

## ÍNDICE GENERAL

	Página
Índice de cuadros y tablas.....	i
Índice de figuras.....	iv
Índice de gráficas.....	vi
Resumen.....	1
I.- Introducción.....	4
I.- Problemática.....	6
III.- Objetivo.....	8
IV.- Justificación.....	9
V.- Revisión de literatura.....	10
5.1.- <i>Ustilago maydis</i> (DC) Corda.....	10
5.1.1.- Ubicación taxonómica.....	11
5.1.2.- Descripción morfológica.....	13
5.1.3.- Ciclo biológico.....	15
5.1.4.- Compatibilidad de cepas.....	19
5.1.5.- Producción de huitlacoche.....	20
5.1.6.- Factores que afectan la producción de huitlacoche.....	22
5.2.- Período de fecundación del maíz para inducción artificial de huitlacoche.....	26
5.3.- Investigaciones regionales.....	27
5.4.- Maíz ( <i>Zea mays</i> L.).....	29
5.4.1.- Generalidades.....	29
5.4.2.- Importancia.....	30
5.4.3.- Desarrollo reproductivo.....	30

5.4.4.- Características del híbrido PNS-4019.....	33
VI.- Materiales y método.....	35
6.1.- Ubicación del experimento.....	35
6.2.- Cepas de <i>U. maydis</i> .....	36
6.3.- Genotipos de maíz.....	36
6.4.- Diseño experimental.....	36
6.5.- Fecha y método de siembra.....	38
6.6.- Preparación del inóculo e inoculación.....	39
6.7.- Variables a evaluar.....	41
a.- Porcentaje de plantas infectadas .....	41
b.- Índice de severidad de la infección.....	41
c.- Rendimiento de huitlacoche.....	41
d.- Cubrimiento de huitlacoche en mazorca.....	42
6.8.- Cosecha.....	42
VII.- Resultados y discusión.....	44
1.- Porciento de infección.....	44
2.- Índice de severidad de la infección.....	47
3.- Rendimiento de huitlacoche limpio.....	51
4.- Mazorcas cubiertas por huitlacoche en grado de 50 a 100%.....	55
VIII.- Conclusiones .....	62
Bibliografía.....	64
Glosario.....	69

## ÍNDICE DE CUADROS Y TABLAS

	Página
<b>Tabla 1.-</b> Ubicación taxonómica de <i>Ustilago maydis</i> (Agrios, 1991).....	14
<b>Cuadro 1.-</b> Sitios y tiempos de inoculación.....	37
<b>Cuadro 2.-</b> Análisis de varianza para el porcentaje de infección de <i>U. maydis</i> en plantas de maíz ( <i>Zea mays</i> ).....	45
<b>Cuadro 3.-</b> Efecto de las etapas de fecundación del maíz sobre el porcentaje de infección de <i>U. maydis</i> en mazorcas de maíz....	46
<b>Cuadro 4.-</b> Análisis de varianza para el índice de severidad de infección de <i>U. maydis</i> en la mazorca de maíz.....	48
<b>Cuadro 5.-</b> Efecto de la etapa de fecundación del maíz ( <i>Z. mays</i> ) con respecto al sitio de inoculación de <i>U. maydis</i> en el índice de severidad de la infección de huitlacoche en la mazorca. Valle del Yaqui. Ciclo primavera – verano 2000.....	49
<b>Cuadro 6.-</b> Comportamiento de los períodos de fecundación del maíz sobre el sitio de inoculación de <i>U. maydis</i> en la mazorca en el índice de severidad de la infección. Valle del Yaqui. Ciclo primavera – verano 2000.....	50

<b>Cuadro 7.</b> -Análisis de varianza para el rendimiento de huitlacoche limpio.....	52
<b>Cuadro 8.</b> -Efecto de la etapa de fecundación del maíz ( <i>Z. mays</i> ) con respecto al sitio de inoculación de <i>U. maydis</i> en el rendimiento de huitlacoche limpio. Valle del Yaqui. Ciclo primavera – verano 2000.....	53
<b>Cuadro 9.</b> -Comportamiento de los sitios de inoculación con respecto a los períodos de fecundación del maíz ( <i>Z. mays</i> ) en el rendimiento de huitlacoche sin mazorca.....	54
<b>Cuadro 10.</b> - Análisis de varianza para el porcentaje de huitlacoche con grado de cubrimiento de 50 a 100%.....	56
<b>Cuadro 11.</b> - Efecto de la etapa de fecundación del maíz ( <i>Z. mays</i> ) con respecto al sitio de inoculación de <i>U. maydis</i> en el porcentaje de mazorcas con grado de cubrimiento del 50 al 100%. Valle del Yaqui. Ciclo primavera – verano 2000.....	57
<b>Cuadro 12.</b> - Comparación de los sitios de inoculación de huitlacoche en mazorca en los diferentes períodos de fecundación del maíz sobre el porcentaje de mazorcas en grado de cubrimiento de 50 a 100%.....	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.-</b> Ciclo de vida de <i>U. maydis</i> (DC) Corda.....	16
<b>Figura 2.-</b> Período promedio de floración en un cultivo de maíz híbrido.....	33
<b>Figura 3.-</b> Etapas de fecundación del maíz ( <i>Zea mays</i> ).....	37
<b>Figura 4.-</b> siembra de semilla en surcos con acolchado plástico, a una distancia de 30 cm entre cada orificio y 1.60 m de separación entre surco y surco.....	38
<b>Figura 5.-</b> Preparación del inóculo en 10 ml de caldo dextrosa de papa, incubado en baño maría con agitación.....	39
<b>Figura 6.-</b> Forma de inoculación en el centro del jilote antes de la fecundación.....	40
<b>Figura 7.-</b> Separación manual de agallas de huitlacoche de la mazorca del maíz.....	42
<b>Figura 8.-</b> Diferentes grados de cubrimiento de huitlacoche en la mazorca por efecto de inoculación artificial de <i>U. maydis</i> .....	43
<b>Figura 9.-</b> Desarrollo de huitlacoche en el jilote secundario al	

inocular esporas de *U. maydis* en la base del jilote..... 50

**Figura 10.-** Mazorcas que presentan un cubrimiento de huitlacoche con grado de 50 al 100%..... 60

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

### Página

**Gráfica 1.-** Efecto de los sitios de inoculación de *U. maydis* en jilote, en diferentes etapas de fecundación del maíz, en el porcentaje de infección por huitlacoche. Valle del Yaqui. Ciclo primavera – verano 2000..... 47

<b>Gráfica 2.-</b> Índice de severidad de infección de <i>U. maydis</i> en dos sitios de inoculación en la mazorca en diferentes etapas de fecundación del maíz ( <i>Z. mays</i> ). Valle del Yaqui. Ciclo primavera - verano 2000.....	51
<b>Gráfica 3.-</b> Rendimiento de huitlacoche limpio con dos sitios de inoculación de <i>U. maydis</i> en diferentes períodos de fecundación del maíz ( <i>Z. mays</i> ). Valle del Yaqui. Ciclo primavera – verano 2000.....	55
<b>Gráfica 4.-</b> Efecto de la etapa de fecundación del maíz ( <i>Z. mays</i> ) en el porcentaje de mazorcas cubiertas por huitlacoche en grado de 50 a 100% con dos sitios de inoculación de <i>U. maydis</i> en el jilote. Valle del Yaqui. Ciclo primavera – verano 2000.....	59

## RESUMEN

*Ustilago maydis* es un hongo que se reproduce por medio de la fusión de esporas haploides compatibles, invade las partes aéreas de la planta del maíz (*Zea mays*) formando agallas; es el causante del carbón común, también llamado huitlacoche o cuitlacoche. Este alimento es considerado un manjar desde la era prehispánica y aunque es típico del centro y sur de México, en la actualidad su consumo se ha extendido hasta Centro y Sur América, Estados Unidos y Europa. Debido a esto, se han llevado a cabo diversos estudios sobre la tecnología de producción, como ha sido determinar el mejor sitio de la planta para la inoculación, el mejor método de inoculación, así como aislar y probar la compatibilidad de cepas locales del Valle del Yaqui tanto en plántula como en planta adulta; sin embargo, la etapa óptima de fecundación del maíz para inducir la infección aún no está definida, por lo que el presente trabajo fue con el objetivo de determinar el tiempo óptimo en la fecundación del maíz (*Zea mays*) donde al inocular artificialmente esporas de *Ustilago maydis* (DC) Corda, se produzca mayor grado de infección y por consiguiente mayor producción de huitlacoche.

El estudio se realizó en la Dirección de Investigación y Estudios de Posgrado (DIEP) del Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON), durante el período de enero a agosto de 2000. Se utilizó el híbrido de maíz PNS – 4019 al que se le había probado la susceptibilidad a la enfermedad, resultando con el mayor rendimiento de huitlacoche. Se utilizó una cruce de cepas locales de *U. maydis*, colectadas y aisladas en 1998,

la cual reportó mayor patogenicidad en estudios anteriores. Los jilotes de maíz fueron inoculados con 1 ml de una suspensión de esporas con una concentración de  $2.5 \times 10^6$  cel / ml, en la base y centro de éstos en los diferentes períodos de fecundación del maíz, el cual se clasificó en 4 etapas: 1) antes de la fecundación; 2) inicio de la fecundación (cuando empiezan a emerger las sedas hasta una longitud de 6 cm fuera de las espatas y su color es verde tierno); 3) mitad de la fecundación (sedas con 7 a 13 cm fuera de las espatas); 4) final de la fecundación (Sedas mayores de 14 cm fuera de las espatas y su color es oscuro).

La cosecha de huitlacoche se realizó entre los 12 a 23 días después de la inoculación y se determinó el índice de severidad de la infección, el porcentaje de plantas infectadas, el rendimiento de huitlacoche y el grado de cubrimiento de huitlacoche en la mazorca. Los mejores resultados se obtuvieron al inocular en el centro del jilote al inicio de la fecundación, con un 76.73% de plantas infectadas, un índice de severidad de infección de 57.6 y un rendimiento de 1678 Kg/Ha de huitlacoche; además fue el tratamiento que mayor porcentaje de mazorcas con cubrimiento de huitlacoche en grado de 50 a 100%, con un 76.8%. La cosecha de huitlacoche fue en un estado tierno de buena calidad para consumo.

Los resultados anteriores indican que el mejor sitio para la inoculación artificial de *U. maydis*, fue el centro del jilote; el tiempo óptimo de la fecundación del maíz fue desde antes hasta el inicio de ésta. Así mismo, el mayor rendimiento, mayor grado de infección y mayor porcentaje de mazorcas con grado de cubrimiento del 50 al

100% de huitlacoche, se obtuvo con la inoculación en el centro del jilote al inicio de la fecundación.

## **I.- INTRODUCCIÓN**

Durante largo tiempo la producción de huitlacoche ha sido de manera artesanal. En la actualidad, con el aumento en el consumo y comercialización de este hongo, se ha visto la necesidad de producirlo induciendo su crecimiento de manera artificial; para esto se han desarrollado diversas investigaciones donde se han probado diferentes tecnologías, las cuales, en la mayoría de los casos buscan la reacción de genotipos de maíz a la infección de este hongo bajo diferentes condiciones ambientales; así como técnicas de inoculación artificial en campo con fines de aumentar el grado de infección en la mazorca y consecuentemente producción de agallas comestibles para su comercialización. Uno de los aspectos de mayor relevancia es determinar los efectos de sitios de inoculación en la planta de maíz, etapas de madurez de estigmas y polinización en la infección de

mazorcas por *Ustilago maydis*. De esto último recientemente se reportan investigaciones llevadas a cabo a nivel regional y en el extranjero; sin embargo, es necesario corroborar sitios de inoculación y tiempos de fecundación en el maíz para inducir la infección con propósitos de producción de huitlacoche en el Valle del Yaqui. El objetivo de la presente investigación fue determinar el tiempo óptimo de la fecundación del maíz al ser inoculado artificialmente con esporidias del hongo *Ustilago maydis* en el centro y base del jilote se produzca el mayor grado de infección y producción de huitlacoche comercial.

## **II.- PROBLEMÁTICA**

Desde que empezaron las investigaciones acerca de la producción artificial de huitlacoche y hasta el momento se han conseguido valiosos resultados, como los son la determinación del sitio óptimo de inoculación de las esporas del hongo en la planta de maíz para producir un mayor rendimiento, siendo este sitio el jilote, también se ha determinado que cuando se inocula en el centro de éste se obtiene la mayor producción de huitlacoche. Sin embargo, la inoculación en la base produce mayor porcentaje de mazorcas infectadas en rangos mayores al 50%.

Así pues, se tienen adelantos en cuanto a la producción de huitlacoche, pero, aún no se tiene el dato exacto sobre cuál es el período óptimo de fecundación del maíz en el que la inoculación artificial con *Ustilago maydis* produzca una infección en la mazorca en rangos de 50 al 100% de cubrimiento con huitlacoche, situación que es la más conveniente para propósitos de comercialización de este hongo en fresco y enlatado.

### **III.- OBJETIVO**

Determinar el tiempo óptimo en la fecundación del maíz (*Zea mays*) donde al inocular artificialmente esporas de *Ustilago maydis* (DC) Corda, en la base y centro de la mazorca, se produzca mayor grado de infección y por consiguiente mayor producción de huitlacoche.

#### **IV.- JUSTIFICACIÓN**

La presente investigación busca contribuir en el conocimiento y manipulación de cepas del hongo *Ustilago maydis*, tomando en consideración las etapas de fecundación en la planta de maíz (*Zea mays*), lo cual aportará un conocimiento básico relacionado con los estudios sobre técnicas de inoculación artificial que se han venido desarrollando con propósitos de aumentar el grado de infección de huitlacoche en las mazorcas.

