

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Estudio de la Patogenicidad de Tres Cepas de Huitlacoche (*Ustilago maydis*) [(D.C.)
Corda] en Maíces Adaptados a las Condiciones del Norte del País.

Por:

JUAN ANTONIO VARGAS PORRAS

TESIS

Presentado como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Marzo, 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISION DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Estudio de la Patogenicidad de Tres Cepas de Huitlacoche (*Ustilago maydis*) [(D.C.)
Corda] en Maíces Adaptados a las Condiciones del Norte del País.

Por:


JUAN ANTONIO VARGAS PORRAS

TESIS

Presentado como requisito parcial para obtener el título de:


INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

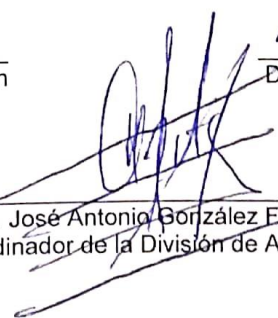
Aprobada por el Comité de Asesoría:

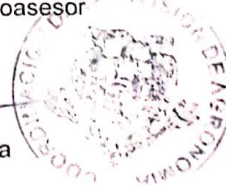

Dr. Alonso Méndez López
Asesor Principal Interno


Dra. Miriam Sánchez Vega
Asesor Principal Externo


Ing. Raúl Gándara Huitrón
Coasesor


Arturo Mancera
Dr. Arturo Mancera Rico
Coasesor


Dr. José Antonio Borzález Fuentes
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México
Marzo, 2022

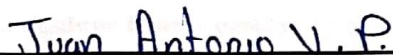
Declaración de no plagio

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, graficas, mapas o datos sin citar el autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante


Juan Antonio Vargas Porras

Asesor


Dr. Alonso Méndez López

DEDICATORIA

A Dios por darme las fuerzas para salir adelante, por guiarme por el camino del bien y por ayudarme a conseguir la sabiduría necesaria para superar los obstáculos a lo largo de mi vida.

A mis padres

Gregorio Vargas Murillo

y

Josefina Porras Gutiérrez

Por su apoyo incondicional. Por sus consejos, por formarme como una persona de bien al inculcarme buenos valores, por ser mi guía y un buen ejemplo de bien para superarme. Quiero que sepan que este logro es de ustedes y que ustedes son uno de mis motores a superarme en la vida. Muchas gracias, sin ustedes este logro no hubiera sido posible. Los quiero mucho.

A mis hermanos Ma. Guadalupe y Felipe Vargas Porras por estar al pendiente a lo largo de este proyecto brindándome consejos para lograr los objetivos y por ser un ejemplo de bien para mi vida.

A Leslie Guadalupe León Guzmán, mi esposa, Emily Renata y Antonio Vargas León, mis hijos. Por ser mi inspiración, por impulsarme a salir adelante y por ser la fuerza para que esto sea una realidad, por motivarme a cumplir mis metas, por su paciencia y por su apoyo incondicional. Quiero decirles que este logro es para ustedes. Los amo mucho.

A mis abuelitos por siempre estar al pendiente preguntando cómo me va y porque sé que con sus oraciones constantes me abren camino para que todo lo que realice esté bien. Los adoro. Abuelitos Juan, Sara, Ramón y Ma. Isabel un abrazo hasta el cielo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por delante, por iluminar mi camino y permitirme llegar hasta este escalón de mi vida, por ejercer esa fuerza de voluntad sobre mí y por darme fortaleza para salir adelante ante las adversidades y obstáculos a lo largo de este camino.

A mis padres por su gran apoyo incondicional, porque a pesar de las adversidades me han apoyado y me han permitido sacar adelante mis proyectos. Gracias a sus consejos, sus buenos deseos, sus desvelos y su trabajo duro este logro pudo ser posible.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, mi querida **Alma Mater** por brindarme todo su apoyo y abrirme sus puertas, donde he adquirido educación y alimentación. Gracias por darme la oportunidad de forjarme como profesionista para enfrentar y solucionar problemas que se presenten durante mi vida laboral.

A mi esposa por apoyarme a lograr mis objetivos, por ayudarme a comprender el significado del amor y reforzar mis sueños para cumplir mis metas.

A la Dra. Miriam Sánchez Vega por su valioso apoyo, por el tiempo y esfuerzo que dedicó en la realización de esta investigación siempre con la mejor disposición. También por sus buenos consejos y su amistad. Muchas gracias.

Al Dr. Alonso Méndez López por darme la oportunidad de desarrollar y llevar a cabo este trabajo y por mostrar esa accesibilidad para lograr la presentación de este trabajo. Gracias.

A tía María y mis tíos Juan, Andrés, Moisés, Anastasio Porrás por brindarme sus consejos y ayudarme a formar como persona con grandes sueños y por su apoyo incondicional como familia.

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTOS	V
ÍNDICE DE CONTENIDO	VI
ÍNDICE DE CUADROS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
RESUMEN	X
I. INTRODUCCION	1
1.1. Objetivo General	2
1.1.1. Objetivos específicos	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. El Origen del Maíz	3
2.2. Importancia del Maíz	3
2.3. Características del Maíz	4
2.4. Descripción Morfológica	4
2.4.1. Raíz	4
2.4.2. Tallo	4
2.4.3. Hojas	4
2.4.4. Inflorescencia	4
2.4.5. Grano	5
2.5. Ciclo del Cultivo	5
2.6. Fenología del Maíz	5
2.7. Requerimientos Ambientales	7
2.8. Plagas en el Cultivo de Maíz	7
2.8.1. Gusano cogollero <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)	7
2.8.2. Gusano trozador <i>Agrotis ipsilon</i> (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae)	8
2.8.3. Gusano elotero <i>Helicoverpa zea</i> Boddie (Lepidoptera: Noctuidae)	8
2.8.4. Trips. <i>Frankliniella occidentalis</i> Pergande (Thysanoptera: Thripidae)	8
2.9. Principales Enfermedades del Maíz	8
2.10. Los Hongos como Patógenos en las Plantas	9
2.11. <i>Ustilago maydis</i> (D.C.) Corda	9
2.11.1. Ciclo de vida de <i>U. maydis</i>	10
2.11.2. Sintomatología en maíz por <i>U. maydis</i>	13

