

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

Enseñar la explotación de la tierra, no la del hombre

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

INSTITUTO DE HORTICULTURA

**ESTUDIOS DE LA REACCIÓN DEL MAÍZ AL
HUITLACOCHÉ EN AGRICULTURA PROTEGIDA**

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

JOSÉ MADRIGAL RODRÍGUEZ

CHAPINGO, MÉXICO. DICIEMBRE DE 2008



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES



Instituto de Horticultura

ESTUDIOS DE LA REACCIÓN DEL MAÍZ AL HUITLACOCHÉ EN AGRICULTURA
PROTEGIDA

Tesis realizada por José Madrigal Rodríguez, bajo la dirección del Comité Asesor
indicado, aprobado por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el
grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR: _____

Dr. Clemente Villanueva Verduzco

ASESOR: _____

Dr. Jaime Sahagún Castellanos

ASESOR: _____

Dr. Marcelo Acosta Ramos

ASESOR: _____

Dr. Lauro Martínez Martínez

LECTOR EXTERNO: _____

Dra. Reyna Isabel Rojas Martínez

Chapingo, México a diciembre de 2008

DATOS BIOGRÁFICOS

El autor de la presente tesis, José Madrigal Rodríguez nació el 09 de diciembre de 1971 en Casimiro Castillo, Jalisco. Realizó los estudios de licenciatura en el Centro Universitario de la Costa Sur en Autlán, Jalisco de la Universidad de Guadalajara de 1990 a 1995 (con reconocimiento a la E. A. en plata) donde escribió la tesis “Comparación agroeconómica entre el sistema acolchado y sin acolchar en el cultivo de la sandía (*Citrullus vulgaris* Schard.)” y obtuvo el título de ingeniero agrónomo con especialidad en Fitotecnia. De 1996 a 1998 trabajó como profesor asistente de investigador en el Instituto Manantlán de Ecología y Conservación de la Biodiversidad de la Universidad de Guadalajara. De 1998 a 2000 realizó los estudios de maestría en Fitopatología en el Colegio de Postgraduados con la Tesis “Variación patogénica de *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib) y resistencia de cebada (*Hordeum vulgare* L.)”, obteniendo el grado de Maestro en ciencias en Fitopatología. En 1999 y 2002 laboró en el Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Baja California con sede en Mexicali. De 2002 a 2004 laboró como asesor independiente en cultivos en el Valle de Casimiro Castillo-La Huerta, Jalisco donde colaboró para la empresa Arista Life Science. En enero de 2005 ingresó al Doctorado en Ciencias en Horticultura en el área de Olericultura con la investigación de producción de Huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) en invernadero.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado en este grado académico.

A la Universidad Autónoma Chapingo por ofrecerme esta gran oportunidad.

Al profesor consejero Dr. Clemente Villanueva Verduzco; asesores: Dr. Jaime Sahagún Castellanos, Dr. Marcelo Acosta Ramos, Dr. Lauro Martínez Martínez, y lectora externa: Dra. Reina Isabel Rojas Martínez; les agradezco su permanente disposición en la realización de esta investigación.

Al Sr. Alfredo del laboratorio de hortalizas del Departamento de Fitotecnia. Al Sr. Maximino Ramírez Ayala colaborador en los trabajos realizados en el invernadero.

A los coordinadores (general de posgrado) Dr. José Luis Romo Lozano (del posgrado en Horticultura) y Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez y los apoyos secretariales Rocío Rodríguez Sosa y Alejandra Varela Rojo respectivamente por su apoyo en los tramites académicos solicitados.

A mis compañeros de estudios de doctorado que en algún tiempo convivimos en los periodos de clase, en donde conformamos equipo con buen ambiente de trabajo: José Guadalupe Villegas García, David Sánchez Martínez, Juan Mulato Brito, Manuel Mandujano Piña y Juan Ayala Arreola.

A profesores de los departamentos de Chapingo con los que hay una buena amistad.

A todos los amigos estudiantes que ayudaron en el establecimiento, conducción y desmontaje del experimento en invernadero, que han estado atentos a que obtenga el grado.

DEDICATORIA

Mis padres:

Francisca Rodríguez García y Alejandro Madrigal Flores

¡Gracias!

Al profesor:

Dr. Seiji Osada Kawasoe d. e. p.

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN GENERAL	vii
GENERAL ABSTRACT	vii
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPITULO I. ESTUDIO DE PRODUCCIÓN DE HUITLACOCHES EN CONDICIONES CONTROLADAS	7
CAPITULO II. LA HUMEDAD RELATIVA, EL GENOTIPO Y MATERIAL RETENEDOR DE AGUA EN LA PRODUCCIÓN DE HUITLACOCHES	38
CAPITULO III. ANÁLISIS DE COMBINACIONES DE FACTORES CONTROLABLES EN LA PRODUCCIÓN DE HUITLACOCHES	70
DISCUSIÓN GENERAL	95

ESTUDIOS DE LA REACCIÓN DEL MAÍZ AL HUITLACOCHÉ EN AGRICULTURA PROTEGIDA

STUDIES OF THE REACTION OF CORN TO HUITLACOCHÉ IN PROTECTED AGRICULTURE

José Madrigal Rodríguez¹ y Clemente Villanueva Verduzco²

RESUMEN GENERAL

El huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) es un alimento con gran importancia en la región del Centro de México. Su consumo incrementa durante la temporada de mayor producción natural (Julio y Agosto), condicionada por la presencia de condiciones ambientales favorables para que ocurra la infección, desarrollo y crecimiento del hongo en el maíz cultivado para grano. No existen antecedentes de la producción del hongo en condiciones controladas en invernadero. Por lo tanto, la presente tesis tuvo como objetivos: 1. Determinar el efecto de tratamientos de diferentes híbridos de maíz y sus respectivos aislamientos sobre el rendimiento y calidad de huitlacoche. 2. Evaluar el efecto de tres factores (híbridos, humedad relativa y retenedores de agua) y sus interacciones, en el rendimiento y calidad de huitlacoche. 3. Analizar el efecto de 27 tratamientos de la combinación de tres híbridos de maíz, tres porcentajes de humedad relativa y tres materiales retenedores de humedad sobre el rendimiento y calidad de huitlacoche. El rendimiento de huitlacoche en el híbrido de maíz 30G40 se incrementó en la densidad 166,666 ptas·ha⁻¹ (7,923 kg·ha⁻¹) en comparación a 62,500 ptas·ha⁻¹ (1,649 kg·ha⁻¹). Al evaluar los factores híbridos, humedad relativa y materiales retenedores de agua, la mejor combinación fue con el híbrido de maíz 30G40, con humedad relativa del 70 % y sin material retenedor de agua, el cual tuvo un rendimiento de hongo de 28,877 kg·ha⁻¹, porcentaje de incidencia de 88.09 %, índice de severidad de 93.24 %, rendimiento por planta inoculada de 0.22 kg y un rendimiento por planta infectada de 0.25 kg. La correlación del rendimiento del hongo por hectárea RHA en el experimento fue positiva y altamente significativa con los caracteres rendimiento de plantas con grado de severidad 5 (0.97**), porcentaje de incidencia (0.94**), índice de severidad (0.79**), rendimiento por planta inoculada (0.83**), rendimiento por planta infectada (1.00**) y con rendimiento total (0.99**).

Palabras clave adicionales: Efecto ambiental, hongo comestible, *Ustilago maydis*, producción en invernadero.

¹Tesista

²Director de tesis

GENERAL ABSTRACT

Huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) is a very important food in the central region of Mexico. Its consumption increases during the highest natural production season (July and August); however, its production depends on favorable environmental conditions to enable the infection, development and growth of the fungus in the corn ear. In the literature there is not any research related to huitlacoche production in greenhouse with controlled environmental conditions. Therefore, this thesis research was performed with the following objectives: 1. To determine the effect of different corn hybrids and their respective isolates on huitlacoche yield and quality. 2. To evaluate the effect of three factors (corn hybrids, relative humidity and water retainer materials) and their interactions on huitlacoche yield and quality. 3. To analyze the effect of 27 treatments derived from the combination of three corn hybrids, three relative humidity levels and three water retainer materials on huitlacoche yield and quality. Huitlacoche yield in hybrid 30G40 increased at 166,666 plants·ha⁻¹ (7,923.30 kg·ha⁻¹) in comparison to 62,500 plants·ha⁻¹ (1,649.2 kg·ha⁻¹). Upon evaluating the hybrid factors, relative humidity and water retainer materials, the best combination (treatment) was the hybrid 30G40 with a relative humidity of 70 % and no water retainer material; its yield was 28,877 kg·ha⁻¹, with a disease incidence of 88.09 %, a disease severity index of 93.24 %, yield per inoculated plant 0.22 kg and a RPLINF value of 0.25 kg. Huitlacoche yield correlated in a highly significant and positive way with RSEV5 (0.97**), percentage of incidence (0.94**), disease severity index (0.79**), yield per inoculated plant (0.83**), yield per infected plant (1.00**) and total yield (0.99**).

Additional key words: environmental factors, edible fungus, *Ustilago maydis*, greenhouse production.

¹Thesis author

²Thesis director

INTRODUCCIÓN GENERAL

El huitlacoche, producto de la infección del hongo *Ustilago maydis* (Cda.) en maíz (*Zea mays* L.) es utilizado como alimento en la región de los Valles Altos de México desde las épocas precolombinas (Villanueva, 1997), tiene un alto valor nutritivo por su proteína de buena calidad lo que contribuye a que se incremente cada vez más su consumo (Valverde y Paredes-López, 1993).

La época de mayor producción de huitlacoche a cielo abierto coincide con el cultivo de maíz en temporada de lluvias, la cual se puede considerar un condicionante en forma tradicional para que el hongo logre infectar y producir huitlacoques con alto grado de severidad, sin embargo, al no presentarse condiciones de alta precipitación, la humedad relativa disminuye y la temperatura se incrementa, dando como resultado una baja producción del hongo (Villanueva *et al.*, 2007).

En los estudios realizados para inducir la producción de huitlacoche muestran que la inoculación en el jilote es una técnica que puede incrementar la severidad a un alto grado de daño y lograr así una mayor producción del hongo (Villanueva *et al.*, 1999; Villanueva *et al.*, 2007), lo que a su vez puede proporcionar altos rendimientos del producto en fresco; siempre y cuando se cuente con las condiciones del genotipo del maíz (hospedero) susceptible, el

hongo y el ambiente favorable con un 80-85% de humedad relativa y una temperatura de 16-32°C (Villanueva *et al.*, 1999; Martínez *et al.*, 2000).

El encontrar las condiciones necesarias para producir huitlacoche, requiere de evaluar en diferentes condiciones ambientales un amplio número de genotipos de maíz (Pan *et al.*, 2008), así como inocular con cepas virulentas para conocer el nivel de susceptibilidad genética que favorezca el desarrollo del hongo e incrementar el rendimiento y la calidad del huitlacoche. Al respecto (Villanueva *et al.*, 1999), se encontró que existe variación patogénica del hongo; dado que la infección y desarrollo del mismo está en función de la habilidad del patógeno, la susceptibilidad del hospedante y su interacción con el ambiente (Christensen, 1963). La producción del hongo es mayor en el jilote, el cual al ser infectado antes de polinización podrá disponer de una alta concentración de carbohidratos, para propiciar la formación de agallas grandes (Pataky y Chandler, 2003).

Desde los primeros estudios del hongo se ha considerado que las condiciones ambientales son importantes para lograr una buena infección (Tisdale y Johnston, 1926); concepto que se mantiene vigente en investigaciones cuyos propósitos son estudiar la supervivencia del hongo, ya sea para mejoramiento genético para resistencia al patógeno o mejoramiento para susceptibilidad del maíz y así obtener una mayor producción de huitlacoche.

Un ambiente controlado para producir huitlacoche puede obtenerse en un invernadero que tenga condiciones adecuadas de construcción, en el que se podrá repetir la evaluación de la infección del hongo en forma controlada (Thakur *et al.*, 1989).

En el invernadero, con una adecuada ventilación y aporte de agua se puede controlar la temperatura e incrementar la humedad, requisitos condicionantes para que el maíz sea infectado, en época cuando a campo abierto no es posible lograr la infección del hongo con mayor severidad.

Considerando lo anterior, los objetivos de la presente investigación fueron:

1. Determinar el efecto de tratamientos de siete híbridos de maíz y sus respectivos tipos de inóculo sobre el rendimiento y calidad de huitlacoche.
2. Evaluar el efecto de tres factores (híbridos, humedad relativa y materiales retenedores de agua) y sus interacciones en el rendimiento y calidad de huitlacoche.
3. Analizar el efecto de 27 tratamientos de la combinación de tres híbridos de maíz, tres porcentajes de humedad relativa y tres materiales retenedores de humedad sobre el rendimiento y calidad de huitlacoche.

Con las hipótesis:

1. Al controlar la temperatura y la humedad relativa en condiciones de invernadero y cultivar algunos híbridos comerciales de maíz susceptibles inoculados con sus correspondientes aislamientos, se espera que el huitlacoche se desarrolle favorablemente y se obtenga mayor rendimiento y calidad del mismo.
2. Algunas de las combinaciones, de los híbridos de maíz, porcentajes de humedad relativa y materiales retenedores de agua favorecen el rendimiento y la calidad del huitlacoche.
3. Existe efecto de la combinación de tres híbridos de maíz, tres porcentajes de humedad relativa y tres materiales retenedores de humedad sobre el rendimiento y calidad de huitlacoche.

LITERATURA CITADA

Christensen, J. J. 1963. Corn Smut caused by *Ustilago maydis* (Cda.).

Published by The American Phytopathological Society. Department of Plant Pathology and Botany. Institute of Agriculture, University of Minnesota, St. Paul. 41 p.

Martínez-Martínez, L., Villanueva-Verduzco, C. and Sahagún-Castellanos, J.

2000. Susceptibility and resistance of maize to the edible fungus

- huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) improving its virulence. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 6 (2): 241-255.
- Pan J. J, Baumgarten A. M. and May G. 2008. Effects of host plant environment and *Ustilago maydis* Cda. infection on the fungal endophyte community of maize (*Zea mays* L). *New Phytologist* 178: 147–156
- Pataky, J. K. and M. A. Chandler. 2003. Production of huitlacoche, *Ustilago maydis* (Cda.): timing inoculation and controlling pollination. *Mycologia* 95: 1261-1270.
- Steiner, A. A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil* 15:134-154.
- Thakur, R. P., K. J. Leonard, and Pataky J. K.. 1989. Smut gall development in adult plants inoculated with *Ustilago maydis* Cda. *Plant Disease* 73:921-925.
- Tisdale, W. H. and Johnston, C. O. 1926. A study of smut resistance in corn seedlings grown in the greenhouse. *Journal of Agricultural Research* 32(7): 649-668.

Valverde, M. E and Paredes-López, O. 1993. Production and evaluation of some food properties of huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda). Journal Article 7(3): 207-219.

Villanueva C., Molina J. D., Castillo F. and Zavaleta E. 1999. Artificial induction of “huitlacoche” (*Ustilago maydis* Cda): influence of different conditions in the field. Micología Neotropical Aplicada 12: 41-47.

Villanueva, V. C.; Sánchez, R. E. and Villanueva, S. E. 2007. El huitlacoche y su cultivo. Ed. Mundi Prensa, México. 96 p.

CAPITULO I

ESTUDIO DE PRODUCCIÓN DE HUITLACOCHÉ EN CONDICIONES CONTROLADAS

RESUMEN

Se realizaron en invernadero dos experimentos para inducir la producción artificial de huitlacoche, a través de 17 variables analizadas en ambos ensayos. Durante abril de 2006 se evaluaron cuatro genotipos de maíz con su respectivo aislado del hongo. El mejor híbrido que fue el 30G40 con 1,649.2 kg·ha⁻¹, 0.03 kg·planta⁻¹, un porcentaje de incidencia de 52.41 % y un índice de severidad de 52.48 % a 62,500 plantas·ha⁻¹. En septiembre de 2006 se evaluaron 7 híbridos inoculados con su respectivo aislado, donde el mismo híbrido produjo 7,923.30 kg·ha⁻¹, un porcentaje de incidencia de 23.67 % y un índice de severidad de 47.21 % a 166,666 plantas·ha⁻¹. La comparación de medias de rendimiento para el análisis combinado mostró una mejor producción para 166,666 plantas·ha⁻¹, y (3,592.10 kg·ha⁻¹ que para 62,500 plantas·ha⁻¹ (960.2 kg·ha⁻¹), en tanto el rendimiento por planta inoculada fue igual en ambas densidades (0.02 kg·planta⁻¹)

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: *Zea mays*, *Ustilago maydis*, híbridos de maíz, ambiente controlado

ABSTRACT

Two experiments were carried out greenhouse conditions in order to induce the artificial production of *Ustilago maydis*. 18 variables were analyzed in both experiments. Four maize hybrids and their respective fungus strain were evaluated in April 2006. The best hybrid was 30G40 that yielded 1,649.2 kg·ha⁻¹ at a population density of 62,500 plants·ha⁻¹, with an incidence of 52.41 % and

a severity index of 52.48 %. In September 2006 seven hybrids were evaluated and inoculated with their respective fungus strain and the same 30G40 hybrid yielded 7,923.3 kg·ha⁻¹ at a population density of 166,666 plants·ha⁻¹, with an disease incidence of 23.67 % and a severity index of 47.21 %. The combined analysis showed the same trend as in the single analysis but when comparing both populations densities it was found that yield was higher at 166,666 plants·ha⁻¹ than at 62,500 plants·ha⁻¹ (960.2 kg·ha⁻¹). The hybrid x population density interaction showed that the best hybrid 30G40 yielded the highest at both densities. Therefore the yield per plant (0.02 kg·plant⁻¹) was similar en both population densities.

ADDITIONAL KEY WORDS: *Zea mays*, *Ustilago maydis*, corn hybrid, controlled environment

INTRODUCCIÓN

El huitlacoche se utiliza cada vez más en la elaboración de alimentos en diferentes regiones de México. Se obtiene en la forma tradicional de recolección de elotes infectados en los cultivos de maíz. En los valles altos de México es donde más se lleva a cabo esta actividad, y donde el hongo tiene su mayor mercado.

Valverde y Paredes-López (1993) determinaron que este hongo es una buena fuente de proteína de alta calidad y de bajo riesgo para el consumo humano. Se

obtiene de plantas susceptibles y se desarrolla en la mazorca, hojas, tallo y en raíces aéreas (Agrios, 2005).

En ensayos experimentales y comerciales se obtiene mayor rendimiento cuando se inocula la mazorca en etapa de jilote que cuando es producida bajo infección natural, por lo anterior se han realizado estudios con el objetivo de desarrollar una técnica adecuada para lograr una buena inoculación que induzca a su vez un alto grado de severidad (Villanueva *et al.*, 1999; Villanueva *et al.*, 2007).

Los resultados obtenidos en estos estudios muestran que se puede obtener rendimientos en campo de hasta de 12 toneladas por hectárea de hongo fresco (Martínez *et al.*, 2000). Para producir el huitlacoche se requiere que el genotipo del maíz (hospedero) sea susceptible al hongo, que el patógeno sea virulento y que el ambiente sea favorable con un 80-85% de humedad relativa y una temperatura de 16-32°C (Villanueva *et al.*, 1999; Martínez *et al.*, 2000).

La evaluación de genotipos de maíz para fines de producción de huitlacoche, permite conocer su nivel de susceptibilidad genética (Pan *et al.*, 2008). Además, con condiciones ambientales que favorecen el desarrollo del hongo es posible incrementar el rendimiento y la calidad del huitlacoche.

Villanueva *et al.* (1999) encontraron que existe variación patogénica del hongo; dado que la infección y desarrollo del mismo está en función de la habilidad del

patógeno, la susceptibilidad del hospedante y su interacción con el ambiente (Christensen, 1963). Además, estos mismos autores evaluaron la técnica de inoculación, la cual constituye un factor importante para favorecer el desarrollo del hongo en el interior del jilote.

