

El carbón de la espiga del maíz causado por *Sphacelotheca reiliana* (J. G. Kühn) G. P. Clinton en Cuba

Head smut of maize caused by *Sphacelotheca reiliana* (J. G. Kühn) G. P. Clinton in Cuba

Einar Martínez de la Parte¹, Dayanis Wilson Bott², María Elena Lorenzo³, Dalgis Guerrero Barriel⁴, Dariel García Rodríguez⁵, Giselle Rodríguez Gutiérrez⁶, Perla Sierra Ricabal³ y Yamilet Gómez León⁷

¹ Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5ta. B y 5ta. F, Playa, La Habana, C.P. 11600, emartinez@inisav.cu.

² Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Guantánamo.

³ Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera a Palmira Km 4, Cienfuegos.

⁴ Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera Siboney Km 6, Ternerito Lindo, Santiago de Cuba.

⁵ Centro Nacional de Sanidad Vegetal. Laboratorio Central de Cuarentena Vegetal. Ayuntamiento 231 e/ San Pedro y Lombillo, Plaza de la Revolución, La Habana.

⁶ Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Genaro Rojas 86 e/ Marcelino Diéguez y Antonio Barrera, Las Tunas.

⁷ Laboratorio Provincial Sanidad Vegetal. Carretera del Jíbaro Km 2,5, Sancti Spiritus.

RESUMEN

En los últimos años, el cultivo del maíz ha ganado importancia en Cuba las áreas sembradas con este cereal se han incrementado considerablemente, pasando de 74 604 ha en 1990 a 185 922 en 2014. En varios campos de maíz de diferentes provincias del país se detectaron plantas con la inflorescencia masculina deformada, con presencia de soros de carbón y/o filodia en la espiga y mazorcas. Las plantas con estos síntomas se presentaron con una baja frecuencia y se encontraron de manera esporádica en los campos. El objetivo del presente trabajo fue identificar el agente causal de esta sintomatología. Se caracterizaron morfológicamente los diferentes aislados de carbón. En las plantas que presentaron filodia, se realizaron decoloraciones del tejido foliar para descartar la presencia en las mismas de *Sclerophthora macrospora*. Las características morfológicas del carbón detectado en las muestras corresponde con las descritas para *Sphacelotheca reiliana*. Esta especie fue detectada en ocho provincias del país en las variedades canilla, FR-28, tusón, TGH, P-7928 y en el híbrido HDT-66. En ninguna de las muestras analizadas se detectaron ni oosporas ni micelio de *S. macrospora*. El presente trabajo constituye el primer informe para Cuba del carbón de la espiga del maíz causado por *S. reiliana*.

Palabras claves: *Sporisorium reilianum*, *Microbotryaceae*, *Zea mays*.

ABSTRACT

In Cuba, during last years maize have been gained in importance, cropped areas with this cereal have been increased from 74 604 ha in 1990 to 185 922 ha in 2014. In several maize fields from different provinces, plants with deformed male inflorescence, with smut sori and or phyllody on inflorescence and ears, were detected. Symptomatic plants were present with a low frequency in the fields and were found sporadically. Identification of the the causal agent of this symptomatology was the aim of this work. Smut isolates were morphologically characterized. Foliar tissue from plants with phyllody, were decolorized to dismiss *Sclerophthora macrospora* presence on its. Morphological characteristics of smut isolates agree with those reported for *Sphacelotheca reiliana*. This specie was detected in eighth provinces on canilla, FR-28, tusón, TGH, P-7928 varieties and on hybrid HDT-66. This work is the first report of maize head smut caused by *S. reiliana* in Cuba. Neither, *S. macrospora* mycelia and oospores, were not detected on any of analyzed samples.

Key words: *Sporisorium reilianum*, *Microbotryaceae*, *Zea mays*.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.), después de la caña (*Saccharum officinarum* L.) y el arroz (*Oryza sativa* L.), es la gramínea más importante que se cultiva en Cuba,

siendo aprovechada en el consumo humano de diversas formas y en la alimentación animal para la elaboración de pienso (Zayas-Valdés y González, 2013). En

Recibido: 5/10/2015

Aceptado: 10/12/2015

los últimos años las áreas sembradas con este cereal se han incrementado considerablemente, pasando de 74 604 ha en 1990 a 185 922 en el 2014 (FAO, 2015).

