SUSCEPTIBILIDAD Y RESISTENCIA DEL MAÍZ AL HONGO COMESTIBLE HUITLACOCHE (*Ustilago maydis* Cda.) MEJORANDO SU VIRULENCIA

L. Martínez-M.[1]; C. Villanueva-Verduzco[2]; J. Sahagún-Castellanos[2]
[1]Maestria en Ciencias en Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx. 56230
[2]Departamento. de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx. 65230

RESUMEN

El huitlacoche es un patógeno del maíz, muy apreciado como alimento humano en la región central de México. Actualmente seis industrias lo comercializan enlatado. El total de la producción industrial se abastece de la recolección espontánea del hongo en campos de cultivo de maíz para producción de grano. Debido a lo anterior, los objetivos planteados en este estudio fueron: evaluar y seleccionar patotipos de *Ustilago maydis* con una alta virulencia sobre maíz; evaluar y seleccionar familias de medios hermanos maternos de maíz de reacción susceptible y resistente al huitlacoche. En 1997, se evaluaron 100 aislamientos del hongo en un híbrido experimental, seleccionando 12 de ellos por su vigor, presentando en promedio 190 g del hongo por planta infectada, y 135.24 g por planta inoculada (8.11 $t \cdot ha^{-1}$, 60 000 $plantas \cdot ha^{-1}$), índice de severidad de 36.82 y una incidencia de 70.64%. De las 300 familias de medios hermanos maternos evaluadas (1998) por inoculación con la mezcla de los 12 aislamientos seleccionados (1997), se eligieron 16 familias susceptibles, que presentaron en promedio 154.97 g del hongo por planta infectada y 112.88 g por planta inoculada (6.67 $t \cdot ha^{-1}$), 76.67 % de incidencia y 34.82 de índice de severidad; así como 14 familias resistentes (0 % de incidencia) al ataque del hongo.

PALABRAS CLAVE: Carbón común, cuitlacoche, selección, mejoramiento genético, genotecnia, producción.

SUSCEPTIBILITY AND RESÍSTANSE OF MAIZE TO THE EDIBLE FUNGUS HUITLACOCHE (*Ustilago maydis* Cda.) IMPROVING ITS VIRULENCE

SUMMARY

Huitlacoche is a fungus that infects maize plants. It is very appreciated as a human food in central Mexico, where six industries commercialize the canned fungus. Total industrialized production depends on spontaneous fungus recolection from cultivated maize fields used to obtain grain. The objectives of this study were to evaluate and select *Ustilago maydis* teliospores with a high virulence on corn, and to evaluate and select half sib families with a susceptibility and resistance to huitlacoche. In 1997, 100 isolations were evaluated in an experimental hybrid and 12 were selected, which showed an average 190 g of fungus per infected plant and 135.24 g per inoculated plant (8.11 t(ha·1; 60 000 plant(ha·1); a severity index of 36.82, and 70.64 % of incidence. In 1998, 300 half sib families were inoculated with a mixture of the 12 isolations selected in the previous cycle. Then, 16 susceptible families were selected, and they showed an average 154.97 g of fungus per infected plant, 112.88 g per inoculated plant (6.67 t(ha·1), 76.67 % of incidence and 34.82 of severity index. In addition, 14 resistant families to huitlacoche were selected (0 % incidence).

KEY WORDS: Common smut, cuitlacoche, selection, genetic improvement, production.

INTRODUCCIÓN

Ustilago maydis (DC) Corda es el causante de la enfermedad conocida como huitlacoche o cuitlacoche; en México, su consumo como alimento humano proviene desde la época prehispánica, los aztecas lo llamaban como “cuitlacochtli”, cuitla (tl) (suciedad, basura o excremento) y cochtli (dormido) (López, 1988); como platillo exótico de la cocina mexicana, se le ha denominado el “caviar azteca” y la “trufa mexicana”; actualmente existen en México seis industrias que lo comercializan, sea enlatado o liofilizado (deshidratado a baja temperatura), y existe una demanda creciente de estos productos tanto en México como en el mercado internacional (Paredes, 1994). La oferta se concentra en los meses de julio y agosto, siendo del orden de 300 a 400 toneladas por año tan sólo en los mercados de la ciudad de México (Kealey y Kosikowski, 1981).

Recibido: 28 de octubre de 1999.
Aceptado: 12 de enero del 2000

La gran mayoría de las variedades de maíz presentan algún grado de resistencia al ataque del *Ustilago maydis*, siendo las variedades de maíz dulce las más susceptibles a esta enfermedad (Pataky *et al*., 1995). La infección natural algunas veces no es muy confiable, ya que la aparición del hongo en el maíz depende de las condiciones ambientales que conducen a la infección del carbón y a la asociación entre la etapa en el desarrollo del hospedero durante el período de infección y el tejido de la planta en el cual se forman las agallas. Un método eficiente de inoculación es más real para poder hacer evaluaciones de la resistencia del maíz al carbón común (Pataky, 1991).

El ataque es más frecuente en las áreas cálidas y moderadamente secas, con temperaturas de 26 a 34°C (Bolaños, 1998), 78 a 95°F (Davis, 1997); además, altas cantidades de nitrógeno y suelos abonados con materia orgánica parecen predisponer a las plantas al hongo (Texas Plant Disease Hadbook, 1996). El daño por granizo y el paso de las cultivadoras, permiten al hongo penetrar rápidamente a la planta por las heridas de ésta (Duncan *et al*., 1995; Gotlieb, 1999). La alta humedad relativa (60 a 80%) y mayor precipitación (43 a 53 mm) incrementa la incidencia del hongo (Clemente Villanueva, 1999: datos no publicados)

El período de incubación se ha encontrado desde 7 a 16 días bajo invernadero (Thakur *et al*., 1989; Valverde *et al*., 1993; Carrol, 1998) o de 17 a 19 días en campo, pudiendo variar de 15 a 24 días (Pope y McCarter, 1992a; Pataky *et al*., 1995; Villanueva, 1995).