Así mismo se menciona que para que se presente la infección ideal en el jilote, debe inocularse antes de la polinización en donde la producción de grano de maíz sirve como sustrato alimenticio para el desarrollo del hongo y producir agallas de mejor tamaño por disponer de una alta concentración de carbohidratos (Pataky y Chandler, 2003).

Por otra parte, en el desarrollo de la enfermedad en cultivo de maíz a cielo abierto durante el temporal de lluvias se observa un patrón de precipitación que difiere de un año a otro. En algunos años se obtienen precipitaciones espaciadas, las cuales pueden no coincidir con el periodo de infección y desarrollo del hongo (Villanueva *et al.*, 2007).

Desde hace mucho tiempo se sabe que las condiciones ambientales son muy importantes para la producción del hongo (Tisdale y Johnston, 1926); y actualmente la mayoría de las investigaciones coinciden con mantener el lugar de estudio con un ambiente bajo control (Thakur *et al.*, 1989).

Por lo tanto una buena alternativa para obtener las condiciones ambientales favorables y producir huitlacoche es cultivar el maíz bajo condiciones

controladas de humedad relativa y temperatura, lo cual es posible en un invernadero; equipado con aspersores, en forma programada humedezcan el ambiente y proporcionen la humedad relativa y temperatura deseadas.

Para saber más del proceso de producción del hongo en condiciones ambientales controladas adecuadas durante el crecimiento y desarrollo del maíz, el periodo de infección, y para el desarrollo favorable para el hongo, se realizó la presente investigación con el objetivo: determinar el efecto de tratamientos de siete híbridos de maíz y sus respectivos tipos de inóculo sobre el rendimiento y calidad de huitlacoche.

Hipótesis: Con temperatura y humedad relativa controladas en condiciones de invernadero, híbridos comerciales de maíz susceptibles, e inoculación con sus correspondientes aislamientos, el huitlacoche se desarrolla favorablemente y se obtiene mayor rendimiento y calidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental

El experimento se estableció en un invernadero del campo agrícola experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, México a 19°29'27" LN y 98°52'23" LO, a una altitud de 2,240 msnm. El invernadero tenía cubierta de

plástico, el sustrato de siembra fue arenilla de tezontle rojo, cubierto con plástico acolchado bicapa, blanco/negro, con el color blanco hacia arriba.

Diseño y arreglo experimental

La investigación constó de dos experimentos. El primero se estableció en diciembre de 2005, en un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones. La unidad experimental fue de 3 surcos de 10 m de largo con una planta cada 40 cm y surcos cada 40 cm, (75 plantas) y una densidad de 62,500 plantas por hectárea. Los tratamientos fueron los híbridos de maíz H-58, 30G40, H-161 y Cóndor; los cuales se inocularon con aislamientos del hongo, obtenidos de elotes infectados de cada híbrido.

En junio de 2006 se estableció el segundo experimento, en un diseño completamente al azar con siete tratamientos y cuatro repeticiones. La unidad experimental fue de 4 surcos de 10 m de largo con una planta cada 20 cm y surcos cada 30 cm, (200 plantas); es decir, una densidad de 166,666 plantas por hectárea. Los tratamientos fueron los híbridos de maíz: H-58, 30G40, H-161, Cóndor, Gavilán, H-48 y H135, los cuales se inocularon también con aislamientos del hongo, obtenidos de elotes infectados de cada híbrido.

Manejo del experimento

La siembra se hizo de forma manual. El plástico para acolchado se perforó cada 30 cm en tres hileras (surcos) por camas separadas a 40 cm y para el segundo experimento la perforación fue cada 20 cm en cuatro hileras (surcos)

por camas separadas a 30 cm. Durante el cultivo se eliminaron las malezas y se monitoreó la presencia de plagas para su eventual control. Se utilizó la solución nutritiva hidropónica universal de Steiner (1961). Se aplicó por medio de fertirriegos con una cinta de riego por goteo, con distancia de 20 cm entre goteros. El riego se aplicó dos veces el día, el primero a las 9 am y el segundo a las 4 pm para el primer experimento y para el segundo el primer riego a las 9 am, el segundo a las 12 pm, el tercero a las 3 pm y el cuarto a las 6 pm.

Durante el periodo de infección y desarrollo del hongo; se aplicó agua por aspersión proveer la humedad relativa requerida por el hongo.

Inoculación

El inóculo se obtuvo a partir cepas específicas para cada uno de los híbridos de aislamientos obtenidos en experimentos previos (Martínez, 1999). Las cepas se reactivaron en cajas de Petri con medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar).

El inóculo se preparó al ajustar en agua destilada estéril a una concentración de 10^6 esporidias·ml⁻¹. La fecha de inoculación para el primer experimento fue en marzo de 2006 y septiembre de 2006 para el segundo experimento. La inoculación se realizó en etapa de jilote en tres puntos equidistantes a lo largo del mismo (Villanueva *et al.*, 2007). Durante el periodo de infección la temperatura se mantuvo entre 16 y 32 °C y la humedad relativa entre 70 y 80 %.

Caracteres estudiados

Los caracteres estudiados fueron: número de plantas inoculadas (PLINC), número de plantas infectadas (PLINF), severidad medida en porcentaje (SEV_i), rendimiento por cada clase de severidad ($RSEV_i$) en kilogramos, porcentaje de incidencia (PI), índice de severidad (ISE) que es el porcentaje de la mazorca cubierta por agallas, rendimiento promedio por planta inoculada (RPLINC) en kilogramos, rendimiento promedio por planta infectada (RPLINF) en kilogramos, rendimiento total (RT) en kilogramos (todas las variables anteriores se tomaron por parcela o unidad experimental, excepto RPLINC y RPLINF) y rendimiento por hectárea (RHA_i) en kilogramos por hectárea. La cosecha del hongo, y por ende la medición del rendimiento del mismo, se hizo en promedio a los 30 días posteriores a la inoculación.

Cuadro.1 Proporción de la mazorca cubierta por agallas según la categoría de severidad.

Categoría	Proporción de la mazorca cubierta por
SEV1	0 %
SEV2	(>0)-25 %
SEV3	(>25)-50 %
SEV4	(>50)-75 %
SEV5	(>75)-100 %

Para medir la severidad (SEV_i), se consideró la proporción de los elotes cubierta con las agallas del hongo (Villanueva *et al.*, 1999) (Cuadro 1):

El porcentaje de incidencia (PI) fue el cociente del número de elotes infectados en la unidad experimental entre el total de elotes inoculados, multiplicado por 100; como se aprecia en la siguiente expresión:

$PI = [(No. \text{ Elotes con SEV2}) + \dots + (No. \text{ Elotes con SEV5})] / \text{número de elotes inoculados} \times 100$

El índice de severidad (ISE) se obtuvo mediante la expresión (Villanueva *et al.*, 1999):

$ISE = [(NESEV2)0.25 + (NESEV3) \quad 0.50 + NESEV4 \quad (0.75) + NESEV5 (1.0) / PLINC] \times 100$; donde: $NESEV_i$ = número de elotes para cada categoría de severidad.

El rendimiento por planta inoculada (RPLINC) se refirió al peso total del hongo cosechado (kilogramos) entre el número de plantas inoculadas en la parcela.

$(RPLINC) = (PSEV2 + \dots + PSEV5) / \text{número de elotes inoculados}$; donde: $PSEV_i$ se refiere al peso del hongo de los elotes por cada categoría de severidad.

El rendimiento por planta infectada (RPLINF), se calculó por el peso total cosechado del hongo (kilogramos) entre el número de plantas infectadas en la parcela, según la expresión:

$RPLINC = (PSEV2 + \dots + PSEV5) / \text{Total de elotes inoculados}$; donde: $PSEV_i$ se refiere al peso del hongo de los elotes en la categoría i de severidad ($i=2,3,4,5$).

Los rendimientos por hectárea de huitlacoche de los dos experimentos (RHA1 y RHA2) se obtuvieron al multiplicar el rendimiento por planta inoculada por la densidad de plantas en cada experimento como se describe a continuación:

$$RHA1 = RPLINC \times 62,500 \text{ plantas} \cdot \text{ha}^{-1}$$

$$RHA2 = RPLINC \times 166,666 \text{ plantas} \cdot \text{ha}^{-1}$$

Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza utilizando el procedimiento Proc GLM del paquete estadístico S.A.S bajo el modelo lineal de un experimento bajo el diseño completamente al azar:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij};$$

$$i = 1, \dots, t \text{ (tratamientos); } j = 1, \dots, r \text{ (repeticiones)}$$

donde:

Y_{ij} = valor observado del tratamiento (híbrido de maíz) i en la repetición j .

μ = es la media general del experimento.

T_i = es el efecto del i -ésimo tratamiento (híbrido).

e_{ij} = es el efecto aleatorio del error experimental asociado a la observación ij .

Además, se realizó un análisis de varianza combinado, en promedio de los dos experimentos, bajo el modelo lineal:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + D_k + TD(ik) + e_{ijk}$$

$$i = 1, \dots, t \text{ (tratamientos); } k = 1, \dots, d \text{ (densidades de siembra); } j = 1, \dots, r \text{ (repeticiones)}$$

donde:

Y_{ijk} = valor observado del tratamiento (híbrido de maíz) i en la densidad k y en la repetición j .

μ = es la media general.

T_i = es el efecto del i -ésimo tratamiento (híbrido).

D_k = es el efecto de la k -ésima densidad de siembra.

$TD_{(ik)}$ = es el efecto de la interacción del i -ésimo tratamiento con la k -ésima densidad.

e_{ijk} = es el efecto aleatorio del error experimental asociado a la observación ijk .

Se realizaron comparaciones múltiples de medias mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5% y también se hizo un análisis de correlación entre todos los caracteres estudiados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1

El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) entre las medias de los tratamientos (híbridos de maíz) para grado severidad SEV4, rendimiento grado severidad RSEV4, rendimiento por planta inoculada, rendimiento total y rendimiento del experimento uno RHA1; y diferencias

significativas ($P \leq 0.05$) entre las medias de los caracteres planta infectada, rendimiento de severidad RSEV5 y rendimiento por planta infectada (Cuadro 2).

Cuadro 2. Cuadrados medios en 17 caracteres en la relación huésped patógeno entre maíz (*Zea mays* L.) y huitlacoche (*Ustilago maydis* Corda).

Caracter	Tra	Error	Total	C.V.	Media
GL	3	12	15		
PLINC	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
PLINF	119.56*	25.85	668.94	34.04	14.94
SEV1	119.56*	25.85	668.94	8.46	60.06
SEV2	23.73ns	8.10	168.44	36.44	7.81
SEV3	0.73ns	23.77	287.44	104.01	4.69
SEV4	8.67**	1.00	38.00	50.00	2.00
SEV5	1.42ns	0.46	9.75	77.37	0.87
RSEV2	0.008ns	0.016	0.22	60.43	0.21
RSEV3	0.056ns	0.02	0.41	52.61	0.27
RSEV4	0.45**	0.05	1.97	64.21	0.36
RSEV5	0.21*	0.05	1.22	71.63	0.31
PI	212.55*	45.96	1189.22	34.04	19.91
ISE	121.88ns	4936.84	65607.72	126.36	55.61
RPLINC	0.0003**	0.00004	0.002	43.55	0.01
RPLINF	0.004*	0.0007	0.02	38.13	0.07
RT	1.99**	0.25	9.01	43.55	1.15
RHA1	1386732.17**	174905.78	6259065.972	43.55	960.21

*, **: Significativo con $P \leq 0.05$ y $p \leq 0.01$, respectivamente; ns: no significativo con $p \geq 0.05$. Tra: tratamiento (híbrido), C.V.: coeficiente de variación, Media: media fenotípica del carácter evaluado. GL: grados de libertad, PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA1: rendimiento·ha⁻¹ de hongo del experimento uno.

Las medias de los tratamientos muestran que los híbridos 30G40 y H-161 presentaron la mayor expresión en plantas infectadas (17.75 y 18.00 respectivamente) con respecto a H-58, junto con Cóndor la mayor expresión en los grados de severidad SEV2 (8.25, 9.50 y 9.50) SEV3 (4.75, 5.25 y 4.50) y SEV5 (1.25, 1.00 y 1.25) con medias estadísticamente iguales; sin embargo, para el grado de severidad SEV4 los híbridos 30G40 y H-161 tuvieron la mayor expresión (3.50 y 2.50).

El híbrido 30G40 fue significativamente superior a los demás híbridos en los caracteres rendimiento grado de severidad RSEV4 (0.81) y RSEV5 (0.55). En cuanto al carácter porcentaje de incidencia, los híbridos 30G40 y H-161 fueron los mayores (23.67% y 24.00%).

El índice de severidad fue estadísticamente igual ($p \leq 0.05$) en los cuatro híbridos evaluados, pero en general 30G40 fue superior en cuanto a los caracteres rendimiento por planta inoculada (0.03), rendimiento por planta infectada (0.11), rendimiento total (1.98) y rendimiento de hongo del experimento uno ($1,649.20 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) (Cuadro 3).

Por tanto, en el análisis de varianza del primer experimento a $62,500 \text{ plantas} \cdot \text{ha}^{-1}$, resultaron diferencias altamente significativas entre tratamientos para rendimiento por grado de severidad RSEV4 con el rendimiento por planta inoculada, rendimiento total y rendimiento por hectárea RHA1.

Experimento 2

EL análisis de varianza mostró que existieron diferencias altamente significativas entre tratamientos ($P \leq 0.01$) en 16 de 17 caracteres evaluados. En el rendimiento de plantas infectadas no hubo diferencias estadísticas significativas (Cuadro 4).

Cuadro 3. Comparación de medias de cuatro híbridos de maíz en cada uno de 17 caracteres evaluados en la relación huitlacoche (*Ustilago maydis* Corda) maíz del experimento uno.

Caracter / Híbrido	H-58	30G40	H-161	Cóndor	DMSH _{0.05}
PLINC	75.00a	75.00a	75.00a	75.00a	0.00
PLINF	6.75b	17.75a	18.00a	17.25ab	10.67
SEV1	68.25a	57.25b	57.00b	57.70ab	10.67
SEV2	4.25a	8.25a	9.50a	9.50a	5.97
SEV3	4.25a	4.75a	5.25a	4.50a	10.23
SEV4	0.00b	3.50a	2.50a	2.00ab	2.04
SEV5	0.00a	1.25a	1.00a	1.25a	1.42
RSEV2	0.15a	0.25a	0.20a	0.24a	0.27
RSEV3	0.10a	0.37a	0.28a	0.33a	0.30
RSEV4	0.00b	0.81a	0.32b	0.29b	0.48
RSEV5	0.00b	0.55a	0.32ab	0.38ab	0.47
PI	9.00b	23.67a	24.00a	23.00ab	14.23
ISE	4.25a	11.08a	10.42a	9.83a	8.04
RPLINC	0.003b	0.03a	0.01ab	0.02ab	0.01
RPLINF	0.04b	0.11a	0.06ab	0.07ab	0.06
RT	0.25b	1.98a	1.13ab	1.24ab	1.05
RHA1	212.50b	1649.20a	941.70ab	1037.50ab	877.95

Medias de híbridos para un mismo carácter dentro de las filas con la misma letra son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey. DMSH_{0.05}: diferencia mínima significativa PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA1: rendimiento·ha⁻¹ de hongo del experimento uno.

La comparación de medias muestra que el híbrido 30G40 tuvo más plantas infectadas (92.75). En general 30G40 presentó los valores más altos de los grados de severidad SEV2 (26.50), SEV3 (21.50), SEV4 (25.25) y SEV5 (10.75); en tanto que los híbridos Cóndor, Gavilán y H-48 mostraron los valores más bajos en dichos caracteres lo que se reflejó en un menor rendimiento del hongo respectivamente.

Cuadro 4. Cuadrados medios en 17 caracteres en la relación huésped patógeno entre maíz (*Zea mays* L.) y huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda).

Caracter	Tra	Error	Total	C.V.	Media
GL	6	20	27		
PLINC	691.56**	162.79	7405.63	7.72	165.29
PLINF	4124.44**	65.70	26060.67	30.91	26.22
SEV1	3585.28**	844.25	39244.11	21.79	133.32
SEV2	342.28**	63.42	3385.71	109.31	7.28
SEV3	271.66**	9.30	1825.25	42.06	7.25
SEV4	322.90**	18.26	2321.43	73.01	5.86
SEV5	67.24**	6.14	532.43	68.04	3.64
RSEV2	0.57**	0.11	5.78	109.48	0.30
RSEV3	2.31**	0.08	15.56	42.08	0.68
RSEV4	9.10**	0.59	66.05	80.72	0.91
RSEV5	1.58**	0.24	14.60	75.85	0.65
PI	1316.01**	19.77	8291.48	29.08	15.29
ISE	851.46**	201.54	9139.58	27.03	52.51
RPLINC	0.001**	0.00002	0.007	30.70	0.01
RPLINF	0.03ns	0.02	0.56	110.67	0.12
RT	37.52**	0.85	243.11	36.28	2.54
RHA2	32262974.60**	619695.40	205971754.40	30.71	3076.33

** : Altamente significativo con $P \leq 0.01$; ns: no significativo con $p \geq 0.05$. Tra: tratamiento (híbrido), Media: media fenotípica del carácter evaluado. GL: grados de libertad, PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC, rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA2: rendimiento·ha⁻¹ de hongo del experimento dos.

Para los caracteres rendimiento de severidad RSEV2 (1.05), RSEV3 (1.73), RSEV4 (4.20), RSEV5 (1.52), porcentaje de incidencia PI (52.41), rendimiento por planta inoculada RPLINC (0.05), rendimiento total RT (8.50) y rendimiento·ha⁻¹ de hongo del experimento dos RHA2 (7923.30 kg·ha⁻¹) el 30G40 fue superior a los demás híbridos evaluados, aunque el H-58 tuvo una respuesta similar en el carácter rendimiento de grado de severidad RSEV3 (1.81) (cuadro 5).

Cuadro 5. Comparación de medias de siete híbridos de maíz en 17 caracteres evaluados en la relación huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) maíz del experimento dos.

Caracter	Híbrido							DMSH _{0.05}
	H-58	30G40	H-161	Cóndor	Gavilán	H-48	H-135	
PLINC	167.00a	177.25a	181.25a	163.00ab	162.50ab	136.67b	162.25ab	3.82
PLINF	40.25b	92.75a	14.25c	1.75c	8.50c	2.00c	18.00c	3.82
SEV1	126.75ab	86.50b	167.00a	153.75a	154.00a	101.00ab	144.25ab	66.79
SEV2	11.50ab	26.50a	4.75b	0.25b	4.75b	1.50b	1.75b	18.31
SEV3	16.25a	21.50a	4.00b	1.25b	3.00b	0.00b	4.75b	7.01
SEV4	7.50b	25.25a	2.75b	0.00b	0.75b	0.00b	4.75b	9.83
SEV5	5.00bc	10.75a	2.75bc	0.25c	0.00c	0.00c	6.75ab	5.70
RSEV2	0.57b	1.05a	0.16b	0.02b	0.20b	0.04b	0.09b	0.77
RSEV3	1.81a	1.73a	0.38b	0.13b	0.26b	0.00b	0.45b	0.66
RSEV4	1.18b	4.20a	0.37b	0.00b	0.09b	0.00b	0.55b	1.69
RSEV5	1.05ab	1.52a	0.82ab	0.04b	0.00b	0.00b	1.12ab	1.14
PI	24.21b	52.41a	7.88c	1.07c	5.35c	1.47c	11.18c	3.82
ISE	54.00abc	52.48abc	58.25abc	39.38ab	38.39bc	25.00c	73.20a	3.82
RPLINC	0.03b	0.05a	0.009cd	0.001d	0.0003cd	0.0004d	0.01c	3.82
RPLINF	0.29a	0.10a	0.13a	0.12a	0.07a	0.02a	0.12a	0.31
RT	4.61b	8.50a	1.72cd	0.19cd	0.56cd	0.04d	2.22c	2.12
RHA2	4664.70b	7923.30a	1583.90cd	196.70d	576.70cd	66.30d	2306.20c	3.82

Medias con la (s) misma (s) letra (s) son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey. DMSH_{0.05}: diferencia mínima significativa honesta, PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA2: rendimiento·ha⁻¹ de hongo del experimento dos.