A pesar de estos incrementos en las áreas de siembra, las necesidades internas de maíz no se satisfacen con las producciones nacionales, por lo que es imprescindible importar grandes volúmenes del grano para satisfacer la demanda. Una de las razones por la que en este cultivo los rendimientos son bajos y los costos de producción son altos, es por la elevada incidencia de organismos fitopatógenos en el mismo.

Recientemente, en varios campos de maíz de diferentes provincias del país se detectaron plantas con la inflorescencia masculina (espiga o panoja) deformada, con presencia de soros de carbón y/o filodia. Las mazorcas de estas plantas estaban deformadas, sin granos; consistían en una masa de esporas de color pardo oscuro a negro y en algunos casos no se formaron, y en su lugar se encontró la proliferación de estructuras foliares. El objetivo del presente trabajo fue identificar el agente causal de esta sintomatología.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se muestrearon campos de maíz en busca de la sintomatología descrita. Las muestras colectadas (plantas con espiga y/o mazorca deformada, presencia de filodia) se trasladaron al laboratorio, donde fueron inspeccionadas visualmente y se pudo constatar que presentaban soros de un carbón. A partir de estos se realizaron preparaciones fijas en lactofenol + azul algodón (Merck Millipore). Se caracterizaron morfológicamente los diferentes aislados.

La germinación de las teliosporas del carbón se realizó a partir de una suspensión de las mismas en agua destilada estéril y se sembraron en placas con agar papa dextrosa (PDA, 34 g/L, BIOCEN). Posteriormente fueron observadas al microscopio óptico y se midieron los metabasidios y esporidios.

Para la identificación de la especie de carbón se siguieron los criterios taxonómicos descritos por Ainsworth (1965a) y McGee (1988).

Sclerophthora macrospora (Sacc.) Thirum., C.G. Shaw & Naras (patógeno del grupo A1 de la Lista de Plagas Cuarentenarias del país) es el agente causal de la cabeza loca del maíz, enfermedad que también provoca

deformaciones en la espiga del maíz y filodia. A partir de las muestras que presentaban filodia, y para descartar la presencia de este patógeno cuarentenario, se observaron las hojas bajo el estereomicroscopio y se realizaron decoloraciones del tejido foliar en busca de oosporas y micelio de este oomycete.

A partir de las hojas, y con ayuda de un bisturí, se seccionaron fragmentos (1,5 cm x 1,5 cm, aproximadamente) para ser decolorados. Para esto se emplearon dos métodos de decoloración:

1. Los fragmentos de hojas fueron sumergidos en una solución de NaOH 5 % por 4 h e incubados a temperatura ambiente; posteriormente fueron lavados con agua destilada y montados en portaobjetos con lactofenol + azul algodón (Merck Millipore).
2. Los fragmentos de hojas fueron colocados en un tubo con lactofenol, el cual fue calentado (60 °C) por 10 min en baño de María y posteriormente fueron montados en portaobjetos con con lactofenol + azul algodón.

Todas las preparaciones fueron observadas bajo el microscopio óptico Axioskop-40 (Carl Zeiss).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Descripción de los síntomas y signos

Las plantas afectadas presentaban espigas deformadas, con presencia de soros de carbón y con filodia (*Fig. 1*). En algunas plantas las inflorescencias estaban completamente destruidas y cubiertas con masas de esporas, y en otras solo flores individuales estaban infectadas (*Fig. 1A* y *B*); algunas de ellas presentaban un exceso de crecimiento con presencia de filodia en las mismas (*Fig. 1C*). La abundancia de filodia variaba entre las muestras. Esta se presentó en la espiga (*Fig. 1B*), y en algunas plantas estas estructuras sustituyeron la mazorca (*Fig. 1D, E* y *F*). De igual forma, en aquellas plantas con síntomas en las cuales las mazorcas fueron afectadas, se observó que estas eran de forma redondeadas, faltas de estilos y rellenas con una masa de esporas negras que en su interior presentaba una masa enredada de filamentos vasculares.

Las plantas con estos síntomas se presentaron con una baja frecuencia (aproximadamente el 5 % de las plantas del campo), se encontraron de manera esporádica y distribuidas fundamentalmente en los surcos externos de los campos de maíz.