El apareamiento o fusión de las hifas haploides, así como la patogenicidad, están reguladas genéticamente por un sistema tetrapolar en el que intervienen dos genes denominados **a** y **b**. El gene **a** controla el apareamiento de las esporidias y codifica las feromonas y los receptores de éstas. El gene **b** regula los eventos después de la fusión, incluso mantiene la infección de la célula y el desarrollo sexual entre el tejido de la planta y la patogenicidad del hongo (Snetselaar y Mims, 1993; Kronstad, 1999). El gene **a** presenta dos alelos y el gene **b** alelos múltiples, mencionándose poco más de 25 hasta 33 (Barret *et al*., 1992; Bolker *et al*., 1992).

La resistencia al carbón del maíz está determinada genéticamente en forma dominante por un solo par de genes, según la segregación en la F_2 (Jones, 1918; Immer, 1928; citados por Villanueva, 1995). Aunque para Hoover (1932) la segregación correspondió a dos pares de genes independientes, donde uno controla la resistencia morfológica y otro la fisiológica. Tales resultados fueron las bases para la creciente obtención de maíz híbrido resistentes al carbón común en los Estados Unidos de América. Por su parte, Christensen (1963) aseguró que son pocos los genes del maíz que participan en la reacción al carbón. Los híbridos resistentes al carbón han sido producidos en programas de mejoramiento, pero la naturaleza y durabilidad de la resistencia ha permanecido desconocida. En algunos casos la resistencia puede ser por características poligénicas que involucran pocos genes, la mayoría de caracteres funcional, fisiológico y morfológico. La mayoría de genes para resistencia existen en cereales de grano pequeño contra otras enfermedades fungosas, pero genes contra *Ustilago maydis* aún no han sido encontrados en maíz (Pope y McCarter, 1992b).

Actualmente muchos de los estudios disponibles orientados a obtener producción artificial de huitlacoche se encuentran a nivel del ensayo de métodos para obtener la mejor técnica de inoculación sobre híbridos comerciales de maíz dulce y variedades de polinización abierta. En consecuencia con lo antes expuesto, los objetivos fueron: a) evaluar y seleccionar patotipos de *Ustilago maydis* que inoculados artificialmente muestren una alta virulencia jilote-específica sobre maíz de genotipo uniforme, b) evaluar y seleccionar familias de medios hermanos maternos de maíz de reacción susceptible y resistente al huitlacoche. La hipótesis planteada fue que la variación genética existente en huitlacoche (*Ustilago maydis*) y en poblaciones F_2 de maíz híbrido, permite seleccionar teliosporas virulentas y familias de maíz susceptibles y resistentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Evaluación y selección de aislamientos de *Ustilago maydis*

Siembra del experimento

El material vegetal utilizado fue un maíz experimental de genotipo uniforme que en un estudio anterior fue elegido. La siembra se realizó el 5 de abril de 1997 en el Campo Agrícola Experimental “San Martín” de la Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México, a una distancia entre surcos de 80 cm y 20 cm entre matas, depositando alternadamente 2 a 3 semillas por mata. A los 40 días de la emergencia se realizó un aclareo en la parcela, dejando una planta por mata; teniendo finalmente una densidad de población de 60,000 plantas·ha^{-1}.

Preparación del inóculo

Se colectaron ocho mazorcas totalmente cubiertas por agallas de huitlacoche, procedentes de diferentes zonas de los Valles Altos de México. Bajo condiciones asépticas, se realizó la desinfección y aislamiento de teliosporas, según la metodología recomendada por Ayala y Kiger (1984) para aislamiento de bacterias. Se cultivaron en cajas de petri con medio de cultivo PDA (papa-dextrosa-agar + cloranfenicol), incubándose a 26 ºC bajo oscuridad durante cuatro días. Una vez crecido el hongo, se realizó un aislamiento de basidiosporas individuales para poder ser manipuladas e incrementar la cantidad de ellas; a las 36 horas se procedió a la preparación del inóculo. Cada

cepa se mezcló con agua destilada estéril, vaciándose en frascos de vidrio esterilizados, para facilitar su manejo y traslado al campo. La densidad que se usó en campo se ajustó con ayuda de un hematocitómetro a una concentración de 10^6 basidiosporas·ml^{-1} de agua, según la metodología empleada por Villanueva (1995).

Inoculación en campo

Los aislamientos del hongo se inocularon en un surco de 15 m de longitud (75 plantas) cuando los jilotes exponían sus estigmas aproximadamente 3 cm fuera de las brácteas, aplicando con jeringa hipodérmica estéril 1.5 ml de la suspensión por jilote, en tres puntos equidistantes del mismo. Cabe señalar que en este ciclo fue necesario realizar dos veces la inoculación. La primera comenzó a los 75 días después de la emergencia (dde) (26 a 30 de junio), inoculándose un total de 3207 jilotes, como no se completó la cantidad de 15 jilotes inoculados por repetición, a los 90 dde (15 a 18 de julio) se llevó a cabo la segunda inoculación con un total de 4343 jilotes, aprovechando que se desarrollaron más lentamente.