La comparación de medias para rendimiento de huitlacoche del experimento dos mostró que el híbrido 30G40 fue estadísticamente diferente de las demás, enseguida el H-58 proporcionó una mejor respuesta.

Análisis combinado

El análisis de varianza combinado hubo diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en los caracteres plantas infectadas, grados de severidad SEV3, SEV4, SEV5, rendimiento de severidad RSEV3, RSEV4, porcentaje de

incidencia, rendimiento por planta inoculada, rendimiento total y rendimiento·ha⁻¹ de hongo; y diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$) entre las medias de los híbridos (Tra) para severidad SEV2, rendimiento severidad RSEV2 y RSEV5; Hubo diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$) entre las medias de los híbridos y entre las densidades ($P \leq 0.05$) para los caracteres plantas inoculadas, plantas infectadas, grado de severidad SEV3, SEV4, SEV5, rendimiento por grado de severidad RSEV4, RSEV5, rendimiento por planta inoculada, rendimiento total y rendimiento·ha⁻¹ (Cuadro 6).

Finalmente, la interacción Tra x D fue significativa ($P \leq 0.05$) para rendimiento de la severidad RSEV5, altamente significativa ($P \leq 0.01$) para los demás caracteres excepto para plantas inoculadas, índice de severidad y rendimiento por planta infectada (Cuadro 6). Esto significa que el comportamiento relativo de los híbridos responde de manera diferente a los cambios en densidades de población.

No se tienen antecedentes de estos híbridos evaluados bajo condiciones controladas de ambiente en invernadero debido a que la mayoría de los estudios en los que se han evaluado genotipos en México se refieren bajo condiciones de campo abierto donde la producción obtenida máxima es de 14 ton·ha⁻¹ (Martínez *et al.*, 2000). En otros experimentos (PAN *et al.*, 2008.) se han evaluado genotipos, que en su mayoría son maíces dulces susceptibles inoculados bajo condiciones ambientales favorables de campo abierto.

Cuadro 6. Cuadrados medios de 17 caracteres en la relación huésped patógeno entre maíz (*Zea mays* L.) y huitlacoche (*Ustilago maydis* Corda). Análisis combinado.

Caracter	Tra	D	Tra x D	Error	Total	C.V.	Media
GL	3	1	3	24	31		
PLINC	146.04ns	75466.13**	146.04ns	64.56	77891.88	6.50	123.56
PLINF	3284.11**	3982.78**	3340.11**	64.09	25400.72	30.75	26.09
SEV1	2487.70**	43144.53**	2681.03**	102.11	61101.67	10.44	96.78
SEV2	245.61*	69.03ns	704.60**	58.61	3126.47	82.49	9.21
SEV3	183.11**	294.03**	193.11**	10.07	1880.07	56.58	7.72
SEV4	294.21**	378.13**	229.54**	16.10	2335.88	73.80	5.44
SEV5	41.30**	116.28**	40.78**	4.82	477.47	78.96	2.78
RSEV2	0.44*	0.45*	0.43*	0.10	5.55	96.75	0.33
RSEV3	1.42**	4.39*	1.74**	0.07	14.49	40.37	0.64
RSEV4	9.48**	9.34**	5.35**	0.50	66.42	78.89	0.89
RSEV5	0.92*	2.38**	0.81*	0.21	12.62	78.60	0.58
PI	1107.19**	17.45ns	1143.36**	77.82	7826.70	29.77	20.66
ISE	933.02ns	1.41ns	1232.65ns	2628.65	69586.14	91.86	51.82
RPLINC	0.001**	0.0003**	0.0008**	0.00004	0.007	33.65	0.02
RPLINF	0.01ns	0.06ns	0.02ns	0.02	0.56	110.17	0.11
RT	31.55**	54.25**	23.90**	0.82	240.39	36.98	2.45
RHA	26950168.37**	55415604.94**	21731946.60**	537558.30	214363348.50	32.21	2276.16

*, **: Significativo con $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$, respectivamente; ns: no significativo con $p \geq 0.05$. Tra: tratamiento (híbrido), C.V.: coeficiente de variación, Media: media fenotípica del carácter evaluado. GL: grados de libertad, PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA2: rendimiento-ha⁻¹ de hongo del experimento combinado.

Los ensayos que se han realizado en invernadero, por lo general se refieren a estudios realizados bajo condiciones ambientales diferentes a las que prevalecen en el área donde se llevaron a cabo los experimentos, Thakur *et al.* (1989), determinaron que la fecha de cosecha del huitlacoche varia en híbrido de maíz dulce de 12 a 25 días lo que difiere de los 30 días promedio requeridos para cosechar el huitlacoche en este estudio, también mencionan que la incidencia obtenida en la mayoría de los híbridos más susceptibles es del 39%, en sólo un híbrido se obtuvo el 73 %, que difiere de lo obtenido en el presente

En la comparación de medias de los tratamientos el híbrido 30G40 mostró la mayor expresión en casi todos los caracteres evaluados excepto en el carácter rendimiento por planta infectada RPLINF (0.10a) donde el híbrido H-58 fue mejor (0.54a).

El 30G40 presentó el valor más bajo en el carácter SEV1 ya que debido a que se espera que los híbridos inoculados tengan pocas plantas sanas o con cero grado de severidad, lo que se ve reflejado en un mayor rendimiento total (5.24a), por hectárea (4,786.20a) y de severidad RSEV5 (1.03a); por el contrario, el híbrido Cóndor presentó el menor rendimiento·ha⁻¹ 617.10c) (Cuadro 7).

Densidades de población

La comparación de medias del análisis combinado mostró que la densidad de 166,666 plantas por hectárea produjo la mayor expresión en la mayoría de los caracteres evaluados. En rendimiento de huitlacoche (RHA) las medias fueron 3,592 y 960.2 kg·ha⁻¹ en la menor densidad de población (62,500 plantas·ha⁻¹) (Cuadro 8).

También fue superior en rendimientos de severidad RSEV3 (1.01a), RSEV4 (1.44a) y RSEV5 (0.86a) pero no fueron estadísticamente diferentes en los caracteres severidad SEV2 (10.75a), rendimiento de severidad RSEV2, estudio en la comparación de las medias de las mismas variables; por ejemplo el

porcentaje de incidencia varió del 1 al 52%, porcentaje de incidencia PI, índice de severidad ISE, y rendimiento por planta infectada (Cuadro 8).

Cuadro 7. Comparación de medias de cuatro híbridos en 17 caracteres de la relación huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda) y maíz.

Caracter	Híbrido				
	H-58	30G40	H-161	Condor	DMSH _{0.50}
PLINC	121.00a	126.12a	128.12a	119.00a	11.08
PLINF	23.50b	55.25a	16.13bc	9.50c	11.07
SEV1	95.50b	71.87c	112.00a	105.75ab	13.94
SEV2	7.87ab	17.37a	7.00ab	4.85b	10.56
SEV3	10.25ab	13.12a	4.87bc	2.87c	6.02
SEV4	3.75b	14.37a	2.65b	1.00b	5.53
SEV5	2.50b	6.00a	1.87b	0.75b	3.03
RSEV2	0.36ab	0.65a	0.018b	0.13b	0.44
RSEV3	0.95a	1.05a	0.33b	0.23b	0.36
RSEV4	0.59b	2.50a	0.34b	0.15b	0.97
RSEV5	0.52ab	1.03a	0.57ab	0.21b	0.63
PI	16.61b	38.04a	15.94b	12.03b	8.47
ISE	72.00a	49.85a	250.48a	50.94a	70.72
RPLINC	0.01b	0.04a	0.01b	0.009b	0.009
RPLINF	0.16a	0.10a	0.09a	0.09a	0.17
RT	2.43b	5.24a	1.42c	0.72c	1.25
RHA	2438.60b	4786.20a	1262.80c	617.10c	1011.30

Medias con la (s) misma (s) letra (s) son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey. DMSH_{0.05}: diferencia mínima significativa honesta PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA: rendimiento·ha⁻¹ de hongo del análisis combinado.

Análisis de interacción híbridos por densidad de población

Componentes para calidad asociados con el rendimiento.

Las medias muestran que el híbrido 30G40 tuvo el mayor rendimiento de 4.2 kg por unidad experimental en el carácter rendimiento de severidad 4 en la densidad de 166,666 ptas·ha⁻¹.

Cuadro 8. Comparación de medias, para el factor densidades, de 17 caracteres evaluados en la relación huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda) y maíz. Análisis combinado.

Caracter / Densidad	62,500 ptas·Ha	166,666 ptas·Ha	DMSH _{0.050}
PLINC	75.00b	172.13a	5.86
PLINF	14.94b	37.25a	5.86
SEV1	60.06b	133.50a	7.37
SEV2	7.81a	10.75a	5.59
SEV3	4.69b	10.75a	3.19
SEV4	2.00b	8.88a	2.93
SEV5	0.88b	4.69a	1.60
RSEV2	0.21a	0.45a	0.23
RSEV3	0.27b	1.01a	0.19
RSEV4	0.36b	1.44a	0.52
RSEV5	0.31b	0.86a	0.34
PI	55.61a	21.39a	4.89
ISE	55.61a	56.03a	37.41
RPLINC	0.02b	0.02a	0.05
RPLINF	0.07a	0.35a	0.48
RT	1.15b	3.76a	0.66
RHA	960.20b	3592.10a	535.00

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales, DMSH_{0.05}: diferencia mínima significativa honesta PLIC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA: rendimiento·ha⁻¹ de hongo del análisis combinado.

En el mismo carácter a 62,500 ptas·ha⁻¹ el mismo híbrido también fue el mejor con 0.81 kg por unidad experimental. En rendimiento de severidad 5, 30G40 tuvo el rendimiento de 1.52 kg por unidad experimental en la densidad el166,666 ptas·ha⁻¹, y en la densidad de 62,500 ptas·ha⁻¹ también el 30G40 produjo 0.55 kg por unidad experimental (Cuadro 9).

Componentes de incidencia y severidad de caracteres asociados con rendimiento.

El híbrido H-161 tuvo 181.25, la mayor cantidad plantas inoculadas y fue en la densidad de 166,666 ptas·ha⁻¹. En la densidad menor, se inocularon todas las plantas de los híbridos: H-58, 30G40, H-161 y Cóndor.

En el híbrido 30G40 se infectaron 92.75 plantas para 166,666 ptas·ha⁻¹, en donde las medias fueron estadísticamente iguales en los híbridos H-58 y H-161 en la misma densidad; siendo el 30G40 y el H-58 estadísticamente iguales, y a 62,500 ptas·ha⁻¹ las medias de cuatro híbridos fueron estadísticamente iguales. El porcentaje de incidencia fue mayor en 30G40 (52.41 %) en la densidad de 166,666 ptas·ha⁻¹, y en la densidad menor con 23.67 % (Cuadro 9).

Las medias para el índice de severidad en los cuatro híbridos y densidades fueron estadísticamente iguales, donde H-58 tuvo el 90 % y el Cóndor 59.38 % de severidad a 62,500 ptas·ha⁻¹.

La severidad grado cuatro fue mayor en 30G40 con 25.25 plantas por unidad experimental de 166,666 ptas·ha⁻¹, de igual manera este híbrido fue el mejor en la densidad de 62,500 ptas·ha⁻¹ con 3.5 plantas por unidad experimental (Cuadro 9).

La severidad 5 fue mayor para 30G40 a 166,666 ptas·ha⁻¹, y con 62,500 ptas·ha⁻¹ las medias fueron estadísticamente iguales en 30G40, H-161 y Cóndor, con 1.25, 1 y 1.25 plantas con este grado, respectivamente (Cuadro 9).

Componentes asociados con la producción de huitlacoche

El híbrido 30G40 fue el mejor con $7,923.28 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, y media estadísticamente igual para H-58, H-161 y Cóndor en la densidad de $166,666 \text{ ptas}\cdot\text{ha}^{-1}$, y para $62,500 \text{ ptas}\cdot\text{ha}^{-1}$ el 30G40 $1649.17 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$. El 30G40 tuvo un rendimiento por planta inoculada de 0.05 kg a $166,666 \text{ ptas}\cdot\text{ha}^{-1}$ y en $62,500 \text{ ptas}\cdot\text{ha}^{-1}$ 0.03 kg (Cuadro 9).

Las medias para rendimiento por planta infectada fueron estadísticamente iguales en las dos densidades para 30G40, H-161 y Cóndor. Sin embargo el mayor rendimiento obtenido fue de 0.13 kg en la densidad de $166,666 \text{ ptas}\cdot\text{ha}^{-1}$ y 0.11 kg en $62,500 \text{ ptas}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Cuadro 9).

En rendimiento total del 30G40 fue de $8.5 \text{ ton}\cdot\text{ha}^{-1}$ y en la mayor densidad, donde todas las medias de los híbridos fueron estadísticamente iguales (Cuadro 9).

Con el incremento de la densidad se incrementa el rendimiento en los híbridos H-58 ($4,664 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) y 30G40 ($7,923.28 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$). Sin embargo para los híbridos de maíz H-161 se obtuvo un rendimiento de $941.67 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ y en Cóndor de $1037.50 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ en la densidad de $62,500 \text{ ptas}\cdot\text{ha}^{-1}$.

Los híbridos 30G40 y H-58 produjeron los huitlacoques con mayor severidad y con el mayor peso lo cual contribuyó a que tuvieron los rendimientos mejores.

Cuadro 9. Comparación de densidades por híbridos e híbridos por densidades en la interacción hospedante con *Ustilago maydis* (Cda) en el análisis combinado.

Carácter	Unidades	Densidad	H-58	30G40	H-161	Cóndor	DMSH _{0.05}
PLINC	ptas	62,500	75.00ba	75.00ba	75.00ba	75.00ba	
		166,666	167.00a	177.25aab	181.25aa	163.00ab	15.67 11.73
PLINF	ptas	62,500	6.75ba	17.75ba	18.00aa	17.25aa	
		166,666	40.25ab	92.75aa	14.25ac	1.75bc	15.61 11.69
SEV1	ptas	62,500	68.25ba	57.25ba	57.00ba	57.75ba	
		166,666	126.75ab	86.50ac	167.00aa	153.75aa	19.7 14.75
SEV2	ptas	62,500	4.25aa	8.25ba	9.25aa	9.50aa	
		166,666	11.50ab	26.50aa	4.75ab	0.25ab	14.93 11.18
SEV3	ptas	62,500	4.25aa	4.75ba	5.25aa	4.50aa	
		166,666	16.25ba	21.50aa	4.00ab	1.25ab	6.19 4.63
SEV4	ptas	62,500	0.00ba	3.50ba	2.50aa	2.00aa	
		166,666	7.50ab	25.25aa	2.75ab	0.00ab	7.82 5.86
SEV5	ptas	62,500	0.00ba	1.25ba	1.00aa	1.25aa	
		166,666	5.00ab	10.75aa	2.75abc	0.25ac	4.28 3.21
RSEV2	kg	62,500	0.15ba	0.25ba	0.21aa	0.25aa	
		166,666	0.58aab	1.05aa	0.16ab	0.02ab	0.62 0.46
RSEV3	kg	62,500	0.10ba	0.37ba	0.29aa	0.33aa	
		166,666	1.81aa	1.73aa	0.38ab	0.13ab	0.52 0.39
RSEV4	kg	62,500	0.00ba	0.81ba	0.32aa	0.30aa	
		166,666	1.18ab	4.20aa	0.37ab	0.00ab	1.31 1.03
RSEV5	kg	62,500	0.00ba	0.55ba	0.32aa	0.38aa	
		166,666	1.05aa	1.52aa	0.82ab	0.04ab	0.89 0.67
PI	%	62,500	9.00ba	23.67ba	24.00aa	23.00aa	
		166,666	24.21ab	52.41aa	7.88bbc	1.07bc	17.2 12.88
ISE	%	62,500	90.00aa	47.21aa	42.71aa	42.50aa	
		166,666	54.00aa	52.48aa	58.25aa	59.38aa	99.98 74.85
RPLINC	kg	62,500	0.003bb	0.03ba	0.02aa	0.02aa	
		166,666	0.03ab	0.05aa	0.01ac	0.001bc	0.01 0.01
RPLINF	kg	62,500	0.04ba	0.11aa	0.06aa	0.07aa	
		166,666	1.05aa	0.10aa	0.13aa	0.12aa	1.28 0.96

Medias de híbridos con la misma letra son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey. DMSH_{0.05}: diferencia mínima significativa honesta, la primer DMSH compara las medias en sentido vertical y la segunda en sentido **horizontal** para cada carácter, PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA: rendimiento·ha⁻¹ de hongo del análisis combinado.

Continuación de cuadro 9. Comparación de densidades por híbridos e híbridos por densidades en la interacción hospedante con *Ustilago maydis* (Cda) en el análisis combinado.

Carácter	Unidades	Densidad	H-58	30G40	H-161	Cóndor	DMSH _{0.05}
RT	ton	62,500	0.26ba	1.98ba	1.13aa	1.25aa	
		166,666	4.61aa	8.50aa	1.72ab	0.19ab	1.77 1.32
RHA	kg	62,500	212.50bb	1649.17ba	941.67aab	1037.50aab	
		166,666	4664.67ab	7923.28aa	583.86ac	196.67ac	1429.71 1070.45

Medias de híbridos con la misma letra son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey. DMSH_{0.05}: diferencia mínima significativa honesta, la primer DMSH compara las medias en sentido vertical y la segunda en sentido **horizontal** para cada carácter, PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA: rendimiento·ha⁻¹ de hongo del análisis combinado.

Análisis de correlación

Los caracteres para calidad rendimiento grado de severidad 4 y 5 tuvieron una correlación alta positiva y significativa que contribuyeron a elevar el rendimiento.

Los caracteres para incidencia severidad: planta infectada, porcentaje de incidencia, severidad 4 y 5 tuvieron una correlación cuyo efecto fue elevar el rendimiento al ser positiva, en magnitud alta y significativa (Cuadro 10).

El carácter rendimiento por planta inoculada también contribuyó a incrementar el rendimiento del huitlacoche.

Los caracteres que tuvieron un incrementó lo que contribuyeron en forma importante al aumento del rendimiento; tanto la calidad como el rendimiento que están correlacionados, lo que puede incrementarse al emplear tener

aislamientos virulentos de *Ustilago maydis* y en híbridos de maíz susceptibles para garantizar correlaciones positivas en magnitud alta y significativa ($P \leq 0.01$); sobre todo en la todos los caracteres que se correlacionan para calidad, incidencia y severidad y los asociados para producción. La investigación permitió conocer la respuesta de la producción y calidad en diferente estación, bajo condiciones de control en invernadero donde la temperatura y humedad relativa se regularon con agua que se aplicó por aspersión.

Cuadro 10. Correlaciones fenotípicas entre 17 caracteres evaluados en la relación huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda) y maíz.
Análisis combinado.