2.11.3.	Condiciones para el desarrollo de hongo.....	14
2.12.	Interacciones entre el Maíz y <i>U. maydis</i>	14
2.13.	Respuesta de Defensa de las Plantas a Patógenos.....	15
2.14.	Pruebas de Patogenicidad y/o Susceptibilidad para <i>U. maydis</i>	16
III.	MATERIALES Y METODOS.....	18
3.1.	Origen de las Cepas de <i>U. maydis</i>	18
3.2.	Aislamiento de las Cepas.....	18
3.3.	Selección de Genotipos de Maíz.....	19
3.3.1.	Características de los maíces.....	19
3.4.	Establecimiento del experimento.....	22
3.5.	Inoculación.....	23
3.6.	Variables evaluadas.....	23
3.6.1.	Incidencia y Severidad:.....	23
3.6.2.	Hojas verdes (HV) y Hojas secas (HS):.....	24
3.6.3.	Presencia de agalla en la hoja (PAH) y Presencias de agalla en la base (PAB):	24
3.6.4.	Diámetro del tallo (DT):.....	24
3.6.5.	Peso fresco raíz (PFR) y Peso fresco aéreo (PFA):.....	25
3.6.6.	Peso seco raíz (PSR), Peso seco aéreo (PSA) y Biomasa total (BT):.....	25
3.6.7.	Contenido de humedad raíz (CHR) y Contenido de humedad aéreo (CHA)	26
3.7.	Análisis estadístico de datos.....	26
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
4.1.	Análisis de varianza.....	27
4.1.1.	Factor cepa de <i>U. maydis</i>	27
4.1.2.	Factor genotipos de maíz.....	28
4.1.3.	Interacción cepa x genotipo.....	28
4.2.	Comparación de medias.....	29
4.2.1.	Medias entre cepas de <i>U. maydis</i>	29
4.2.2.	Medias entre genotipos de maíz.....	30
4.2.3.	Medias entre las interacciones cepa x genotipo.....	32
	CONCLUSIONES.....	37
	LITERATURA CITADA.....	38

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Etapas vegetativas y reproductivas de maíz.....	6
Cuadro 2. Descripción de factores para el establecimiento del experimento completamente al azar con arreglo factorial.	23
Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza, para ocho variables que expresaron significancia en al menos una fuente de variación. Prueba de susceptibilidad de tres cepas de <i>U. maydis</i> en 10 genotipos de maíz y sus interacciones. UAAAN, 2017.	27
Cuadro 4. Prueba de comparación de medias por el método de Duncan ($\alpha \leq 0.10$) para el efecto de las cepas de <i>U. maydis</i>	30
Cuadro 5. Prueba de comparación de medias por el método de Duncan ($\alpha \leq 0.10$) para el efecto genotipos de maíz, en la determinación de la susceptibilidad a cepas de <i>U. maydis</i> ..	35
Cuadro 6. Prueba de comparación de medias por el método de Duncan ($\alpha \leq 0.10$) para el efecto de interacción cepa x genotipo de maíz, en la determinación de la susceptibilidad a <i>U. maydis</i>	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación del ciclo de vida de *Ustilago maydis*. 11

Figura 2. Síntomas de una infección de mazorca por *U. maydis* en un campo de maíz. 13

RESUMEN

Dada la importancia de promover cultivos alternativos, como es el caso del huitlacoche, principalmente en regiones con escasa humedad, da la pauta a evaluar la susceptibilidad de maíces adaptados a zonas con sequía como opción para la producción comercial de este hongo. El objetivo de este trabajo fue determinar la patogenicidad y el nivel de daño causado por tres cepas de *Ustilago maydis* [(D.C.) Corda] inoculadas de forma artificial en plántulas de diez materiales genéticos de maíz adaptados al norte del país. El experimento se estableció en los invernaderos del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila, México; durante el en el ciclo agrícola otoño-invierno del 2017. Se evaluaron diez genotipos de maíz bajo un diseño experimental completamente al azar. El análisis se realizó con un arreglo factorial considerando como factores las tres cepas del hongo, 10 genotipos de maíz, más un testigo, así como la interacción cepa x genotipo. Se evaluaron 14 variables entre las que destacan la incidencia y severidad relacionadas a la patogenicidad del hongo y el resto variables morfológicas de la expresión del hongo en las plántulas. Se realizó el análisis de varianza y una comparación de medias por Duncan ($p= 0.10$). Ambos factores presentaron respuestas diferenciales y las variables evaluadas estuvieron influenciadas por el efecto del ambiente. Los genotipos más susceptibles fueron AN 447 y criollo. Considerando que el genotipo (AN 447) y la cepa 1 (maíz blanco), podrían tener perspectivas para el uso comercial, para ambientes con sequía o poca disponibilidad de agua, así como con extremas condiciones de frío.

Palabras clave: *Zea mays*, *Ustilago maydis*, producción de huitlacoche, susceptibilidad, plántulas de maíz.

I. INTRODUCCION

El huitlacoche *Ustilago maydis* (D.C.) Corda, conocido también como carbón común del maíz, es considerado en México un hongo comestible que se desarrolla como una enfermedad en este cultivo (Villanueva *et al.*, 2007).

El carbón común del maíz o huitlacoche *U. maydis*. Es una de las enfermedades que más atacan al cultivo de maíz (*Zea mays*). El ataque de este patógeno ocasiona pérdidas en algunos lugares y cultivares de hasta el 25% y con incidencia incluso del 100% en variedades de maíz dulce (Agrios 2005).

Sin embargo, la gran mayoría de las variedades de maíz presentan algún grado de resistencia al ataque del *U. maydis*; pero las variedades de maíz dulce se han considerado como los materiales más susceptibles a esta enfermedad.

Existen diversos factores climáticos como la temperatura y la humedad relativa, así como factores genéticos que implica a los genotipos de maíz que se utilizan para la producción de este hongo, así como factores propios del patógeno que favorecen el desarrollo en el cultivo (Pataky *et al.*, 1995).

Para la inoculación o infección del hongo *U. maydis* en forma artificial existen muchos métodos utilizados tales como, inyección hipodérmica, aspersión sobre la planta, espolvoreo de esporas, infección de la semilla; sin embargo, la técnica más utilizada y la que ha dado mejores resultados en la expresión de la patogenicidad del hongo es la inyección hipodérmica la cual incrementa la incidencia del carbón principalmente en tallos y hojas (Villanueva *et al.*, 2007).

La mayoría de los cultivares de maíz de grano pequeño presentan resistencia a enfermedades fungosas, pero son pocos genes los que están involucrados en la resistencia al ataque a *U. maydis*. La evaluación de la virulencia de genotipos de maíz permite conocer el nivel de susceptibilidad genética y con ello hacer selección de

materiales para la producción comercial, mediante inoculación artificial (Pan *et al.*, 2008). Con el contexto anterior en esta investigación se plantea hacer un estudio de la susceptibilidad de genotipos de maíz que esta adaptados y son producidos en la región norte del país a la patogenicidad de tres cepas de huitlacoche *U. maydis*, provenientes dos regiones del país: dos del centro del país (Montecillo, Texcoco, Edo. de México) y una colectada en el norte (Buena Vista, Saltillo, Coahuila).

1.1. Objetivo General

Determinar la patogenicidad y el nivel de daño causado por tres cepas de *U. maydis* inoculadas de forma artificial en plántulas de diez materiales genéticos de maíz adaptados al norte del país.

1.1.1. Objetivos específicos

- Evaluar la patogenicidad causada a nivel de plántula de tres cepas de *U. maydis*, mediante incidencia y severidad.
- Identificar cual cepa es más agresiva y pudiera ser factible para emplearse en la inoculación artificial de planta adulta para la producción comercial de huitlacoche.
- Identificar el material genético más susceptible a nivel plántula, que pueda ser apto para la producción comercial de huitlacoche en la región norte de México.