## **V.- REVISIÓN DE LITERATURA**

### **5.1.- *Ustilago maydis* (DC) Corda.**

En México *Ustilago maydis*, es conocido como huitlacoche o cuitlacoche (palabra azteca que traducida al español actual significa “suciedad prieta de cuervo”) y atribuían la presencia de huitlacoche en maíz por la presencia de éstos pájaros (Kealey, 1981). Se puede considerar como típico de este país, que desde la era prehispánica era un manjar de nuestros antepasados, su consumo se extiende también hasta Centro y Sur América. Este hongo es cultivado casi de forma artesanal, pues solo donde se presentan las condiciones naturales para su producción, se explota su potencial alimenticio (Valverde, 1992).

Durante mucho tiempo se trató de dar un nombre al hongo causante del carbón del maíz, así en 1760 fue llamado *Lycoperdon zaeae*, en 1805 lo llamaron *Uredo segetum*, en 1808 fue llamado *Ustilago*, posteriormente se designó como *Uredo maydis* en 1815 y en 1836 se le adjudicó el nombre de *Ustilago zaeae*, hasta que en 1944 lo llamaron como *Ustilago maydis* (DC) Corda, que es el nombre que comúnmente usan los fitopatólogos. A los tumores producidos por *Ustilago maydis* se les llama agallas (Valverde et al, 1995).

#### **5.1.1.- Ubicación taxonómica**

Los hongos en la división tradicional de los organismos elaborada por los científicos, fueron clasificados inicialmente en el reino de las plantas. Los hongos son microorganismos eucarióticos, con uno o varios núcleos. No contienen clorofila, por lo que no llevan a cabo la fotosíntesis y son considerados quimioorganotróficos. Son organismos pluricelulares que tienen muchas manifestaciones morfológicas, aunque usualmente sus cuerpos son alargados y de aspecto filamentosos; sus células alargadas se hallan rodeadas por una pared que contiene principalmente quitina o celulosa. Se reproducen de manera natural por esporas. Estas últimas pueden reproducirse de manera sexual o asexual. La mayor parte de los hongos son inmóviles aunque pueden tener células reproductoras móviles. Los hongos son heterótrofos, pues como saprófitos, obtienen su alimento de la materia orgánica muerta o como parásitos, se alimentan de huéspedes vivos (Pelczar, et al, 1993).

Los hongos desempeñan diferentes papeles en la naturaleza y utilizan diversos substratos para su supervivencia. Así tenemos que cerca de las aproximadamente 100 000 especies de hongos conocidos, la mayoría son estrictamente saprófitas, es decir, viven sobre materia orgánica muerta a la cual descomponen; mientras que más de 8 000 especies pueden causar enfermedades en las plantas, y son conocidos como hongos fitopatógenos; por otra parte, alrededor de 100 especies causan enfermedades en el hombre y animales (Agrios, 1991).

A pesar de que algunas de las especies de hongos son patógenas, el hombre las ha utilizado a su conveniencia, tal es el caso de la industria de los antibióticos, donde la mayor parte de estos productos son elaborados a partir de hongos, como es el caso de la penicilina y la estreptomicina, entre otros. También se ha servido de los hongos como una fuente de alimento. Se conocen cerca de 2 000 especies de hongos comestibles, la mayoría de tipo saprófito y algunas patógenas. A pesar de existir muchas especies de hongos aptas para consumo, solo se explotan comercialmente pocas de estas especies, tal es el caso del hongo *Agaricus bisporus* (champiñón), que en la mayor parte de los casos se emplean substratos de desecho para su producción (Valverde et al, 1995).

Según el sistema de clasificación de cinco reinos propuesto por R.H. Whittaker en 1969, la posición taxonómica del hongo *Ustilago maydis* (tabla 1) pertenece a la división Amastigomycota, que es la correspondiente a los hongos verdaderos y a la subdivisión Basidiomycotina caracterizada por producir esporas en estructuras especializadas llamadas basidios. Corresponden a los Basidiomycetes,

en donde las esporas sexuales, al germinar, se forman externamente sobre una estructura denominada basidio constituida por una o cuatro células de tipo levaduriformes, capaces de desarrollarse en medios de cultivo; por lo que presumiblemente estos hongos son capaces de vivir como saprófitos en la naturaleza.

Pertenece a la subclase Heterobasidiomycetidae conformada por parásitos de plantas que tienen esporas de pared gruesa que pueden resistir largos períodos sin germinar, equivalente a lo que se conoce como teliospora. El orden Ustilaginales incluye los hongos conocidos comúnmente como carbones, debido a que forman una masa polvorosa de esporas negras que se asemejan con el hollín o carbón. Este orden se caracteriza por realizar la fecundación mediante la fusión de esporas o hifas que sean compatibles y sólo producen teliosporas. El Género *Ustilago* es el correspondiente a los microorganismos causantes del carbón en diversos cereales (Agrios, 1991).

### **5.1.2.- Descripción morfológica**

*Ustilago maydis* es el nombre que se le da al microorganismo que causa la enfermedad del carbón común del maíz, el cual se caracteriza por la presencia de agallas en las partes aéreas de la planta, incluyendo las mazorcas. Este hongo exhibe tres formas en su ciclo de vida : 1).- Una forma unicelular haploide (la espora) y es

**Tabla 1: Ubicación taxonómica de *Ustilago maydis* (Agrios, 1991).**

Reino	Fungi	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No posee clorofila</li> <li>• Alimentación por absorción</li> <li>• Eucariotes</li> <li>• Pluricelulares</li> </ul>
División	Amastigomycota	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pierden su fase móvil</li> <li>• No se adaptan a sistemas acuáticos</li> <li>• Tienen hifas septadas</li> <li>• Forman grandes cantidades de micelio</li> </ul>
Sub-división	Basidiomycota	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Forman basidios y basiosporas</li> <li>• Estado diploide muy corto (basidio)</li> <li>• Estado dicariótico muy prolongado</li> <li>• La mayoría heterotálico</li> </ul>
Clase Subclase	Basidiomycetes Teliomycetidae	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Parásitos de plantas</li> <li>• No forman basidiocarpó</li> <li>• Esporas de pared gruesa</li> <li>• Teliosporas en soros</li> </ul>
Orden	Ustilaginales	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Conocidos como carbones</li> <li>• Atacan principalmente las partes reproductoras de las plantas</li> <li>• Promicelio no septado</li> </ul>
Género	Ustilago	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Masa de esporas negras en soros o agallas</li> <li>• Atacan a plantas de importancia económica</li> </ul>
Especie	maydis	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Teliosporas lisas, con espinas o reticuladas</li> <li>• Ataca al maíz y al teosinte</li> </ul>

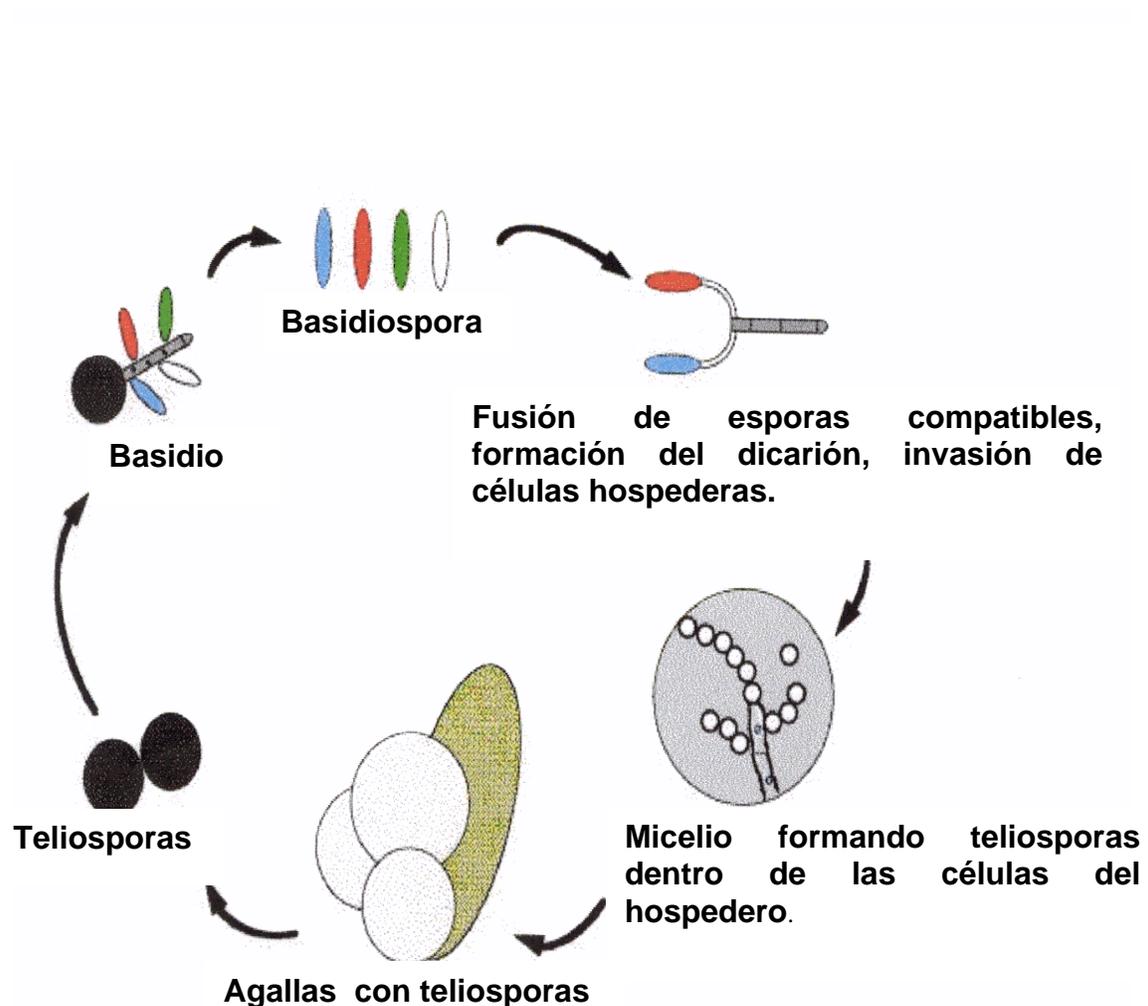
saprófita; 2).- una forma micelial dicariótica, que resulta de la fusión de células haploides compatibles, en esta forma es parásito; 3).- Una forma diploide (la teliospora), que forma agallas de las células hifales. Se reproduce por meiosis para formar células haploides (Banuett and Herkowitz, 1988).

Este hongo produce un micelio dicariótico cuyas células se transforman en teliosporas negras esféricas o elipsoidales que presentan protuberancias prominentes y en forma de espinas, de siete a once micrómetros de ancho, con capacidad para resistir las condiciones adversas del ambiente. Las teliosporas germinan produciendo un basidio de cuatro células, llamado promicelio, cada una de las cuales se transforma en una basidiospora hialina, ovalada y nucleada (Agrios, 1991). Las teliosporas son primeramente binucleadas y estas pueden germinar inmediatamente o pueden requerir de un período de dormancia antes de la germinación. El promicelio está formado por basidiosporas terminales y laterales (Valverde et al, 1995).

### **5.1.3.- Ciclo biológico**

El dimorfismo es la capacidad desarrollada por diversos hongos para crecer en forma de micelios o de levaduras, en respuesta a las condiciones del medio ambiente. El basidiomiceto *U. maydis* es un patógeno del maíz que posee una fase saprófita haploide, durante la cuál crece en forma de levadura. Al interactuar dos cepas compatibles ocurre su apareamiento con el desarrollo de una fase dicariótica micelial, que constituye la forma invasiva del organismo. En los

tejidos del hongo ocurre la cariogamia, y el desarrollo de las esporas sexuales, llamadas teliosporas, las cuales llenan por millones las agallas características de la enfermedad. Al germinar las teliosporas ocurre la haploidización y la formación de las basidiosporas que reinician el ciclo de vida del hongo (Ruíz, 1995) (Figura 1).



**Figura 1.- Ciclo de vida de *U. maydis* (D.C.) Corda. (Agripedia, 2000).**

El ciclo biológico del patógeno, se completa en la mayoría de los casos una vez pasando por el hospedero. Las agallas del hongo, encierran una gran masa de esporas, las cuales quedan libres una vez llegada su madurez ya que su cubierta se revienta. Las esporas pueden ser llevadas de un lugar a otro junto con las semillas, aunque no es esta la fuente primaria del inóculo como ocurre en la mayoría de los hongos patógenos de cultivos de semillas. También puede ser acarreada en estiércol cuando se alimenta al ganado con plantas infectadas. Debido a su naturaleza polvosa, el viento es el mayor agente de dispersión horizontal y vertical. Las esporas pueden mantenerse en el viento todo el año. Chupp, Sarasola, Walker (citados por Flores del Campo, 1991) .

El ciclo empieza cuando las agallas maduras revientan y liberan las esporas. Estas invernan en el suelo o en los residuos de cosecha. Ocurrido esto, la teliospora se encuentra en fase diploide la cuál es capaz de germinar. Al germinar la teliospora, se produce un tubo germinativo llamado promicelio el cuál se va tabicando conforme se va alargando. De cada uno de los tabiques, se forman por brotación, esporidias o micelios. Al llevarse a cabo la germinación, simultáneamente ocurren los procesos de meiosis y mitosis, lo cual origina núcleos haploides en las esporidias o micelios. Esta primera división ocurre en la teliospora o bien en el joven promicelio donde se lleva a cabo todo el proceso. Una vez producidas las esporidias, pueden ser acarreadas por el viento o el agua, llegando al tejido del hospedero. Una vez en éste, las esporidias germinan ya sea en las hojas o en el cogollo. La dicariofase o etapa parasítica, se inicia al fusionarse esporidias o micelios de sexos opuestos. Al realizarse la

conjugación de sexos también se da inicio a la plasmogamia. Al ocurrir esta fusión, se forman los tubos germinativos que penetran en forma directa al tejido del hospedero, formándose y ramificándose las hifas inter e intracelularmente en los tejidos invadidos. Existirán sexos opuestos ya que la división meiótica durante la germinación involucra la segregación sexual. A los 6 – 8 días después de la fusión se encuentran las hifas muy contorsionadas, convolutadas y ligeramente gelatinizadas. Las células hifales se acortan y redondean encerrando cada una dos núcleos separados + y - ; durante este mismo tiempo, los tejidos del hospedero van sufriendo hiperplasias e hipertrofias formando así las agallas. Es frecuente que las hifas de las agallas jóvenes, ante un exceso de humedad, produzcan esporidias haploides, las cuales pueden ser una gran fuente de inóculo al ser acarreadas por el viento o el agua. El patógeno puede manifestarse en cualquier parte aérea de la planta como anteriormente se mencionó, básicamente en tejido meristemático. Las agallas son más frecuentes en mazorca, tallo, inflorescencia, en los entrenudos y hojas, pocas veces se le encuentra en raíces aéreas (Flores del Campo, 1991).

