maydis* Muller y Samuels, y *Coniothyrium phyllachorae* Maubl., en mancha de asfalto del maíz en el estado de Guerrero.

El germoplasma evaluado presentó diferentes niveles de tolerancia; los híbridos H-513×CML47, HEIi×H-H-513 y H-513×CM374 tuvieron el nivel más alto con 7.29, 7.35 y 7.95 % de severidad.

**Cuadro 4. Efecto de fungicidas sobre el complejo mancha de asfalto en maíz VS-535 en Mochitlán, Guerrero.**  
**Table 4. Effect of fungicides on the tar spot complex in maize VS-535 in Mochitlán, Guerrero.**

Fungicida	Rendimiento Med. (tonha <sup>-1</sup> ) <sup>†</sup>	Altura de planta (m)	Mazorcas dañadas (%) <sup>‡</sup>	Severidad (%)	Elotes (%) <sup>§</sup>
Benomil	4.741 a	2.49 a	6.2 b	9.5 b	80 a
Ox. cobre	2.593 b	2.30 c	49.2 a	37.0 a	62 b
Sulfato cu	2.463 b	2.43 ab	53.9 a	35.6 a	49 c
Testigo	3.056 b	2.50 a	60.9 a	35.8 a	64 b
DMS	1.451	0.1271	27.59	1.81	11.4
Promedio	3.114	2.41	42.90	31.03	63.75
C.V.	16.52	1.87	22.79	5.0	9.2

<sup>†</sup> Al rendimiento experimental se restó un 20% para rendimiento comercial.

<sup>‡</sup> Mazorcas dañadas entre el total de mazorcas de la parcela.

<sup>§</sup> Elotes calidad comercial (%).

( $R=-0.626$ ). Developing the model  $y=a+bx$ , it was obtained that for each 8 % of increment in the severity of the disease, the yield decreased 0.626 t ha<sup>-1</sup>. In addition, the correlation severity with number of damaged ears ( $p \leq 0.05$ ) was positive but also with a low value  $R=0.51$ .

### Protection with fungicides

The fungicides had a different effect on CMA (Table 4), the copper based products provoked toxicity and were surpassed by the control in 15.2 and 19.4 % in grain yield. Benomyl demonstrated excellent control of CMA, and registered the lowest percentage in damaged ears (6.2%) and surpassed the control 55.1 % in yield.

For the economic analysis, ears of commercial quality were counted in 100 plants of each replicate. The quality parameter was highest in Benomyl (80 %) followed by the control (64 %), copper oxychloride (52 %) and copper pentahydrate (49 %). The sale price in dollars was \$7.27 per twelve dozen.

When commercializing grain production, the utility was US \$ 64.84 in the control and US \$ 359.96 with the application of benomyl, utility 5.4 times higher with the application of benomyl. When the production of ears was commercialized, utility was US \$ 359.96 in the control and US \$ 784.32 in the treatment with benomyl, that is, 2.2 times higher.

### CONCLUSIONES

The presence of *Phyllachora maydis* Maubl., *Monographella maydis* Müller and Samuels, and *Coniothyrium phyllachorae* Maubl. was confirmed, in tar spot complex in maize in the state of Guerrero.

The germplasm evaluated presented different levels of tolerance; the hybrids H-513×CML47, HEIi×H-H-513 and H-513×CM374 had the highest level with 7.29, 7.35 and 7.95 % severity.

El progenitor H-513 fue consistente en sus atributos de tolerancia, ya que su progenie representó 77 % de los 22 genotipos más tolerantes con buen potencial productivo y características agronómicas.

Los híbridos experimentales del INIFAP RCO38×HEI<sub>4</sub> y H-513×ST-549 tuvieron el mayor rendimiento de grano con 8.2 y 8.1 t ha<sup>-1</sup>, pero con 19.89 y 13.18 % de daño.

Dos aplicaciones de Benomil en dosis de 0.2 kg ha<sup>-1</sup>, aportaron una relación costo-beneficio de 1:5.4 con y sin la aplicación del fungicida. La comercialización en elote resultó más rentable.

## LITERATURA CITADA

- Bajet, B. N., B. L. Renfro, and C. J. Valdés. 1994. Control of tar spot of maize and its effect on yield. Int. J. Pest Manag. 40: 121-125.
- Ceballos, H., and J. A. Deutsch. 1992. Inheritance of resistance to tar spot complex in maize. Phytopathology 82: 505-512.
- CIMMYT Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y trigo. 1988. La formulación de recomendaciones a partir de datos agronómicos: Un manual metodológico de evaluación económica. México, D. F. 79 p.
- Gómez, M. N., J. C. Cañedo, M. A. Cantú, y R. S. Cruzaley. 1993. VS-535, nueva variedad sintética de maíz para regiones cálidas de Guerrero y áreas similares. INIFAP. Folleto Técnico 3. Iguala, Guerrero, México. 12 p.
- González, C. M., M. N. Gómez, H.J. Pereyda y E. J. Muñiz. 2008. Obtención de híbridos de maíz elotero tolerantes al complejo mancha de asfalto en el estado de Guerrero. INIFAP. Folleto técnico 17. Iguala, Guerrero, México. 27 p.
- Hamlin, R.T. 1999. Combined Keys to Illustrated Genera of Ascomycetes. Vol. I y II. APS Press. St. Paul. Minnesota. pp: 63-64.
- Hock, J., J. Kranz, y B. L. Renfro. 1989. El "complejo mancha de asfalto" de maíz, su distribución geográfica, requisitos ambientales e importancia económica en México. Rev. Mex. Fitopatol. 7: 129-135.
- The parent H-513 was consistent in its attributes of tolerance, given that its progeny represented 77 % of the 22 most tolerant genotypes with good productive potential and agronomic characteristics.
- The experimental hybrids of the INIFAP RCO38×HEI<sub>4</sub> and H-513×ST-549 had the highest grain yield with 8.2 and 8.1 t ha<sup>-1</sup>, but with 19.89 and 13.18 % damage.
- Two applications of Benomyl in doses of 0.2 kg ha<sup>-1</sup>, supplied a cost-benefit relationship of 1:5.4 with and without the application of the fungicide. The commercialization in ear resulted more profitable.
- End of the English version—
- \*—\*—\*
- Hock, J., U. Dittrich, B. Renfro, and J. Kranz. 1992. Sequential development of pathogens in the maize tarspot disease complex. Mycopathologia 117: 157-161.
- Hock, J., J. Kranz, and B.L. Renfro. 1995. Studies on the epidemiology of the tar spot disease complex of maize in México. Plant Pathol. 44: 440-502.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía e Informática). 2002. Cuadernos de información para la planeación. México. Tomo I. p: 5.
- Müller, E., and J. G. Samuels. 1984. *Monographella maydis*: sp.nov. and its connection to the tar-spot disease of *Zea mays*. Nova Hedwigia 40: 113-121.
- Maublanc, A. 1904. Espèces nouvelles de Champignons inferius. Bull. Soc. Myc. Fr. 20: 72.
- Parbery, D. G. 1963. Studies on graminicolous species of *Phyllachora* Fckl. I. Ascospores, their liberation and germination. Aust. J. Bot. 11: 117-130.
- Parbery, D. G. 1967. Studies on graminicolous species of *Phyllachora* Nke. Aust. J. Bot. 15: 271-375.
- Tuite, J. 1969. Plant Pathological Methods. Burgess Publishing. Co. Minneapolis, Minnesota. 239 p.