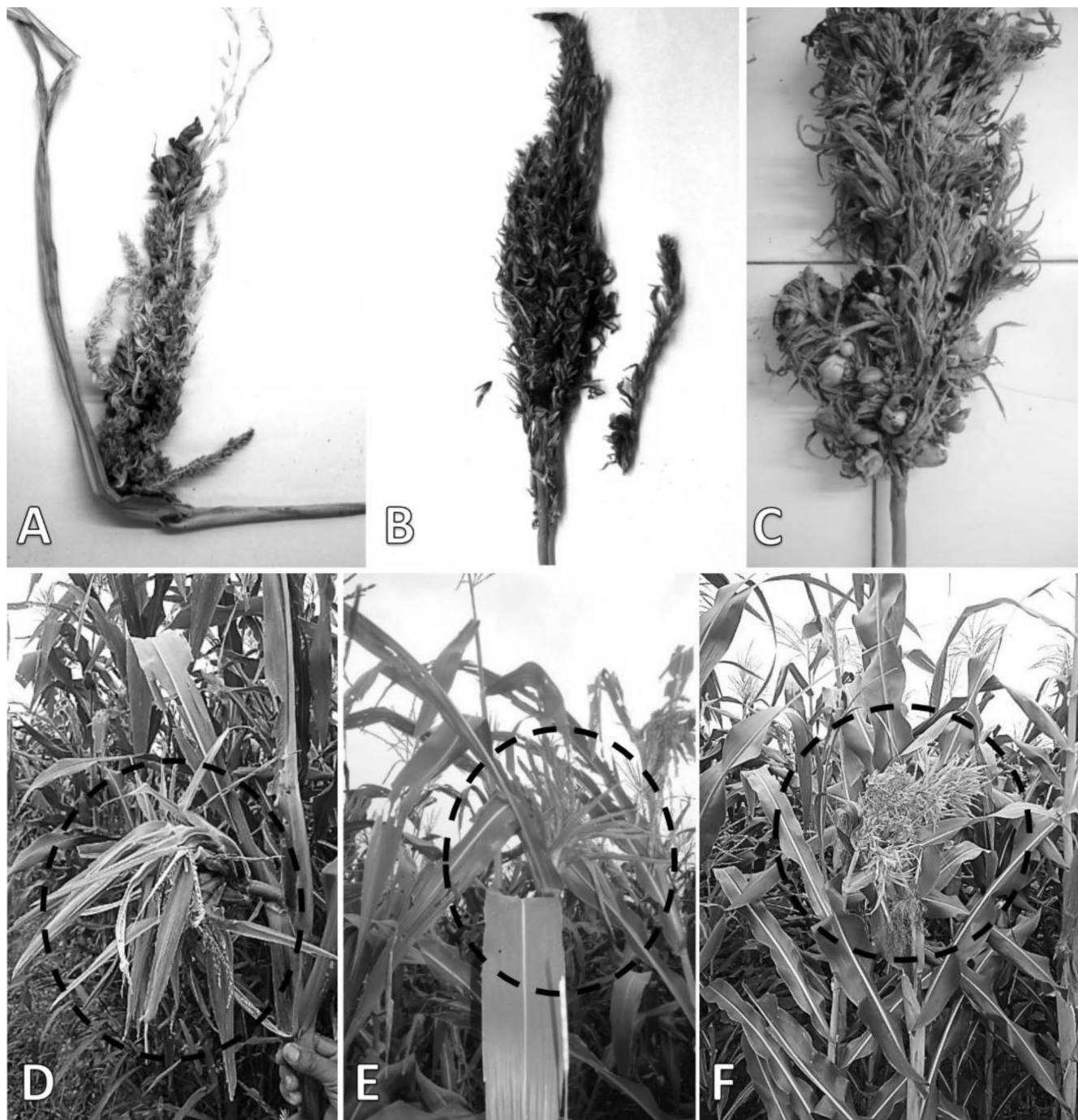


Figura 1. Síntomas del carbón de la espiga del maíz. A, B y C: soros en inflorescencia masculina; C: espiga con exceso de crecimiento, soros del carbón y filodia; D, E y F: Filodia. / Symptoms of Head smut of maize. A, B and C: sorus on male inflorescence; C: overgrowing male inflorescence with sorus and phylody; D, E and F: Philody.

Identificación de la especie de carbón

Los soros del carbón estaban cubiertos por una membrana (peridio) de color gris, que rápidamente se desintegraba, liberando masas de esporas de color pardo oscuro a negro.