Una vez establecido el patógeno en el hospedero las pérdidas en el maíz por infección de este hongo dependerá en gran medida del tamaño y lugar donde se presentan las agallas. Según estudios realizados, agallas de tamaño medio (5 a 10 cm de diámetro) y agallas grandes (más de 10 cm. de diámetro) produjeron pérdidas de 16.5% y 41.7% respectivamente en tanto que agallas pequeñas (hasta 5 cm de diámetro) causaron pérdidas solo del 2.9%, cuando estas se presentaron debajo de la mazorca; los mismo tamaños de agallas, pero sobre las mazorcas, resultaron ser mucho más dañinas. Bajo

condiciones de campo, es común encontrar más de una infección en una sola planta. Según el lugar donde se localicen las agallas se clasifican en tres grupos: 1.- aquellas que aparecieran debajo de la mazorca, 2.- aquellas que aparecieran tanto abajo como arriba de la misma y 3.- aquellas localizadas sobre la mazorca. Tomando en cuenta el número de infecciones, se clasificaron en dos grupos: 2 agallas y 3 o más. Comparando agallas del mismo tamaño, pero en diferentes localizaciones, se encontró que las que ocasionaron menor pérdida en producción fueron aquellas localizadas debajo de la mazorca, seguidas por aquellas distribuidas arriba y abajo, en tanto que las más dañinas fueron localizadas arriba de la mazorca. Los porcentajes de pérdida fueron 12.9%, 13.9% y 28.9% respectivamente. En cuanto a número de agallas por planta, es evidente que entre más infecciones haya mayor será la pérdida Christensen (citado por Flores del Campo, 1991).

#### **5.1.4.- Compatibilidad de cepas**

La compatibilidad de cepas de *U. maydis* se determina al sembrar en una misma placa dos cepas una cerca de la otra, en el medio propuesto por Holliday modificado por Alvarez (1999), el cual contiene 10 g. glucosa, 2.5 g caseína hidrolizada, 1 g. extracto de levadura, 1.5g. nitrato de amonio, 62.5 ml. solución de sales ( 16 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 4 g.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 8 g.  $\text{KCl}$ , 2 g.  $\text{MgSO}_4$ , 1 g.  $\text{CaCl}_2$ ) y 8 ml. de elementos trazas (60 mg.  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 140 mg  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 100 mg.  $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ , 400 mg  $\text{ZnCl}_2$ , 40 mg.  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  y 400 mg  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ) en un litro de agua destilada. Además 1 g. carbón activado y 1.7% de harina de maíz y 1% de agar.

La compatibilidad se determina por la manifestación del fenotipo  $fuz^+$ , es decir, por la formación de un micelio blanco, algodonoso y pequeño, producto de la unión de las esporidias haploides que al unirse forman un micelio dicariótico. Las cruzas que resulten compatibles al manifestar el fenotipo  $fuz^+$  corresponden a cruzas que desarrollarán la enfermedad en plantas de maíz (Alvarez, 1999).

En 1998, se aislaron cepas de *U. maydis* de diferentes localidades del Valle del Yaqui; en total fueron 8 cepas, de las cuales una vez realizadas las pruebas de compatibilidad en plántulas, se definió que seis de las cruzas de estas eran compatibles, siendo dos cruzas las más virulentas la C2 - C3 y la C6 - C8 (Alvarez, 1999), dando un mejor rendimiento de huitlacoche en la mazorca la cruzada C2 - C3. (Ruíz, 1999).

#### **5.1.5.- Producción de huitlacoche**

El creciente aumento en la demanda del consumo de huitlacoche ha obligado a realizar investigaciones acerca de su producción por medio de inoculación artificial de *U. maydis* en mazorcas de maíz, ya que en la mazorca se presenta la forma comestible de este alimento. En la Ciudad de México, se venden en mercados entre 4 y 500 toneladas de agallas frescas de huitlacoche al año; también ya existe una procesadora de alimentos (Herdez) que patentó el proceso para enlatar huitlacoche y conservarlo hasta por 9 años (Kealey and Kosikowski, 1981).

Sin embargo, la mayoría de la investigación sobre *U. maydis* se ha enfocado al estudio genético y a la búsqueda de variedades de maíz resistentes a la enfermedad que provoca este hongo (carbón común). Es muy poco lo que se conoce del huitlacoche como alimento y mucho menos como alternativa de cultivo. En México y en Estados Unidos de América se han iniciado trabajos de inoculación en plantas de maíz con el fin de producir las deseadas agallas. Se han utilizado varias técnicas de inoculación para tratar de reproducir el huitlacoche. La inyección con jeringa hipodérmica podría usarse para la producción masiva del huitlacoche y para la búsqueda de germoplasma en programas de mejoramiento para variedades de maíz, resistentes al hongo. Sin embargo, no se ha podido establecer el estadio de desarrollo de la planta y el lugar donde se debe inocular para producir el huitlacoche (Valverde, 1992).

Desde que el huitlacoche es colectado, usualmente la infección es natural, poco se sabe acerca del tiempo óptimo de cosecha después de la inoculación. Las agallas se desarrollan rápidamente en maíz dulce, cerca de 15 días después de que las sedas han emergido en el 50% de las plantas, hasta la cosecha la cual es aproximadamente de los 19 a 21 días después de la inoculación. Durante este tiempo, el crecimiento de las agallas y las células de las hifas gelatinizan de forma oscura, acumulando teliosporas (Valverde, et al., 1993).

Wilconson (1975), citado por Valverde (1992), reportó que en plantaciones de baja densidad se desarrolla mejor la infección, por lo que la densidad de siembra puede ser un parámetro de control.

Ruíz (1999), estableció que la mejor parte de la planta para la inoculación de *U. maydis* fue el jilote, donde aparece mayor incidencia de agallas comercializables. Comparando las inoculaciones en el tallo antes del jiloteo.

#### **5.1.6.- factores que afectan la producción de huitlacoche**

##### **a.- Humedad**

Algunos de los autores mencionan que es necesaria la presencia de humedad para el desarrollo de *U. maydis*, sin embargo, otros definen que condiciones secas conducen a la preservación del carbón común, también, asientan que las teliosporas secas son forzadas a germinar dentro de la región meristemática y causar la infección sin la adición de agua (Walter) citado por Valverde et al (1995).

##### **b.- Temperatura**

Temperaturas relativamente altas favorecen la germinación de teliosporas, el crecimiento del micelio y la formación de teliosporas. Algunos investigadores citados por Valverde et al (1995) recomiendan temperaturas entre 25°C y 30°C para el desarrollo del carbón común.

##### **c.- Vigor del hospedero**

El vigor de la planta es importante para el desarrollo del huitlacoche. En plantas vigorosas se produce mayor infección del carbón común. Plantas jóvenes de 40 a 50 cm. son más susceptibles al carbón; en cambio, plantas adultas pueden resistir e incluso no desarrollar el carbón, igualmente plantas con bajo vigor el desarrollo del carbón es bajo, (Valverde et al, 1995).

#### **d.- Fertilización**

Valverde et al (1995), menciona que la fertilización es proporcional a la incidencia del carbón, sobre todo, la presencia de nitrógeno, ya que éste elemento proporciona vigor a la planta lo cual repercute en que se desarrolle mejor la infección.

#### **e.- Técnicas de inoculación**

Cuando se quiere producir huitlacoche a escala comercial es importante no dejar al azar la infección que se pueda producir, sino que, hay que asegurarse de que el agente infeccioso penetre. La manera de que esto ocurra confiablemente es el de utilizar una técnica de inoculación artificial y obtener resultados satisfactorios.

Hasta el momento se conocen diversas técnicas de inoculación de *U. maydis* en el jilote. Una de ellas es el espolvorear las esporas sobre las sedas del jilote, otra de ellas es asperjar una solución de esporas del hongo sobre las plantas de maíz, pero la que ha dado mejores resultados, según Valverde et al (1995) es la de inoculación con jeringa hipodérmica, ya que se han alcanzado niveles de producción mucho mayores que con los otros métodos, así mismo ha establecido que el mejor sitio de inoculación para el desarrollo de agallas huitlacoche es la mazorca tierna (jilote). Ruíz (1999) obtuvo resultados satisfactorios en el mismo sitio de inoculación.

Flores del Campo (1991), comparó tres técnicas de inoculación, que consistieron en; 1).- mezclar teliosporas de *U. maydis* con la semilla de maíz; 2).- asperjar teliosporas al cogollo en etapa de 6 a 8 hojas; 3).- inyectando teliosporas al jilote al presentarse el 50% de la

polinización. El mejor método fue el de inyección en el jilote, ya que al inocular el patógeno, se hace una herida en la planta por donde puede penetrar más fácilmente el patógeno.

Algunos investigadores como (Girón, 1991) citado por Leal (1996), Villanueva (1992) y López (1988), probaron variedades susceptibles al carbón común, inoculando desde una hasta en 4 ocasiones, inyectando en las etapas de 4 y 8 hojas, así como en el jilote en desarrollo y a la salida de los estigmas; también se inocularon semillas, tallo, polen, jilote cubierto y jilote descubierto, obteniendo que la inoculación en el jilote en desarrollo aportó los mejores resultados, así como el jilote cubierto. Hidalgo (1995) (citado por Leal, 1996), utilizó teliosporas en una sola aplicación, inyectando a la base y en la punta del jilote y basidiosporas en la planta de 28, 49 y 60 días. Leal (1996) demuestra que la aplicación endógena del inóculo es mucho mejor que la aplicación exógena, en una proporción de 4:1 en la producción de huitlacoche, inyectando el inóculo a través del canal por donde emergen las sedas (punta del jilote). También concluye que no existe diferencia entre emplear una o dos aplicaciones de inóculo. Orona (1995), para probar la reacción de variedades de maíz, inoculó sobre los jilotes en desarrollo cuando los estigmas alcanzaban 2 a 3 cm de longitud fuera de las espatas, a los 74 y 114 días después de la siembra. Despuntó los jilotes hasta el nivel del olote y con jeringa hipodérmica inyectó 3 ml. de la suspensión de teliosporas en la médula del olote. Después de la inoculación los jilotes fueron cubiertos con una bolsa de papel dextrasa para polinizar.

En Estados Unidos de América, los trabajos para la obtención de huitlacoche se enfocan a la inoculación en la mazorca cuando empiezan a emerger los estigmas Pataky y Lindsey (1991), Pope y McCarter (1992), Takur, et al (1989), Valverde, et al (1993).

Según Valverde et al (1993), la formación de agallas se incrementa significativamente por medio de inyección de basidiosporas o teliosporas en la punta del jilote a través del canal por donde emergen las sedas cuando estas tenían de 3 ó 4 días de haber emergido.

Ruíz (1999), estudió diferentes sitios de inoculación en el jilote, considerando la base, el centro y la punta del jilote, donde se obtuvo que el mejor tratamiento, con mayor rendimiento de huitlacoche fue el de inyección de esporidias de *U. maydis* en el centro del jilote, seguido por inyección en la punta e inyección en la base; a su vez estableció que el mayor porcentaje de mazorcas con un cubrimiento de agallas en más del 50% de la mazorca se presentó en el tratamiento de inoculación en la base del jilote. También, menciona que el tamaño de las sedas fue variable y que se inocularon jilotes que no tenían sedas fuera de las espatas, pero igual se inocularon jilotes con las sedas totalmente fuera de las espatas, a lo anterior atribuye la gran variación que hubo en el cubrimiento de agallas de huitlacoche en la mazorca.

El desarrollo de agallas en el jilote fue evaluado por Valverde (1992), después de inocular híbridos de maíz dulce con *U. maydis* por inyección de una suspensión de esporas en la punta del jilote, cuando

las sedas contaban con 3 a 6 centímetros fuera de las espatas. La incidencia de la agalla fue de 35 % en dos inoculaciones de prueba. Cerca del 0.5% de las plantas control no inoculadas fueron infectadas. El peso de las agallas se incrementó aproximadamente de 250% a 500% de 14 a 21 días después de la inoculación, obteniendo un máximo de 280 a 600 gramos. El tejido de las agallas fueron casi en su totalidad negras y perdió su cubierta esponjada integral entre 19 a 21 días después de la inoculación, cuando las células del micelio formó polvo de teliosporas. El tiempo óptimo de cosecha del huitlacoche varía según los híbridos de 17 a 19 días después de la inoculación, pero Valverde et al (1993) recomienda que el tiempo óptimo para la cosecha es de 15 a 24 días después de la inoculación, dependiendo del estado de desarrollo en el que el hospedero es inoculado y las condiciones ambientales seguidas a la inoculación .

## **5.2.- Período de fecundación del maíz para la inducción artificial de huitlacoche.**

Du Toit and Pataky (1999), mencionan que la resistencia del hospedero es el mejor método de control del carbón común del maíz (huitlacoche). Para la producción de este alimento se examinaron los efectos de la polinización del maíz en la infección a través de las sedas, en tres estudios realizados en los años de 1995, 1996 y 1997, donde las mazorcas pequeñas fueron cubiertas con bolsas de papel antes de que emergieran las sedas para evitar la polinización y otras mazorcas no fueron cubiertas para permitir que las sedas fueran polinizadas normalmente. Las bolsas fueron removidas de las mazorcas pequeñas una vez que fueron inoculadas, permitiendo la

polinización después de la inoculación. Su conclusión fue que las mazorcas de maíz fueron susceptibles a la infección por *U. maydis* desde la emergencia de las sedas hasta 8 a 14 días después de haber emergido las sedas. Después de este período de susceptibilidad, la incidencia de mazorcas con agallas decreció conforme envejecían las sedas. También indica que la incidencia de mazorcas con agallas decreció grandemente en mazorcas expuestas al polen en relación con las mazorcas que no fueron polinizadas.