1.2. Hipótesis

La producción artificial del huitlacoche depende de la interacción de tres factores, el ambiente, el genotipo y la patogenicidad del hongo *U. maydis*, para determinar, cual es la más eficiente se requiere de estudios que faciliten la identificación de dichas interacciones en el que se pruebe que al menos una cepa de *U. maydis* es patogénica a nivel de plántula y que al menos un genotipo de maíz es susceptible.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. El Origen del Maíz.

El maíz es considerado originario de México, por la amplia diversidad de razas que se encuentran distribuidas en todo el largo del país, se estima alrededor de 59 a 64 razas, solo presentes en el país (Sánchez *et al.*, 2000).

Es difícil delimitar tal o cual zona como centro de origen y diversificación y decir que otras no lo son; el árbol filogenético del complejo mexicano de maíces de mazorcas estrechas, elaborado con base en los nudos cromosómicos, muestra que la diversificación abarca prácticamente todos los estados mexicanos y que la domesticación, diversificación y mantenimiento del germoplasma se da a partir de la práctica indígena y campesina de la agricultura y es un proceso que sigue vigente hasta hoy (Boege, 2009).

2.2. Importancia del Maíz

El maíz es el cultivo más importante de México, desde el punto de vista alimenticio, industrial, político y social (Saint & López, 1997). En 2014, la superficie cosechada en el país fue de 1 144 590 ha, con un rendimiento de grano promedio de 6.477 t·ha⁻¹. Los principales usos del maíz en México radican en la alimentación humana (se deriva una gran cantidad de alimentos de este grano), alimentación ganadera, se utiliza en la elaboración de biocombustibles entre otras. Desde el punto de vista económico presenta gran beneficio para los agricultores de México que cultivan este grano (SIAP-2014).

2.3. Características del Maíz

El maíz (*Zea mays* L.), es una especie que pertenece a la Familia de las Poaceae, y es cosmopolita, con adaptación a diferentes ambientes, hay quienes lo clasifican según sus usos, o por algunas características de su grano (Cabrera *et al.*, 2000).

2.4. Descripción Morfológica

2.4.1. Raíz

Sus raíces son fasciculadas y su misión es aportar un perfecto anclaje a la planta. En algunos casos sobresalen unos nudos de las raíces a nivel del suelo y suele ocurrir en aquellas raíces secundarias o adventicias (Cabrera *et al.*, 2000).

2.4.2. Tallo

Su tallo es simple, erecto en forma de caña y macizo en su interior, tiene una longitud elevada pudiendo alcanzar los cuatro metros de altura, además es robusto y no presenta ramificaciones (Cabrera *et al.*, 2000).

2.4.3. Hojas

Sus hojas son largas, lanceoladas, alternas y de gran tamaño. Se encuentran abrazando al tallo y con presencia de vellosidad en el haz, además los extremos de las hojas son muy afilados y cortantes (Cabrera *et al.*, 2000).

2.4.4. Inflorescencia

El maíz es una planta monoica pues presenta inflorescencia masculina y femenina separada dentro de la misma planta. La inflorescencia masculina es una panícula (vulgarmente denominado espigas, espigón o penacho) de coloración amarilla que

posee aproximadamente entre 20 a 25 millones de granos de polen, además cada flor que compone la panícula contiene tres estambres donde se desarrolla el polen. En cambio, la inflorescencia femenina antes de ser fecundada, se le conoce como jilote y cuando ha sido fecundada por los granos de polen se denomina mazorca, aquí se encuentran las semillas (granos de maíz) agrupadas a lo largo de un eje, esta mazorca se halla cubierta por hojas de color verde, terminando en una especie de penacho de color amarillo oscuro, formado por estilos (Cabrera *et al.*, 2000).

2.4.5. Grano

La cubierta de la semilla (cariópside) se llama pericarpio, es dura, por debajo se encuentra la capa de aleurona que le da color al grano (blanco, amarillo, morado), contiene proteínas y en su interior se encuentra el endospermo con el 85-90% del peso del grano. El embrión está formado por la radícula y la plúmula (Cabrera *et al.*, 2000).

2.5. Ciclo del Cultivo

Las variedades de maíz se comportan de forma diferente, por lo que la duración de su ciclo varia para cada zona geográfica. La mayoría de los productores siembran desde septiembre hasta mediados de enero, coincidiendo la siembra con el inicio del periodo de lluvias, obteniendo de esta forma un mayor grado de germinación y producción (INIAP, 2011).

2.6. Fenología del Maíz

El maíz presenta seis etapas vegetativas y seis etapas reproductivas, las cuales se describen en el Cuadro 1 (INTA, 2012).

Cuadro 1. Etapas vegetativas y reproductivas de maíz.

ETAPAS VEGETATIVAS	ETAPAS REPRODUCTIVAS
VE emergencia	R1 Floración masculina
V1 primera hoja	R2 Floración femenina
V2 segunda hoja	R3 Grano acuoso
V3 tercera hoja	R4 Grano lechoso
V(n) enésima hoja	R5 Grano masoso
V12 hoja verdadera	R6 Madures Fisiológica

Las etapas fenológicas que presentan mayor importancia por los cambios significativos que suceden en la planta se describen a continuación (INTA, 2012):

VE: el punto de crecimiento está bajo tierra, las bajas temperaturas pueden aumentar el tiempo entre la aparición de las hojas y el daño por helada en este estado tiene muy poco efecto en el crecimiento y en el rendimiento final.

V6: en esta etapa se recomienda completar la fertilización, puesto el sistema de raíces nodales está bien distribuido en el suelo. También es posible observar síntomas de deficiencias de macro o micro nutrientes.

V9: en esta etapa varias mazorcas rudimentarias ya se encuentran formadas, la panoja se desarrolla rápidamente en el interior de la planta. Además, comienza una rápida acumulación de biomasa, absorción de nutrientes y agua que continuará hasta casi el término del estado reproductivo.

V12: aquí se determina el tamaño potencial de mazorca y número potencial de óvulos por mazorca. Dado que se está formando el tamaño de la mazorca y número de óvulos, el riego y la nutrición son críticos.

V15: es la etapa más crucial para la determinación del rendimiento. Las hojas aparecen cada uno o dos días y las sedas están comenzando a crecer en las mazorcas superiores.

R1: el número de óvulos fertilizados se determina en este estado. Los óvulos no fertilizados no producen grano y mueren. El estrés ambiental en este momento afecta la polinización y cuaje, especialmente el estrés hídrico que deseca las sedas y los granos de polen. Además, a partir del inicio de este estado hasta R5 se produce un rápido llenado del grano por lo que se presenta también ataque de gusano por lo que es necesario realizar controles.

R5: los granos empiezan a secarse desde la parte superior donde se forma una capa blanca de almidón. El estrés y las heladas pueden reducir el peso de los granos. Llegando a R6 donde el grano alcanza su peso máximo y es cosechado.

2.7. Requerimientos Ambientales

Se adapta a una gran variedad de ambientes agroecológicos, pero es un cultivo de clima cálido, se cultiva en regiones tropicales y subtropicales. El maíz requiere una temperatura diaria de al menos 20°C para el crecimiento y desarrollo adecuado, las temperaturas diurnas cálidas de 25 a 30°C y noches frescas para el desarrollo óptimo. Las temperaturas a los 35°C reducen los rendimientos, temperaturas por debajo de 8°C y superiores a 40°C son extremadamente perjudiciales (Cabrera *et al.*, 2000).