Cosecha y registro de datos

A los 40 días de realizada la segunda inoculación se llevó a cabo la cosecha de huitlacoches (agosto 26, septiembre 3, 10 y 11), tomando como criterio de corte las mazorcas completamente abultadas por agallas aún sin emerger del "totomoxtle". Al terminar la cosecha, el rastrojo fue ensilado para evitar que quedaran en la parcela altas densidades de teliosporas invernantes. Las variables evaluadas fueron:

A) Grado de severidad: Se definieron cinco grados de severidad o desarrollo de las agallas en el elote: G1, G2, G3, G4 y G5 de acuerdo a un 0, 25, 50, 75 y 100% de cubrimiento de la mazorca por las agallas del huitlacoche, respectivamente. Dentro de cada grupo de severidad se contó el número de jilotes y se determinó el peso promedio del hongo libre de la mazorca (sólo agallas).

B) Rendimiento por planta infectada (RPInf): Es el peso total del huitlacoche (g) de todas las mazorcas infectadas en el tratamiento entre el número total de elotes infectados para él mismo.

$$\text{RPInf} = \frac{(\text{Peso G2}) + \ldots + (\text{Peso G5})}{\text{No. de elotes infestados}}$$

C) Rendimiento por planta inoculada (RPInoc): Es el peso total de huitlacoche (g) por tratamiento entre el correspondiente número de plantas inoculadas.

$$\text{RPInoc} = \frac{(\text{Peso G2}) + \ldots + (\text{Peso G5})}{\text{No. de plantas inoculadas}}$$

En los tratamientos más sobresalientes, se obtuvo el rendimiento del hongo por hectárea, el cual se obtuvo al multiplicar el RPInoc de cada aislamiento por la densidad de población (60000 plantas·ha^{-1}).

D) Índice de severidad (ISe): Es la media ponderada de los grados de severidad, siendo el factor de ponderación el número de plantas en cada grado.

$$\text{PI} = \frac{(\text{No. plantas G1})\,(0) + \ldots + (\text{No. plantas G5})\,(100)}{\text{No. de plantas inovuladas}}$$

E) Porcentaje de incidencia (PI): Registrado como el número total de elotes infectados entre el total de inoculados, multiplicados por cien.

$$\text{PI} = \frac{(\text{No. plantas G2}) + \ldots + (\text{No.elotes G5})\,(100)}{\text{No. de elotes inoculados}}$$

F) Índice de selección por productividad del hongo (ISPH): Esta variable fue generada con base en una asignación arbitraria de porcentajes a las variables PI (30%), ISe (35%) y RPInoc (35%); las cuales fueron las principales para la selección de los aislamientos por su virulencia, se calculó conforme a la siguiente expresión:

$$\text{ISPH} = (\text{PI})\,(0.30) + (\text{ISe})\,(0.35) + (\text{RPInoc})\,(0.35)$$

Evaluación y selección de familias susceptibles y resistentes

Siembra del experimento

Con la población F_2 obtenida, se empleó la metodología de selección familial de medios hermanos. El 18 de abril de 1998 se realizó la siembra del maíz en el campo experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México el lote de selección incluyó dos surcos (20 plantas a 20 cm en un surco de 5 m cada uno) por parcela y por familia, de cada una de las 300 familias de medios hermanos establecidas. Un surco se destinó para la inoculación y el otro para realizar cruzas fraternales dentro de familias.

Activación e incremento del inóculo

En el mes de junio se activó a las cepas provenientes de los doce mejores aislamientos seleccionados por virulencia y vigor del huitlacoche, los cuales se habían mantenido en medio de cultivo PDA y aceite mineral estéril, una vez terminado el ciclo agrícola. Ya activados e incrementados, se procedió a sembrar una muestra de todos en cajas de petri con PDA con el fin de que hubiera una recombinación y tener más éxito de incidencia y severidad en campo, quedando establecida la mezcla en cajas de petri con medio de cultivo PDA, con fines de incremento del inóculo.

Inoculación en campo

Una vez incrementada la mezcla de las basidiosporas, se preparó y fue depositada en frascos de vidrio con agua destilada estéril, previa calibración de la densidad de inóculo (10^6 basidiosporas•ml^{-1}) para su transporte al campo e inoculación con jeringa hipodérmica. La inoculación fue realizada a partir de los 90 días después de establecimiento (julio 31, agosto 3, 7, 11 y 17), inoculándose un total de 5135 jilotes, cada unidad experimental estuvo constituida por un surco de 12 plantas. Debido al desarrollo desuniforme de las plantas en cada familia, ocho jilotes fueron inoculados como mínimo y 35 como máximo para algunas familias, por lo que los resultados fueron promediados por familia.

Cosecha y registro de datos

La cosecha fue realizada a partir de los 30 días de la inoculación, antes de que las mazorcas mostraran agallas del huitlacoche con el peridio roto. Una vez terminada la cosecha, el rastrojo fue ensilado. Las variables evaluadas fueron las mismas del ciclo 1997.