El examen microscópico de las preparaciones realizadas a partir de los soros del carbón reveló la presencia

de teliosporas globosas a subglobosas, de color pardo rojizo oscuro, abundantemente equinuladas, con una longitud de 9-14 μm x 10-13 μm (Fig. 2A).

En placas con PDA, estas teliosporas germinaron y formaron metabasidios con esporidios laterales, los cuales eran pequeños, de una sola célula, hialinos, con una longitud de 7-15 μm (Fig. 2B).

Estas características morfológicas y la sintomatología observada coinciden con las descritas para *Sphacelotheca reiliana* (J. G. Kühn) G. P. Clinton (sin. *Sporisorium reilianum* f. sp. *zeae* (J. G. Kühn) Langdon & Fullerton), agente causal del carbón de la espiga o de la cabeza del maíz (Shurtleff, 1986).

La presencia de *S. reiliana* fue confirmada en las provincias de Mayabeque, Cienfuegos, Sancti Spíritus, Camagüey, Las Tunas, Holguín, Santiago de Cuba y Guantánamo, en las variedades canilla, criollo, FR-28, tusón, TGH, P-7928 y en el híbrido HDT-66 (Tabla 1).

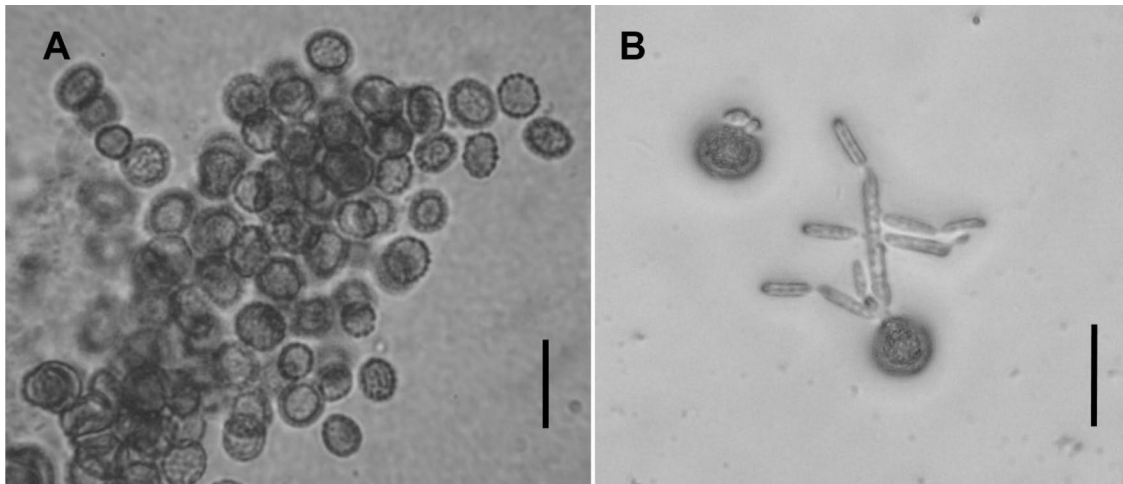


Figura 2. *Sphacelotheca reiliana*. A: masa de teliosporas (barra = 30 µm) y B: Teliosporas germinadas con metabasidios y esporidios (barra = 20 µm). / *Sphacelotheca reiliana*. A: teliospores mass (bar = 30 µm) and B: germinated teliospore with metabasidia and sporidia (bar = 20 µm).

Tabla 1. Variedades de maíz afectadas por el carbón de la espiga en los diferentes municipios / Corn varieties affected by head smut in different municipalities

Provincia	Municipio	Variedad de maíz
Mayabeque	Batabanó	Criollo
Cienfuegos	Abreus	HDT-66, TGH
	Cienfuegos	P-7928, TGH
	Cumanayagua	TGH
Sancti Spiritus	Fomento	Criollo
	La Sierpe	Canilla
	Trinidad	FR-28
	Yaguajay	Canilla
Camagüey	Vertientes	Criollo
Holguín	Mayarí	Tusón
Las Tunas	Las Tunas	TGH
	Jobabo	Canilla, Tusón
	Manatí	Tusón, TGH
	Puerto Padre	TGH
	Jesús Menéndez	Tusón, TGH
Santiago de Cuba	Mella	Tusón
	Palma Soriano	Tusón
	San Luis	Tusón
	Songo-La Maya	Tusón
Guantánamo	El Salvador	Tusón
	Guantánamo	Tusón
	Manuel Tames	Tusón