De acuerdo con la biología de polinización del maíz, se sugiere que los estigmas sin polinizar son más susceptibles a la infección con *U. maydis* que los estigmas polinizados (Shetselaar y Mims, 1993).

### **5.3.- Investigaciones regionales**

Alvarez (1999), durante el año 1998 realizó una investigación con la finalidad de aislar cepas locales de *Ustilago maydis*, colectadas en diferentes localidades del Valle el Yaqui, de donde se obtuvieron 8 cepas diferentes, a las cuales posteriormente, se le realizó la prueba de compatibilidad, obteniendo seis pares de cepas compatibles, de las cuales las cruces C2 - C3 y C6 - C8 fueron las que registraron mayor patogenicidad en plántula.

Posteriormente, Ruíz (1999), en el Valle del Yaqui, probó diferentes etapas y sitios de inoculación de *Ustilago maydis* en plantas adultas de híbridos regionales de maíz bajo condiciones de campo en siembra de invierno (15 de enero) con una densidad de siembra de 31250 plantas por hectárea, fertilización con abonos químicos y orgánicos

(estiércol) y riego por gravedad. Los híbridos de maíz evaluados fueron: CIANO H-431 y PNS-4019. Las cepas de *U. maydis* utilizadas, provienen de colectas regionales previa prueba de compatibilidad para ocasionar la infección llevada a cabo en laboratorio e invernadero en plántulas. Los sitios de inoculación de estas cepas fueron en tallo a la altura del 6° y 7° nudo antes de la floración, y a la floración cuando los estigmas (pelos de jilote) se encontraban entre 3 y 6 centímetros fuera de las espatas (hojas que cubren la mazorca), inoculando en la punta, centro y base del jilote. Se usaron jeringas hipodérmicas de 20 ml., depositando un mililitro de la suspensión de esporas por planta a una concentración de aproximadamente  $3.0 \times 10^6$  células por mililitro. Se midió el porcentaje de infección de plantas, Índice de severidad de la infección y la producción de huitlacoche limpio, determinándose porcentajes de infección de entre 31.9 a 75.8% en el híbrido PNS-4019 y de 26.9 a 57.5% en el híbrido CIANO H-431 cuando la inoculación fue en el jilote. Los índices de severidad de la infección oscilaron entre 21.32 a 33.88 para los tratamientos de inoculación en el tallo (7° nudo) antes de la floración y los tres sitios de inoculación en el jilote. Los máximos rendimientos de huitlacoche se obtuvieron en el híbrido PNS-4019 (1937 Kg/Ha) con la inoculación en el centro del jilote, superando significativamente a CIANO H-341 el cual presentó una producción de 767 Kg/Ha con el mismo tratamiento de inoculación.

El autor concluye que es posible producir huitlacoche en híbridos regionales de maíz blanco, induciendo la infección de *U. maydis* en siembras de invierno en el Valle del Yaqui, siendo el híbrido PNS-4019

y el tratamiento de inoculación en el centro del jilote los mejores para este propósito.

#### **5.4.- Maíz (*Zea mays L.*)**

##### **5.4.1.- Generalidades**

Desde una perspectiva botánica, el maíz es una planta anual de la familia de las gramíneas, que mide desde 0.5 hasta 5 metros de altura, según las variedades, sus hojas son lanceoladas, abrazadoras, muy anchas, algo rígidas y ásperas en los bordes. Sus componentes fisiológicos lo hacen uno de los cereales más eficientes y con mayor potencial de rendimiento (González, 1991).

El cultivo del maíz se inició probablemente con la aparición de la agricultura en el Nuevo Mundo, hace más de 8000 años. El proceso de domesticación llevado a cabo por el hombre primitivo americano hasta la consecución del maíz actual ha sido realmente espectacular, transformando en un período de tiempo relativamente corto, una planta silvestre en el cereal más eficiente que se conoce, por lo que respecta a la conversión de energía solar, dióxido de carbono, agua y minerales del suelo, en alimento (López, 1991).

El maíz actual es una planta de alta productividad, una semilla puede producir de 600 a 1,000 granos. Su estructura hiperespecializada entraña la pérdida o el letargo de numerosas potencialidades características de otros cereales, tal como el ahijamiento y el desarrollo de espigas suplementarias, que le privan de la capacidad

de poder regular y compensar su densidad de establecimiento (López, 1991).

#### **5.4.2.- Importancia**

A pesar de la importancia que desde tiempos remotos ha tenido el maíz para los pueblos americanos y más recientemente para todo el mundo, no se ha podido determinar cuál es el origen de este grano, que indiscutiblemente fue uno de los elementos que permitieron el desarrollo de grandes civilizaciones como lo fueron la Mexica o la Maya, que poblaron Mesoamérica. Con el desarrollo del cultivo del maíz, fue posible entonces, la construcción de sociedades que diversificaron sus actividades y que llegaron a ser grandes civilizaciones. No obstante, su alimentación siguió dependiendo de la agricultura y, particularmente del maíz. Independientemente al proceso de mestizaje y de la introducción de nuevos cultivos y alimentos traídos por los españoles, el maíz nunca ha dejado de ser el alimento básico de millones de mexicanos, que ahora los consumen de manera variada e industrializada. (Hernández, 1991).

#### **5.4.3.- Desarrollo reproductivo**

Robles (1983), indica que el maíz es una planta sexual porque se multiplica por semillas, cuyo embrión se origina por la unión de un gameto masculino y uno femenino. Es monóica por encontrarse el androceo y el gineceo en la misma planta. Es unisexual por contener flores con un solo androceo (masculinas) y flores con gineceo (femeninas), o sea, flores separadas y con un solo sexo. Es

sexualmente incompleta por carecer de una de las estructuras del perianto floral. Es imperfecta por encontrarse solo flores pistiladas (femenina) o solo estaminadas (masculina), o sea, que tiene los dos órganos sexuales pero en flores diferentes. Es protandra por hacer deshiscencia las anteras antes de que los primeros estigmas sean receptivos.

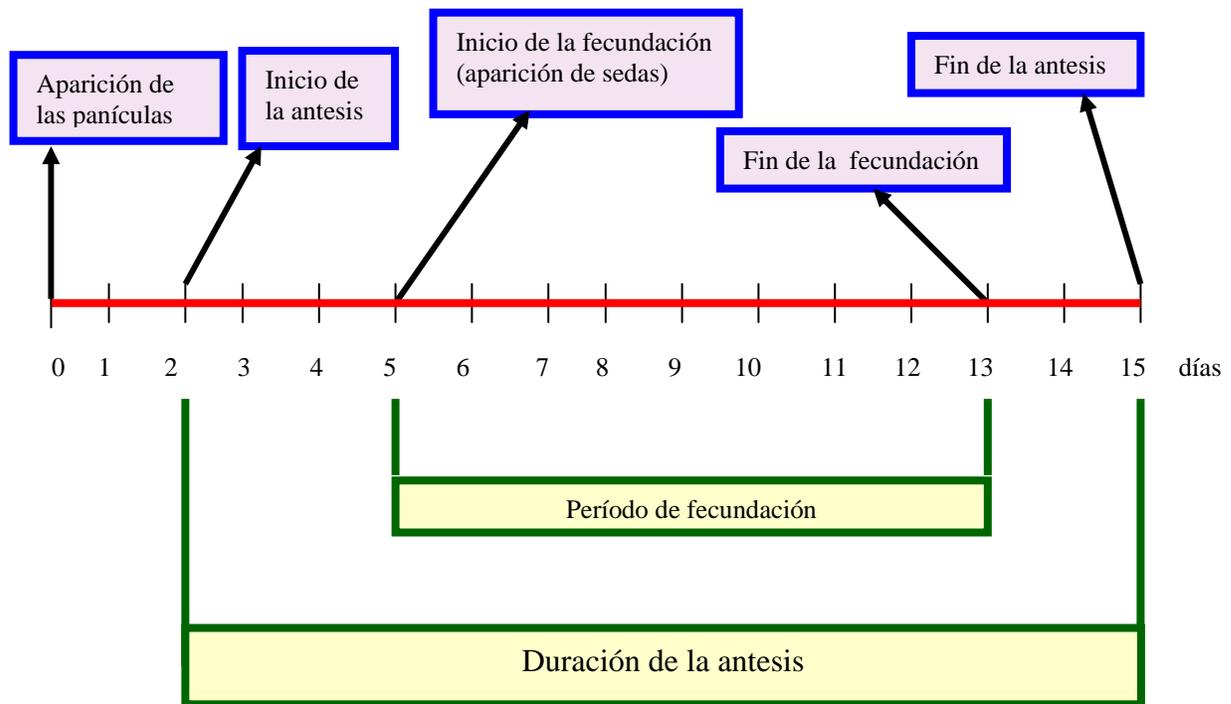
El desarrollo de la planta se da en varias etapas, en donde primeramente la semilla se comporta como un organismo heterótrofo, obteniendo la energía necesaria para su crecimiento, (almidón que en ella almacena). Esta etapa termina al aparecer la raíz y la primera, segunda y tercer hoja, que es cuando empieza a realizar el proceso de fotosíntesis y puede obtener su alimento del agua, dióxido de carbono, minerales de la tierra y la luz solar dándose en este período el cambio de heterótrofo a autótrofo. Posteriormente se da el desarrollo de la parte foliar de la planta, donde la velocidad de formación de las hojas depende de la temperatura, a menor temperatura, hay menor desarrollo de hojas. Cuando se han formado de 6 a 10 hojas, termina esta fase. A la par de esta fase, se da la formación de los órganos vegetativos y una vez que termina ésta, se inicia el desarrollo de la yema terminal (López, 1991).

Durante la fase vegetativa la yema apical forma, además de los entrenudos, nudos y hojas, yemas axilares, las cuales según su posición en la planta evolucionarán en forma diferente. Las yemas axilares asociadas a las hojas situadas en la zona media del tallo evolucionarán para formar espigas, potencialmente sobre cada planta existe de 4 a 5, pero solo una terminará su evolución y las otras

degenerarán. La inducción floral en el maíz es compleja. Los días cortos y las temperaturas frescas favorecen una fuerte inducción floral, propiciando el desarrollo de la inflorescencia femenina. Los días largos y las temperaturas cálidas retrasan la inducción y favorecen el desarrollo de la inflorescencia masculina. La velocidad y la calidad del desarrollo floral deben estar equilibradas para que exista una fase breve entre la emisión de polen y la aparición de sedas.

En la floración masculina la liberación del polen se inicia a partir de las flores de la base del eje principal. La duración de la floración masculina sobre una panícula puede dilatarse de 5 a 10 días. La floración femenina en una planta se alcanza cuando las primeras sedas o estilos son visibles al exterior de las espatas. Todas las sedas no aparecen al mismo tiempo, las primeras en hacerlo corresponden a los granos de la base, emergiendo todas en tres o cuatro días (Fig. 2) (López, 1991).

Cada flor está formada por ovario, estilo y una gran cantidad de estigmas, siendo éste un mecanismo evolutivo que asegura al máximo la perpetuación de la especie *Zea mays*. La inflorescencia pistilada hasta antes de la fecundación se denomina “jilote”, después de la fecundación y formación de granos tiernos en estado lechoso-masoso, constituyen el “elote”, al madurar los granos y estar en condiciones de cosecha, la inflorescencia se dice que es una “mazorca”. Cada mazorca está cubierta por “espatas”, las que en conjunto se conocen como “totomoxtle” (Robles, 1983).



**Figura 2. Período promedio de floración en un cultivo de maíz híbrido (López, 1991).**

#### **5.4.4.- Características del Híbrido PNS-4019**

Origen.- PNS-4019 es un híbrido de tres líneas desarrollado por la Productora Nacional de Semillas (PRONASE) cuyos progenitores son la cruce simple tropical (CST-2), usada como progenitor femenino y la línea T39, usada como progenitor masculino.

Fenotipo.- La planta de PNS-4019 en siembras de otoño presenta días a floración femenina de 89 días y los rendimientos de grano han sido

de 8.4 Ton/Ha en promedio de varias evaluaciones (López 1999, citado por Ruíz, 1999).

## **VI.- MATERIALES Y MÉTODO**

### **6.1.- Ubicación del experimento**

El experimento se llevó a cabo en los laboratorios de la Dirección de Investigación y Estudios de Posgrado (DIEP) del Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON), en Cd. Obregón, Sonora, y terrenos del Campo Experimental ITSON-DIEP, localizados en la manzana 910 del Valle del Yaqui.

## **6.2.- Cepas de *U. maydis***

Se utilizó la cruce de dos cepas compatibles de *U. maydis* (C-2 y C-3) recolectadas en el Valle del Yaqui, las cuales presentaron mayor grado de infección y patogenicidad en plántulas de maíz, en estudios previos llevados a cabo por Alvarez (1999) y Ruíz (1999).