Caracter	PLINF	SEV1	SEV2	SEV3	SEV4	SEV5	RSEV2	RSEV3	RSEV4	RSEV5	PI	ISE	RPLINC	RPLINF	RT	RHA
PLINC	0.43 *	0.84**	0.18 ^{NS}	0.42 *	0.45*	0.53**	0.31 ^{NS}	0.54**	0.42*	0.47**	0.07 ^{NS}	0.001 ^{NS}	0.23 ^{NS}	0.25 ^{NS}	0.51**	0.53**
PLINF		-0.13 ^{NS}	0.80**	0.85**	0.87**	0.77**	0.83**	0.83**	0.88**	0.62**	0.91**	-0.12 ^{NS}	0.86**	0.11 ^{NS}	0.94**	0.94**
SEV1			-0.29 ^{NS}	-0.05 ^{NS}	-0.03 ^{NS}	0.12 ^{NS}	-0.16 ^{NS}	0.10 ^{NS}	-0.07 ^{NS}	0.15 ^{NS}	-0.46**	0.08 ^{NS}	-0.26 ^{NS}	0.22 ^{NS}	-0.0003 ^{NS}	0.02 ^{NS}
SEV2				0.65**	0.60**	0.38*	0.95**	0.63**	0.64**	0.32 ^{NS}	0.80**	-0.17 ^{NS}	0.71**	0.12 ^{NS}	0.71**	0.71**
SEV3					0.67**	0.62**	0.75**	0.92**	0.66**	0.49**	0.73**	0.25 ^{NS}	0.73**	0.31 ^{NS}	0.80**	0.81**
SEV4						0.85**	0.62**	0.64**	0.99**	0.71**	0.74**	-0.02 ^{NS}	0.85**	-0.04 ^{NS}	0.94**	0.92**
SEV5							0.42*	0.63**	0.82**	0.92**	0.62**	0.009 ^{NS}	0.76**	-0.02 ^{NS}	0.86**	0.87**
RSEV2								0.74**	0.66**	0.34 ^{NS}	0.76**	-0.08 ^{NS}	0.72**	0.27 ^{NS}	0.76**	0.76**
RSEV3									0.63**	0.55**	0.69**	-0.004 ^{NS}	0.73**	0.43*	0.82**	0.84**
RSEV4										0.69**	0.76**	-0.03 ^{NS}	0.87**	-0.05 ^{NS}	0.94**	0.92**
RSEV5											0.52**	-0.003 ^{NS}	0.74**	-0.07 ^{NS}	0.78**	0.78**
PI												-0.21 ^{NS}	0.88**	0.02 ^{NS}	0.81**	0.79**
ISE													-0.05 ^{NS}	-0.04 ^{NS}	-0.03 ^{NS}	-0.03 ^{NS}
RPLINC														0.04 ^{NS}	0.92**	0.91**
RPLINF															0.11 ^{NS}	0.10 ^{NS}
RT																0.99**

Carácter PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total y RHA: rendimiento⁻¹ de hongo del análisis combinado.

CONCLUSIONES

El híbrido 30G40 fue estadísticamente superior ($1,649 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) al H-58 y similar a: H-161 y Cóndor, en cultivo con hidroponía en invernadero, para rendimiento por hectárea, a una densidad de 62,500 plantas por hectárea; aunque numéricamente el 30G40 resultó muy superior.

En cultivo con hidroponía en invernadero y a una densidad de 166, 666 plantas el híbrido 30G40 fue estadísticamente superior ($7,923 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$).

La densidad de $166,666 \text{ plantas}\cdot\text{ha}^{-1}$ influyó en un mayor rendimiento de huitlacoche en el híbrido 30G40, incrementando el rendimiento en 134.4% con respecto a la densidad de $62,500 \text{ plantas}\cdot\text{ha}^{-1}$.

LITERATURA CITADA

Agrios, G. N. 2005. Plant pathology, 5th ed. Academic Press.USA. 922 p.

Christensen, J. J. 1963. Corn Smut caused by *Ustilago maydis* Cda. Published by The American Phytopathological Society. Department of Plant Pathology and Botany. Institute of Agriculture, University of Minnesota, St. Paul. 41 p.

Martínez, M. L. 1999. Mejoramiento de la virulencia del hongo y susceptibilidad del maíz al huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) Tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 101 p.

Martínez-Martínez. L.; Villanueva-Verduzco, C. and Sahagún-Castellanos, J. 2000. Susceptibility and resistance of maize to the edible fungus huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) improving its virulence. Revista Chapingo Serie Horticultura 6 (2): 241-255.

Pan J.J, Baumgarten A. M. and May G. 2008. Effects of host plant environment and *Ustilago maydis* Cda. infection on the fungal endophyte community of maize (*Zea mays* L.) New Phytologist 178: 147–156

Pataky, J. K. and M. A. Chandler. 2003. Production of huitlacoche, *Ustilago maydis* Cda.: timing inoculation and controlling pollination. Mycologia 95: 1261-1270.

Steiner, A. A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. Plant Soil 15:134-154.

Thakur, R. P., K. J. Leonard, and Pataky J. K. 1989. Smut gall development in adult plants inoculated with *Ustilago maydis* Cda. Plant Disease 73:921-925.

Tisdale, W. H. and Johnston, C. O. 1926. A study of smut resistance in corn

CAPITULO II

LA HUMEDAD RELATIVA, EL GENOTIPO Y MATERIAL RETENEDOR DE AGUA EN LA PRODUCCIÓN DE HUITLACOCHÉ

RESUMEN

En 2007 en condiciones de invernadero se realizó un experimento factorial 3^3 con tres híbridos de maíz (H-58, 32D06 y 30G40), tres niveles de humedad relativa (60, 65 y 70 %) y tres materiales retenedores de agua (sin material retenedor, algodón y agribón) para inducir la producción artificial de huitlacoche. Se analizaron 18 variables a una densidad de población de 133,333 plantas·ha⁻¹. El inóculo usado fue el respectivo aislado del hongo de cada híbrido. Estadísticamente el mejor híbrido fue el 30G40 con 16,416.2 kg·ha⁻¹, de huitlacoche, con 74.41 % de incidencia y un índice de severidad del 79.5 %. La mejor humedad relativa fue a 70 % con 12,025.1 kg·ha⁻¹, porcentaje de incidencia del 62.5 % y un índice de severidad del 63.19 %. Entre los materiales retenedores de agua, la mejor condición fue sin retenedor ya que produjo el mayor rendimiento unitario de huitlacoche (10,587.4 kg·ha⁻¹), aunado a un porcentaje de incidencia de 62.16 % y un índice de severidad de 62.89 %. Entre las interacciones dobles, el mayor rendimiento y calidad se obtuvo con el híbrido 30G40 a 70 % de humedad relativa (20,904 kg·ha⁻¹), explicado por una incidencia de 77.38%, un índice de severidad del 88.04 % y un rendimiento por grado de severidad 4 y 5 de 0.24 y 8.29 kg.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: *Zea mays*, *Ustilago maydis*, invernadero, maíz

ABSTRACT

In June 2007, an experiment with three levels of the factors hybrids (H-58, 32D06 y 30G40), relative humidity (60, 65 y 70 %) and humidity retainers materials (no humidity retainer material, cotton and agribon) (3^3) to induce artificial production of huitlacoche in a greenhouse was performed and 18 variables were analyzed. Seeding density was 133,333 plants·ha⁻¹. The inoculums used were the respective isolated strain of the fungus of each hybrid. Statistically, the best hybrid was 30G40 with a yield of 16,416.2 kg·ha⁻¹ of huitlacoche, where its components were a disease incidence of 74.41 % and a disease severity index of 79.5 %. The best response was obtained with 70 % of relative humidity with a production of 12,025.1 kg·ha⁻¹, a disease incidence of 62.5 % and a disease severity index of 63.19 %. The no humidity retainer material produced the highest yield of huitlacoche (10,587.4 kg·ha⁻¹), a disease incidence of 62.16 % and a disease severity index of 62.89 %. The highest yield and quality was obtained in the interaction hybrid 30G40 with 70 % of relative humidity (20,904 kg·ha⁻¹) which can be explained by a disease incidence of 77.38%, a disease severity index of 88.04 % and a production for a degree of severity 4 and 5 of 0.24 y 8.29 kg, respectively.

Key words additionally: *Zea mays*, *Ustilago maydis*, greenhouse, corn

INTRODUCCIÓN

El huitlacoche, producto de la infección del hongo *Ustilago maydis* en maíz (*Zea mays* L.) es utilizado como alimento en la región de los valles altos de México desde las épocas precolombinas (Villanueva, 1997). El hongo se adquiere en fresco durante todo el año y en los meses de julio a octubre se incrementa su consumo debido a que ésta es la época de mayor producción de elote, y lo que incrementa su recolección. Además, tiene un alto valor nutritivo por su proteína de buena calidad lo que contribuye a que se incremente cada vez más su consumo (Valverde y Paredes-López, 1993).

El hongo se reproduce prácticamente en cualquier parte aérea de la planta. Se le puede encontrar afectando raíces adventicias, tallo, hojas, espiga y elote; lugares de donde se recolecta en forma tradicional los huitlacoche, que adquieren diferentes formas y texturas. En la parte de las hojas es donde se encuentran las texturas más duras que en el resto de la planta (Agrios, 2005).

Los recolectores prefieren los hongos desarrollados en la mazorca, que son de un mayor tamaño y así influyen en obtener un mayor peso del material cosechado. En los estudios realizados para inducir la producción de huitlacoche se muestran que la inoculación en el jilote es una técnica que puede incrementar la severidad a un alto grado de daño y lograr así una mayor

producción del hongo (Villanueva *et al.*, 1999; Villanueva *et al.*, 2007), lo que a su vez puede proporcionar altos rendimientos del producto en fresco; siempre y cuando se cuente con las condiciones del genotipo del maíz (hospedero) susceptible al hongo, un patógeno virulento y el ambiente favorable con un 80-85% de humedad relativa y una temperatura de 16-32°C (Villanueva *et al.*, 1999; Martínez *et al.*, 2000).

Para encontrar las condiciones necesarias para producir huitlacoche oportunamente se requiere de evaluar en diferentes condiciones ambientales un amplio número de genotipos de maíz para fines de producción de huitlacoche (Pan *et al.*, 2008), inoculados con cepas virulentas para así conocer su nivel de susceptibilidad genética que favorezcan el desarrollo del hongo e incrementar el rendimiento y la calidad del huitlacoche. En estudios previos (Villanueva *et al.*, 1999), encontró que existe variación patogénica del hongo; dado que la infección y desarrollo del mismo está en función de la habilidad del patógeno, la susceptibilidad del hospedante y su interacción con el ambiente (Christensen, 1963). La producción del hongo es mayor en el jilote, el cual al ser infectado antes de polinización podrá disponer de un alta concentración de carbohidratos, para propiciar la formación de agallas grandes (Pataky y Chandler, 2003).

La época de mayor producción de huitlacoche a cielo abierto coincide con el cultivo de maíz en temporada de lluvias, la cual se puede considerar un condicionante en forma tradicional para que el hongo logre infectar y producir

huitlacoques con alto grado de severidad, sin embargo, al no presentarse condiciones de alta precipitación, la humedad relativa disminuye y la temperatura se incrementa, dando como resultado una baja producción del hongo (Villanueva *et al.*, 2007).

Desde los primeros estudios del hongo se ha considerado que las condiciones ambientales son importantes para lograr una buena infección (Tisdale y Johnston, 1926); concepto que se mantiene vigente en las investigaciones con objetivos de estudiar la supervivencia del hongo, ya sea para control genético del patógeno o mejoramiento para obtener una mayor producción de huitlacoche. Para lograr una alta confiabilidad del comportamiento del hongo en los estudios, se debe contar con las condiciones favorables, las cuales en épocas de precipitación abundante se tenía como resultado la infección ocurre de forma natural; por lo que no es posible obtener todos los años las mismas condiciones de precipitación en una misma localidad a cielo abierto.

Un ambiente controlado para producir huitlacoche puede obtenerse en un invernadero que tenga condiciones adecuadas de construcción, en el que se podrá repetir la evaluación de la infección del hongo en forma controlada (Thakur *et al.*, 1989).

En el invernadero, con la aplicación de agua y una adecuada ventilación se puede controlar la temperatura e incrementar la humedad, requisitos condicionantes para que el maíz sea infectado.

Por tanto, con estudios realizados en estas condiciones de invernadero se pueden tener elementos para poder cubrir la necesidad de lograr investigaciones cuando a campo abierto no es posible lograr la infección del hongo. Al cultivar de maíz en invernadero para enseguida inducir la infección con *Ustilago maydis* es una alternativa que incrementa las posibilidades de obtener el mayor índice de severidad.

Durante 2007, se realizó una investigación bajo en invernadero, donde 3 híbridos de maíz se infectaron con el hongo y se mantuvieron bajo diferentes ambientes de humedad relativa y de materiales retenedores de agua.

Objetivo

Evaluar el efecto de tres factores (híbridos, humedad relativa y materiales retenedores de agua) y sus interacciones, en el rendimiento y calidad de huitlacoche.

Hipótesis

Algunas de las combinaciones de híbridos de maíz, porcentajes de humedad relativa y materiales retenedores de agua, favorecen el rendimiento y la calidad del huitlacoche.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental

El experimento se estableció en un invernadero del Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, México a 19°29'27" LN y 98°52'23" LO, a una altitud de 2,240 msnm). Con invernadero con cubierta plástica, el sustrato donde se sembró el maíz fue arenilla de tezontle rojo, cubierto con plástico para acolchado bicapa, gris/negro, con el color gris hacia arriba.

Diseño y arreglo experimental

La investigación se estableció en marzo de 2007 en un arreglo factorial y un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones. Los factores y sus niveles fueron: híbridos de maíz (H-58, 32D06 y 30G40), porcentajes de humedad relativa (60, 65 y 70%) y materiales retenedores de agua (sin retenedor, franela de algodón y agribón). La unidad experimental estuvo formada por 1 surco de 14 m de largo con una planta cada 25 cm (56 plantas), con surcos cada 30 cm lo que hace una densidad de 133,333 plantas·ha⁻¹. Los híbridos se inocularon con aislamientos del hongo, obtenidos de elotes infectados de cada híbrido. El experimento se sembró en camas hidropónicas de 1.2 m de ancho.

Manejo del experimento

La siembra se hizo de forma manual. El plástico para acolchado se perforó (siete cm) cada 25 cm en cuatro hileras (surcos) por cama, separadas a 30 cm.

Durante el cultivo se eliminaron las malezas y se monitoreó la presencia de plagas para su eventual control.

La solución nutritiva hidropónica empleada fue la universal de Steiner (1961), la cual se aplicó por medio de una cinta de riego por goteo, con una distancia de 15 cm entre goteros. El riego se aplicó dos veces el día, el primero a las 9:00 h y el segundo a las 16:00 h.

Antes de la inoculación, se colocaron los materiales retenedores de humedad, así mismo, durante el periodo de infección y desarrollo del hongo. Mediante el sistema de riego se indujo el ajuste del porcentaje de humedad relativa deseada.

Inoculación

El inóculo se obtuvo a partir cepas específicas obtenidas de los híbridos aislados en experimentos previos (Martínez *et al.* 1999). Estas se reactivaron en cajas de Petri con medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar). El inóculo preparado en agua destilada estéril se ajustó a una concentración de 10^6 esporidias·ml⁻¹. La inoculación se realizó en el mes de mayo de 2007, en la etapa de jilote en tres puntos equidistantes a lo largo del mismo (Villanueva *et al.*, 2007). Durante el periodo de infección se mantuvo la temperatura en un intervalo de 16 a 32 °C; y la humedad relativa cada 60, 65 y 70% según los niveles deseados.

Caracteres estudiados

Los caracteres estudiados fueron: número de plantas inoculadas (PLINC), número de plantas infectadas (PLINF), severidad medida en porcentaje (SEV), rendimiento por grado de severidad (RSEV) en kilogramos, porcentaje de incidencia (PI), índice de severidad (ISE) que es el porcentaje de la mazorca cubierta por agallas (Villanueva,1995), rendimiento promedio por planta inoculada (RPLINC) en kilogramos, rendimiento promedio por planta infectada (RPLINF) en kilogramos, rendimiento total (RT) en kilogramos (todas las variables anteriores se tomaron por parcela o unidad experimental, excepto RPLINC y RPLINF) y rendimiento por hectárea (RHA) en kilogramos por hectárea. La cosecha del hongo, y por ende la medición del rendimiento del mismo, se hizo en promedio a los 30 días posteriores a la inoculación.

Para medir la severidad (SEV), se consideró el grado de cubrimiento de los elotes con las agallas del hongo bajo las categorías descritas en el cuadro 1 (Villanueva et al., 1999):

Cuadro.1 Proporción de la mazorca cubierta por agallas según la categoría de severidad.

Categoría	Proporción de la mazorca cubierta
SEV1	0 %
SEV2	(>0)-25 %
SEV3	(>25)-50 %
SEV4	(>50)-75 %
SEV5	(>75)-100 %

El porcentaje de incidencia (PI) se obtuvo al dividir el total de elotes infectados en la unidad experimental entre el total de elotes inoculados, y multiplicarlo por 100; como se aprecia en la siguiente expresión:

$$PI = [(No. Elotes con SEV2) + \dots + (No. Elotes con SEV5) / \text{Total de elotes inoculados}] \times 100$$

El índice de severidad (ISE) se obtuvo mediante la expresión (Villanueva *et al.*, 1999):

$$ISE = [(NESEV1(0) + NESEV2(0.25) + NESEV3(0.50) + NESEV4(0.75) + NESEV5(1.0) / PLINF] \times 100; \text{ donde: } NESEV_i = \text{número de elotes para cada categoría de severidad.}$$

El rendimiento por planta inoculada (RPLINC) se refirió al peso total cosechado del hongo (kilogramos) entre el número de plantas inoculadas en la parcela, $RPLINC = (PSEV2 + \dots + PSEV5) / \text{Total de elotes inoculados}$; donde: $PSEV_i$ se refiere al peso del hongo de los elotes en la categoría i de severidad ($i=2,3,4,5$).

El rendimiento por planta infectada (RPLINF), se calculó por el peso total cosechado del hongo (kilogramos) entre el número de plantas infectadas en la parcela, según la expresión:

$$RPLINF = (PSEV2 + \dots + PSEV5) / \text{Total de elotes infectados}; \text{ donde: } PSEV_i \text{ se refiere al peso del hongo de los elotes en la categoría } i\text{-ésima de severidad.}$$

El rendimiento por hectárea (RHA) es lo que resulta de multiplicar el rendimiento por planta inoculada por la densidad de plantas en el experimento, como se describe en la ecuación $RHA = RPLINC \times 133,333 \text{ plantas} \cdot \text{ha}^{-1}$.

Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza utilizando el procedimiento Proc GLM del paquete estadístico S.A.S bajo el modelo lineal de un experimento completamente al azar de un factorial 3^3 (Cuadro 2).

$$Y_{ijkl} = \mu + H_i + h_j + M_k + Hh_{ij} + HM_{ik} + hM_{jk} + HhM_{ijk} + e_{ijkl}$$

$i = 1, 2, 3$ (niveles del factor “Híbridos”)

$j = 1, 2, 3$ (niveles del factor “Humedad relativa”)

$k = 1, 2, 3$ (niveles del factor “Material retenedor de agua”)

$l = 1, 2, 3, 4$ (repeticiones)

donde:

Y_{ijkl} es el valor asociado a la observación $ijkl$.

H_i = niveles del factor H (Híbrido)

h_j = niveles del factor h (humedad relativa)

M_k = niveles del factor M (Material retenedor de agua)

r = repeticiones

e_{ijkl} = error asociado a la observación $ijkl$.

Se realizaron comparaciones múltiples de medias mediante la prueba de Tukey con un alfa de 5% entre todos los caracteres estudiados.

Cuadro 2. Factores, niveles en estudio y sus combinaciones

Factor H Híbrido	Factor h	Humedad relativa %	Factor M retenedor de humedad
H-58		70	sin retenedor
H-58		70	algodón
H-58		70	agribón
H-58		65	sin retenedor
H-58		65	algodón
H-58		65	agribón
H-58		60	sin retenedor
H-58		60	algodón
H-58		60	agribón
32D06		70	sin retenedor
32D06		70	algodón
32D06		70	agribón
32D06		65	sin retenedor
32D06		65	algodón
32D06		65	agribón
32D06		60	sin retenedor
32D06		60	algodón
32D06		60	agribón
30G40		70	sin retenedor
30G40		70	algodón
30G40		70	agribón
30G40		65	sin retenedor
30G40		65	algodón
30G40		65	agribón
30G40		60	sin retenedor
30G40		60	algodón
30G40		60	agribón

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de varianza

Existieron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) entre niveles de los factores H (híbridos), h (humedad relativa) y M (materiales retenedores de agua) y las interacciones dobles Hh, HM, hM y la triple HhM, el rendimiento en mazorcas con grado de severidad 4 y 5 (RSEV4 y RSEV5) e índice de severidad, rendimiento por planta infectada, porcentaje de incidencia, rendimiento por planta inoculada, rendimiento total, rendimiento por hectárea y plantas infectadas.