2.8. Plagas en el Cultivo de Maíz

2.8.1. Gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)

Esta larva perfora el tallo de las plantas a la altura del cuello de la raíz, con lo que provoca el marchitamiento de la planta; también actúa como barrenador del tallo de la planta y daña los estigmas, las espigas, y el elote. Infestaciones y daño severo de la plaga pueden reducir el rendimiento en porcentajes superiores al 30% (Cortez-Mondaca *et al.*, 2008).

2.8.2. Gusano trozador *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae)

Las larvas muerden los tallos y destruyen las plantas en secciones de surco, consumen las raíces, cortan el cuello de la planta y consumen hojas tiernas, Las larvas en ocasiones se alimentan de las raíces. Debido a la naturaleza de su alimentación en las plantas jóvenes, esta plaga puede hacer daño en los campos recién sembrados (Cortez-Mondaca *et al.*, 2008).

2.8.3. Gusano elotero *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae)

El insecto daña los granos principalmente del ápice del elote y propicia la presencia de otros insectos plaga como nitidúlidos y la mosca de los estigmas *Euxesta* sp. Puede llegar a causar pérdidas del 10 al 30% (Cortez-Mondaca *et al.*, 2008).

2.8.4. Trips. *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae)

Los trips raspan y succionan la savia de la hoja, retrasan el crecimiento durante las primeras etapas, producen enrollamiento del cogollo, que puede provocar la muerte de la planta, daño en la lámina foliar que disminuye el área fotosintética, puede transmitir algunas enfermedades y puede causar pérdidas en el rendimiento (Cortez-Mondaca *et al.*, 2008).

2.9. Principales Enfermedades del Maíz

El maíz tiene varios problemas fitosanitarios, destacando entre los más importantes el carbón de la espiga (*Sporisorium reilianum* f. sp. *zeae*), que afecta la espiga y la mazorca; el carbón común (*Ustilago maydis*) que afecta principalmente a la mazorca; la roya común (*Puccinia sorghi* Schwein), y el complejo mancha de asfalto (CMA) (*Phyllachora maydis* Maubl.) que atacan al follaje (CIMMYT, 2005).

2.10. Los Hongos como Patógenos en las Plantas

Los patógenos de las plantas interfieren con un amplio espectro de procesos celulares del huésped. Dependiendo de la infección estrategia, los patógenos tienen como objetivo causar la muerte celular rápida en el tejido colonizado o para suprimir las respuestas inmunes y mantener la viabilidad de las células huésped. Existen patógenos que se alimentan de tejidos del huésped muerto, es decir, se ha demostrado que los necrotrofos promueven la muerte de la célula huésped por toxinas, entre las que destacan la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), líticos y enzimas (Govrin & Levine, 2000; van Kan, 2006; Friesen *et al.*, 2008).

En contraste, los patógenos biotróficos, que dependen del hospedador han evolucionado una varias de estrategias para generar respuestas inmunes y manipular los procesos metabólicos a su beneficio (Glazebrook, 2005). Lo fundamental para la comunicación entre patógeno y planta son las proteínas que son secretadas por el microbio para permanecer en el espacio apoplástico o en el citoplasma del huésped (Wit, 2009).

Los hongos basidiomycetos son patógenos de plantas que desarrollan interacciones biotróficas altamente especializadas. La mayoría de los hongos basidiomicetos infectan las plántulas, a menudo inmediatamente después de la germinación (Kämper *et al.*, 2006; Brefort *et al.*, 2009).

2.11. *Ustilago maydis* (D.C.) Corda

El hongo *U. maydis* es el agente etiológico de la enfermedad llamada carbón común del maíz o huitlacoche, caracterizado principalmente por la formación de agallas comestibles en la mazorca, el cual, es conocido y consumido en México desde la época prehispánica (Kämper *et al.*, 2006).

Este hongo tiene una amplia capacidad para colonizar los órganos del huésped, infecta todas las partes aéreas de la planta e induce localmente la formación de tumores o agallas (Kämper *et al.*, 2006).

En 1836, Unger identificó al patógeno como la infección por un hongo, al que denominó *Ustilago zaeae*; en 1882-1895, Brefeld logró infectar experimentalmente al maíz con esporas del hongo y hasta 1927, se conoció su ciclo biológico, al descubrirse su estado sexual. Su nombre fue oficialmente cambiado a *U. maydis* (De Candolle, Corda) por Stevenson y Johnson en los Estados Unidos (Christensen, 1963).

Este hongo afecta los tallos, las hojas, las mazorcas y las espigas de sus hospederos. Provoca agallas blancas en el tejido, en el caso de la infestación en mazorca, reemplazan a los óvulos individuales o granos de la mazorca, por el crecimiento de las agallas o tumores, con el tiempo las agallas se rompen y liberan masas de esporas que infectarán a otras plantas de maíz en la temporada siguiente. Esta enfermedad en un estado activo puede provocar en plantas jóvenes enanismo, amarillamiento, presencia de antocianinas, así como de las agallas, si el daño es muy severo incluso puede matarlas (CIMMYT, 2005).

Las agallas producidas en la mazorca del maíz inmaduro representan una fuente interesante de alimento el cual ha sido consumido desde el tiempo de los aztecas (Kealey & Kosikowski, 1981). En México y otros países latinoamericanos el huitlacoche es un manjar comestible muy apreciado desde tiempos precolombinos (Arnold, 1992; Kealey & Kosikowski, 1981). El huitlacoche es una buena fuente de proteínas (10-25%), su contenido de aminoácidos supera los patrones establecidos por la FAO para el consumo de aminoácidos en adultos (Paredes-López, 2000).

2.11.1. Ciclo de vida de *U. maydis*

El hongo agente causal de la enfermedad carbón común en maíz o comúnmente conocido como huitlacoche *Ustilago maydis*, no es un parásito obligado, pero requiere

de uno de sus dos huéspedes naturales para realizar su fase sexual y que este concluya su ciclo de vida. Solamente las estructuras dicariones (dos núcleos) y los diploides son infecciosos, lo que muestra la interrelación entre los aspectos de sexualidad, morfogénesis y patogénesis, y revela la complejidad de su ciclo, en tres procesos. Durante el ciclo de vida de *U. maydis* se distinguen dos fases, una de ellas es saprofítica, durante la cual el hongo crece en forma de levaduras haploides alargadas que se reproducen por gemación (también llamadas esporidias). La gema aparece en la zona de máxima curvatura formando un ángulo de 30-45 grados con respecto a la célula madre (Figura 1). La gemación bipolar es común en contraste con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, por lo que de esta forma se puede diferenciar, entre los dos microorganismos. *U. maydis* no es un colonizador eficiente de nichos naturales, ya que el rango de las fuentes de carbono que puede utilizar es muy restringido (Ruiz-Herrera *et al.*, 2000).