## **6.3.- Genotipos de maíz**

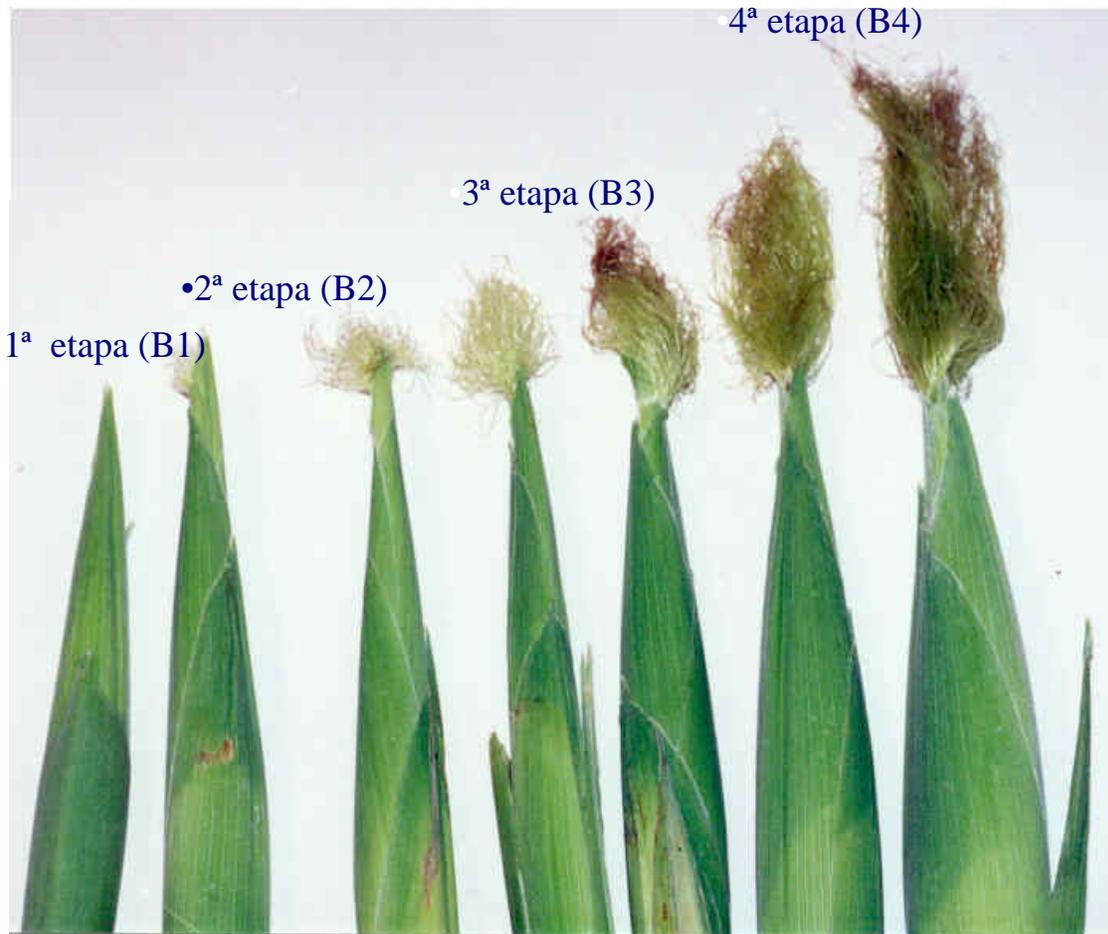
Se utilizó el híbrido PNS-4019 aportada por la Productora Nacional de Semillas (PRONASE), del cual se tienen antecedentes de mayor susceptibilidad a la infección inducida por *U. maydis*, según Ruíz (1999).

## **6.4.- Diseño experimental**

Se utilizó el diseño experimental factorial combinatorio con dos factores con un arreglo en bloques completamente al azar con cinco repeticiones, donde el factor A correspondió a los sitios de inoculación en el jilote (A1= inoculación en la base, A2= inoculación en el centro), y el factor B a los tiempos o etapas de inoculación en el período de fecundación del jilote de maíz (figura 3, cuadro 1) de acuerdo con el tiempo promedio de floración en un maíz híbrido mostrado por López (1991).

**Cuadro 1.- Sitios y tiempos de inoculación**

FACTOR A		FACTOR B	
• A1	Inoculación en la base del jilote	• B1	Antes de la fecundación
		• B2	Inicio de la fecundación
		• B3	Un medio de la fecundación
• A2	Inoculación en el centro del jilote	• B4	Final de la fecundación
		• B5	Testigo



**Figura 3: Etapas de fecundación del maíz (*Zea mays*).**

**6.5.- Fecha y método de siembra**

La siembra del maíz se realizó el 2 de mayo de 2000, en el campo se aprovechó un lote experimental, donde se está evaluando la durabilidad de diferentes colores de acolchado (plástico) con sistema de riego por goteo y fertigación. Se sembraron dos semillas por orificio para después dejar una sola planta, los cuales tienen una separación de 30 cm y la distancia entre camas es de 1.60 m (figura 4), lo que representa una población de 20,800 plantas por hectárea.



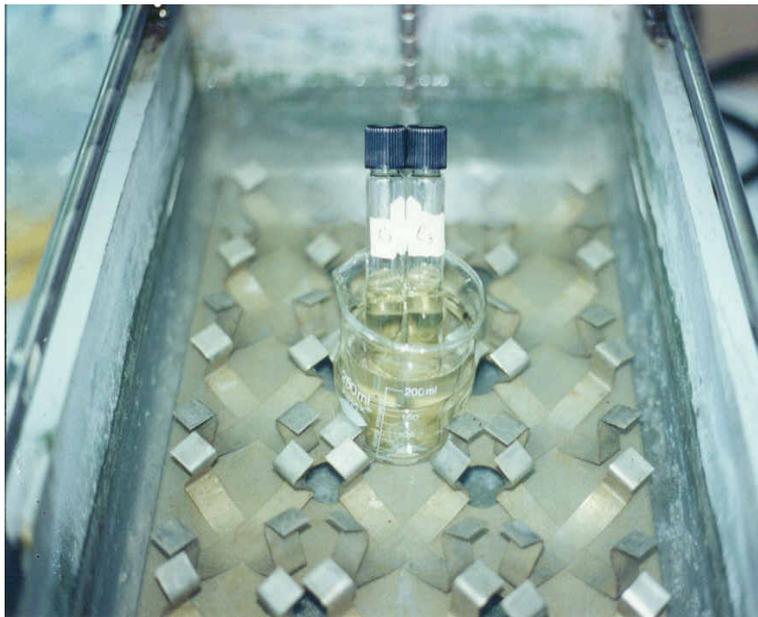
**Figura 4: siembra de semilla en surcos con acolchado plástico, a una distancia de 30 cm entre cada orificio y 1.60 m de separación entre surco y surco.**

No se aplicaron nutrientes en el agua de riego, ya que el maíz fue sembrado para blanquear el terreno, el cual se encontraba con una cantidad elevada de nutrientes aplicados a la calabaza sembrada en el ciclo inmediato anterior.

La emergencia de la planta se dio el 6 de mayo de 2000 y la floración masculina se presentó a los 55 días y la floración femenina a los 62 días después de la siembra.

### **6.6.- Preparación del inóculo e inoculación**

Con las cepas aisladas, se inocularon tubos con 10 ml de caldo dextrosa de papa, de la marca DIFCO, elaborado según las indicaciones del fabricante. Se incubaron por 18 – 20 horas a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  en un baño con agitación a 200 rpm ( Figura 5).



**Figura 5.- Preparación del inóculo en 10 ml de caldo dextrosa de papa, incubado en baño maría con agitación.**

A estos cultivos se les evaluó la concentración mediante diluciones y conteo en la cámara de Neubauer. Una vez que se evaluaron las concentraciones, se determinó el volumen de la suspensión de esporas que se necesita para obtener una concentración final de  $2.5 \times 10^6$  células por mililitro. Para la inoculación de las mazorcas se siguió la misma técnica utilizada por Ruíz (1999), donde se inyectó 1 ml de la suspensión a cada jilote, con una jeringa hipodérmica de 20 ml (Figura 6)

La inoculación se llevó cabo una vez que se presentó la floración femenina a los 62 días después de la siembra, el 2 de julio de 2000 se inocularon la etapa antes de la fecundación, para la cual se cubrieron los jilotes con una bolsa de papel para evitar la polinización, aunque todavía no emergían las sedas de las espatas. El 6 de julio de 2000 se inoculó la etapa al inicio y a un medio de la fecundación y el 8 de julio del mismo año, se inoculó la etapa al final de la fecundación para ambos sitios de inoculación (centro y base del jilote).



**Figura 6.- Forma de inoculación en el centro del jilote antes de la fecundación. Nótese que el jilote está cubierto con una bolsa de papel para evitar la polinización (tratamiento B1); después de la inoculación se descubrió éste.**

## 6.7.- Variables a evaluar

**a).- Porcentaje de plantas con infección:** Para determinar esta variable se contabilizaron aquellas plantas de maíz con síntomas de infección de *U. maydis* en la mazorca que fue inoculada en cada uno de los tratamientos. El porcentaje se obtuvo de la siguiente forma:

$$\% = \frac{\text{Número de plantas infectadas}}{\text{Número de plantas por tratamiento}} \times 100$$

**b).- Índice de severidad de la infección:** Esta variable representa el grado de infección producida en la mazorca por efectos de la inoculación artificial de *U. maydis* y se determinó en función del peso de mazorcas infectadas y el peso de huitlacoche limpio separado de la mazorca.

El índice de severidad se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{ISI} = \frac{\text{RHL}}{\text{RMH}} \times 100$$

Donde:

ISI = índice de severidad de la infección

RHL = Rendimiento de huitlacoche limpio

RMH = Rendimiento de mazorcas (sin espigas) con huitlacoche

**c).- Rendimiento de huitlacoche limpio:** Para determinar esta variable se tomaron las mazorcas infectadas con huitlacoche y se separaron las agallas de las mazorcas manualmente y/o utilizando un cuchillo de cocina (figura 7) y se pesó por separado para obtener el

rendimiento de huitlacoche limpio (sin olote). Estos datos sirvieron también para el cálculo del Índice de Severidad de la Infección.



**Figura 7.- Separación manual de agallas de huitlacoche de la mazorca del maíz.**

**d).- Cubrimiento de huitlacoche en mazorca:** Se determinó por observación visual en cada mazorca infectada, separándose en rangos de 1 – 25%, 26 – 50%, 51 – 75% y 76 a 100% de cubrimiento por agallas (figura 8).

### **6.8.- Cosecha**

La cosecha de huitlacoche se realizó de los 12 a los 23 días después de la inoculación. Se cortaron manualmente las mazorcas con huitlacoche, se eliminaron las espigas y se pesaron las mazorcas. Se

separaron las agallas de la mazorca con la mano y utilizando un cuchillo de cocina, para posteriormente pesar las agallas.



**Fig. 8.-** Diferentes grados de cubrimiento de huitlacoche en la mazorca por efecto de la inoculación artificial de *U. maydis*.

Es importante mencionar que los datos reales fueron transformados para realizar el análisis de varianza, ya que se manejaron porcentajes y valores de cero, utilizando la herramienta estadística de  $\sqrt{x+1}$ , recomendada para ajustar este tipo de resultados. Donde “X” representa el valor real de la variable.

## **VII.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **1.- Porciento de infección**

Esta variable nos representa el número de plantas infectadas por cada 100 plantas inoculadas con *U. maydis*; y se determina contabilizando las plantas de maíz con síntomas de infección en las mazorcas que fueron inoculadas en cada tratamiento.

El análisis de varianza para el porcentaje de infección (cuadro 2) muestra la diferencia significativa para el factor A (sitios de inoculación) y una diferencia altamente significativa para el factor B (períodos de fecundación) y no existe significancia estadística en la interacción de ambos factores.

**Cuadro 2.- Análisis de varianza para el porcentaje de infección de *U. maydis* en plantas de maíz (*Zea mays*).**

FV	GL	SC	CM	F Calculada	F Tablas	
					0.05	0.01
repeticiones	4	43.88	10.97	1.1123		
Factor A	1	63.50	63.5	6.4389 *	4.11	7.43
Factor B	4	560.29	140.07	14.2019 **	2.65	3.9
Interacción	4	73.09	18.27	1.8327 NS	2.65	3.9
Error	36	355.06	9.86			
Total	49	1095.83				

C.V. = 45.85%

En el cuadro 3 se presentan los resultados de la comparación de promedios del porcentaje de infección obtenidos en cada uno de los períodos de fecundación del maíz en los que fue inoculado *U. maydis*, donde se observa que el mayor porcentaje de infección se obtuvo al inocular al inicio de la fecundación del maíz (76.73%), siendo muy similar a la inoculación antes de la fecundación (74.51%), observándose que no hubo diferencia significativa entre ambos tratamiento; igualmente, la inoculación a la mitad de la fecundación (65.30%) es estadísticamente igual a la inoculación antes y al inicio de la fecundación.

También se observa que el tratamiento donde se inoculó al final de la fecundación del maíz, fue el que menor porcentaje de plantas infectadas presentó (32.59%) y estadísticamente es igual al tratamiento de inoculación a la mitad de la fecundación y

estadísticamente diferente a los tratamientos donde se inoculó antes y al inicio de la fecundación, y al testigo, sin inoculación.