También las diferencias fueron altamente significativas entre los niveles de los factores H, h, M, Hh, HM, y la interacción triple HhM para plantas con grado de severidad 4 SEV4 y de H, h, M, Hh y hM para el carácter plantas con grado de severidad 5 SEV5.

Las medias generales del experimento para RHA, RPLINF, PI e ISE fueron: 9,244.01 kg·ha⁻¹, 0.01 kg, 58.67 % y 60% respectivamente (Cuadro 3).

Comparaciones de medias

Híbridos (H)

El híbrido 30G40 tuvo el mayor rendimiento de huitlacoche 16,416.2 kg·ha⁻¹, porcentaje de incidencia 74.4 %, índice de severidad 79.5 %, 27.39 plantas con grado de severidad 5 y el rendimiento por planta inoculada 0.12 kg. El

rendimiento mayor por hectárea y planta se debe a que el híbrido tuvo la frecuencia mayor de plantas de rendimiento de grado de severidad 5 con 6.11 kg por unidad experimental (cuadro 4).

Humedad relativa (h)

A 70% de humedad relativa se produjo el rendimiento mayor de huitlacoche ($12,025.1 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) a un porcentaje de incidencia de 68.5%, e índice de severidad 63.19 % (Cuadro 4). Con 60 % de humedad relativa se obtuvieron $9,246.8 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, mayor que a 65 % de humedad relativa ($6,469.1 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$).

Material retenedor de agua (M)

Sin retenedor y con agribón los rendimientos de huitlacoche (RHA) fueron estadísticamente iguales. Sin retenedor se registró un rendimiento de $10,587.4 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, porcentaje de incidencia de 62.16 %, un índice de severidad del 62.89 % y rendimiento por planta infectada de 0.12 kg. Con agribón, el rendimiento fue de $9,784 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, el porcentaje de incidencia de 59 %, índice de severidad 61.15 % y un rendimiento por planta infectada 0.11 kg (cuadro 4).

Según los resultados para los factores evaluados en forma individual, el híbrido 30G40 fue el mejor, seguido de H-58. Sin embargo, no se obtuvo una respuesta aceptable del híbrido 32D06; ya que éste mostró la mayor cantidad de plantas inoculadas sanas (20.25) por unidad experimental, comparado con 14.33 del 30G40 (Cuadro 4).

Cuadro 3. Cuadrados medios para 17 caracteres de tres factores de la reacción del maíz al huitlacoche en invernadero.

Interacción	Híbridos (H)	Humedad relativa (%) (h)	Material retenedor de agua (M)	Hh	hm	HM	HhM	Error	Total+	CV	Media
Caracter	2	2	2	4	4	4	8	81	107		
GL	3044.75**	65.86**	4.69 _{ns}	40.61**	70.93**	24.49**	101.53**	5.36	8013.00	5.09	45.50
PLINC	5471.45**	736.15**	104.15**	170.40**	205.68**	83.15**	142.35**	14.95	1609.88	14.01	27.60
PLINF	354.79**	546.12**	107.40**	180.25**	154.81**	108.11**	87.29**	17.21	5881.88	23.18	17.90
SEV1	109.73**	14.17 _{ns}	24.78*	136.35**	59.33**	65.17**	59.45**	7.03	2385.66	44.80	3.58
SEV2	17.44**	23.25**	21.19**	33.53**	6.31 _{ns}	15.14**	18.22**	2.58	698.25	44.80	3.38
SEV3	41.31**	7.56**	9.95**	17.20**	1.29 _{ns}	3.76**	6.58**	1.23	360.10	64.62	1.71
SEV4	5995.56**	386.45**	77.15**	105.56**	85.94**	31.63 _{ns}	27.66 _{ns}	14.98	15245.88	30.72	12.60
SEV5	0.17**	0.5**	0.01 _{ns}	0.11**	0.10**	0.06**	0.08**	0.009	2.91	35.67	0.27
RSEV2	0.14**	0.22**	0.19**	0.26**	0.05**	0.10**	0.13**	0.02	5.39	51.78	0.27
RSEV3	0.61**	0.10**	0.18**	0.31**	0.05**	0.08**	0.12**	0.02	6.90	61.42	0.21
RSEV4	318.93**	32.21**	9.71**	11.84**	12.27**	5.59**	5.52**	0.67	938.78	30.38	2.69
RSEV5	0.9**	0.1**	0.0006**	0.0004**	0.006**	0.003**	0.002**	0.0005	0.31	19.81	0.11
RPLINF	7093.65**	3447.48**	602.25**	1098.37**	632.09**	529.94**	567.03**	65.93	41204.99	13.84	58.67
PI	1742.65**	390.55**	468.93**	314.48**	261.54**	299.54**	190.73**	47.67	32093.47	11.51	60.00
ISE	0.08**	0.02**	0.01**	0.002**	0.006**	0.001**	0.002**	0.0002	0.27	21.71	0.07
RPLINC	326.22**	39.24**	14.32**	5.87**	16.54**	4.90**	4.67**	0.62	956.62	22.90	3.45
RT	1427995281**	278725102**	101577505**	37316439**	105778830**	2590446**	29680593**	4026573	4856199764	21.71	9244.01
RHA											

* **: Significativo con $P \leq 0.05$ y $p \leq 0.01$, respectivamente; ns: no significativo con $p \geq 0.05$. Tra= tratamiento (híbrido), C.V.: coeficiente de variación, Media: media fenotípica del carácter evaluado. GL: grados de libertad, PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1, ..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2, ..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA: rendimiento del hongo kg ha^{-1} . A: factor híbridos (H-58, 32D06 Y 30G40), B: factor humedad relativa en los porcentajes 60%, 65% y 70%, C: factor retenedores de humedad (sin retenedor, algodón y agribón), Hxh, hxM, HxM, HxhxM=interacciones entre los factores.

Cuadro 4. Comparación de medias de 17 caracteres evaluados bajo tres factores con tres niveles con evaluación por niveles individuales, en la relación huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda) con híbridos de maíz.

Factor/Caracter	PLINC	PLINF	SEV1	SEV2	SEV3	SEV4	SEV5	RSEV2	RSEV3	RSEV4	RSEV5	RPLINF	PI (%)	ISE (%)	RPLIC	RT (t·ha ⁻¹)	RHA (kg·ha ⁻¹)
Híbridos/niveles																	
I-58 (H)	41.58b	22.47b	19.11a	9.89a	4.31a	1.36b	6.81b	0.29a	0.34a	0.18b	1.29b	0.09b	54.17b	53.85b	0.05b	2.09b	6700.3b
32D06 (H)	38.92c	18.67c	20.25a	11.31a	2.92b	0.86b	3.61c	0.33a	0.24b	0.11b	0.67c	0.07c	47.44c	46.62c	0.03a	1.35c	4615.5c
30G40 (H)	56.00a	41.67a	14.33b	7.83b	3.53ab	2.92a	27.39a	0.19b	0.23b	0.36a	6.11a	0.16a	74.41a	79.5a	0.12a	6.89a	16416.2a
Humedad																	
relativa																	
I.R. 60 % (h)	44.08b	26.62b	17.44b	9.61a	3.92a	1.25b	11.92b	0.28ab	0.30a	0.16b	2.62b	0.11b	58.57b	60.17ab	0.07b	3.36b	9246.8b
I.R. 65 % (h)	45.64a	23.64c	22a	9.08a	2.67b	2.17a	9.72c	0.23b	0.18b	0.26a	1.78c	0.9c	48.93c	56.61b	0.05c	2.45c	6460.1c
I.R. 70 % (h)	46.77a	32.53a	14.25c	10.33a	4.17a	1.72ab	16.17a	0.30a	0.34a	0.22ab	3.67a	0.12a	68.50a	63.19a	0.09a	4.53a	12025.1a
Material																	
retenedor																	
Sin ret (M)	45.14a	28.53a	16.61b	9.01b	3.67ab	2.08a	13.81a	0.26 a	0.28 a	0.26 a	3.10a	0.12a	62.16a	62.89a	0.08a	3.90a	10587.4a
Algodón (M)	45.50a	25.64b	19.86a	10.61a	2.78b	1.11b	10.97b	0.29a	0.20 b	0.13 b	2.10b	0.9 b	54.17b	55.95b	0.05b	2.73b	7360.7b
Agribón (M)	45.86a	28.64a	17.22b	9.39ab	4.31a	1.94a	13.03ab	0.26 a	0.34 a	0.24 a	2.87 a	0.11a	59.68a	61.15a	0.07a	3.71a	9784.0a
DMSH _{0.05}	1.30	2.18	2.33	1.49	0.90	0.62	2.18	0.05	0.08	0.07	0.46	0.01	4.57	3.89	0.01	0.44	1129.2

Nota: medias con la (s) misma (s) letra (s) son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey. DMSH_{0.05}: diferencia mínima significativa honesta, PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA: rendimiento·ha⁻¹. A: factor híbridos (H-58, 32D06 Y 30G40), B: factor humedad relativa en los porcentajes 60%, 65% y 70%, C: factor materiales retenedores de agua (sin retenedor, algodón y agribón).

Análisis de interacciones dobles

Interacción de Híbridos x Humedad Relativa % (H x h)

Componentes para calidad asociados con el rendimiento

La comparación de medias en el carácter rendimiento de grado severidad 4 muestra que el híbrido 30G40 tuvo el mayor rendimiento con 0.60 kg por unidad experimental a 65% de humedad relativa; en el carácter rendimiento grado de severidad 5, la humedad relativa en donde hubo el mayor rendimiento fue a 70 % con 8.29 kg por unidad experimental y a 60 % 5.80 kg en el híbrido 30G40, siendo el rendimiento igual estadísticamente igual y en la humedad relativa de 65 % con 4.22 kg por unidad experimental (Cuadro 5).

Componentes de incidencia y severidad asociados con la producción

En el carácter plantas inoculadas, en los tres rangos de humedad relativa (60, 65 y 70%), las mejores medias fueron estadísticamente iguales, en el híbrido 30G40 con 56 plantas inoculadas. Las medias para el H-58 fueron iguales a 65 y 70 % de humedad relativa con 43.33 y 42.25 plantas inoculadas respectivamente y el 32D06 tuvo más plantas inoculadas a 70 % de humedad relativa (42.8) (Cuadro 5).

Hubo mayor cantidad de plantas infectadas a 60 % de humedad relativa, sin embargo las medias fueron estadísticamente iguales para los tres porcentajes de humedad relativa. Las medias del híbrido 30G40 fueron estadísticamente

iguales a 60 y 70 % de humedad relativa con 44.33 y 43.33 plantas infectadas y el H-58 tuvo 30.67 plantas infectadas.

Las medias para el porcentaje de incidencia fueron las mayores y estadísticamente iguales en los tres porcentajes de humedad relativa; en el híbrido 30G40 con 72.02, 73.81 y 77.38 % respectivamente, y para el H-58 a 70 % de humedad relativa 73.14 %.

Las medias en índice de severidad fueron estadísticamente iguales en los tres porcentajes de humedad relativa para el híbrido con 77.06, 73.40 y 88.04 % y en el H-58 a 70% (58.06 %).

En las medias para severidad 4 a 65 y 70% de humedad relativa fue mejor el 30G40 con 4.92 y 2.08 plantas respectivamente.

Las medias para severidad 5, fueron estadísticamente iguales para los tres porcentajes de humedad relativa con 34.42 a 70% y en el híbrido 30G40. Para el H-58 tuvo la mayor cantidad de plantas con severidad 5 a 70 % de humedad relativa (10.25).

Componentes de rendimiento asociados con la producción

Las mayores medias para rendimiento fueron estadísticamente iguales en los tres porcentajes de humedad relativa. En híbrido 30G40 se registro el mayor

rendimiento 20,904.62 kg·ha⁻¹ a 70 % de humedad relativa, y en la misma humedad el H-58 fue el mejor con 9,949.67 kg·ha⁻¹ (Figura 1).

Las medias para el rendimiento por planta inoculada, por planta infectada y total, tuvieron la misma tendencia que para rendimiento por hectárea.

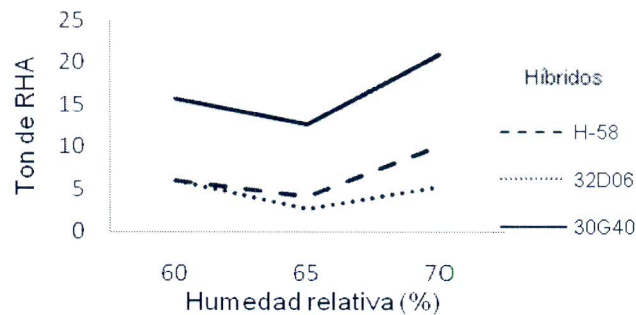


Figura 1. Interacción Híbridos x humedades relativas (H x h).

Cuadro 5. Comparación de medias para 17 caracteres de la reacción del maíz al huitlacoche de tres híbridos (H) por tres porcentajes de humedad relativa (h).

Caracter		Híbrido (H)	humedad relativa (h) %			DMSH _{0.05}
			60	65	70	
PLINC	ptas	H-58	39.16bb	43.33ba	42.25ba	2.25
		32D06	37.08bb	37.58cc	42.08ba	
		30G40	56.00aa	56.00aa	56.00aa	
PLINF	ptas	H-58	19.08bb	17.67bb	30.67ba	3.77
		32D06	20.50ba	11.92cb	23.58ca	
		30G40	44.33aa	41.33aa	43.33aa	
SEV1	ptas	H-58	20.08ab	25.67ba	11.58bb	2.98
		32D06	16.58bb	58.67aa	18.50ab	
		30G40	15.67ba	14.67ca	12.67ba	
SEV2	ptas	H-58	9.08aa	9.25aa	11.33ba	2.69
		32D06	10.92ab	7.83ac	15.17aa	
		30G40	8.83aa	10.17aa	4.50cb	
SEV3	ptas	H-58	3.33ab	2.92ab	6.67aa	1.57
		32D06	4.00aa	1.25bb	3.50ba	
		30G40	4.42aa	3.83aab	2.33bb	
SEV4	ptas	H-58	0.92aa	1.25ba	1.92aa	1.10
		32D06	1.08aa	0.33ba	1.17aa	
		30G40	1.75ab	4.92aa	2.08ab	

Medias con la (s) misma (s) letra (s) son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey. DMSH_{0.05}: diferencia mínima significativa honesta, la DMSH compara las medias en sentido vertical y **horizontal** para cada caracter; PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA: rendimiento·ha⁻¹ de hongo del análisis combinado.

Continuación de cuadro 5. Comparación de medias para 17 caracteres de la reacción del maíz al huilacoche de tres híbridos (H) por tres porcentajes de humedad relativa (h).

		humedad relativa (h) %				
Caracter		Híbrido (H)	60	65	70	DMSH _{0.05}
SEV5	ptas	H-58	5.92 bb	4.25 bb	10.25 ba	3.85
		32D06	4.50 ba	2.50 ba	3.83 ba	
		30G40	25.33 ab	22.42 ab	34.42 aa	
RSEV2	kg	H-58	0.26 ba	0.25 aa	0.34 ba	0.09
		32D06	0.34 ab	0.20 ac	0.45 aa	
		30G40	0.23 ba	0.23 aa	0.11 cb	
RSEV3	kg	H-58	0.27 ab	0.20 ab	0.57 aa	0.14
		32D06	0.31 aa	0.10 bb	0.31 ba	
		30G40	0.32 aa	0.25 aab	0.13 cb	
RSEV4	kg	H-58	0.10 ab	0.14 bab	0.28 aa	0.14
		32D06	0.14 aa	0.03 ba	0.16 aa	
		30G40	0.23 ab	0.60 aa	0.24 ab	
RSEV5	kg	H-58	1.20 bab	0.72 bb	1.94 ba	1.04
		32D06	0.87 ba	0.39 ba	0.76 ca	
		30G40	5.80 ab	4.22 ac	8.29 aa	
PI	%	H-58	48.33 bb	41.03 bb	73.14 aa	7.81
		32D06	55.35 ba	31.96 cb	54.99 ba	
		30G40	72.02 aa	73.81 aa	77.38 aa	
ISE	%	H-58	53.49 bab	49.99 bb	58.06 ba	6.86
		32D06	49.96 ba	46.46 ba	43.48 ca	
		30G40	77.06 ab	73.40 ab	88.04 aa	
RPLINC	kg	H-58	0.05 bab	0.03 bb	0.07 ba	0.02
		32D06	0.05 ba	0.02 bb	0.04 cab	
		30G40	0.12 ab	0.09 ac	0.16 aa	
RPLINF	kg	H-58	0.09 aa	0.07 aa	0.10 ba	0.08
		32D06	0.08 aa	0.06 aa	0.07 ba	
		30G40	0.16 aa	0.13 aa	0.20 aa	
RT	ton	H-58	1.83 bb	1.31 bb	3.13 ba	1.00
		32D06	1.62 ba	0.72 ba	1.68 ca	
		30G40	6.54 ab	5.32 ac	8.78 aa	
RHA	kg	H-58	6,023.62 bb	4,127.64 bb	9,949.67 ba	2475.73
		32D06	6,032.26 ba	2,593.29 bb	5,221.09 ca	
		30G40	15,684.51 ac	12,659.40 ab	20,904.62 aa	

Medias con la (s) misma (s) letra (s) son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey. DMSH_{0.05}: diferencia mínima significativa honesta, la DMSH compara las medias en sentido vertical y **horizontal** para cada carácter; PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA: rendimiento·ha⁻¹ de hongo del análisis combinado.

Interacción de Híbridos x Materiales Retenedores de Agua (H x M)

Componentes para calidad asociados con rendimiento

Las medias para rendimiento de severidad 4 fueron estadísticamente iguales en retenedor, algodón y agribón en el híbrido 30G40 con 0.33, 0.32 y 0.42 kg y en el rendimiento de severidad 5, fue mejor 30G40 sin retenedor (6.92 kg) (cuadro 6).

Componentes de incidencia y severidad asociados con rendimiento

Las medias para plantas inoculadas de los tres materiales retenedores de agua y del híbrido 30G40 fueron estadísticamente iguales (56 plantas). Para plantas infectadas las medias de los materiales retenedores de agua fueron estadísticamente iguales en donde la media mayor fue del 30G40 con 45.17 plantas en agribón. El H-58 tuvo más plantas infectadas sin material retenedor (23.92 plantas) (Cuadro 6).

El mayor porcentaje de incidencia se obtuvo con las medias para los materiales algodón y agribón para el 30G40 con 71.3 y 80.65 %, el 32D06 fue mejor sin material retenedor de humedad con media 58.76 % (Cuadro 6).

En índice de severidad, las medias fueron estadísticamente iguales en cada uno de los materiales retenedores de agua para el 30G40. La mejor combinación fue sin retenedor con 84.71 %. Para la severidad 4 y 5 se observa la misma tendencia que para el índice de severidad (Cuadro 6).

Componentes asociados con la producción

Las medias para rendimiento fueron estadísticamente iguales en los tres materiales retenedores de agua en combinación con el 30G40. Las medias de este híbrido muestran que fue mejor con agribón (18,368.76 kg·ha⁻¹) y estadísticamente igual a sin material retenedor (17,928.30 kg·ha⁻¹) (Cuadro 6).

Las medias para rendimiento por planta inoculada, planta infectada y total, tienen la misma tendencia (Figura 2).