En el país existe otra especie de carbón, *Ustilago maydis* (DC.) Corda, conocido como carbón común del maíz, que presenta una amplia distribución y cuyos síntomas son similares a los causados por *S. reiliana*. A pesar de su similitud, ambos patógenos y sus sintomatologías pueden diferenciarse debido a que los soros de *U. maydis*, los cuales pueden estar presentes en todas las partes aéreas de la plantas de maíz, son mucho más grandes que los de *S. reiliana* (8-10 cm x 2,5-3,0 cm) y pueden alcanzar los 15 cm de longitud (Ainsworth, 1965a; 1965b). Los soros del carbón común también pueden estar presentes en las hojas en forma de pequeñas protuberancias. Esta sintomatología no se encuentra (o aparece muy raramente) en aquellas plantas afectadas por el carbón de la espiga (EPPO, 1999). Por otra parte, el carbón común puede aparecer en la totalidad de la mazorca o solo en la punta de esta afectando algunos granos, mientras que en el carbón de la espiga no se desarrolla ningún grano en la mazorca, y esta adquiere una forma redondeada. Además, *S. reiliana* provoca filodia en sus hospedantes (Matheussen *et al.*, 1991; EPPO, 1999), mientras que *U. maydis* no. Estas especies también pueden diferenciarse morfológicamente, ya que las teliosporas de *U. maydis* son de menor tamaño que las de *S. reiliana* (Ainsworth, 1965a; 1965b).

Después de analizar más de 90 plantas con síntomas, pertenecientes a diferentes variedades y provenientes de diferentes provincias, no se detectó la presencia de oosporas ni de micelio de *S. macrospora* en ninguna de los muestras, por lo que podemos afirmar que la filodia presente en estas plantas se debió a la infección por *S. reiliana*.

Sphacelotheca reiliana es un basidiomiceto biotrófico que causa el carbón de la espiga del maíz luego de una colonización sistémica de la planta. Este patógeno del maíz y el sorgo (*Sorghum bicolor*) interfiere con el desarrollo normal de las inflorescencias de sus plantas hospedantes y provoca filodias (Matheussen *et al.*, 1991). Además, este patógeno dispara la supresión de la dominancia apical, lo que provoca la formación de un gran número de inflorescencias femeninas en el maíz (Ghareeb *et al.*, 2011; 2015), lo que se asemeja a los síntomas causados por la espiga loca o cabeza loca del maíz, cuyo agente causal es el mildio veloso *Sclerophthora macrospora* (Malaguti *et al.*, 1977).

S. reiliana presenta una amplia distribución mundial (Farr y Rossman, 2015) y se encuentra donde quie-

ra que existan cultivos de maíz y sorgo (Anderson, 2014). Sin embargo, hasta el presente en Cuba este patógeno solo está informado afectando *Sorghum* spp. (Piepenbring y Hernandez, 1998; Camino-Vilaro *et al.*, 2006; Farr y Rossman, 2015), por lo que el presente trabajo constituye el primer informe de la presencia en Cuba del carbón de la espiga del maíz causado por *S. reiliana*.

Sphacelotheca reiliana es un hongo de suelo que ataca plantas de maíz de forma esporádica en el campo (PHII, 2010). Aun con un relativamente bajo porcentaje de infección en el campo, de alrededor del 10 %, puede llegar a causar pérdidas significativas de los rendimientos (PHII, 2010; Zhang *et al.*, 2013). Las esporas de *S. reiliana* pueden sobrevivir en el suelo por más de tres años, por lo que la rotación de cultivos tiene un bajo impacto en la reducción del inóculo de este patógeno (PHII, 2010). Sin embargo, para su manejo debe enfatizarse en el balance de la fertilidad del suelo, especialmente en el nivel de nitrógeno (PHII, 2010), pues la deficiencia de este elemento favorece la incidencia de esta enfermedad. El tratamiento de la semilla con fungicidas es otra de las medidas empleadas en el manejo del carbón de la espiga del maíz. En la actualidad se disponen de varios fungicidas con probada efectividad contra *S. reiliana* (Kosiada, 2011; Shi, 2014). No obstante, la medida más económica y sustentable para controlar esta enfermedad es el desarrollo de variedades resistentes (Zhao *et al.*, 2015), por lo que se hace necesario estudiar los niveles de resistencia a *S. reiliana* presentes en el germoplasma cubano de maíz y el desarrollo de variedades resistentes a este patógeno.