**Cuadro 3.- Efecto de las etapas de fecundación del maíz sobre el porcentaje de infección de *U. maydis* en mazorcas de maíz.**

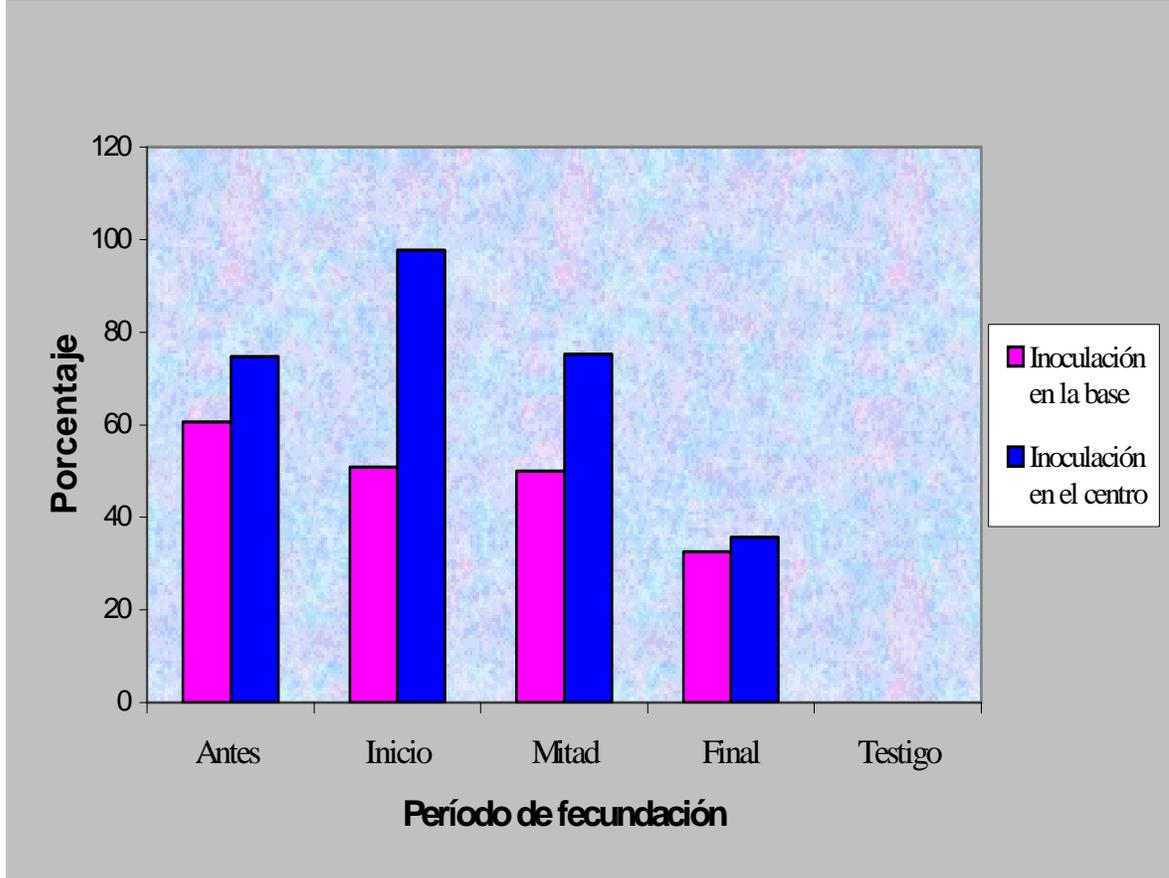
Etapas de Fecundación	Porcentaje de Infección		
	DT*	%	SE**
Antes	8.5969	74.51	a
Inicio	10.861	76.73	a
Mitad	8.047	65.30	a b
Final	5.741	32.59	b
Testigo	1	0	c

DMS = 2.8516

\* DT = Datos transformados

\*\*SE = Significancia estadística (0.05)

En la gráfica 1 se muestra que la inoculación de *U. maydis* en el centro del jilote fue el que mayor porcentaje de mazorcas infectadas propició. Así mismo se observa que el mejor período de fecundación para provocar un mayor porcentaje de mazorcas infectadas es al inicio de la fecundación. Esto indica que el mejor tratamiento para tener un alto de porcentaje de infección es inocular en el centro del jilote al inicio de la fecundación.



**Gráfica 1.- Efecto de sitios de inoculación de *U. maydis* en jilote, en diferentes etapas de fecundación del maíz, en el porcentaje de infección por huilacoche. Valle del Yaqui. Ciclo primavera - verano 2000.**

## **2.- Índice de Severidad de la Infección**

El índice de severidad de la infección representa el grado de infección producida en la mazorca por efectos de la inoculación artificial del hongo. En el cuadro 4 se muestra el análisis de varianza para el índice de severidad de la infección, donde muestra que existe una diferencia altamente significativa para el factor A (sitios de inoculación), el Factor B (etapas de fecundación del maíz) y en la interacción de ambos factores

**Cuadro 4.- Análisis de varianza para el Índice de Severidad de la Infección de *U. maydis* en la mazorca de maíz.**

FV	GL	SC	CM	F Calculada	F Tablas	
					0.05	0.01
repeticiones	4	3.333	0.8334	1.3386		
Factor A	1	9.096	9.0969	14.6111 **	4.11	7.43
Factor B	4	206.504	51.6261	82.9197 **	2.65	3.9
Interacción	4	23.16	5.7901	9.2998 **	2.65	3.9
Error	36	22.413	0.6226			
Total	49	264.509				

C.V. = 17.50%

En el cuadro 5 se presenta la comparación de promedios del índice de severidad de la infección para las diferentes etapas de fecundación del maíz con respecto al sitio de inoculación de *U. maydis*, teniendo que la inoculación en la base del jilote antes de la fecundación fue donde se obtuvo el mayor índice de severidad de la infección (índice de 40) y fue estadísticamente diferente a las etapas inicial, mitad y final de la fecundación. Asimismo, para este sitio de inoculación, las etapas inicial (índice de 18.4); mitad (índice de 22.26) y final (índice de 15.7) fueron estadísticamente iguales.

En cuanto al sitio de inoculación en el centro del jilote, se observa que las etapas antes y al inicio de la fecundación son estadísticamente iguales con índices de 56.1 y 57.6 respectivamente. No obstante, la etapa a la mitad de la fecundación es estadísticamente

diferente a la etapa antes y al inicio de fecundación. También las etapas a la mitad, final y el testigo son estadísticamente diferentes, teniendo el máximo índice de severidad el tratamiento al inicio de la fecundación, en este sitio e inoculación.

En el promedio entre los dos sitios de inoculación evaluados, se observa que todas las etapas de fecundación, se comportaron estadísticamente diferentes, siendo el mejor tratamiento el de la inoculación antes de la fecundación con un índice de 48.05.

**Cuadro 5.- Efecto de la etapa de fecundación del maíz (*Z. mays*) con respecto al sitio de inoculación de *U. maydis* en el Índice de Severidad de la Infección de huitlacoche en la mazorca. Valle del Yaqui. Ciclo primavera – verano 2000.**

Etapa de fecundación del maíz	Sitios de inoculación en jilote						promedio		
	Base			Centro					
	DT	Indice	SE	DT	Indice	SE	DT	Indice	SE
Antes	6.24	40.0	a	7.55	56.1	a	6.89	48.0	a
Inicio	4.31	18.4	b	7.64	57.6	a	5.97	38.0	b
Mitad	4.79	22.2	b	4.76	22.1	b	4.78	22.2	c
Final	4.05	15.7	b	3.71	14.2	c	3.88	14.9	d
Testigo	1.00	0.0	c	1.00	0	d	1.00	0.0	e
DMS = 1.0132							DMS = 0.7164		

DT = Datos transformados

SE = significancia estadística (0.05)

En el cuadro 6 y gráfica 2, se muestran los resultados de la comparación de medias del efecto del sitio de inoculación artificial de *U. maydis* en los diferentes períodos de fecundación del maíz (*Z.*

mays) para el índice de severidad de la infección, en donde se observa que únicamente en las etapas de fecundación antes e inicio de la fecundación del maíz, se comportaron estadísticamente diferentes, los dos sitios de inoculación, siendo el mejor el de inoculación en el centro del jilote con índices de 56.1 para antes y 57.6 para inicio de la fecundación. Así mismo lo muestra el promedio para esta variable.

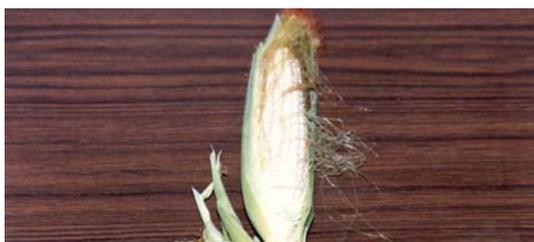
**Cuadro 6.- Comportamiento de los períodos de fecundación del maíz sobre el sitio de inoculación de *U. maydis* en la mazorca en el Índice de Severidad de la Infección. Valle del Yaqui. Ciclo Primavera – Verano 2000.**

Sitios de	Período de Fecundación																		
	Antes			Inicio			Mitad			Final			Testigo			Promedio			
Inoculación	DT	Indice	SE	DT	Indice	SE	DT	Indice	SE	DT	Indice	SE	DT	Indice	SE	DT	Indice	SE	
Base	6.2	40.0	b	4.3	18.4	b	4.8	22.2	a	4.1	15.7	a	1	0	a	4.0	19.3	b	
Centro	7.5	56.1	a	7.6	57.6	a	4.7	22.1	a	3.7	14.2	a	1	0	a	4.9	30	a	
DMS = 1.0132															DMS = 0.4531				

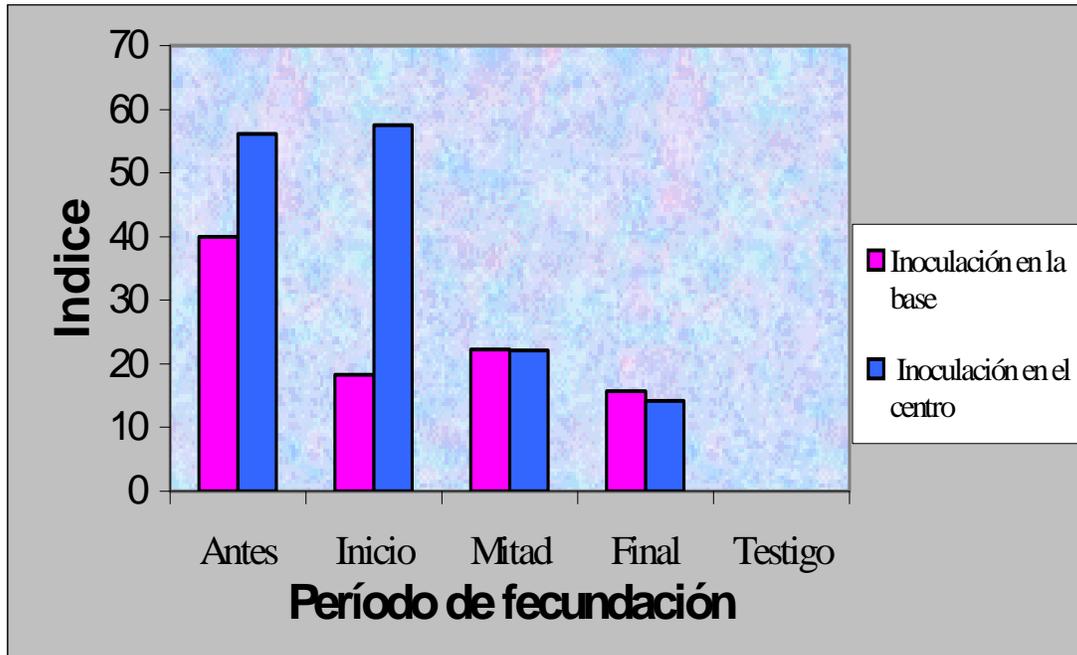
DT = Datos transformados

SE = Significancia estadística (0.05)

El Índice de Severidad de la Infección de huitlacoche en la mazorca presentó una diferencia significativa entre la inoculación de *U. maydis* en el centro y en la base del jilote, esto debido posiblemente a que al inocular en la base del jilote, la infección se dirigió hacia el jilote secundario (figura 9).



**Figura 9.- Desarrollo de huitlacoche en el jilote secundario al inocular las esporas**



**Gráfica 2.- Índice de severidad de la infección de *U. maydis* en dos sitios de inoculación en la mazorca en diferentes etapas de fecundación del maíz (*Z. Mays*). Valle del Yaqui. Ciclo primavera - verano 2000.**

### **3.- Rendimiento de huitlacoche limpio**

El análisis de varianza para el rendimiento de huitlacoche limpio (cuadro 7) muestra diferencia altamente significativa en el factor A (sitios de inoculación) y en el factor B (período de fecundación), y diferencia significativa en la interacción de ambos factores.

En el cuadro 8 se muestra el efecto de la etapa de fecundación del maíz con respecto al sitio de inoculación de *U. maydis*, observándose que para la inoculación en la base del jilote, las etapas antes, al inicio y a la mitad de la fecundación son estadísticamente iguales, obteniéndose un rendimiento de 428.1 Kg/Ha antes de la

fecundación, 228 Kg/Ha al inicio de la fecundación y 272 Kg/Ha a la mitad de la fecundación. Asimismo, las etapas al inicio (con 228 Kg/Ha.), a la mitad (272 Kg/Ha.) y al final de la fecundación (122Kg/Ha.) son estadísticamente iguales.

**Cuadro 7.- Análisis de varianza para el rendimiento de huitlacoche limpio.**

FV	GL	SC	CM	F Calculada	F Tablas	
					0.05	0.01
repeticiones	4	191.695	47.92	1.2206		
Factor A	1	967.031	967.03	24.6307 **	4.11	7.43
Factor B	4	11783.085	2945.77	75.0301 **	2.65	3.9
Interacción	4	468.347	117.08	2.9823 *	2.65	3.9
Error	36	1413.402	39.26			
Total	49	14823.562				

C.V. 20.65%

Para la inoculación en el centro el jilote, la inoculación antes (1141.8Kg/Ha) y al inicio de la fecundación (1678 Kg/Ha), fueron estadísticamente iguales. La inoculación en el centro del jilote a la mitad de la fecundación, con un rendimiento de 495 Kg/ha es estadísticamente diferente a las etapas antes y al inicio de la fecundación, así como a la inoculación al final de la fecundación del maíz con un rendimiento, de este último, de 111 Kg/Ha. Siendo el mejor tratamiento la inoculación en el centro del jilote al inicio de la fecundación.

En lo que respecta al promedio, las etapas antes y al inicio de la fecundación se comportaron estadísticamente iguales, con un rendimiento de 784.95 y 953 Kg/Ha, respectivamente. La etapa a la

mitad de la fecundación (383.5 Kg/Ha.) es estadísticamente diferente a las etapas antes y al inicio de la fecundación, así como a la etapa al final de la fecundación (116.5Kg/Ha). La mejor etapa de fecundación del maíz para *U. maydis*, fue al inicio de la fecundación, con un rendimiento de 953.0 Kg/Ha., asimismo el mejor sitio de inoculación fue el centro del jilote, con un rendimiento de 1687 Kg/Ha.