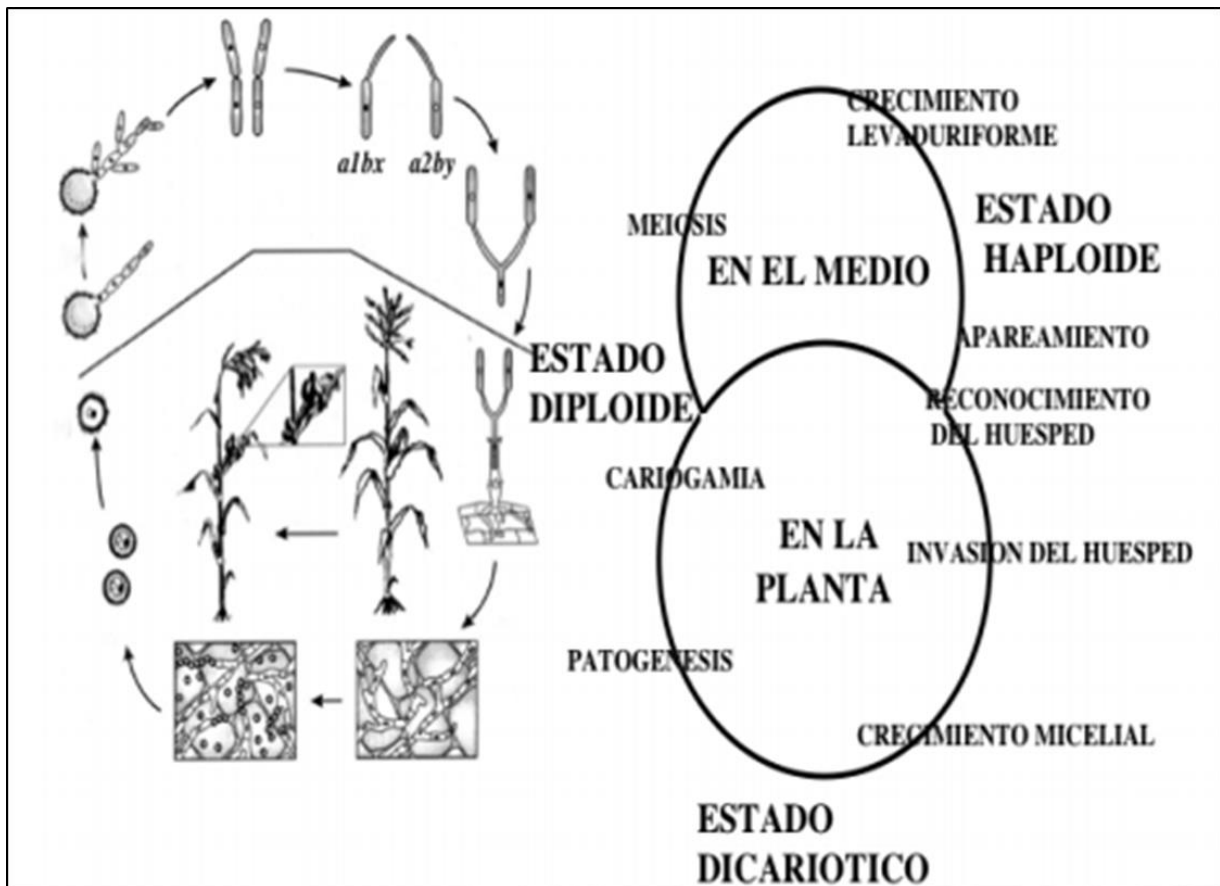


Figura 1. Representación del ciclo de vida de *Ustilago maydis*. En la parte izquierda se puede apreciar la germinación de teliosporas con la formación de un promicelio y las cuatro

basidiosporas. Estas se desprenden y se multiplican en forma de levadura. También se muestra la conjugación de dos esporidias sexualmente compatibles para formar el dicarion que invade la planta, dando lugar a los tumores donde se forman las teliosporas. Estas germinan fuera de la planta para continuar con su ciclo. Al lado derecho están tres estadios del hongo haploide, dicariótico y diploide, el sitio donde plorifera y los eventos durante su ciclo de vida. Fuente: Ruiz-Herrera *et al.*, 2000.

La segunda fase es la micelial y patogénica, durante la cual el hongo crece en forma de hifas dicarióticas que solo se desarrollan en el interior del huésped. Esta fase se inicia con el apareamiento de dos células que comparten *loci* de apareamiento (sexuales) a y b compatibles. La cercanía de células compatibles y su fusión provoca la formación de micelio dicariótico infeccioso, el cual continúa su crecimiento y es capaz de invadir a un huésped susceptible a través de aberturas naturales, por los estomas, por los órganos florales, o activamente formando un apresorio. Se ha sugerido que los estigmas son la más importante ruta de infección, ya que los tumores presentes en las mazorcas son los más prominentes. Es importante señalar que también los diploides son infecciosos, pero no las cepas haploides. En el interior de la planta el hongo crece de manera intracelular o extracelular sin causar gran daño al huésped originalmente en forma de micelio delgado. La mayor parte del crecimiento ocurre en los tejidos meristemáticos de la planta con la formación final de las agallas o tumores en los cuales ocurre la esporulación del hongo. Las hifas adquieren formas irregulares y se fragmentan, cubriéndose finalmente con una pared gruesa equinulada y pigmentada (Figura 1) (Banuett & Herskowitz, 1996).

Durante una fase de este proceso ocurre la citocinesis con la formación del estado diploide del hongo. Las esporas maduras (teliosporas) son liberadas cuando las agallas se secan y se abren. Las teliosporas constituyen el estado diploide del hongo y hasta el momento no se ha logrado su formación fuera de las plantas de maíz. Las teliosporas germinan rápidamente en un medio nutritivo e incluso en agua, aunque se ha descrito que la presencia de disacáridos favorece el proceso. La germinación de la teliospora se inicia con la formación de un tubo germinativo denominado promicelio. El núcleo de la espora migra hacia el promicelio y en este punto ocurre la meiosis. A partir del promicelio se forman cuatro basidiosporas en forma acropétala las cuales germinan para reiniciar el ciclo de vida (Figura 1) (Ruiz-Herrera *et al.*, 2000).

2.11.2. Sintomatología en maíz por *U. maydis*

Los síntomas de la enfermedad son principalmente la formación de tumores, aunque también ocurren clorosis, distorsiones y enanismo de la planta y acumulación de antocianinas. La inducción de tumores probablemente involucra fitohormonas y citocininas como ocurre en algunas infecciones de plantas producidas por bacterias fitopatógenas; sin embargo, su naturaleza no ha sido aún determinada (Oerke, 2006; Brefort, 2009).

Las hifas fúngicas crecen tanto intra como intercelular y colonizan el huésped sistémicamente hacia el centro del meristemo apical sin inducir síntomas visibles de la enfermedad. Al moverse por el meristemo apical aparecen síntomas de la enfermedad dentro de la inflorescencia. Dentro de los órganos florales, en el tallo, en la raíz y a nivel plántula los síntomas principales son coloraciones y la formación de tumores (Figura 2) (Kämper *et al.*, 2006).



Figura 2. Síntomas de una infección de mazorca por *U. maydis* en un campo de maíz.