Al término de cada inoculación en ambos años, los aislamientos fueron guardados en PDA y aceite mineral para su conservación y posterior selección una vez realizado el análisis de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Factores ambientales y la incidencia del hongo

Para explicar la alta variabilidad en el porcentaje de incidencia entre la primera y segunda inoculación en 1997 fue necesario considerar las condiciones ambientales, en las cuales se observaron que la temperatura no varió en forma considerable durante los dos períodos de inoculación a cosecha (Figura 1), el promedio fue alrededor de 19ºC, por lo que se considera que no actuó como un factor limitante en la incidencia del hongo; además, fue muy parecida a lo reportado con López (1988), quien aseguró tener la mayor incidencia del hongo con temperaturas medias altas fluctuando entre 18.72 a 17.17°C. La humedad relativa fue mayor durante la segunda fecha de inoculación (61.1 a 70.1%) sobre la primera (56.8 a 65.1%), lo que pudo influir en la mayor incidencia del hongo en el maíz. En cuanto a la precipitación, se observó que el valor máximo (52.7 mm) se tuvo precisamente cuando inició la primer inoculación (junio 26 al 30), y posteriormente va descendiendo hasta llegar a 12.2 mm, una semana antes de la segunda inoculación (julio 7). Cuando se realizó la segunda inoculación (julio 15 al 18), la precipitación fue en aumento hasta la cuarta semana de julio (33.1 mm). Durante la primer cosecha de huitlacoche, 50 días después de la primer inoculación (15 de agosto), se presentó la menor cantidad de lluvia de ese período (4.2 mm). En la segunda cosecha, 40 días después de la segunda inoculación (agosto 26, septiembre 3, 10 y 11), la precipitación comenzó nuevamente a incrementarse. Lo anterior indica la mayor disponibilidad de agua durante el período de incubación de la segunda inoculación, lo que pudo favorecer el mayor porcentaje de incidencia en esta etapa.

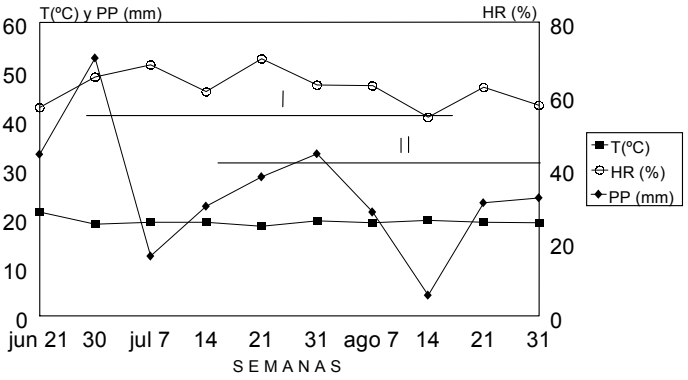

Figura 1. Condiciones climáticas de junio a agosto de 1997. Chapingo, México. T: temperatura; PP: precipitación; HR: humedad relativa; I: primera inoculación; II: segunda inoculación de huitlacoche en maíz.

Evaluación de aislamientos

El Cuadro 1 muestra los cuadrados medios de los análisis de varianza para las variables evaluadas durante el ciclo de evaluación y selección de los aislamientos (P-V 1997). Cabe señalar que sólo son datos de la segunda fecha de inoculación, ya que en la primera, el porcentaje de incidencia del hongo en el maíz fue 0 % en los 3207 jilotes inoculados; mientras que en la segunda fecha, algunos tratamientos alcanzaron más del 80 %. Se utilizó el mismo tipo de inóculo y la misma técnica de inoculación, por lo que la notable diferencia encontrada sobre el desarrollo de la enfermedad pudo deberse al efecto ambiental, principalmente la humedad relativa, ya que fue la que varió (57 a 70 %) (Figura 1) durante las inoculaciones.

Se observaron diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos (aislamientos) para todas las variables, lo que indica que existió gran contraste en cuanto al comportamiento de los tratamientos en el campo. Los coeficientes de variación en todos los caracteres fueron muy elevados. Esto pudo deberse a que es una especie heterotálica con un sistema de incompatibilidad tetrapolar. Debido a esto, puede haber un gran número de combinaciones genéticas que darán diferentes grados de ataque del hongo en el maíz; además, las variaciones microclimáticas también afectan drásticamente al desarrollo de la enfermedad, como se mostró en la ausencia y presencia del desarrollo de la enfermedad sobre un genotipo uniforme tan solo cambiando la fecha de inoculación.

CUADRO 1. Cuadrados medios de los análisis de varianza de la evaluación de teliosporas para seis caracteres en la selección de aislamientos por vigor de huitlacoche (*Ustilago maydis*) producido en maíz.

FV	GL	P100	RPInf	RPInoc	ISe	PI	ISPH
Bloque	3	3.08 ^{NS}	4442.25 ^{NS}	108.32 ^{NS}	12.24 ^{NS}	3.08 ^{NS}	14.14 ^{NS}
Trat.	99	63.99**	22875.61**	9186.49**	670.53**	2510.73**	3270.94**
Error	297	12.36	4108.26	415.28	13.65	18.60	75.38
Total	399	25.10	8767.33	2589.29	176.62	636.83	867.80
CV(%)	---	213.66	124.08	82.43	52.82	30.15	56.41
R^2	---	0.63	0.65	0.88	0.94	0.98	0.93

P100: porcentaje de plantas inoculadas con 100 % de cubrimiento de la mazorca por agallas de huitlacoche; RPInf y RPInoc: rendimiento del hongo por planta infectada e inoculada; ISe: índice de severidad; PI: porcentaje de incidencia; ISPH: índice de selección por productividad del hongo; CV: coeficiente de variación; R^2: coeficiente de determinación; ** y ^{NS}: diferencias estadísticas altamente significativas ($P \leq 0.01$) y no significativas, respectivamente.