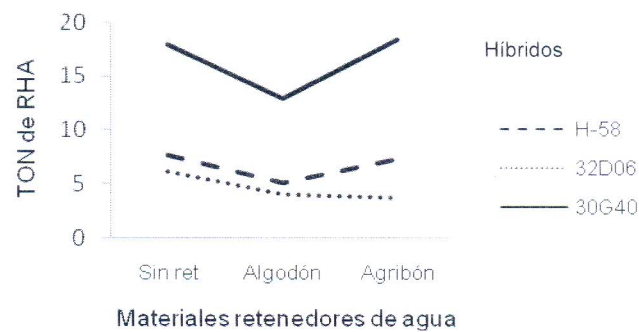


Figura 2. Interacción de híbridos x Materiales Retenedores de Agua (H x M).

Cuadro 6. Comparación de medias para 17 caracteres de la reacción del maíz al huitlacoche de tres híbridos (H) por tres materiales retenedores de agua (M).

Carácter		Materiales retenedores de agua				DMSH _{0.05}
		Humedad (%)	Sin retenedor	Algodón	Agribón	
PLINC	ptas	60	42.42cb	45.92aa	43.92bab	2.25
		65	44.92ba	47.00aa	45.00ba	
		70	48.08aa	43.58bb	48.67aa	
PLINF	ptas	60	7.58bc	11.80ab	16.21aa	3.77
		65	12.09aa	13.63aa	15.69aa	
		70	7.22bb	12.44aa	7.51bb	
SEV1	ptas	60	17.75ba	18.25ba	16.33aa	2.98
		65	22.58ab	25.67aa	17.75ac	
		70	9.50cb	15.67ba	17.58aa	

Nota: medias con la (s) misma (s) letra (s) son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey. DMSH: diferencia mínima significativa honesta, la DMSH compara las medias en sentido vertical y **horizontal** para cada carácter; PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA: rendimiento·ha⁻¹ de hongo del análisis combinado.

Continuación de cuadro 6. Comparación de medias para 17 caracteres de la reacción del maíz al huitlacoche de tres híbridos (H) por tres materiales retenedores de agua (M).

		Materiales retenedores de agua				DMSH _{0.05}
Carácter		Humedad (%)	Sin retenedor	Algodón	Agribón	
SEV2	ptas	60	7.42bb	13.25aa	8.17ab	2.69
		65	8.33ba	9.58ba	9.33aa	
		70	11.33aa	9.00ba	10.67aa	
SEV3	ptas	60	3.58aba	3.58aa	4.58aba	1.57
		65	2.58ba	2.33aa	3.08ba	
		70	4.83aa	2.42ab	5.25aa	
SEV4	ptas	60	1.25ba	1.00aa	1.50aa	1.10
		65	2.67aa	1.33ab	2.50aa	
		70	2.33abab	1.00ab	1.83aa	
SEV5	ptas	60	12.58ba	9.83ba	13.33aa	3.85
		65	8.75bab	8.08bb	12.33aa	
		70	20.08aa	15.00ab	13.42ab	
RSEV2	kg	60	0.19bb	0.40aa	0.24ab	0.09
		65	0.20ba	0.23ba	0.26aa	
		70	0.38aa	0.25bb	0.28ab	
RSEV3	kg	60	0.25ba	0.25aa	0.38ba	0.14
		65	0.17ba	0.15aa	0.24ba	
		70	0.42aa	0.19ab	0.40aa	
RSEV4	kg	60	0.16ba	0.12aa	0.19aa	0.14
		65	0.27abab	0.18ab	0.33aa	
		70	0.36aa	0.10ab	0.21ab	
RSEV5	kg	60	2.52bab	2.09ab	3.26aa	1.04
		65	1.44cb	1.36bb	2.54aa	
		70	5.33aa	2.87ab	2.80ab	
PI	%	60	59.22ba	57.99bab	50.50bb	7.81
		65	47.58cb	42.39bb	57.12ba	
		70	79.96aa	62.12ab	63.43ab	
ISE	%	60	66.03ba	51.42bb	63.07aa	6.86
		65	55.70ba	53.85ba	60.29aa	
		70	66.93aa	62.57aa	60.08aa	
RPLINC	kg	60	0.07ba	0.06aba	0.08aa	0.02
		65	0.04cb	0.04bb	0.07aa	
		70	0.12aa	0.07ab	0.07ab	
RPLINF		60	0.12aa	0.09aa	0.13aa	0.08
		65	0.08aa	0.08aa	0.11aa	
		70	0.16aa	0.11aa	0.11aa	
RT		60	3.13bab	2.86abb	4.08aa	1.00
		65	2.08cb	1.91bb	3.36aa	
		70	6.49aa	3.41ab	3.70ab	
RHA		60	9,244.58bab	7,558.72ab	10,937.09aa	2475.73
		65	5,520.53cb	4,920.96bb	8,938.84aa	
		70	16,996.96aa	9,602.30ab	9,476.13ab	

Nota: medias con la (s) misma (s) letra (s) son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey. DMSH: diferencia mínima significativa honesta, la DMSH compara las medias en sentido vertical y **horizontal** para cada carácter; PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA: rendimiento-ha⁻¹ de hongo del análisis combinado.

Interacción de Humedad relativa x materiales retenedores de agua (h x M)

Componentes para calidad asociados con rendimiento

Las medias mayores y estadísticamente iguales fueron en los tres materiales retenedores de agua. El rendimiento mayor se obtuvo sin retenedor a 70% de humedad relativa (0.36 kg por unidad experimental), seguido de agribón a 65 % de humedad relativa con 0.33 kg. El rendimiento grado severidad 5 muestra la misma tendencia con medias de 5.33 kg sin retenedor a 70 % de humedad relativa (Cuadro 7).

Componentes de incidencia y severidad asociados con el rendimiento

Las medias para plantas inoculadas fueron estadísticamente iguales sin retenedor y agribón a 70% de humedad relativa con 48.08 y 48.67 plantas. En el material agribón hubo más plantas infectadas con medias de 16.21 y 15.69 plantas infectadas por unidad experimental a 60 y 65 % de humedad relativa (Cuadro 7).

En el porcentaje de incidencia las medias mayores se encontraron en los tres materiales retenedores de agua en combinación con 70 % de humedad relativa, donde la mejor media fue de 79.96 % de incidencia sin retenedor (Cuadro 7).

Las medias en el índice de severidad fueron mayores sin retenedor para 60 y 70 % de humedad relativa con 66.03 y 66.93 %. Con agribón las medias fueron

estadísticamente iguales a 60, 65 y 70 % de humedad relativa con 63.07, 60.29 y 60.08 % (Cuadro 7).

En severidad 4, fueron estadísticamente iguales las medias sin retenedor 65 y a 70 % de humedad relativa con 2.67 y 2.33 plantas por unidad experimental. (Cuadro 7).

En severidad 5, las medias mayores fueron en los tres materiales retenedores en combinación a 70 % de humedad relativa con 20.8, 15.00 y 13.42 para sin retenedor, algodón y agribón respectivamente (Cuadro 7).

Componentes asociados con la producción

Las medias mejor media para el rendimiento fue producto de la combinación de sin retenedor a 70 % de humedad relativa ($16,996.96 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) y con agribón se produjo el segundo mejor rendimiento a 60 % de humedad relativa ($10,937.09 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$). Los rendimientos por planta inoculada, planta infectada y total tuvieron la misma tendencia. (Figura 3).

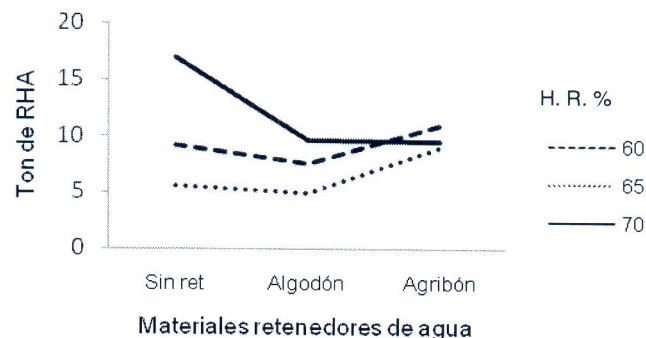


Figura 3. Interacción de la humedad relativa x materiales retenedores de agua (h x M).

Cuadro 7. Comparación de medias para 17 caracteres de la reacción del maíz al huitlacoche de tres porcentajes de humedad relativa (h) por tres materiales retenedores de agua (M).

		Materiales retenedores de agua				DMSH _{0.05}
Caracter		Híbrido	Sin retenedor	Algodón	Agribón	
SEV2	ptas	H-58	9.33bab	11.67aa	8.67ab	2.69
		32D06	13.08aa	10.08ab	10.75aab	
		30G40	4.67cb	10.08aa	8.75aa	
SEV3	ptas	H-58	5.17aa	2.08ab	5.67aa	1.57
		32D06	3.00ba	2.75aa	3.00ba	
		30G40	2.83ba	3.50aa	4.25aba	
SEV4	ptas	H-58	2.42aa	0.17bb	1.50bab	1.10
		32D06	0.92ba	0.58ba	1.08ba	
		30G40	2.92aa	2.58aa	3.25aa	
SEV5	ptas	H-58	7.17ba	5.50ba	7.75ba	3.85
		32D06	5.00ba	3.42ba	2.42ca	
		30G40	29.25aa	24.00ab	28.92aa	
RSEV2	kg	H-58	0.26ba	0.33aa	0.26aa	0.09
		32D06	0.40aa	0.30ab	0.29ab	
		30G40	0.11cb	0.25aa	0.22aa	
RSEV3	kg	H-58	0.43aa	0.16ab	0.45aa	0.14
		32D06	0.25ba	0.22aa	0.24ba	
		30G40	0.17bb	0.21aab	0.33aba	
RSEV4	kg	H-58	0.33aa	0.02bc	0.18bb	0.14
		32D06	0.13ba	0.06ba	0.12ba	
		30G40	0.33aa	0.32aa	0.42aa	
RSEV5	kg	H-58	1.43ba	0.96ba	1.47ba	1.04
		32D06	0.93ba	0.70ba	0.39ca	
		30G40	6.92aa	4.66ab	6.74aa	
PI	%	H-58	56.87aa	50.94ba	54.69ba	7.81
		32D06	58.76aa	39.83cb	43.71cb	
		30G40	30.83bc	71.73ab	80.65aa	
ISE	%	H-58	57.36ba	44.91bb	59.26ba	6.86
		32D06	46.58ca	48.31ba	45.01ca	
		30G40	84.71aa	74.62ab	79.17aab	
RPLINC	kg	H-58	0.06ba	0.04ba	0.05ba	0.02
		32D06	0.05ba	0.03ba	0.03ba	
		30G40	0.13aa	0.10ab	0.14aa	
RPLINF	kg	H-58	0.09ba	0.07aa	0.10aba	0.08
		32D06	0.07ba	0.08aa	0.07ba	
		30G40	0.18aa	0.13aa	0.17aa	
RT	ton	H-58	2.45ba	1.47ba	2.36aa	1.00
		32D06	1.72ba	1.27ba	1.05aa	
		30G40	7.53aa	5.4ab	7.71aa	
RHA	kg	H-58	7,706.35ba	5,090.52bb	7,304.06bab	2475.73
		32D06	6,127.42ba	4,039.47ba	3,679.23ca	
		30G40	17,928.30aa	12,951.47ab	18,368.76aa	

Nota: medias con la (s) misma (s) letra (s) son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey. DMSH: diferencia mínima significativa honesta, la DMSH compara las medias en sentido vertical y **horizontal** para cada carácter; PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA: rendimiento-ha⁻¹ de hongo del análisis combinado.

Continuación de Cuadro 7. Comparación de medias para la reacción del maíz al huitlacoche de tres porcentajes de humedad relativa (h) por tres materiales retenedores de agua (M).

		Materiales retenedores de agua				
Caracter		Híbrido	Sin retenedor	Algodón	Agribón	DMSH _{0.05}
PLINC	ptas	H-58	41.58 bb	40.00 bb	43.17 ba	2.25
		32D06	37.83 cb	40.50 ba	38.42 cab	
		30G40	56.00 aa	56.00 aa	56.00 aa	
PLINF	ptas	H-58	23.92 ba	19.92 bb	23.58 bab	3.77
		32D06	22.00 ba	16.83 bb	17.17 cb	
		30G40	39.67 ab	40.17 ab	45.17 aa	
SEV1	ptas	H-58	17.67 aa	20.08 ba	19.58 aa	2.98
		32D06	15.83 ab	23.67 aa	21.95 aa	
		30G40	16.33 aa	15.83 ca	10.83 bb	

Nota: medias con la (s) misma (s) letra (s) son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey. DMSH_{0.05}: diferencia mínima significativa honesta, la DMSH compara las medias en sentido vertical y **horizontal** para cada carácter; PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA: rendimiento·ha⁻¹ de hongo del análisis combinado.

CONCLUSIONES

Existieron diferencias altamente significativas entre híbridos, niveles de humedad relativa y materiales retenedores de agua.

Las interacciones dobles Hh, HM, hM y HhM, fueron altamente significativas para rendimiento de mazorcas con grado de severidad 4 y 5 (RSEV4 y RSEV5) e índice de severidad ISE, rendimiento por planta infectada RPLINF, porcentaje de incidencia PI y rendimiento por planta inoculada RPLINC.

El híbrido 30G40 fue estadísticamente superior en rendimiento (por Ha, por planta con grado de severidad 4 y 5), porcentaje de incidencia (PI) y severidad (ISE).

Según el factor humedad relativa, el mayor rendimiento se obtuvo a 70 %.

Sin material retenedor de humedad se obtuvo el mayor rendimiento de huitlacoche por hectárea, en promedio de híbridos y humedades relativas.

El análisis de comparaciones de medias de las interacciones dobles indicó que el híbrido 30G40 fue el que obtuvo el mayor rendimiento por hectárea RHA a 70 % de humedad relativa.

Según la interacción híbridos (H) por materiales retenedores de humedad (M), el híbrido 30G40 mostró el mejor rendimiento por hectárea RHA en ausencia de material retenedor.

La interacción humedad relativa (h) por materiales retenedores de humedad (M), indicó que se registró más rendimiento por hectárea RHA con 70 % de humedad relativa y sin retenedor de humedad.

LITERATURA CITADA

Agrios, G. N. 2005. Plant pathology, 5th ed. Academic Press, New York, USA.
922 p.

Christensen, J. J. 1963. Corn Smut caused by *Ustilago maydis* Cda. Published by The American Phytopathological Society. Department of Plant Pathology and Botany. Institute of Agriculture, University of Minnesota, St. Paul. 41 p.

Martínez, M. L. 1999. Mejoramiento de la virulencia del hongo y susceptibilidad del maíz al huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) Tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 101 p.

Martínez-Martínez. L.; Villanueva-Verduzco, C. and Sahagún-Castellanos, J. 2000. Susceptibility and resistance of maize to the edible fungus huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) improving its virulence. Revista Chapingo Serie Horticultura 6 (2): 241-255.

Pan J.J; Baumgarten A. M. and May G. 2008. Effects of host plant environment and *Ustilago maydis* Cda. infection on the fungal endophyte community of maize (*Zea mays* L.) New Phytologist 178: 147–156.

Pataky, J. K. and M. A. Chandler. 2003. Production of huitlacoche, *Ustilago maydis* Cda.: timing inoculation and controlling pollination. Mycologia 95: 1261-1270.

- Steiner, A. A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil* 15:134-154.
- Thakur, R. P., K. J. Leonard, and Pataky J. K.. 1989. Smut gall development in adult plants inoculated with *Ustilago maydis* Cda. *Plant Disease* 73:921-925.
- Tisdale, W. H. and Johnston, C. O. 1926. A study of smut resistance in corn seedlings grown in the greenhouse. *Journal of agricultural research* 32(7): 649-668.
- Valverde, M. E and Paredes-López, O. 1993. Production and evaluation of some food properties of huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.). *Journal Article* 7(3): 207-219.
- Villanueva V. C. 1995. Estudios de la reacción del maíz al carbón común o huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.). Tesis de Doctor en Ciencias. Programa de Genética. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 133 p.
- Villanueva V. C. 1997. "Huitlacoche" (*Ustilago maydis* Cda.) as a food in Mexico. *Micología Neotropical Aplicada* 10: 73-81.

Villanueva C., Molina J. D., Castillo F. and Zavaleta E. 1999. Artificial induction of "huitlacoche" (*Ustilago maydis* Cda.): influence of different conditions in the field. *Micología Neotropical Aplicada* 12: 41-47.

Villanueva, V. C.; Sánchez, R. E. y Villanueva, S. E. 2007. El huitlacoche y su cultivo. Ed. Mundi Prensa, México. 96 p.

CAPITULO III

ANÁLISIS DE COMBINACIONES DE FACTORES CONTROLABLES EN LA PRODUCCIÓN DE HUITLACOCHÉ

RESUMEN

En un invernadero, se evaluó en la producción de huitlacoche por efecto de combinaciones de tres híbridos, tres niveles de humedad relativa (60 %, 65 % y 70 %) y tres materiales retenedores de agua (sin retenedor, algodón y agribón). Se encontraron diferencias altamente significativas entre 27 tratamientos para 17 caracteres. El mejor tratamiento fue la combinación híbrido 30G40, humedad relativa de 70 % y sin material retenedor de agua, con un rendimiento por hectárea RHA de 28,877 kg·ha⁻¹ un porcentaje de incidencia PI de 88.09 %, índice de severidad ISE de 93.24 %, rendimiento por planta inoculada RPLINC de 0.22 kg y un rendimiento por planta infectada RPLINF de 0.25 kg. En este nivel de humedad relativa no tuvo influencia el material retenedor; sin embargo en humedades del 60 % y 65 %, el material retenedor de agua incrementó la producción de huitlacoche. La correlación del rendimiento del hongo por hectárea RHA en el experimento fue positiva y altamente significativa con los caracteres rendimiento de plantas con grado de severidad 5 (0.97**), porcentaje de incidencia (0.94**), índice de severidad (0.79**), rendimiento por planta inoculada (0.83**), rendimiento por planta infectada (1.00**) y con rendimiento total (0.99**). Estos caracteres podrían considerarse como componentes del rendimiento de huitlacoche.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: *Zea mays*, *Ustilago maydis*, invernadero, humedad relativa

ABSTRACT

A study to evaluate the effect of three corn hybrids, three levels of relative humidity (60 %, 65 % y 70 %) and three water retainers in the production of huitlacoche in a greenhouse was carried out. Highly significant differences were found among 17 treatments for 17 variables. Mean comparison test showed that the best treatment was the hybrid 30G40 with 70% of relative humidity and not water retainer. This treatment yielded (RHA) 28,877 kg·ha⁻¹ a disease incidence of (PI) of 88.09 %, a disease severity index of 93.24 %, yield by inoculated plant (RPLINC) of 0.22 kg and yield by infected plant (RPLINF) of 0.25 kg. In 70% of relative humidity there was not influence of the humidity retainer but in the levels of 60% y 65% of relative humidity the retainer of water increased huitlacoche production. The production of this fungus (RHA) was correlated highly significant and positive with RSEV5 (0.97**), PI (0.94**), ISE (0.79**), RPLINC (0.83**), RPLINF (1.00**) and (RT) (0.99**). Therefore, these characters could be considered as huitlacoche yield components.

ADDITIONAL KEY WORDS: *Zea mays*, *Ustilago maydis*, greenhouse, relative humidity.