**Cuadro 8.- Efecto de la etapa de fecundación del maíz (*Z. mays*) con respecto al sitio de inoculación de *U. maydis* en el rendimiento de huitlacoche limpio. Valle del Yaqui. Ciclo primavera – verano 2000.**

Etapa de fecundación del maíz	Sitios de inoculación en jilote						promedio		
	Base			Centro					
	DT	Kg/Ha	SE	DT	Kg/Ha	SE	DT	Kg/Ha	SE
Antes	19.8	428.1	a	33.658	1141.8	a	26.740	784.95	a
Inicio	14.4	228	a b	37.624	1678	a	26.015	953.0	a
Mitad	16.2	272	a b	21.940	495	b	19.077	383.5	b
Final	10.9	122	b	10.458	111	c	10.707	116.5	c
Testigo	1.0	0	c	1.000	0	d	1.000	0	d
DMS = 5.4551							DMS = 3.8573		

DT = Datos transformados

SE = Significancia estadística (0.05)

En lo que respecta al promedio, las etapas antes y al inicio de la fecundación se comportaron estadísticamente iguales, con un rendimiento de 784.95 y 953 Kg/Ha, respectivamente. La etapa a la mitad de la fecundación (383.5 Kg/Ha.) es estadísticamente diferente a las etapas antes y al inicio de la fecundación, así como a la etapa al final de la fecundación (116.5Kg/Ha). La mejor etapa de fecundación del maíz para *U. maydis*, fue al inicio de la fecundación, con un

rendimiento de 953.0 Kg/Ha, asimismo el mejor sitio de inoculación fue el centro del jilote, con un rendimiento de 1687 Kg/Ha.

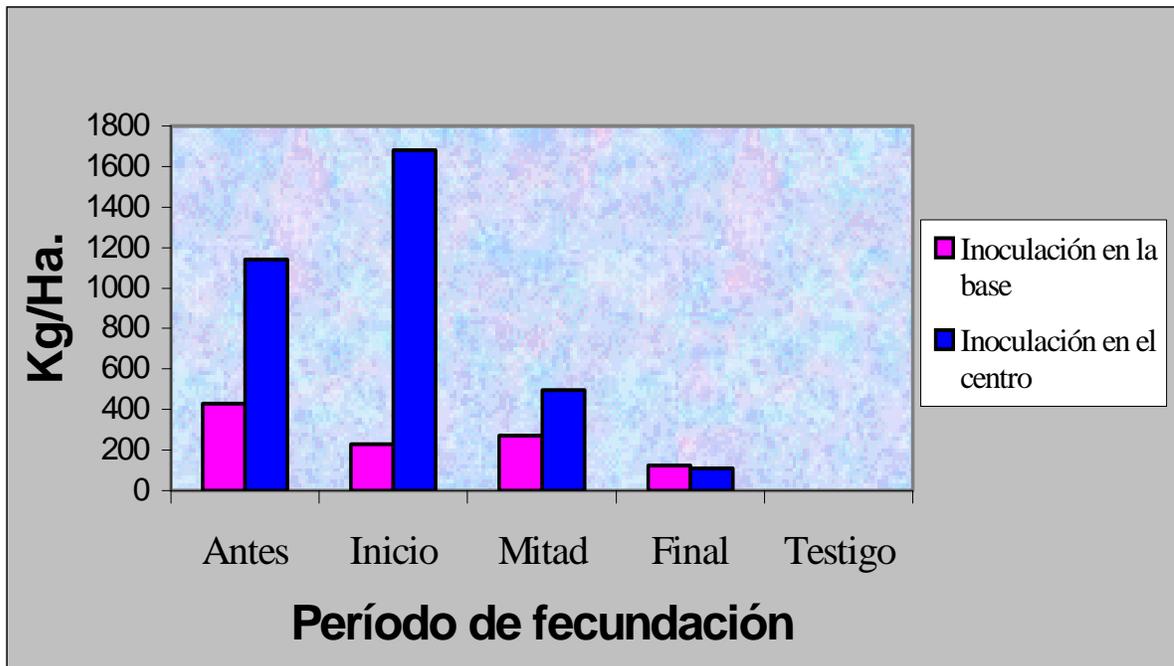
El comportamiento de los sitios de inoculación con respecto a períodos de fecundación del maíz, se presentan en el cuadro 9 y en la gráfica 3, donde se observa que en las etapas antes, inicio y mitad de la fecundación el sitio de inoculación se comportó estadísticamente diferente, siendo el mejor sitio para estas etapas el del centro del jilote, y la mejor combinación fue la inoculación en el centro del jilote al inicio de la fecundación del maíz, con un rendimiento de 1678 Kg/Ha. Al final de la fecundación, los dos sitios de inoculación (base y centro) se comportaron sin significancia estadística con los dos más bajos rendimientos de huitlacoche limpio, 122 y 111 Kg/Ha, respectivamente.

**Cuadro 9.- Comportamiento de los sitios de inoculación con respecto a los períodos de fecundación del maíz (*Z. mays*) con respecto al rendimiento de huitlacoche sin mazorca (limpio).**

Sitios de inoculación	Período de Fecundación															Promedio		
	Antes			Inicio			Mitad			Final			Testigo					
	DT	Kg/H a	SE	DT	Kg/Ha	SE	DT	Kg/H a	SE	DT	Kg/H a	SE	DT	Kg/Ha	SE	DT	Kg/H a	SE
Base	19.8	428	b	14	228	b	16.2	272	b	10.9	122	a	1	0	a	12.5	210	b
Centro	33.6	1141	a	37	1678	a	21.9	495	a	10.4	111	a	1	0	a	20.9	687	a
DMS = 5.4551															DMS = 2.4396			

DT = Datos transformados

SE = Significancia estadística (0.05)



**Gráfica 3.- Rendimiento de huitlacoche limpio en dos sitios de inoculación de *U. maydis* en diferentes períodos de fecundación del maíz (*Z. mays*). Valle del Yaqui. Ciclo primavera – verano 2000.**

#### **4.- Mazorcas cubiertas por huitlacoche en grado de 50 a 100%.**

Esta variable nos representa el porcentaje de mazorcas que presentaron un cubrimiento del 50 al 100 % de huitlacoche. El análisis de varianza para el porcentaje de mazorcas con cubrimiento de huitlacoche en 50 al 100% se muestra en el cuadro 10. En este análisis se observa una diferencia altamente significativa para los factores A (sitios de inoculación) y B (períodos de fecundación) así como la interacción de ambos factores.

**Cuadro 10.- Análisis de varianza para el porcentaje de huitlacoche con grado de cubrimiento de 50 a 100%**

FV	GL	SC	CM	F Calculada	F Tablas	
					0.05	0.01
repeticiones	4	5.893	1.4734	0.5012		
Factor A	1	81.151	81.1511	27.6045 **	4.11	7.43
Factor B	4	248.403	62.1508	21.1413 **	2.65	3.9
Interacción	4	68.665	17.1663	5.8394 **	2.65	3.9
Error	36	105.831	2.9397			
Total	49	510.145				

C.V. = 48.38%

En el cuadro 11 se muestra el efecto de las etapas de fecundación del maíz con respecto a los sitios de inoculación de *U. maydis*. Para la inoculación en la base del jilote, la etapa antes de la fecundación es la que presentó el más alto porcentaje (43.34%) de mazorcas cubiertas por huitlacoche en grado de 50 a 100%, siendo este tratamiento significativamente diferente a las demás etapas, las cuales tuvieron un porcentaje muy bajo de mazorcas en esta categoría.

Con respecto a la inoculación en el centro del jilote, las etapas, antes e inicio de la fecundación, son las que presentaron los más altos porcentajes de mazorcas en la categoría de 50 a 100% cubiertas por huitlacoche, con un porcentaje de 63.6 y 76.8 respectivamente, siendo éstas estadísticamente iguales y diferentes a las otras etapas probadas.

**Cuadro 11.- Efecto de la etapa de fecundación del maíz (*Z. mays*) con respecto al sitio de inoculación de *U. maydis* en el porcentaje de mazorcas con grado de cubrimiento del 50 al 100%. Valle del Yaqui. Ciclo primavera – verano 2000.**

Etapa de fecundación del maíz	Sitios de inoculación en jilote						promedio		
	Base			Centro					
	DT	%	SE	DT	%	SE	DT	%	SE
Antes	5.9	43.3	a	7.9	63.6	a	6.9	53.4	a
Inicio	1.8	5.0	b	8.8	76.8	a	5.3	40.9	b
Mitad	1.5	2.8	b	3.2	11.0	b	2.4	6.9	c
Final	1.0	0.0	b	3.0	15.0	b	2.0	7.5	c
Testigo	1.0	0.0	b	1.0	0.0	c	1.0	0	c
DMS = 2.2015							DMS = 1.556		

DT = Datos transformados

SE = Significancia estadística (0.05)

En relación al promedio del porcentaje de mazorcas cubiertas por huitlacoche en grado de 50 a 100%, se tiene que la etapa antes de la fecundación (53.47%) es estadísticamente diferente las demás etapas, la inoculación al inicio de la fecundación (40.92%) es estadísticamente diferente a las etapas a la mitad (6.93%) y al final (7.5%) de la fecundación así como al testigo. Esto demuestra que, la mejor etapa en la fecundación del maíz para inocular *U. maydis*, tanto en la base como en el centro del jilote fue antes de que se fecundaran los ovarios del jilote, pero al inocular en el centro, las mejores etapas son desde antes hasta el inicio de la fecundación.

En el cuadro 12 se muestra la comparación de medias del porcentaje de mazorcas cubiertas con huitlacoche en grado de 50 a 100%, en los sitios de inoculación y los diferentes periodos de fecundación del maíz; observándose que solamente en la etapa de inicio de la

fecundación hubo un comportamiento estadístico diferente para los dos sitios de inoculación, siendo en este caso el centro del jilote con el 76.8% de mazorcas en la categoría estudiada. En cuanto al sitio de inoculación el promedio indica que el mejor sitio de inoculación es el centro del jilote con un porcentaje de 33.3% comparado con 10.2% cuando se inocula en la base (figura 10).

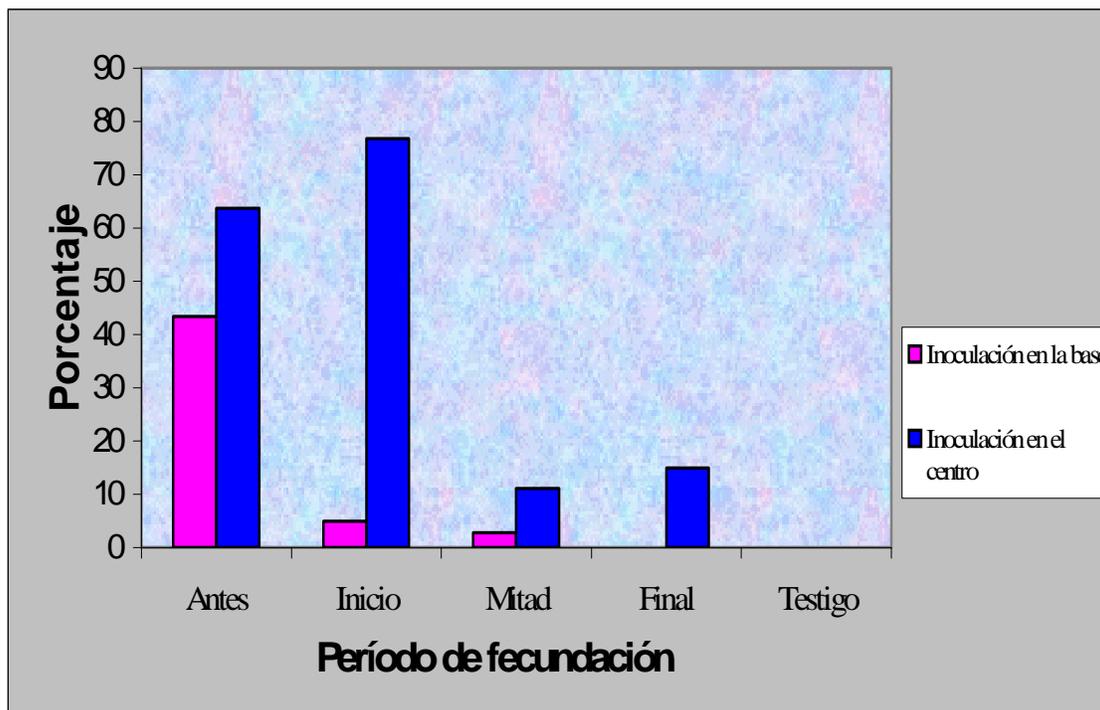
**Cuadro 12.- Comparación de los sitios de inoculación de huitlacoche en mazorca en los diferentes períodos de fecundación del maíz sobre el porcentaje de mazorcas en grado de cubrimiento de 50 a 100%.**

Sitios de Inoculación	Período de Fecundación															Promedio		
	Antes			Inicio			Mitad			Final			Testigo			DT	%	SE
	DT	%	SE	DT	%	SE	DT	%	SE	DT	%	SE	D	%	SE			
Base	5.9	43.3	a	1.8	5.0	b	1.5	2.84	a	1.0	0	a	1	0	a	2.2	10.2	b
Centro	7.9	63.6	a	8.8	76.8	a	3.2	11.02	a	3.0	15	a	1	0	a	4.8	33.3	a
DMS = 2.2015																DMS = 0.9846		

DT = Datos transformados

SE = Significancia estadística (0.05)