REFERENCIAS

- Ainsworth, G. C.: "*Sphacelotheca reiliana*", CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No. 73, International Mycological Institute, Kew, UK, 1965a.
- Ainsworth, G. C.: "*Ustilago maydis*", CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. No. 79. Wallingford, UK: CAB International, 1965b.
- Anderson, S. J.: "Real-time PCR analysis of maize seedlings for assessment of seed treatment efficacy and genetic resistance to infection by *Sphacelotheca reiliana*", 2014. *Graduate Theses and Dissertations*. Paper 13958. Disponible en: <http://lib.dr.iastate.edu/etd>.
- Camino-Vilaró, M.; J. Mena-Portales; D. W. Minter: "Hongos de Cuba", sitio internet versión 1.00, www.cybertruffle.org.uk/cubafung, 2006, 10 de marzo de 2016.
- EPPO EPPO Standard PP 2/1(1) "Guideline on good plant protection practice: maize", *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* PP 2/17(1), 1999. Disponible en: http://www.furs.si/law/epo/ffs/ENG/PP2/pp2-17-e_koruz.pdf.

- FAO FAOSTAT: "Compare Data, Maize harvested area in Cuba during 2000-2015", Available at <http://www.fao.org/statistics>. Accessed on March 18, 2016.
- Farr, D. F.; A. Y. Rossman: "Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA", <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/> 15 de marzo 2016.
- Ghareeb, H.; A. Becker; T. Iven; I. Feussner; J. Schirawski: "Sporisorium reilianum infection changes inflorescence and branching architectures of maize" *Plant Physiology*, 156: 2037-2052, 2011.
- Hassan Ghareeb, Frank; Christian Löffke Drechsler; Thomas Teichmann; Jan Schirawski: "Suppressor of apical dominance1 of *Sporisorium reilianum* Modulates Inflorescence Branching Architecture in Maize and Arabidopsis", *Plant Physiology*, 169: 2789-2804, 2015.
- Kosiada, T.: "In vitro influence of selected fungicides on *Sphacelotheca reiliana* and *Ustilago maydis*", *Journal of Plant Protection Research*, 51(4):342-348, 2011.
- Malaguti, G.; B. Fernández; H. Nass: "Downy mildew or crazy top of maize in Venezuela", *Agronomia Tropical*, 27:103-129, 1977.
- Matheussen, A. M.; P. W. Morgan; R. A. Frederiksen: "Implication of gibberellins in head smut (*Sporisorium reilianum*) of *Sorghum bicolor*", *Plant Physiol* 96: 537-544, 1991.
- McGee, D. C.: *Maize diseases. A reference source for seed technologists*, St. Paul, Minnesota, USA. APS Press, 1988.
- Piepenbring, M.; M. R. Hernández: "Carbones (Fungi: Ustilaginomycetes) de Cuba. I parte", *Revista Jardín Botánico Nacional*, 19:121-131, 1998.
- Pioneer Hi-Bred International, Inc (PHI): "Fields Facts: Head smut in corn (*Sphacelotheca reiliana*)", 2(6):1-2, 2010. Disponible en: http://www.langfritzseed.com/webres/File/agronomy/corn-diseases/ais948_Field_Facts_Corn_Head_Smut.pdf.
- Shi, F.: "Control of maize head smut with 6% Tebuconazole FS", *Agricultural Science & Technology*, 15(5):860-861, 2014.
- Shurtleff, M. C.: *Compendium of Corn diseases*, APS Press, St Paul, Minnesota, USA, 1986.
- Zayas-Valdés, L. M.; C. A. González: "Zonificación agroclimática del cultivo de maíz en la zona más occidental de Cuba", *Ciencias de la Tierra y el Espacio*, 14(1): 70-79, 2013.
- Zhang, S.; Y. Xiao; J. Zhao; F. Wang; Y. Zheng: "Digital gene expression analysis of early root infection resistance to *Sporisorium reilianum* f. sp. zeae in maize", *Mol. Genet. Genomics*, 288: 21-37, 2013.
- Zhao, X.; J. Ye; L. Wei; N. Zhang; Y. Xing; W. Zuo; Q. Chao; G. Tan; M. Xu: "Inhibition of the spread of endophytic *Sporisorium reilianum* renders maize resistance to head smut", *The Crop Journal*, 3: 87-95, 2015.