INTRODUCCIÓN

El huitlacoche es un producto importante debido a que se utiliza como alimento en diferentes regiones de México. Se recolecta de elotes infectados en los cultivos de maíz para grano principalmente en la región de los valles altos centrales de México. El huitlacoche además es una buena fuente de proteína de alta calidad y de bajo riesgo para el consumo humano (Valverde y Paredes-López, 1993), el cual se obtiene de plantas susceptibles y se desarrolla en la mazorca, hojas, tallo y en raíces aéreas (Agrios, 2005). Se conoce que en ensayos experimentales y comerciales se obtiene mejor producción artificial de huitlacoche cuando se inocula la mazorca en etapa de jilote que cuando es producida bajo infección natural, por lo anterior se han realizado estudios con el objetivo de desarrollar una técnica adecuada para lograr una buena inoculación que induzca a su vez un alto grado de severidad y producción de hongo (Villanueva *et al.*, 1999; Villanueva *et al.*, 2007). Los resultados de estudios de producción inducida muestran que se pueden obtener rendimientos en campo de hasta de 12 toneladas por hectárea de hongo fresco (Martínez *et al.*, 2000). No obstante, es muy importante hacer notar que para producir el huitlacoche, se requiere que el genotipo del maíz (hospedero) sea susceptible al hongo, que el patógeno sea virulento y un ambiente favorable con una humedad relativa entre 80-85% y una temperatura entre 16-32°C (Villanueva *et al.*, 1999; Martínez *et al.*, 2000).

Al evaluar un amplio número de genotipos de maíz para fines de producción de huitlacoche, es posible conocer su nivel de susceptibilidad genética (Pan *et al.*, 2008). Además, al tener las condiciones ambientales que favorecen el desarrollo del hongo, es posible incrementar el rendimiento y la calidad del huitlacoche. En estudios realizados por Villanueva *et al.* (1999) para la domesticación del huitlacoche se encontró que existe variación patogénica del hongo; dado que la infección y desarrollo del mismo está en función de la habilidad del patógeno, la susceptibilidad del hospedante y su interacción con el ambiente (Christensen, 1963). Estos mismos autores encontraron que la técnica de inoculación, constituye un factor importante para favorecer el desarrollo del hongo en el interior del jilote. Así mismo, Villanueva *et al.*, (1999) mencionan que para que se presente la infección en el jilote, debe de inocularse antes de la polinización en donde la producción de grano de maíz sirve como sustrato alimenticio para el desarrollo del hongo y producir agallas de mejor tamaño al encontrarse en este lugar una alta concentración de carbohidratos (Pataky y Chandler, 2003).

Por otra parte, al evaluar el desarrollo de la enfermedad en el cultivo de maíz a cielo abierto durante el temporal de lluvias; se observa una variación de la precipitación en los periodos de incubación de la inoculación los cuales son diferentes todos los años, por lo que las lluvias de algunos años, pueden no coincidir con el periodo de infección y desarrollo del hongo en frecuencia e intensidad (Villanueva *et al.*, 2007).

Las condiciones ambientales son muy importantes para la producción del huitlacoche (Tisdale y Johnston, 1926); y por ello, la mayoría de las investigaciones coinciden con mantener el lugar de estudio con un ambiente bajo control (Thakur *et al.*, 1989). Una alternativa para obtener las condiciones ambientales favorables y producir huitlacoche, es inocular con *Ustilago maydis* el maíz bajo condiciones controladas de humedad relativa y temperatura, lo cual es posible de lograr obtener en un invernadero; donde la aplicación de agua humedece el ambiente y además de proveer de una adecuada ventilación en el invernadero, se proporciona la humedad relativa y temperatura deseadas.

Al poder, cultivar el maíz en invernadero con condiciones ambientales favorables durante el periodo de infección desarrollo del hongo, se realizó la presente investigación para determinar la productividad de huitlacoche con tratamientos que combinan híbridos de maíz, niveles de humedad relativa y materiales retenedores de agua en invernadero.

Objetivo

Determinar el efecto de 27 tratamientos de la combinación de tres híbridos de maíz, tres porcentajes de humedad relativa y tres materiales retenedores de humedad sobre el rendimiento y calidad de huitlacoche.

Hipótesis

Existe efecto de la combinación de tres híbridos de maíz, tres porcentajes de humedad relativa y tres materiales retenedores de humedad sobre el rendimiento y calidad de huitlacoche.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

El experimento se estableció en un invernadero (Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, México) con cubierta plástica. El sustrato fue de arenilla de tezontle rojo, cubierto con acolchado plástico bicapa, gris/negro, con el color gris hacia arriba.

Diseño, Arreglo y Unidad Experimental

En marzo de 2007 se estableció el experimento en un diseño completamente al azar con 27 tratamientos y cuatro repeticiones (Cuadro 1). La unidad experimental fue de 1 surco de 14 m de largo con una planta cada 0.25 m (56 plantas), a la densidad de 133,333 plantas·ha⁻¹.

Manejo del experimento

La siembra fue manual, en acolchado plástico. Se aplicó la solución nutritiva universal de Steiner (1961) en riego por goteo. Se dieron dos riegos todos los días: el primero a las 9:00h el segundo a las 16:00 h durante 10 minutos cada

uno. Se colocaron materiales retenedores de humedad a la altura del jilote y durante el periodo del experimento se aplicó agua para incrementar la humedad relativa.

Cuadro 1. Tratamientos, factores y combinaciones en la reacción del maíz a *Ustilago maydis* Cda.

Tratamiento	Híbrido	Humedad relativa %	Material retenedor de humedad
58-70-SINR	H-58	70	sin retenedor
58-70-ALG	H-58	70	algodón
58-70-AGR	H-58	70	agribón
58-65-SINR	H-58	65	sin retenedor
58-65-ALG	H-58	65	algodón
58-65-AGR	H-58	65	agribón
58-60-SINR	H-58	60	sin retenedor
58-60-ALG	H-58	60	algodón
58-60-AGR	H-58	60	agribón
32-70-SINR	32D06	70	sin retenedor
32-70-ALG	32D06	70	algodón
32-70-AGR	32D06	70	agribón
32-65-SINR	32D06	65	sin retenedor
32-65-ALG	32D06	65	algodón
32-65-AGR	32D06	65	agribón
32-60-SINR	32D06	60	sin retenedor
32-60-ALG	32D06	60	algodón
32-60-AGR	32D06	60	agribón
30-70-SINR	30G40	70	sin retenedor
30-70-ALG	30G40	70	algodón
30-70-AGR	30G40	70	agribón
30-65-SINR	30G40	65	sin retenedor
30-65-ALG	30G40	65	algodón
30-65-AGR	30G40	65	agribón
30-60-SINR	30G40	60	sin retenedor
30-60-ALG	30G40	60	algodón
30-60-AGR	30G40	60	agribón

Híbrido de maíz 58, 32 y 30: H-58, 32D06 y 30G40; humedad relativa (%): 60, 65 y 70; material retenedor de agua SINRET, ALG y AGR: sin retenedor, algodón y agribón. Clave de tratamiento: primera cifra correspondiente al híbrido de maíz; la segunda cifra al % de humedad relativa y la abreviatura final al material retenedor de agua (SINR: sin retenedor, ALG. Algodón y AGR: agribón).

Inoculación

El inóculo se obtuvo de aislamientos obtenidos por Martínez (1999), las cuales se reactivaron en cajas de Petri en medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar).

El inóculo se preparó en agua destilada estéril a una concentración de 10^6 esporidias·ml⁻¹ y se aplicó en mayo de 2007 en etapa de jilote en tres puntos equidistantes a lo largo del mismo (Villanueva et al., 2007). La temperatura en se mantuvo de 16 °C a 32 °C y la humedad relativa en los parámetros de 60, 65 y 70% en los tratamientos respectivos.

Caracteres estudiados

Los caracteres estudiados fueron: número de plantas infectadas (PLINF), severidad medida en porcentaje (SEV_i, donde $i=1,2,3,4$ y 5), rendimiento por cada clase de severidad (RSEV_i) en kilogramos, porcentaje de incidencia (PI), índice de severidad (ISE) que es el porcentaje de la mazorca cubierta por agallas, rendimiento promedio por planta inoculada (RPLINC) en kilogramos, rendimiento promedio por planta infectada (RPLINF) en kilogramos, rendimiento total (RT) en kilogramos (todas las variables anteriores se tomaron por parcela o unidad experimental, excepto RPLINC y RPLINF) y rendimiento por hectárea (RHA) en kilogramos por hectárea. La cosecha del hongo y el registro del rendimiento del mismo, se hizo en promedio a los 30 días posteriores a la inoculación.

La medición de la severidad (SEV_i), se realizó conforme al cubrimiento de los elotes con las agallas del hongo en cinco categorías (Villanueva *et al.*, 1999) (Cuadro 2)

Cuadro 2. Proporción de la mazorca cubierta por agallas según la categoría de severidad.

Categoría	Proporción de la mazorca cubierta por
SEV1	0 %
SEV2	(>0)-25 %
SEV3	(>25)-50 %
SEV4	(>50)-75 %
SEV5	(>75)-100 %

El porcentaje de incidencia (PI) se obtuvo al dividir el total de elotes infectados en la unidad experimental entre el total de elotes inoculados, y multiplicado por 100; como se aprecia en la siguiente expresión:

$$PI = [(No. \text{ Elotes con SEV2}) + \dots + (No. \text{ Elotes con SEV5}) / \text{Total de elotes inoculados}] \times 100$$

El índice de severidad (ISE) se obtuvo mediante la expresión (Villanueva *et al.*, 1999):

$$ISE = [(NESEV1 \times 0 + NESEV2 \times 0.25 + NESEV3 \times 0.50 + NESEV4 \times 0.75 + NESEV5 \times 1.0) / PLIC] \times 100;$$

donde: NESEV_i = número de elotes para cada una de las cinco categorías de severidad.

El rendimiento por planta inoculada (RPLINC) se registró el peso total cosechado del hongo (kilogramos) entre el número de plantas inoculadas en la parcela.

$$(RPLINC) = (PSEV2 + \dots + PSEV5) / \text{Total de elotes inoculados};$$

donde: PSEV_i se refiere al peso del hongo de los elotes por cada categoría de severidad.

El rendimiento por planta infectada (RPLINF), se calculó por el peso total cosechado del hongo (kilogramos) entre el número de plantas infectadas en la parcela, según la expresión:

$RPLINC = (PSEV2 + \dots + PSEV5) / \text{Total de elotes inoculados}$; donde: $PSEV_i$ se refiere al peso del hongo de los elotes en la categoría i de severidad ($i=2,3,4,5$).

El rendimiento por hectárea (RHA) se obtuvo al multiplicar el rendimiento por planta inoculada por la densidad de plantas en el experimento como se describe a continuación:

$$RHA = RPLINC \times 133,333 \text{ plantas} \cdot \text{ha}^{-1}.$$

Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza utilizando el procedimiento Proc GLM del paquete estadístico S.A.S. con el modelo lineal de un experimento en un diseño completamente al azar:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij};$$

$$i = 1, \dots, t \text{ (tratamientos); } j = 1, \dots, r \text{ (repeticiones)}$$

donde:

Y_{ij} = valor asociado a la observación ij .

μ = es la media general del experimento.

T_i = es el efecto del i -ésimo tratamiento.

e_{ij} = es el efecto aleatorio del error experimental asociado a la observación ij .

Se realizaron comparaciones múltiples de medias mediante la prueba de Tukey con un alfa de 5% y también se hizo un análisis de correlación entre todos los caracteres estudiados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al realizar los análisis estadísticos para los 27 tratamientos del experimento, hubo diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) entre tratamientos para rendimiento (RHA, RPLIC, RPLINF, RT, por grado de severidad 2, 3, 4 y 5; RSEV2, RSEV3, RSEV4 y RSEV5), severidad (ISE, severidad: 1, 2, 3, 4 y 5, SEV1, SEV2, SEV3, SEV4 y SEV5) porcentaje de incidencia PI, plantas inoculadas PLINC y plantas infectadas PLINF.

Las medias generales del experimento fueron: rendimiento por hectárea 9,244.01 kg·ha⁻¹ (coeficiente de variación de 27.5); el porcentaje de incidencia de 58.67 % (coeficiente de variación de 13.67) y el índice de severidad 59.99 %, con coeficiente de variación de 11.74.

La media de severidad 5 fue 12.60 (plantas por unidad experimental) y su coeficiente de variación de 31.35, en tanto que el rendimiento de severidad 5 fue 2.69 kg (coeficiente de variación de 39.88); plantas infectadas 27.60 (coeficiente de variación de 13.77), mientras que para rendimiento por planta

inoculada se tiene una media de 0.07 kg (coeficiente de variación de 24.5) y el rendimiento por planta infectada de 0.11 kg con coeficiente de variación de 29.77 (Cuadro 3).

En las plantas infectadas se presentó de manera importante la severidad 5, y también el rendimiento de plantas con severidad 5 y con ello se incrementó la severidad, el índice de severidad, rendimiento por planta inoculada, y el rendimiento por planta infectada lo cual influyó en altos rendimientos obtenidos en algunos de los tratamientos evaluados.

Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza para 17 caracteres de la relación inducida huésped patógeno entre maíz (*Zea mays* L.) y huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda).

Caracter	Tra	Error	Total	CV	Media
GL	26	81	107		
PLINC	291.50**	5.36	8013.00	5.09	45.50
PLINF	601.52**	14.95	16809.88	13.77	27.60
SEV1	174.15**	16.72	5881.88	22.84	17.90
SEV2	68.05**	7.61	2385.66	28.51	9.68
SEV3	18.80**	2.59	698.25	44.88	3.58
SEV4	9.91**	1.27	360.10	65.69	1.71
SEV5	537.75**	15.61	15245.88	31.35	12.60
RSEV2	0.08**	0.009	2.91	36.60	0.27
RSEV3	0.15**	0.02	5.40	51.78	0.27
RSEV4	0.17**	0.02	5.90	62.00	0.21
RSEV5	32.52**	1.15	938.78	39.88	2.69
PI	1384.35**	64.35	41204.99	13.67	58.67
ISE	1079.82**	49.61	32093.47	11.74	59.99
RPLINC	0.009**	0.0004	0.27	24.50	0.07
RPLINF	0.01**	0.007	0.31	24.02	0.11
RT	33.52**	1.05	956.62	29.77	3.45
RHA	166648439**	6460992	4856199774	27.50	9244.01

** : Significativo con $p \leq 0.01$; ns: no significativo con $p \geq 0.05$. Tra: tratamiento, CV: coeficiente de variación, Media: media fenotípica del carácter evaluado. GL: grados de libertad, PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1,..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA: rendimiento $\cdot \text{ha}^{-1}$ de hongo del experimento.

Rendimiento y sus componentes

Las comparaciones múltiples de medias para los caracteres evaluados en los 27 tratamientos muestran en el tratamiento 30-70-SINR fue el mejor del experimento con rendimiento por: hectárea (RHA) 28,877 kg·ha⁻¹ (Cuadro 4),

Cuadro 4. Rendimiento en 27 tratamientos y sus componentes asociados en la producción de huitlacoche en la relación maíz *Ustilago maydis* Cda.

Tratamiento	RHA (kg)	RPLINC (kg)	RPLINF (kg)	RT (kg)
58-70-SINR	1,380 cde	0.1 cde	0.12 bcdefg	4.3 defg
58-70-ALG	9,865defg	0.07 defg	0.11 defghi	2.8 fgh
58-70-AGR	6,904 efgh	0.05 efgh	0.08 efghi	2.3 gh
58-65-SINR	3,877 gh	0.03 gh	0.06 ghi	1.1 h
58-65-ALG	1,947 h	0.01 h	0.04 i	0.7 h
58-65-AGR	6,558 efgh	0.05 efgh	0.12 bcdefgh	2.1 gh
58-60-SINR	6,162 fgh	0.05 fgh	0.1 bcdefghi	1.9 gh
58-60-ALG	3,460 gh	0.03 gh	0.06 ghi	0.9 h
58-60-AGR	4,449 efgh	0.06 efgh	0.11 defghi	2.6 gh
32-70-SINR	8,453 efgh	0.06 efgh	0.08 ei	2.8 efg
32-70-ALG	3,600 gh	0.03 gh	0.07 fghi	1.0 h
32-70-AGR	3,611 gh	0.03 gh	0.05 hi	1.2 h
32-65-SINR	1,675 h	0.01 h	0.04 i	0.5 h
32-65-ALG	2,548 h	0.2 h	0.08 efghi	0.7 h
32-65-AGR	3,557 gh	0.03 gh	0.06 ghi	1.0 h
32-60-SINR	8,254 efgh	0.06 efgh	0.08 efghi	1.8 gh
32-60-ALG	5,972 fgh	0.04 fgh	0.8 fghi	2.1 gh
32-60-AGR	3,870 gh	0.03 gh	0.08 efghi	1.0 h
30-70-SINR	28,877 a	0.22 a	0.25 a	12.3 a
30-70-ALG	18,514 bc	0.14 bc	0.18 ab	7.8 bc
30-70-AGR	17,913 bc	0.13 bc	0.19 ab	7.5 bc
30-65-SINR	11,009df	0.8 def	0.12 bcdefg	4.6 defg
30-65-ALG	10,268defg	0.08 d-g	0.11 cdefgh	4.3 defg
30-65-AGR	16,701bcd	0.13 bcd	0.15 bcde	7.0 bcd
30-60-SINR	13,318cde	0.1 cde	0.16 bcd	5.6 cde
30-60-ALG	13,244 cde	0.1 cde	0.14 bcdef	5.6 cdef
30-60-AGR	2,492 b	0.15 b	0.18 abc	0.6 b
DMSH _{0.05}	6901.2	0.05	0.07	2.8

Medias con la(s) misma(s) letra(s) son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey; DMSH_{0.05}; diferencia mínima significativa honesta, híbridos de maíz 58, 32 y 30: H-58, 32D06 y 30G40; humedad relativa (%): 60, 65 y 70; material retenedor de agua SINRET, ALG y AGR: sin retenedor, algodón y agribón; rendimiento: por hectárea (RHA), por planta inoculada (RPLINC), por planta infectada (RPLINF) y total (RT); Clave de tratamiento: primera cifra correspondiente al híbrido de maíz; la segunda cifra al % de humedad relativa y la abreviatura final al material retenedor de agua (SINR: sin retenedor, ALG: Algodón y AGR: agribón).

planta inoculada (RPLINC) 0.22 kg, planta infectada (RPLINF) 0.25 kg y total (RT) 12.3 ton·ha⁻¹.

El segundo mejor tratamiento fue 30-70-ALG con: RHA, RPLINC, RPLINF y RT de 18,514 28,877 kg·ha⁻¹, 0.14 kg, 0.18 kg, 7.8 ton·ha⁻¹ respectivamente (Cuadro 4).

Calidad ligada al rendimiento

La comparación de medias de los componentes del rendimiento ligados a calidad, indica que para el rendimiento por grado de severidad 4 RSEV4, fueron mejores los tratamientos 58-70-SINR, 30-65-SINR y 30-65-AGR, con 0.74 kg, 0.66 kg y 0.65 cada uno. Para el rendimiento por grado de severidad 5 RSEV5 en los tratamientos 30-70-SINR, 30-70-ALG y 30-70-AGR fue de 11.81 kg, 7.29 kg y 6.91 kg (Cuadro 5).

Incidencia y Severidad

Los tratamientos 30-70-SINR, 30-70-ALG, 30-70-AGR, 30-65-SINR, 30-65-ALG, 30-65-AGR, 30-60-SINR, 30-60-ALG y 30-60-AGR fueron estadísticamente iguales con 56 plantas inoculadas por unidad experimental, y para plantas infectadas y porcentaje de incidencia los mejores tratamientos fueron 30-70-SINR, 30-65-SINR, 30-60-AGR con 49.33, 47.75 y 47.5 (plantas por unidad experimental); y 88.09, 85.27 y 84.82 (%) (Cuadro 6).

Cuadro 5. Componentes para calidad en 27 tratamientos asociados con el rendimiento de huitlacoche en la relación maíz *Ustilago maydis* Cda.