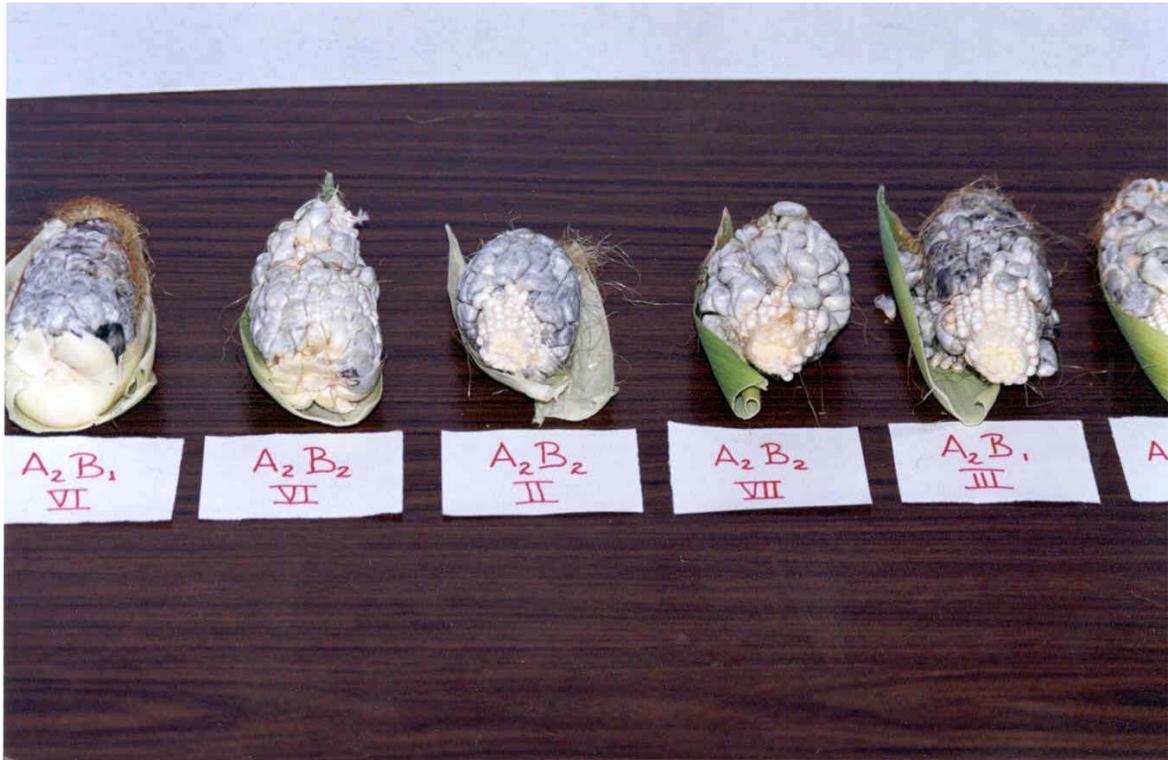
En lo que respecta al porcentaje de infección, índice de severidad de la infección y al rendimiento de huitlacoche, Ruíz (1999), inoculó *U. maydis* en diferentes sitios de la planta de maíz (6° y 7° nudo y jilote), obteniendo que al inocular en el jilote se obtiene el mayor rendimiento de huitlacoche. Flores del Campo (1991) inoculó *U. maydis* en la semilla de maíz, asperjó teliosporas al cogollo en la



**Gráfica 4.- Efecto de la etapa de fecundación del maíz (*Z. Mays*) en el porcentaje de mazorcas cubiertas por huitlacoche en grado de 50 a 100% con dos sitios de inoculación de *U. maydis* en el jilote. Valle del Yaqui. Ciclo primavera – verano 2000.**

etapa de 6 a 8 hojas e inyectó teliosporas al jilote, resultando el mejor método la inyección en el jilote; de igual manera Girón, 1991 (citado por Leal, 1996), Villanueva (1992) y López (1988), llegaron a la misma conclusión, al probar los mismos sitios. Valverde et al (1993) menciona que la formación de agallas se incrementa significativamente por medio de la inyección de basidiosporas o teliosporas en la punta del jilote. Por el contrario, Ruíz (1999) probó tres sitios de inoculación en el jilote (base, centro y punta) obteniendo un mayor rendimiento de huitlacoche al inocular en el centro del jilote. En esta investigación se corroboró el planteamiento de Ruíz

(1999), ya que la inoculación en el centro del jilote produce el mayor rendimiento de huitlacoche con respecto a la inoculación en la base del jilote.



**Figura 10.- Mazorcas que presentan un cubrimiento de huitlacoche con grado de 50 al 100%.**

Para establecer el mejor período de fecundación del maíz para inocular *U. maydis*, Valverde (1995) menciona que la inoculación en la mazorca tierna cuando las sedas tienen una longitud de 3 a 6 centímetros fuera de las espatas es ideal para la producción de huitlacoche; sin embargo, López (1988) inoculó en el jilote en desarrollo y a la salida de los estilos, obteniendo que la inoculación en el jilote en desarrollo aporta los mejores resultados. Du Toit y Pataky (1999) probaron los efectos de la polinización del maíz, inoculando jilotes sin polinizar y jilotes en diferentes grados de polinización,

estableciendo que a medida que las sedas envejecen, la infección por *U. maydis* decrece y que la incidencia de mazorcas con agallas disminuyó grandemente en mazorcas expuestas al polen en relación con las mazorcas que no fueron polinizadas. Snetselaar y Mims (1993) sugieren que los estilos sin polinizar son más susceptibles a la infección con *U. maydis* que los estilos polinizados. Los mejores resultados en esta investigación se obtuvieron cuando se inoculó en el jilote al inicio de la fecundación, cuando las sedas empiezan a emerger de las espatas hasta una longitud de 6 centímetros, aunque los resultados no fueron nada despreciables al inocular en el jilote antes de ser fecundado, para evitar algún grado de polinización, el jilote se cubrió con una bolsa de papel y se descubrió después de ser inoculado.

## VIII- CONCLUSIONES

- El tratamiento que presentó el mayor porcentaje de plantas con infección de huitlacoche, fue la inoculación de *U. maydis* en el centro de la mazorca, al inicio de la fecundación, con un 76.73%.
- El mayor índice de severidad de la infección se obtuvo en el tratamiento de inoculación en el centro del jilote al inicio de la fecundación, con un índice de 57.6.
- El mayor rendimiento de huitlacoche se obtuvo con la inoculación de *U. maydis* en el centro de la mazorca al inicio de la fecundación, con un rendimiento de 1687 Kg/Ha.

- El mayor porcentaje de mazorcas con grado de cubrimiento del 50 al 100%, se obtuvo al inocular *U. maydis* en el centro del jilote al inicio de la fecundación con 76.84%.
- El mejor sitio para la inoculación artificial de *U. maydis*, fue el centro de la mazorca.
- El tiempo óptimo de la fecundación del maíz para la inoculación artificial de *U. Maydis* fue desde antes de la fecundación (antes de que emerjan las sedas) hasta el inicio de la fecundación (cuando las sedas empiezan a emerger hasta una longitud de 6 cm.).

## **BIBLIOGRAFÍA**

Agrios, G.N. 1991. Fitopatología. Limusa S.A de C.V. México. pp.438 – 443.

Agripedia. 2000. Corn Smut Life Cycle. Plant Pathogenic Fungi, <http://frost.ca.uky.edu/agripedia/ppa652/smutcycl.htm>.

Alvarez, C.D.N. 1999. Aislamiento y evaluación de la patogenicidad de cepas del hongo *Ustilago maydis* (huitlacoche) del Valle del Yaqui en plantas de maíz. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Sonora. Cd. Obregón, Sonora, México. pp. 51-57

Banuett, F. and I. Herskowitz. 1988. Ustilago maydis, smut of maize. Advances in plant pathology. Volumen 6, Chapter 29. USA. Pp. 428 – 452.

Banuett, F. and I. Herskowitz. 1992. Pathogenicity Determinants in the Smut Fungi of cereals. Chapter 5. USA. Pp. 174 – 180.

Flores del Campo, R. J. 1991. Producción de huitlacoche (Ustilago maydis (D.C.) Cda.) probando tres métodos de inoculación en tres variedades de maíz (Zea mayz L.). Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey (ITESM), Monterrey, Nuevo León, México. Pp. 18-21.

González, A.G. 1991. La cultura del maíz. Industria Concamin. Número 27. México, D.F. pp. 7-9.

Hernández, P. J. 1991. El maíz: un ser que tiene alma. Industria Concamin. 4 (33): 38-39. México, D.F.

Hidalgo, C.H. 1995. Desarrollo de una metodología para la producción de huitlacoche de alta calidad. Tesis de Doctor en Ciencias. ITESM. Monterrey, México. P. 102.

Kealey, K.S. and Kosikowski. 1981. Potencial del huitlacoche como posible fuente alimenticia. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Volumen 15, número 14. USA. Pp. 341 – 351.

Leal, Ch. M. A. 1996. Evaluación de metodologías para la inducción artificial de huitlacoche. Tesis de maestría en ciencias. Universidad Autónoma de nuevo León. Facultad de Agronomía. México. P. 22.

López, A.G.F. 1988. Factores que determinan el desarrollo de *Ustilago maydis* (DC) Corda, agente causal del huitlacoche del maíz. Tesis de maestría en ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. P. 84.

López, B. L. 1991. Cultivos herbáceos. Volumen I. Cereales. Mundi-prensa. Madrid, España. Pp. 307 - 320.

Orona, M..A. 1995. Reacción de variedades de maíz representativas de cinco razas mexicanas al ataque de huitlacoche (*Ustilago maydis* (DC) Cda.). Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo. México. P. 23.

Pataky, J.K. and J.T. Lindsey. 1999. Effects of silk maturity and pollination on infection of maize aers by *Ustilago maydis*. Plant disease. 83:621 – 626. USA.

Pelczar, J. M; R. D. Reid; E. C. S. Chan. 1993. Microbiología. Editorial Mc. Graw-Hill. Cuarta edición. México. Pp. 247 – 254.

Robles, S.R. 1983. Producción de granos y forrajes. Editorial LIMUSA, S.A. México. Cuarta edición. Pp. 9-140.

Ruíz, H. I. 1999. Producción de huitlacoche por inoculación artificial de cepas locales de *Ustilago maydis* (D.C) Corda, en híbridos regionales de maíz (*Zae mays* L.) en el Valle del Yaqui. Tesis de maestría en ciencias. Instituto Tecnológico de Sonora. Cd. Obregón, Sonora, México. Pp. 47 – 78.

Ruíz, H, J. 1995. Dimorfismo y patogenicidad en *Ustilago maydis*, Memorias del XXVI Congreso Nacional de Microbiología. Veracruz, México. Pp. 25.

Snetselaar, K.M. and C.W. Mims. 1993. Infection of Maize Stigmas by *Ustilago maydis*: Light and Electron Microscopy. The American Phytopathological Society. Vol. 83. No. 8. pp. 843 – 850.

Valverde, M.E 1992. Estudios sobre la infección de *Ustilago maydis* (Huitlacoche) y sus características alimentarias. Tesis de maestría en ciencias. CINVESTAV IPN. Irapuato, Guanajuato, México. pp. 43-83.

Valverde, M.E; O. Paredes-López; J.K. Pataky and F. Guevara.Lara. 1995. Huitlacoche (*Ustilago maydis*) as a Food Source, Biology, Composition and Production. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 35(3): 191 - 229. USA.

Valverde, M.E; P. Fallah Moghaddam, S; Zavala G; J. Pataky and O. Paredes López. 1993. Yield and Quality of huitlacoche on Sweet Corn Inoculated with *Ustilago maydis*. HortScience. 28(8): 782 – 785. USA.

Villanueva, V.C; S. Cruz; y M. Orona. 1992. Reacción de maíces de valles altos de México a la inoculación con huitlacoche (*Ustilago maydis*). XXXIV Congreso Nacional Fitogenético. México. P. 329.

## GLOSARIO

- Agalla** Dilatación o crecimiento excesivo que se produce en un tejido de las plantas causado por hongos o insectos parásitos.
- Axilar** Ángulo hipotético formado entre el tallo y la superficie axial de la hoja.
- Basidio** Estructura en forma de mazo que porta las basidiosporas.
- Basidiospora** (Basidion = base pequeña; sporos = semilla) espora que se forma sexualmente y se localiza sobre un basidio, generalmente formada en números de cuatro.
- Bráctea** Hojas modificadas que pueden estar en la axila de la hoja o en las inflorescencias.

<b>Carbón</b>	Enfermedad ocasionada por los hongos Ustilaginales, se caracteriza por la formación de masas de esporas polvorosas y oscuras.
<b>Cariogamia</b>	Fusión de dos núcleos.
<b>Cepa</b>	Progenie de un solo aislamiento en un cultivo puro, aislado; conjunto de aislados semejantes, una raza.
<b>Ciclo de vida</b>	Sucesión de estados, siguiendo fases particulares de desarrollo de una espora, con culminación en alguna fase de la espora.
<b>Compatible</b>	Parejas sexuales de hongos que son capaces de producir un cultivo fértil el uno con el otro.
<b>Cultivo</b>	Crecimiento de organismos, usualmente en un medio artificial para uso experimental o industrial.
<b>Dicarión</b>	Célula o hifa haploide, con núcleos de dos tipos genéticamente diferentes y estrechamente asociados en pares.
<b>Diploide</b>	Célula que tiene el doble número de cromosomas (2n).
<b>Espora</b>	Unidad reproductiva de los hongos, constituida por una o varias células. Es análoga a las semillas de las plantas.
<b>Haploide</b>	Tiene un grupo o número reducido de cromosomas en un núcleo.
<b>Hifa</b>	Unidad estructural filamentosa de los hongos, usualmente septada y consiste de varias células en sucesión lineal.
<b>Hipertrofia</b>	Desarrollo anormal de un tejido, célula o componentes de una célula.
<b>Hospedero</b>	Organismo vivo que provee alimento y protección a un parásito que vive en o sobre él.

<b>Infección</b>	Establecimiento del patógeno en un hospedero después de una invasión.
<b>Inocular</b>	Introducción de microorganismos o sustancias que contienen microorganismos en un sistema.
<b>Jilote</b>	Inflorescencia pistilada del maíz, antes de la fecundación.
<b>Micelio</b>	Masa de hifas, que constituye el soma de un hongo.
<b>Olote</b>	Soporte central de las flores pistiladas (femeninas) en el maíz.
<b>Parásito</b>	Organismo que obtiene su alimento y vive a expensas de otro organismo vivo.
<b>Patógeno</b>	Parásito que causa enfermedad o muerte al hospedero.
<b>Plasmogamia</b>	Fusión del citoplasma de dos protoplastos.
<b>Promicelio</b>	Hifa corta que se produce por la germinación de una teliospora, constituye un basidio.
<b>Teliospora</b>	Espora sexual de resistencia y de pared gruesa que sufre cariogamia y produce el basidio.
<b>Tumor</b>	Crecimiento excesivo, desordenado y maligno que sufren los tejidos.