Los tumores se forman entre las esporas y las células de la planta, dentro de estos tumores se encuentran esporas de hongos. Al desarrollar y madurar en un lapso de tiempo de aproximadamente dos semanas (Doehlemann *et al.*, 2008).

2.11.3. Condiciones para el desarrollo de hongo

La aparición del hongo en el maíz depende de las condiciones ambientales, donde se establezca el cultivo, influye para su desarrollo la temperatura, la humedad relativa y el material genético, 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 (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); mientras que para Villanueva *et al.* (1999) y Martínez *et al.* (2005) el hongo se desarrolla bien en ambientes húmedos (humedad relativa de 72 a 80%) y templados (17 a 20°C). Además, altas cantidades de nitrógeno y suelos ricos en materia orgánica, parecen predisponer a las plantas al hongo (Texas Plant Disease Handbook, 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).

2.12. Interacciones entre el Maíz y *U. maydis*

A medida que evolucionan las interacciones planta-patógeno, las plantas se seleccionan para una interacción incompatible (resistente) y los parásitos se seleccionan para una interacción compatible (susceptible). El principio subyacente para esta antagonización, se le conoce como coevolución y se basa en la interacción o modelo gen por gen (Faris *et al.*, 2010).

U. maydis es un miembro de los hongos “smut”, conocidos también como tizones o carbones, un gran grupo de parásitos biotróficos que infectan en su mayoría pastos, incluyendo plantas de cultivo importantes tales como el maíz. Los patógenos

biotróficos no matan a sus hospedadores, sino que establecen una relación íntima para mantener a sus anfitriones vivos y habilitar la reprogramación metabólica para apoyar el proceso de infección. La mayoría de los hongos “smut”, se propagan sistémicamente después de la infección, pero induce la enfermedad (Agrios, 2005).

U. maydis puede causar síntomas en todas las partes verdes de plantas de maíz infectadas. La infección con *U. maydis* permanece y se caracteriza por la inducción de la biosíntesis de antocianinas y la formación de grandes tumores en los que se desarrollan esporas fúngicas, pero no matará a su hospedero, se establecerá en él para asegurar su desarrollo y sobrevivencia, por tanto, la planta queda viva, y aun con la capacidad de producir semilla (Agrios, 2005).

2.13. Respuesta de Defensa de las Plantas a Patógenos

El sistema inmune de la planta produce defensas del huésped. Estas respuestas de defensa iniciales son activadas por patrones moleculares variantes expuestos por el microbio, denominadas moléculas moleculares asociadas a patógenos (PAMP) y patrones moleculares asociados a microbios (MAMPs). En los hongos, la pared celular funciona como PAMP: Después del contacto con los hongos, se liberan los oligómeros de quitina desde la pared celular del hongo a través de las quitinasas vegetales. Los PAMP se reconocen a través de receptores de reconocimiento de patrones localizados por membrana, que desencadenan una línea de reacciones de defensa llamada inmunidad activada por PAMP (Jones *et al.*, 2006).

La resistencia a enfermedades es una respuesta de las plantas sobre microorganismos que causan una patología. En gramíneas, existen pocos estudios sobre inducción de resistencia. El tratamiento de plantas con varios agentes, incluyendo fitopatógenos virulentos o no patógenos, extractos de plantas y químicos sintéticos, pueden inducir resistencia al ataque de patógenos (Walters & Fountaine, 2009).

La inducción de resistencia es el incremento de la expresión de mecanismos de defensa natural de las plantas que las incita a protegerse de enfermedades e insectos que incluyen tanto respuestas locales como sistémicas que van desde las barreras físicas hasta las reacciones bioquímicas que alertan las células entre sí, para producir sustancias tóxicas que eliminan o inhiben la colonización (Riveros, 2001). Esta resistencia se incrementa cuando se estimula apropiadamente por factores exógenos (Choudhary *et al.*, 2007) sin alteración del genoma de la planta (Kilian *et al.*, 2000).

La respuesta de defensa de la planta puede desencadenarse, tanto por la pre-inoculación con agentes patógenos, no patógenos, simbiosis y saprófitos, o bien por la aplicación de determinados inductores abióticos, como el ácido salicílico o los metabolitos microbianos que estimulan a la planta para producir sustancias naturales de defensa contra éstos (Quintero *et al.*, 2012). Cuando éstos son reconocidos por moléculas endógenas, tienen la función de activar o aumentar la respuesta de las plantas, tanto a nivel local o en puntos distantes al sitio de infección, así como de participar de otras actividades fisiológicas y se puede promover resistencia (Schreiber *et al.*, 2008).

El interés en las moléculas estimuladoras de los mecanismos naturales de defensa de la planta, surgió a partir de su intervención en el control de patógenos y plagas, ya que presentan el potencial de disminuir y/o evitar el riesgo de emergencia de poblaciones de patógenos o plagas resistentes a productos químicos, contrarrestar parcialmente los daños químicos ocasionados por los plaguicidas y causar un incremento del rendimiento de las cosechas (Guimarães *et al.*, 2008).

2.14. Pruebas de Patogenicidad y/o Susceptibilidad para *U. maydis*

La gran mayoría de las variedades de maíz presentan algún grado de resistencia al ataque del hongo, siendo las variedades de maíz dulce las más susceptibles a esta enfermedad (Pataky, 1991).

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 *U. maydis* aún no han sido encontrados en maíz (Pope & McCarter, 1992).

Existe variabilidad genética en la virulencia del hongo, así como resistencia y susceptibilidad en el maíz, ya que existen materias susceptibles al hongo, así como materiales tolerantes al ataque específico de *Ustilago* en cuanto al interés agronómico en cada especie (Martínez *et al.*, 2000).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Origen de las Cepas de *U. maydis*

Se seleccionaron tres cepas patogénicas, dos provenientes del centro del país, específicamente del campo experimental del Colegio de Posgraduados Campus Montecillo, recolectadas una de un maíz azul criollo (Cepa azul) y otra de un maíz blanco (Cepa blanca); la tercera cepa fue obtenida de una parcela experimental de maíz establecida en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). Las cepas colectadas se trasladaron a laboratorio, para su procesamiento.

3.2. Aislamiento de las Cepas

Las cepas en campo se seleccionaron de mazorcas infestadas totalmente por el hongo, se seleccionaron agallas completas, que no estuvieran abiertas, podridas o dañadas por insectos. Se realizó la esterilización de estas en una solución de cloro al 2.0% por seis minutos y enjuagaron con agua destilada estéril, se dejaron orear por un par de minutos, para secar el excedente de agua y con un bisturí se levantó el epitelio, con la ayuda de una aza bacteriológica se tomó una muestra de las teliosporas y se hizo un barrido sobre medio de cultivo PDA (papa-dextrosa-agar), para el aislamiento, en una caja Petri de 90 x 15 mm (el medio de cultivo proporciona los nutrientes adecuados para el desarrollo y crecimiento del hongo).