Selección de los aislamientos

A los 100 aislamientos evaluados, se aplicó una presión de selección del 12 %, de acuerdo a los datos obtenidos en campo y mediante las pruebas estadísticas de SAS, tomando en cuenta los valores más altos del índice de productividad del hongo, quedando finalmente seleccionados 12 de ellos, los números correspondientes fueron: 26, 28, 38, 41, 42, 65, 70, 71, 73, 80, 81 y 89. Estos se seleccionaron directamente del cepario donde habían sido previamente almacenados después de la inoculación para realizar el compuesto balanceado del primer ciclo de selección. Los valores promedio de los 12 tratamientos seleccionados fueron: porcentaje de plantas con mazorcas totalmente cubiertas por agallas (P100): 9.54 %, rendimiento del hongo por planta infectada (RPInf): 190 g, rendimiento del hongo por planta inoculada (RPInoc): 135.24 g, índice de severidad (ISe): 36.82, y porcentaje de incidencia (PI): 70.64 %. Esto indica que la mezcla de estos tratamientos tuvo un rendimiento de 8.11 $t \cdot ha^{-1}$; Esto fue con base en una muestra de 555 plantas inoculadas (46 mazorcas en promedio por tratamiento, fluctuando entre 35 y 90 mazorcas como mínimo y máximo, respectivamente).

Debido a lo extenso de la comparación de medias por el número de tratamientos, el Cuadro 2 resume los 12 tratamientos más sobresalientes en los caracteres evaluados; además, se anexa una columna con el rendimiento por tratamiento, tomando la densidad de población de 60000 plantas por hectárea; asimismo, se presentan como referencia, los tratamientos que tuvieron 0 % de infección. El aislamiento 42 presentó el valor más alto (16.67 %) para el porcentaje de mazorcas totalmente cubiertas por agallas de huitlacoche (P100), lo que indica un porcentaje bajo para fines de mejoramiento de la susceptibilidad. El aislamiento 70 mostró el valor más alto de rendimiento por planta infectada (RPInf: 279.7 g), rendimiento por planta inoculada (RPInoc: 215.2 g), índice de severidad (ISe: 50.6) e índice de selección por productividad del hongo (ISPH: 116.2), lo cual indica que en este tratamiento se encontró en mayor presencia los huitlacoches más grandes, lo que es muy importante al momento de seleccionar cepas por tamaño de mazorca infectada. Tomando en cuenta que se tuvo una muestra de 35 mazorcas, que cada planta produjo en promedio 215.2 g, y que se tienen 60000 $plantas \cdot ha^{-1}$, el rendimiento fue de 12.91 $t \cdot ha^{-1}$, donde las mazorcas tuvieron en promedio un 50 % de cubrimiento por agallas, lo cual es muy alentador para la implementación de un sistema de producción controlado del hongo. El aislamiento 71 presentó el valor más alto (87.50 %) para porcentaje de incidencia (PI), siendo estadísticamente igual con la 65 (83.33 %) y 81 (82.29 %), lo que muestra la mayor presencia del hongo en estos tratamientos (Cuadro 2).

A pesar de que todas los aislamientos estuvieron manejados en laboratorio en las mismas condiciones e inoculados los mismos días, los que presentaron 0 % de infección fueron 51 de ellos (Cuadro 2, parte inferior), los cuales se descartaron para posteriores pruebas. Esto indica que el grado de virulencia del hongo fue muy variable de acuerdo a la combinación genética que presentó cada aislamiento, ya que los resultados son muy contrastantes cambiando sólo el tipo de cepa y la fecha de inoculación, manejando la misma variedad de maíz.

Evaluación de familias

Se encontraron diferencias altamente significativas entre familias para porcentaje de plantas inoculadas con 100 % de cubrimiento de la mazorca por agallas de huitlacoche (P100), rendimiento del hongo (g) por planta inoculada (RPInoc), índice de severidad (ISe), porcentaje de incidencia (PI) e índice de selección por productividad del hongo (ISPH), lo que indica que hubo diferente comportamiento estadístico y genético entre las familias de maíz (Cuadro 3) a la inoculación de una misma mezcla de hongo (el compuesto balanceado obtenido con los 12 mejores aislamientos seleccionados en 1997 por su mayor incidencia, severidad y producción de huitlacoche).

Comparando los coeficientes de variación de los ciclos de selección p-v 1997 y 1998, se encontró que, en este último los valores fueron más constantes entre las variables, rendimiento del hongo por planta inoculada (RPInoc) y por planta infectada (RPInf), índice de severidad

(ISe) e índice de selección por productividad del hongo (ISPH), lo que pudo deberse a que se utilizó la misma mezcla de inóculo en todo el lote de evaluación y el comportamiento del hongo fue similar, variando únicamente el genotipo de las familias de maíz. Otras de las causas del alto coeficiente de variación (Cuadros 1 y 3) pudo deberse a que el tamaño de las mazorcas no fue similar al momento de la inoculación, por lo que se tenían huitlacoches dentro del mismo grado de severidad, pero con peso de agallas muy diferentes; además, el punto exacto de corte nunca fue el mismo, ya que como las agallas están cubiertas por las hojas de la mazorca, sólo se tomaba como criterio de cosecha la mazorca hinchada, y no siempre los soros tenían su máximo desarrollo.

CUADRO 2. Comparación de medias para seis variables en los 15 mejores aislamientos por vigor del huitlacoche producido.