Tratamiento	RSEV4 (kg)	RSEV5 (kg)
58-70-SINR	0.74 a	2.52 defgh
58-70-ALG	0.05 de	2.07 efgh
58-70-AGR	0.05 de	1.22 fgh
58-65-SINR	0.13 de	0.56 gh
58-65-ALG	0.0 0e	0.22 h
58-65-AGR	0.3 bcde	1.33 fgh
58-60-SINR	0.11 de	1.22 fgh
58-60-ALG	0 .00e	0.53 gh
58-60-AGR	0.19 cde	1.85 fgh
32-70-SINR	0.24 cde	1.36 fgh
32-70-ALG	0.04 de	0.65 fgh
32-70-AGR	0.19 cde	0.28 h
32-65-SINR	0.03 de	0.20 h
32-65-ALG	0.02 e	0.53 gh
32-65-AGR	0.03 de	0.44 gh
32-60-SINR	0.14 de	1.24 fgh
32-60-ALG	0.13 de	0.90fgh
32-60-AGR	0.15 de	0.46 gh
30-70-SINR	0.13 de	11.81 a
30-70-ALG	0.18 cd	7.29 b
30-70-AGR	0.38 bcd	6.91 b
30-65-SINR	0.66 ab	3.56 cdef
30-65-ALG	0.51 abc	3.27 cdefg
30-65-AGR	0.65 ab	5.83 bc
30-60-SINR	0.23 cde	5.10bcd
30-60-ALG	0.23 cde	4.82 bcde
30-60-AGR	0.22 cde	7.49 b
DMSH _{0.05}	0.36	2.91

Medias con la(s) misma(s) letra(s) son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey; DMSH_{0.05}; híbridos de maíz 58, 32 y 30: H-58, 32D06 y 30G40; humedad relativa (%): 60, 65 y 70; material retenedor de agua SINRET, ALG y AGR: sin retenedor, algodón y agribón; rendimiento: por hectárea (RHA), por planta inoculada (RPLINC), por planta infectada (RPLINF) y total (RT); Clave de tratamiento: primera cifra correspondiente al híbrido de maíz; la segunda cifra al % de humedad relativa y la abreviatura final al material retenedor de agua (SINR: sin retenedor, ALG. Algodón y AGR: agribón).

Cuadro 6. Incidencia y severidad en 27 tratamientos de seis caracteres asociados con el rendimiento para producción de huitlacoche en la relación maíz *Ustilago maydis* Cda.

Tratamiento	PLINC	PLINF	PI (%)	ISE (%)	SEV4	SEV5
58-70-SINR	43.75 bcd	36.00 cde	82.5 ab	59.39 cdefg	4.75 abc	11.25 fg
58-70-ALG	38 defg	28 efg	74.14 abc	60.49 cdefg	0.5 ef	12 efg
58-70-AGR	45 bc	28 efg	62.76 bcd	64.29 defgh	0.5 ef	7.5 g
58-65-SINR	39.75dg	24 fgh	43.53 df	51.55 efghi	1.5 df	4 g
58-65-ALG	47.5 b	17 hij	35.63 ef	35 i	0 f	1.75 g
58-65-AGR	42.75bcde	18.75 ghj	43.93 def	63.41 cdef	2.25 bcdef	7 g
58-60-SINR	41.25bcdef	18.5 gefghj	44.58 def	61.15 cdefg	1 df	6.25 g
58-60-ALG	34.5 hg	14.75 hij	43 df	39.24 hi	0 f	2.75 g
58-60-AGR	41.75bcdef	24 fgh	57.37 cde	60.09 cdefg	1.75 cdef	8.75 g
32-70-SINR	44.5 bc	32.25 cdef	72.56 abc	47.37 fghi	1.5 def	6.75 g
32-70-ALG	36.75efg	13.5 ij	36.76 f	45.15 fghi	2.5 ef	3 g
32-70-AGR	45 bc	25 fgh	56.66 cde	37.93 hi	1.75 cdef	1.75 g
32-65-SINR	39 cdefg	12 ij	30.90 f	40.13 hi	0.5 ef	1.75 g
32-65-ALG	37.5defg	8.5 j	22.80 f	56.3 cdefgh	0.25 ef	3 g
32-65-AGR	36.25fgh	15.25 hij	42.17 def	42.93 ghi	0.25 ef	2.75 g
32-60-SINR	30 h	21.75 ghi	72.83 abc	52.24 efghi	0.75 def	6.5 g
32-60-ALG	47.25b	28.5 defg	59.93 cd	43.4 ghi	1.25 def	4.25 g
32-60-AGR	34 gh	11.25 j	33.30 f	54.16 defgh	1.25 def	2.75 g
30-70-SINR	56 a	49.33 a	88.09 a	93.24 a	1 def	43.33 a
30-70-ALG	56 a	42.2 abc	75.35 abc	84.95 ab	1.8 cdef	31.8 b
30-70-AGR	56 a	40.25 abc	71.88 abc	88.01 ab	3.25 abcde	31 bc
30-65-SINR	56 a	30.75 bcde	67.41 abc	75.41 abc	6 a	20.5 cdef
30-65-ALG	56 a	38.5 bcd	78.75 abc	70.25 bcde	3.75 abcd	19.5 def
30-65-AGR	56 a	47.75 ab	85.27 a	74.53 abc	5 ab	27.5 bcd
30-60-SINR	56 a	33.75 c.f	60.27 bc	84.69 ab	2 bcdef	25 bcd
30-60-ALG	56 a	39.75 abc	70.98 abc	71.54 bcd	1.75 cf	22.5 bcde
30-60-AGR	56 a	47.5 ab	84.82 a	74.95 abc	1.5 def	28.5 bcd
DMSH _{0.05}	6.28	10.32	21.78	19.12	3.05	10.73

Medias con la(s) misma(s) letra(s) son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey; DMSH_{0.05}; híbridos de maíz 58, 32 y 30: H-58, 32D06 y 30G40; humedad relativa (%): 60, 65 y 70; material retenedor de agua SINRET, ALG y AGR: sin retenedor, algodón y agribón; rendimiento: por hectárea (RHA), por planta inoculada (RPLINC), por planta infectada (RPLINF) y total (RT); Clave de tratamiento: primera cifra correspondiente al híbrido de maíz; la segunda cifra al % de humedad relativa y abreviatura final al material retenedor de agua (SINR: sin retenedor, ALG: Algodón y AGR: agribón).

Para el índice de severidad ISE y severidad 5 SEV5 fueron mejores los tratamientos 30-70-SINR, 30-70-ALG y 30-70-AGR con 93.24, 84.95 y 88.01 (%); y 43.33, 31.8 y 31 (plantas por unidad experimental), y para el grado de severidad 4 SEV4, los mejores tratamientos fueron 30-65-SINR, 30-65-AGR y 58-70-SINR con 6, 5 y 4.75 (plantas por unidad experimental).

Los caracteres evaluados para rendimiento, calidad, incidencia y severidad, muestran un mejor resultado en los tratamientos donde se encuentra el híbrido 30640, excepto para RSEV4 donde el tratamiento 58-70-SINR fue mejor.

El híbrido 30G40 tuvo los valores mayores para severidad 5, rendimiento con severidad 5, índice de severidad, porcentaje de incidencia y plantas inoculadas lo cual influye en producir los más altos rendimientos por: hectárea, planta (inoculada e infectada) y total.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Thakur *et al.* (1989) donde en solo un híbrido se obtuvo un alto porcentaje de incidencia 73 %; porcentaje superado por siete tratamientos en este experimento donde el mejor tuvo 88.09 % y correspondió al tratamiento 30-70-SINR.

Análisis de correlación

Los tratamientos del experimento, muestran correlaciones altas, positivas y significativas de rendimiento por hectárea con: plantas infectadas (0.87**), severidad 5 (0.93**), rendimiento de plantas con severidad 5 (0.97**),

porcentaje de incidencia (0.94**), índice de severidad (0.79**); para rendimiento por: planta inoculada (0.83**), planta infectada (1.00**) y total (0.99**) (Cuadro 7).

Del mismo modo el rendimiento total con plantas: inoculadas (0.75**), e infectadas (0.88**); severidad 5 (0.95**), porcentaje de incidencia (0.94**), índice de severidad (0.75**); rendimiento de plantas por: severidad 5 (0.99**), planta inoculada (0.84**) y planta infectada (0.99**).

Igualmente el rendimiento por planta infectada con rendimiento por: plantas con severidad 5 (0.97**), planta inoculada (0.94); plantas infectadas (0.72**), severidad 5 (0.88**) e índice de severidad (0.87**).

También el rendimiento por planta inoculada con: plantas infectadas (0.87**), severidad 5 (0.93**), rendimiento de plantas con severidad 5 (0.97**), porcentaje de incidencia (0.94**) e índice de severidad (0.79**).

El carácter índice de severidad, también tuvo una correlación alta, positiva y significativa con plantas infectadas (0.72**), severidad 5 (0.90**), rendimiento de plantas con severidad 5 (0.85**), porcentaje de incidencia (0.88**).

Porcentaje de incidencia, también se correlacionó alta, positiva y significativa con plantas infectadas (0.92**) y severidad 5 (0.73**). Mientras que rendimiento

de plantas con: severidad 5, plantas inoculadas (0.72**), plantas infectadas (0.82**) y severidad 5 (0.96**) (Cuadro 7).

Otros caracteres de los tratamientos del experimento que se correlacionaron alta, positiva y significativamente son plantas con severidad 4, con severidad 4 (0.94**); plantas de severidad 3, con severidad 3 (0.92**); rendimiento de severidad 2, con severidad 2 (0.91**); severidad 5 con plantas inoculadas (0.79**) y plantas infectadas (0.87**); plantas infectadas, con plantas inoculadas (0.82**) (Cuadro 7).

Los altos grados de severidad de SEV5 y de rendimiento RSEV5 permitieron que los caracteres RHA, RT, RPLINF, RPLINC, ISE, PI RSEV5 Y SEV5 de los tratamientos se correlacionaran alta, positiva y significativamente.

En relación a los caracteres con grado de severidad 2, 3 y 4; así como para rendimiento por grado de severidad 2, 3 y 4, estos se correlacionan en forma negativa o simplemente no significativa; posiblemente debido a que no contribuyeron de manera importante con el incremento para el carácter rendimiento por hectárea RHA, el cual si esta correlacionado con el carácter de grado de severidad 5 SEV5 en magnitud alta, positiva y significativa (Cuadro 7).

Cuadro 7. Correlaciones fenotípicas de tratamientos evaluados por medio de 17 caracteres en la relación huilacoche (*Ustilago maydis* Cda.) y maíz.

Caracter	PLINF	SEV1	SEV2	SEV3	SEV4	SEV5	RSEV2	RSEV3	RSEV4	RSEV5	PI	ISE	RPLINC	RPLINF	RT	RHA
PLINC	0.82**	-0.21*	-0.1 ^{NS}	0.21*	0.48**	0.79**	-0.14 ^{NS}	0.12 ^{NS}	0.45**	0.72**	0.54**	0.69**	0.67**	0.64**	0.75**	0.67**
PLINF		-0.74**	0.06 ^{NS}	0.36**	0.49**	0.87**	-0.04 ^{NS}	0.27**	0.27**	0.82**	0.92**	0.72**	0.87**	0.72**	0.88**	0.87**
SEV1			-0.022*	-0.36**	-0.27**	-0.57**	-0.24**	-0.32**	-0.34**	-0.54**	-0.92**	-0.41**	-0.68**	-0.47**	-0.6*	-0.68**
SEV2				0.18 ^{NS}	0.008 ^{NS}	-0.37 ^{NS}	0.91**	0.23*	0.35 ^{NS}	-0.37**	0.2*	-0.59**	-0.28**	-0.49**	-0.30**	-0.28**
SEV3					0.21*	0.06 ^{NS}	0.19*	0.92**	0.24*	0.06 ^{NS}	0.42**	0.1 ^{NS}	0.19 ^{NS}	0.11 ^{NS}	0.15 ^{NS}	0.19 ^{NS}
SEV4						0.31**	-0.02 ^{NS}	0.19*	0.94**	0.24**	0.42**	0.40**	0.31**	0.27**	0.32**	0.31**
SEV5							-0.35**	-0.03 ^{NS}	0.33**	0.96**	0.73**	0.90**	0.93**	0.88**	0.95**	0.93**
RSEV2								0.27**	0.02 ^{NS}	-0.34**	0.21*	-0.53**	-0.23*	-0.4**	-0.26**	-0.23*
RSEV3									0.24*	-0.03 ^{NS}	0.36**	0.02 ^{NS}	0.12 ^{NS}	0.06 ^{NS}	0.08 ^{NS}	0.12 ^{NS}
RSEV4										0.26**	0.47**	0.40**	0.36**	0.31**	0.35**	0.36**
RSEV5											0.68**	0.85**	0.97**	0.94**	0.99**	0.97**
PI												0.88**	0.94**	0.60**	0.94**	0.94**
ISE													0.79**	0.87**	0.75**	0.79**
RPLINC														0.94**	0.84**	0.83**
RPLINF															0.99**	1.00**
RT																0.99**

Carácter; PLINC: plantas inoculadas, PLINF: plantas infectadas, grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1..., SEV5), grados de rendimiento de severidad (RSEV2,..., RSEV5), PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad, RPLINC: rendimiento por planta inoculada, RPLINF: rendimiento por planta infectada, RT: rendimiento total, RHA: rendimiento·ha⁻¹ de hongo.

CONCLUSIONES

Las diferencias entre tratamientos fueron altamente significativas para rendimiento por: hectárea, planta infectada y planta inoculada; y para severidad 4 y 5, porcentaje de incidencia e índice de severidad.

Los tratamientos con mayor rendimiento y calidad fueron 30-70-SINR, 30-70-ALG y 30-70-AGR debido a que fueron mejores en rendimiento por hectárea, severidad 5 e índice de severidad. El tratamiento 30-70-SINR adicionalmente presentó el más alto rendimiento de huitlacoche por hectárea, porcentaje de incidencia y número de plantas infectadas.

Los mejores tratamientos para severidad 4 (75% de la mazorca cubierta por agallas), fueron 30-65-SINR, 30-65-AGR y 58-70-SINR.

El rendimiento por hectárea se correlacionó alta, positiva y significativamente con rendimiento por: severidad 5, planta inoculada, planta infectada, total; también con severidad 5, porcentaje de incidencia e índice de severidad.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2005. Plant pathology. 5th ed. Academic Press. USA. 922 p.
- Christensen, J. J. 1963. Corn Smut caused by *Ustilago maydis* Cda. Published by The American Phytopathological Society. Department of Plant Pathology and Botany. Institute of Agriculture, University of Minnesota, St. Paul. 41 p.
- Martínez, M. L. 1999. Mejoramiento de la virulencia del hongo y susceptibilidad del maíz al huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) Tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 101 p.
- Martínez-Martínez. L., Villanueva-Verduzco, C. and Sahagún-Castellanos, J. 2000. Susceptibility and resistance of maize to the edible fungus huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) improving its virulence. Revista Chapingo Serie Horticultura 6 (2): 241-255.
- Pan J. J., Baumgarten A. M. and MAY G. 2008. Effects of host plant environment and *Ustilago maydis* Cda. infection on the fungal endophyte community of maize (*Zea mays* L.) New Phytologist 178: 147–156

- Pataky, J. K. and M. A. Chandler. 2003. Production of huitlacoche, *Ustilago maydis* Cda: timing inoculation and controlling pollination. *Mycologia* 95: 1261-1270.
- Steiner, A. A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil* 15:134-154.
- Thakur, R. P., K. J. Leonard, and Pataky J. K. 1989. Smut gall development in adult plants inoculated with *Ustilago maydis* Cda. *Plant Disease* 73:921-925.
- Tisdale, W. H. and Johnston, C. O. 1926. A study of smut resistance in corn seedlings grown in the greenhouse. *Journal of Agricultural Research* 32(7): 649-668.
- Valverde, M. E and Paredes-López, O. 1993. Production and evaluation of some food properties of huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.). *Journal Article* 7(3): 207-219.
- Villanueva C., Molina J. D., Castillo F. and Zavaleta E. 1999. Artificial induction of "huitlacoche" (*Ustilago maydis* Cda.): influence of different conditions in the field. *Micología Neotropical Aplicada* 12: 41-47.

Villanueva, V. C.; Sánchez, R. E.; y Villanueva, S. E. 2007. El huitlacoche y su cultivo. Ed. Mundi Prensa, México. 96 p.

DISCUSIÓN GENERAL

Se encontraron diferencias estadísticas en la producción de huitlacoche de híbridos inoculados con su respectivo aislado del hongo (Capítulo 1). Al incrementar la densidad en el mejor híbrido (30G40) de 62,500 a 166,666 plantas·ha⁻¹ el rendimiento se incrementó de 1,649.2 a 7,923.30 kg·ha⁻¹; en tanto que el H-161 disminuyó su rendimiento, de 941.67 a 583.86 kg·ha⁻¹ y Cóndor de 1,037.50 a 196.67kg·ha⁻¹. En el segundo experimento establecido a una densidad de 166,666 ptas·ha⁻¹ se determinó que 33,333 ptas·ha⁻¹ fueron improductivas, por lo cual se densidad se ajustó a 133,333 ptas·ha⁻¹ para la siembra del tercer experimento (Capítulo 2).

El efecto individual de los factores híbrido, humedad y material retenedor de humedad mostró que híbrido 30G40 fue el mejor, con rendimiento de 16,416.2 kg·ha⁻¹ de huitlacoche, a humedad relativa de 70 % (12,025.1 kg·ha⁻¹) y sin retenedor de agua (10,587.4 kg·ha⁻¹). Las combinaciones de híbridos (H-58, 32D06 y 30G40), humedad relativa (60, 65 y 70 %) y materiales retenedores de agua (Sin retenedor, algodón y agribón) (Capítulo 3), indicaron que la mejor combinación fue el híbrido 30G40, sin material retenedor de humedad y humedad relativa a 70% con rendimiento de 28,877 kg·ha⁻¹, porcentaje de incidencia 88.09 %, índice de severidad 93.24 %, rendimiento por planta inoculada 0.22 kg y un rendimiento por planta infectada 0.25 kg.

Aunque los primeros estudios en invernadero se realizaron por Arthur y Stuart en 1899 (Citado por Tisdale y Johnston, 1926), con el objetivo de realizar pruebas de patogenicidad sin control de las condiciones ambientales; y en 1926 Tisdale y Johnston obtienen con éxito la infección y desarrollo de *Ustilago maydis* en plántulas en invernadero. No existen antecedentes de ensayos de producción huitlacoche en invernadero con el manejo de condiciones ambientales (temperatura y humedad relativa), híbridos, densidades de siembra y de materiales retenedores, en la región de los Valles Altos de México.

La mayoría de los estos estudios para producir huitlacoche se han realizado en Estados Unidos de Norteamérica con *Ustilago maydis* afectando maíces dulces lo cual difiere de los híbridos utilizados en esta investigación (Pataky, 1991; Pope y McCarter 1992; Thakur *et al.*, 1989).

Los estudios realizados en México para producción de huitlacoche son referidos a maíces criollos e híbridos en condiciones a cielo abierto donde la precipitación presenta variación en un mismo lugar para diferentes años (Martínez, 1999).

En tanto la producción de huitlacoche a cielo abierto se limita durante la temporada de mayor precipitación, en invernadero pueden realizarse los ciclos continuos durante todo el año.

LITERATURA CITADA

- Martínez, M. L. 1999. Mejoramiento de la virulencia del hongo y susceptibilidad del maíz al huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) Tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 101p.
- Pataky, J. K. 1991. Production of huitlacoche *Ustilago maydis* (DS) Corda on sweet corn. Hortscience 26 (11):1374-1477.
- Pope, D.D. and McCarter S. M. 1992. Evaluation of inoculation methods for inducing common smut on corn ears. Phytopathology. 82:950-955.
- Thakur R. P., Leonard, K. J., and Pataky, J. K. 1989. Smut gall development in adult plants inoculated with *Ustilago maydis* Cda. Plant Disease 73:921-925.
- Tisdale, W. H. and Johnston, C. O. 1926. A study of smut resistance in corn seedlings grown in the greenhouse. Journal of Agricultural Research 32(7): 649-668.