Las cepas fueron purificadas, para evitar el crecimiento de bacterias, por lo que en el momento del vaciado del medio a las cajas Petri, se aplicó $1.0 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ de antibiótico, gentamicina inyectable de uso veterinario (Gentomicyn Súper® gentamicina $100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$). Se hicieron reaislamientos de *U. maydis* en los casos donde hubo presencia o crecimiento de hongos contaminantes y/o levaduras. Esto se llevó a cabo en las instalaciones del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

3.2.1. Preparación del inóculo

Se seleccionaron las cajas Petri que presentaron crecimiento micelial en el medio de cultivo en su totalidad. La identificación del hongo *U. maydis* se hizo por la coloración que se expresó en el micelio y por el tipo de crecimiento característico, que este presentó. El medio con micelio (dos cajas Petri) se vació en una licuadora y se mezcló con un litro de agua destilada estéril y se le añadió un mililitro del antibiótico (el mismo utilizado en la purificación), la mezcla se coló con una manta cielo y posteriormente se realizó el conteo de las estructuras infectivas (basidiosporas), con la ayuda de un hematocitómetro o una cámara de Neubauer, se ajustó la concentración a 1×10^6 estructuras infectivas por mililitro.

3.3. Selección de Genotipos de Maíz

Se evaluaron diez materiales genéticos de maíz, ocho de ellos proporcionados por el Dr. Arturo Mancera Rico del laboratorio de Acondicionamiento de Semillas del Departamento de Fitomejoramiento de la UAAAN y dos materiales (A7573 y Jabalí), provenientes del centro del país.

3.3.1. Características de los maíces

A7573 Asgrow: híbrido de cruzamiento triple, con madurez intermedia a precoz, altura de planta de 2.10 a 2.50 m y de mazorca de 1.10 a 1.50 m, aproximadamente. Con 100 a 110 días a la cosecha, de grano blanco, densidad de siembra recomendable para Coahuila (La Laguna, Ceballos, Nazas y Cuatro Ciénegas) de 80 a 110 mil plantas por hectárea. Resistente al acame, con hojas semierectas. Se considera el mejor material elotero a nivel nacional.

Jabalí Asgrow: sin características ya salió del mercado, no fue posible conseguir la información.

P4082W DuPont Pioneer: es un híbrido de ciclo intermedio, con 56 a 60 días a floración y de 146 a 155 días a la cosecha, la altura de plantas es en promedio de 2.80 m y a la mazorca de 1.45 m. Tolerante al acame y buena calidad de granos. Recomendado para zonas del sureste mexicano como Campeche, Chiapas, Guerrero, Morelos, Oaxaca, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz y Yucatán.

Sorento Syngenta: se adapta a diferentes condiciones de siembra como suelos altos y laderas, así como a diversos tipos de manejo. Recomendado para los estados de Chiapas, Oaxaca, Veracruz, Tabasco, Campeche, Yucatán y Quintana Roo. Con siembras del 1° de junio al 20 de julio, principalmente de temporal, adaptado a alturas que van desde los 0 a los 1500 msnm, es un material que tienen buena sanidad en planta y mazorca, con excelente cobertura de esta, tallos fuertes y tolerantes a enfermedades como roya, carbón de la espiga y *Fusarium*. Es un híbrido de cruce simple, de ciclo intermedio, con 58 a 62 días para el 50% de floración, con 145 días a cosecha. Altura de planta de 240 a 245 cm y altura de mazorca de 125 a 135 cm, grano dentado, color blanco, mazorca cilíndrica con 14 a 18 hileras, la relación grano/olote es del 84%.

AN447 UAAAN: es un maíz de grano blanco, semidentado, de mazorca grande cilíndrica, altura promedio de planta de 2.80 m y altura de mazorca de 1.30 m, de ciclo intermedio, con 75 a 80 días a floración, la cosecha de grano se puede realizar de los 140 a 150 días, el color de la hoja es verde claro, de tolerante a resistente al acame, cobertura de mazorca buena, tolerante a enfermedades y se adapta muy bien a suelos limosos, arenosos y arcillosos.

Genex 784: material mejorado de ciclo vegetativo intermedio, con 60 a 67 días a floración, de grano blanco, semi cristalino, con altura de planta de 2.45 a 2.75 m y altura a la mazorca de 1.20 a 1.30 m, aproximadamente, tiene tolerancia al acame, carbón de la espiga, roya, *Fusarium*, *Helminthosporium turcicum*. No tolera plagas por lo que se recomienda un monitoreo y control fitosanitario integral constante. Se adapta a altitudes de los 0 a los 1900 msnm. Se produce en los estados de Aguascalientes,

Chihuahua, Coahuila, Durango, Colima, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Sinaloa, Sonora.

Cafime INIFAP: variedad de maíz de cruzada libre, adaptada a las condiciones de temporal de la región norte sur de México (S.L.P., Aguascalientes, Chihuahua, Durango, Oaxaca, Jalisco, Guanajuato, Tamaulipas, Zacatecas y Coahuila) o zonas con poca precipitación pluvial, ya que se considera un material altamente resistente a la sequía. Tiene rendimientos promedio de grano de 1.9 a 4.5 toneladas y produce al rededor del 35% más que los criollos regionales es color blanco. Con un ciclo vegetativo de 100 a 110 días, de 50 a 66 días a antesis o floración y de 140 a 150 días a la cosecha, lo que le permite evadir la sequía, heladas y producir aun en condiciones precarias de humedad, por su ciclo esta variedad es recomendada para regiones donde la estación de crecimiento es de más de 110 días. La altura de la planta va de los 150 a 250 cm y la altura de mazorca de 80 a 120 cm. Tolerante a enfermedades como: *Fusarium* y carbón de la espiga.

VS-211 INIFAP: variedad de cruzada simple, de ciclo corto, muy precoz, de 90 a 100 días a la madurez y 67 días a antesis o floración, con una altura media de planta de 150 cm y un rendimiento promedio de 1225 Kg·ha⁻¹, adaptada a regiones con sequía del norte sur de México, para los estados de S.L.P., Aguascalientes, Chihuahua, Durango, Oaxaca, Jalisco, Guanajuato, Tamaulipas, Zacatecas y Coahuila, o zonas con poca precipitación pluvial.

Pozolero criollo: presenta resistencia a factores adversos, por ejemplo, la sequía. Tiene alta capacidad de obtener nutrientes del suelo, gran potencial para adaptarse en cualquier ambiente, presenta resistencia a plagas y enfermedades. Procedencia del estado de Morelos. Es un genotipo de porte alto y ciclo biológico intermedio tardío de 130 días, tiene una altura de planta que varía de 260 a 285 cm, tolerante al acame, hojas curvadas de color verde oscuro, con floración masculina a los 62 días y dos días después la femenina; su espiga es compacta con 11 a 17 ramas laterales primarias, estigmas de color amarillo; mazorca cónica cilíndrica de buena cobertura de

las brácteas, tiene 15 a 20 cm de longitud con 8 a 10 hileras rectas y 30 a 34 granos por hilera de color blanco cremoso y textura semi dentada; excelente adaptación en localidades con buena precipitación, superior a 800 mm, una temperatura media anual de 24 a 26°C y una altitud de 1,200 a 1,700 m. Estas condiciones de siembra se presentan principalmente en algunas áreas de los estados de Guerrero, Morelos, Puebla, Oaxaca y Michoacán. El rendimiento varía de 2.5 a 6.3 t·ha⁻¹.