Aislamiento	P100 (%)	RPInf (g)	RPInoc (g)	Rend. ($t \cdot ha^{-1}$)	ISe	PI (%)	ISPH
26	11.11	194.12	107.34	6.44	28.90	55.53	64.35
28	7.78	127.60	91.24	5.47	32.71	71.94	64.96
38	12.78	178.36	87.15	5.23	30.00	48.61	55.58
41	14.58	161.64	101.85	6.11	35.46	64.58	67.78
42	**16.67**[z]	196.62	151.15	9.07	41.67	77.08	90.61
65	2.08	248.36	206.97	12.42	43.75	83.33	112.75
70	13.88	**279.67**	**215.21**	**12.91**	**50.61**	77.08	**116.16**
71	14.96	200.19	182.86	10.97	48.11	**87.50**	107.09
73	2.50	167.54	112.18	6.73	28.54	66.67	69.25
80	2.27	153.79	109.34	6.56	30.59	71.21	70.34
81	11.11	169.13	129.85	7.79	41.06	82.29	84.51
89	4.77	207.98	127.74	7.66	30.45	61.82	73.91
DMS	10.83	197.54	62.80		11.39	13.29	26.76

[z]valores en negritas son los más altos.
P25, P50, P75, P100: porcentaje de plantas inoculadas con un 25, 50, 75 y 100 % de cubrimiento de la mazorca por agallas de huitlacoche, respectivamente; RPInf y RPInoc: rendimiento (g) del hongo por planta infectada e inoculada, respectivamente; ISe: índice de severidad; PI: porcentaje de incidencia; e ISPH: índice de selección por productividad del hongo; DMS: diferencia mínima significativa.
Aislamientos con media cero (0): 1-2, 4-8, 10, 12-14, 16-20, 24-25, 29-31, 33, 35, 37, 39-40, 47-48, 50-52, 54-55, 57, 59-61, 66, 74-75, 77-79, 82-83, 85, 87-90, 95.

Selección de familias

Debido a lo extenso del número de tratamientos, en el Cuadro 4 se presentan sólo las 15 familias más susceptibles para cada una de las variables evaluadas, ordenándolas por número de tratamiento; además, se presenta una columna con el rendimiento del hongo por hectárea. Las familias más resistentes al ataque del huitlacoche (Cuadro 4), fueron las 14 que presentaron 0 % de incidencia del hongo (175, 180, 182, 183, 185, 190, 191, 193, 194, 195, 213, 216, 243 y 288). Cabe señalar, que se obtuvieron familias con valores muy cercanos al cero, pero no fueron consideradas en esta selección. La familia número 171 presentó el valor más alto (22.5 %) para porcentaje de mazorcas completamente cubiertas por las agallas del hongo (P100), siguiendo la 126 (21.45 %) y 110 (20 %) (Cuadro 4), lo que indica que en estas familias más del 20 % de plantas infectadas las mazorcas están completamente cubiertas por el huitlacoche, lo que es muy importante para el momento de la selección, ya que la finalidad de la investigación es incrementar este porcentaje. En la familia número 79 se encontró el valor más alto (151.87 g) para rendimiento del hongo (g) por planta inoculada (RPInoc), siguiendo algunas otras como la 43 (140.43 g), 7 (136.74 g) y 171 (133.49 g), a pesar de que no hubo diferencias estadísticas entre el total de familias, aquí se demuestra el buen desarrollo de las agallas encontrado en algunas de ellas. Tomando en cuenta que se tuvieron 60000 plantas por hectárea, los rendimientos del hongo fueron de 9.11, 8.42, 8.20 y 8.00 $t \cdot ha^{-1}$, respectivamente. Estos datos dan una idea del excelente tamaño al que llegaron a desarrollar algunas de las agallas del huitlacoche en estas familias. Cabe señalar, que el número de plantas inoculadas en cada familia fue de 19 (No. 79), 24 (No. 43), 9 (No. 7) y 9 (No. 171) (Cuadro 4).

Las familias número 79 (44.6), 66 (42.9), 69 (42.8) y 75 (41.1), presentaron los valores más altos para la variable índice de severidad (ISe), fueron iguales estadísticamente, pero diferentes del resto. Los resultados indican que al inocular en cualquiera de estas familias, hubo un buen desarrollo del hongo (alrededor de un 43 % de cubrimiento de las mazorcas infectadas por agallas). Las familias 75 (92.85 %), 38 (92.85 %), 7 (90 %) y 58 (86.36 %) presentaron el mayor porcentaje de incidencia (PI) del hongo, las cuales fueron iguales estadísticamente entre ellas, pero diferentes del resto. El elevado porcentaje de incidencia mostrado (>85 %) en las cuatro familias, indica que existe un alto grado de susceptibilidad al *Ustilago maydis*; además, todas tienen un rendimiento por planta mayor a 100 g, lo que, lo que permite realizar selección de familias de maíz susceptibles al huitlacoche.

Las familias que presentaron el valor más alto para el índice de selección por productividad del hongo (ISPH) fueron la número 79 (90.92), 7 (87.55), 69 (82.78) y 75 (82.56), aunque la comparación de medias de las 15 mejores no muestra diferencias significativas entre ellas, pero sí para el resto de las familias. Como el grado de susceptibilidad en las familias fue diferente en cada variable, se realizó una presión de selección del 5.3 %, seleccionando las más susceptibles de acuerdo al ISPH, quedando finalmente seleccionadas 16 familias: 7, 38, 43, 55, 58, 66, 69, 75, 76, 79, 80, 86, 96, 98, 115 y 171. El promedio de las 16 familias seleccionadas fue para rendimiento del hongo por planta infectada (RPInf): 154.97 g, rendimiento del hongo por planta inoculada (RPInoc): 112.88, índice de severidad (ISe): 34.82 y porcentaje de incidencia (PI): 76.67, por lo que se tienen un potencial de rendimiento del hongo de 6.77 $t \cdot ha^{-1}$. Esto, es con base en una muestra total de 258 plantas inoculadas (16 mazorcas en promedio por familia, la cual varió de 9 a 25).

CUADRO 3. Cuadrados medios de los análisis de varianza para seis caracteres de familias de medios hermanos maternos de maíz evaluadas para detectar susceptibilidad y resistencia al huitlacoche (*Ustilago maydis*).

FV	GL	P100	RPInf	RPInoc	ISe	PI	ISPH
Tra	299	39.12**	9706.65 ^{NS}	2051.67**	196.77**	958.05**	818.48**
Error	300	29.89	7294.75	1090.04	39.73	45.58	187.73
Total	599	34.50	8498.69	1570.05	118.12	500.96	502.58
CV (%)	----	195.76	72.50	69.92	39.89	17.83	41.03
R^2	----	0.57	0.57	0.65	0.83	0.95	0.81

P100: Porcentaje de plantas inoculadas con 100 % de cubrimiento de la mazorca por agallas de huitlacoche; RPInf y RPInoc: rendimiento del hongo por planta infectada e inoculada, respectivamente; ISe: índice de severidad; PI: porcentaje de incidencia; ISPH: índice de selección por productividad del hongo; ** y ^{NS}: diferencias estadísticas altamente significativas ($P \leq 0.01$) y no significativas, respectivamente; cv: coeficiente de variación; R^2 coeficiente de determinación.

CUADRO 4. Comparación de medias (por variable) de las 15 familias de medios hermanos maternos de maíz más susceptibles a huitlacoche.

Fam	P100 (%)	Fam	RPInf (g)	Fam	RPInoc (g)	Rend. ($t \cdot ha^{-1}$)	Fam	ISe	Fam	PI (%)	Fam	ISPH
31	15.00	53	248.11	7	136.74	8.20	3	32.35	7	90.00	7	87.55
53	13.65	98	257.19	14	105.42	6.32	7	36.25	13	76.28	38	77.86
75	14.30	132	258.15	30	105.72	6.34	38	32.14	25	81.94	43	78.11
79	15.55	138	316.15	38	110.71	6.64	58	34.09	38	92.86	55	71.40
84	12.50	144	378.15	43	140.43	8.42	66	42.88	55	75.96	58	67.98
106	15.50	159	287.65	53	112.78	6.76	69	42.86	58	86.36	66	74.59
110	20.00	171	367.12	55	111.71	6.70	73	32.81	66	77.08	69	82.78
126	21.45	172	372.45	69	120.18	7.22	74	32.50	69	85.71	75	82.56
136	12.50	173	39.75	75	115.24	6.91	75	41.07	74	80.00	79	90.92
171	22.50	176	249.58	76	110.06	6.60	79	44.58	75	92.86	80	70.34
209	15.55	179	357.78	79	151.87	9.11	86	37.50	80	77.08	86	76.00
214	12.50	187	359.03	86	106.18	6.37	96	32.37	86	85.71	96	70.62
246	13.65	199	257.35	98	120.85	7.25	110	32.50	96	80.36	98	67.92
247	12.50	207	255.15	133	105.82	6.35	115	35.71	112	80.36	115	72.34
283	13.25	258	262.55	171	133.49	8.00	117	32.14	115	77.38	171	69.97
DMS	26.39		412.27		159.37			30.43		32.52		66.14

Fam: familia, P100: porcentaje de plantas con 100 % de cubrimiento de la mazorca por agallas de huitlacoche; RPInf y RPInoc: rendimiento (g) del hongo por planta infectada e inoculada; ISe: índice de severidad; PI: porcentaje de incidencia e ISPH: índice de selección por productividad del hongo; DMS: diferencia mínima significativa; familias con media cero (0 % de incidencia): 175, 180, 182, 183, 185, 190, 191, 193, 194, 195, 213, 216, 243, y 288.

CONCLUSIONES

La humedad relativa afectó notablemente el desarrollo del huitlacoche, ya que en maíz híbrido establecido en la misma fecha de siembra (abril 5, 1997), en la primer inoculación (junio 26-30) con 64 % de humedad relativa, hubo cero porcentaje de incidencia; mientras, que en la segunda inoculación (julio 15-18) con 72.2 % de humedad relativa, hubo aislamientos con un alto porcentaje de incidencia (83.33 y 87.5 %).

Con base en una muestra de 35 mazorcas, el aislamiento número 70, fue significativamente superior en las variables índice de severidad (50.6), rendimiento del hongo por planta infectada (279.7 g) e inoculada (215.2 g), lo que representa un rendimiento extrapolado de 12.91 $t \cdot ha^{-1}$ (60,000 $plantas \cdot ha^{-1}$). El valor más alto de incidencia del hongo fue para el aislamiento número 71 con 87.50 %.

La evaluación de los 100 aislamientos sobre un híbrido genéticamente uniforme, permitió seleccionar (12 %

de presión de selección) a los 12 más virulentos, mismos que con un promedio de 46 mazorcas inoculadas mostraron un 9.54 % de plantas con la mazorca totalmente cubierta por agallas de huitlacoche, índice de severidad de 36.82 y rendimiento de hongo por planta inoculada e infectada de 135.24 y 190 g, respectivamente; dando lugar a un rendimiento estimado de hongo de 8.11 $t \cdot ha^{-1}$.

De las 300 familias evaluadas, la familia número 79 presentó el mayor peso promedio del hongo por planta inoculada (151.87 g), estimándose un rendimiento de 9.11 $t \cdot ha^{-1}$, con base en una muestra de 19 plantas inoculadas. De igual manera, las familias número 75 y 38 obtuvieron el más alto porcentaje de incidencia del hongo (92.86 %).

Se seleccionaron con 5.3 % de presión de selección, 16 familias por susceptibilidad (7, 38, 43, 55, 58, 66, 69, 75, 76, 79, 80, 86, 96, 98, 115 y 117), de las cuales con base en un promedio de 16 mazorcas por familia se obtuvo lo equivalente a 154.97 g en rendimiento del hongo por planta infectada; 112.88 g por planta inoculada; 76.67 % de incidencia y 34.82 de índice de severidad, teniendo un rendimiento extrapolado de 6.7 $t \cdot ha^{-1}$.

Con una presión de selección de 4.67 %, se seleccionaron 14 familias de maíz (175, 180, 182, 183, 185, 190, 191, 193, 194, 195, 213, 216, 243 y 288) como altamente resistentes (0 % de incidencia) al ataque del huitlacoche.

La variabilidad genética encontrada en la virulencia en el hongo y resistencia y susceptibilidad en el maíz, hace posible un planteamiento exitoso de programas de mejoramiento divergente hacia cualquiera de los aspectos de interés agronómico en cada especie.

LITERATURA CITADA

AYALA, J.F.; KIGER, J.A. 1984. Genética Moderna. Fondo Educativo Interamericano. Barcelona, España. 836 p.

BARRET, K.J.; GOLD, S.E.; KRONSTAD, J.W. 1992. Identification and-complementation to constitutive filamentous growth in *Ustilago maydis*. Molecular Plant-Microbe Interactions 6(3): 274-283.

BOLAÑOS T., J.F. 1998. Guía fitosanitaria para el cultivo del maíz. Publicaciones Sanidad Vegetal. http: //www.iicasaninet.net /publsoft /fotorep /maiz /indice.htm.

BOLKER, M.; DAHL, M.; SCHLESINGER, R.; BERGEMANN, J.; GILLISEN, B.; SCHAUWECKER, F.; URBAN, M.; SCHROEER, B.; KAHMAN, R. 1992. Mating type genes of *Ustilago maydis*. Review of Plant Pathology 1993: 72-108.

CARROLL, J.E. 1998. Corn smut. Cornell University in Cooperation with the National Association of Biology Teachers. http: //carroll1. cc.edu /~jclausz /msamanual /smut.html.

CHRISTENSEN, J.J. 1963. Corn smut caused by *Ustilago maydis*. Monograph 2. American Phytopathological Society. 41 p.

DAVIS, R.M. 1997. Common Smut. University of California. Statewide Integrated Pest Management Project. http: //www. ipm. ucdavis. edu /PMG /r113100311.html.

DUNCAN, H.E.; LEONARD, K.J.; PAYNE, G. 1995. Major corn disease in north Carolina. http: //ipmwww.ncsu.edu /corn /diseases /corn_diseases.html.

GOTLIEB, A. 1999. Corn smut—Garden Disease control leaflet 3. http://ctr.uvm.edu /logos /extlogo1.gif.

KEALEY, S.K.; KOSIKOWSKI, V.F. 1981. Corn smut as a food source. Perspectives on biology, composition and nutrition. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 15: 321-351.

KRONSTAD, J. 1999. Fungal sexual develpment; host-parasite interactions; fungal morphogenesis; self versus nonself recognition. http: //www.agcom.purdue.edu /AgCom /Pubs /NCH /NCH-43.html.

LÓPEZ A., G.F. 1988. Factores que determinan el desarrollo de *Ustilago maydis* (D. C.) Cda; agente causal del huitlacoche del maíz. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Fitopatología. Montecillos, México. 84 p.

PAREDES L., O. 1994. Entrevista con el Dr. Octavio Paredes López, del Cinvestav-Irapuato. La Jornada, 11 de octubre de 1994. Sección Desarrollo, pág. 3.

PATAKY, J.K. 1991. Production of cuitlacoche [*Ustilago maydis* (D. C.) Corda] on sweet corn. HortScience 26:1374-1377.

PATAKY, J.K.; NANKAM, C.; KERNS, M.R. 1995. Evaluation of a silk-inoculation technique to differentiate reactions of sweet corn hybrids to common smut. Phytopathology 85(10): 1323-1328.

POPE, D.D.; McCARTER, S.M. 1992a. Smut incidence and severity after inoculating developing corn ears with *Ustilago maydis* using different methods. Phytopathology 82(4): 500.

POPE, D.D.; McCARTER, S.M. 1992b. Evaluation of inoculation methods for inducing common smut on corn ears. Phytopathology 82(9): 950-955.

SNETSELAAR, K.M.; MIMS, C.W. 1993. Infection of maize stigmas by *Ustilago maydis*: Light and electron microscopy. Phytopathology 83: 843-850.

THAKUR, R.P.; LEONARD, K.J.; PATAKY, J.K. 1989. Smut gall development in adult corn plants inoculated with *Ustilago maydis*. Plant Dis. 73: 921-925.

TEXAS PLANT DISEASE HADBOOK. 1996. Common smut symptoms on corn. http:// cygnus.tamu.edu /Texlab/ Grains /corn /cs.html.

VALVERDE, M.E.; FALLAH M., P.; ZAVALA G., M.S.; PATAKY, J.K.; PAREDES L., O.; PEDERSEN, W.L. 1993. Yield and quality of huitlacoche on sweet corn inoculated with *Ustilago maydis*. HortScience 28(8): 782-785.

VILLANUEVA V., C. 1995. Estudios de la reacción del maíz al carbón común o huitlacoche (*Ustilago maydis*). Tesis de Doctor en Ciencias. Programa de Genética. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 133 p.