Criollo: sin descripción. Procedencia del estado de Morelos.

3.4. Establecimiento del experimento

El experimento se estableció en los invernaderos del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con un arreglo factorial, de dos factores y su respectiva interacción. Factor 1: tres tratamientos, se consideraron como tratamiento las cepas del hongo (tres niveles; Cuadro 2), y Factor 2: 10 genotipos, uno de los genotipos el A7573 se consideró como testigo (solo agua), aparte de haberle inoculado las cepas, debido a que esta reportado como susceptible a *U. maydis* (11 niveles) (Cuadro 2). Se establecieron cuatro repeticiones por tratamiento. Por lo que se obtuvo un total de 132 unidades experimentales, cada unidad constó de un vaso de unicel con tres plántulas de maíz.

Se utilizaron vasos de unicel (núm. 15) perforados para favorecer al drenaje del agua y se llenaron con Peat Most, humedecido a capacidad de campo. Se colocaron tres semillas por vaso y se regaron con agua corriente hasta la germinación de las semillas y emergencia de las plántulas. Durante la emergencia se continuó con la realización de riego diario y la aplicación de fertilizante dos veces a la semana, con triple 17 a una solución de cinco gramos por litro de agua.

Cuadro 2. Descripción de factores para el establecimiento del experimento completamente al azar con arreglo factorial.

FACTOR	NUMERO	DESCRIPCIÓN
Cepa de <i>U. maydis</i>	1	Maíz blanco (Cepa blanca)
	2	Cepa UAAAN
	3	Maíz azul criollo (Cepa azul)
Genotipos de maíz	1	Genex 784
	2	A7573 Asgrow
	3	VS-211 INIFAP
	4	Jabalí Asgrow
	5	P4082W DuPont Pioneer
	6	AN447 UAAAN
	7	Pozolero criollo
	8	Cafime INIFAP
	9	Criollo
	10	Sorento Syngenta
	11	A7573 Asgrow
Interacciones (cepa x genotipo)	33	Se refiere a las posibles combinaciones que se establecen entre cada una de las cepas del hongo, con cada uno de los genotipos de maíz

3.5. Inoculación

Una vez germinadas las semillas, se dejó crecer las plántulas hasta la tercera semana alrededor de 15 cm (etapa fenológica del maíz, V3), de tres a cuatro hojas verdaderas. Se inoculo la concentración de 1×10^6 estructuras infectivas por mililitro de cada cepa, en cada uno de los genotipos y cada una de las plántulas de la unidad experimental; la inyección se realizó en la parte media de la plántula (sin traspasar el tallo) con jeringas de 3.0 mL de uso pediátrico. Al testigo solo se le inyecto agua destilada estéril.

3.6. Variables evaluadas

3.6.1. Incidencia y Severidad:

Estas variables se evaluaron en cuanto al efecto del hongo inoculado y la sintomatología presente en las plántulas: coloraciones moradas, rosáceas, purpuras, acompañado de clorosis en las hojas e intervenal, mal formaciones, hojas arrugadas y presencia de agallas en hoja, tallo y base del tallo). Se consideró incidencia cuando

la plántula presento alguna sintomatología diferente al crecimiento normal de la plántula: 1=Incidencia, 2=planta normal. Mientras que para la variable severidad esta se reportó según la intensidad del daño producido en la plántula, la nomenclatura utilizada fue en la escala del 1 al 5, asignando 1 a la presencia de alguna coloración y 5 a la presencia de agallas.

Los datos se reportaron a los 12 y 15 días después de la inoculación (I12D, S12D, I15D y S15D).

Posterior a la toma del último dato de estas variables (15 días después de la inoculación), fue posible la obtención del resto de las variables que a continuación se explican:

3.6.2. Hojas verdes (HV) y Hojas secas (HS):

Estas variables se evaluaron de manera visual basándose en el estado fisiológico de la hoja y el posible efecto producido por el hongo en las plántulas; por tanto, se realizó el conteo de las hojas verdes y secas, en cada plántula de la unidad experimental.

3.6.3. Presencia de agalla en la hoja (PAH) y Presencias de agalla en la base (PAB):

Estas variables se evaluaron de acuerdo a la aparición de agallas en la base del tallo y las hojas en las cuales se consideró 0= sin agalla, 1=presencia de agalla.

3.6.4. Diámetro del tallo (DT):

Se midió el diámetro del tallo a la altura del cuello de la raíz, con apoyo de un vernier digital y el dato de esta variable fue registrado en mm.

3.6.5. Peso fresco raíz (PFR) y Peso fresco aéreo (PFA):

Las plántulas fueron contadas y extraídas de cada maceta, con mucha precaución, para no afectar la raíz, se colocaron en un recipiente con una coladera y agua; una a una se lavaron para quitar el exceso del sustrato. Una vez limpias las plántulas, estas se dividieron en parte aérea y raíz, se cortó en el cuello de la plántula, para separar dichas partes. Con la ayuda de una báscula analítica se pesaron de forma separada, para determinar el peso fresco, el cual se reportó en gramos.

3.6.6. Peso seco raíz (PSR), Peso seco aéreo (PSA) y Biomasa total (BT):

Una vez que se obtuvo el peso fresco tanto de la parte aérea como de la raíz, se colocó el material en bolsas de papel, debidamente identificadas y se procedió a eliminar el contenido de humedad, con ayuda de una estufa de secado, a una temperatura de 100°C por 24 h, y posteriormente se pesó en una báscula analítica (precisión g x 0.001), para obtener el peso seco de la raíz y de la parte aérea de la plántula, en forma separada. Este dato se registró en gramos.

Por otro lado, se obtuvo el valor de la biomasa total, dónde el término de biomasa se refiere a la cantidad de masa de material seco, expresado en gramos de una muestra; es decir, mide la cantidad de energía que se almacena en un segmento determinado de un individuo o grupo de individuos.

Un método directo y sencillo de cuantificación de la biomasa de una población es la estimación del peso seco en gramos de una muestra. Para esta variable por tanto se requirió del peso total de las plántulas por unidad experimental dividido entre el número de plántulas pesadas, para obtener el promedio, valor registrado en gramos, para esta variable.

$$BT = (PSA + PSR) / PT$$

BT= Biomasa total

PSA= peso seco de la parte aérea

PSR= peso seco de la raíz

PT= número de plántulas por unidad experimental que se encontraron en condiciones para la toma de dato del peso fresco

3.6.7. Contenido de humedad raíz (CHR) y Contenido de humedad aéreo (CHA)

Una vez obtenido el dato del peso fresco y peso seco de cada una de las partes de la plántula (aérea y raíz), se aplicaron las siguientes formulas a los datos para la obtención de las variables relacionada al contenido de humedad: $CHR = PFR - PSR$ y $CHA = PFA - PSA$ y los resultados se registraron en g, haciendo la conversión correspondiente.

3.7. Análisis estadístico de datos

Se elaboró una matriz básica de datos, con el registro de las variables obteniendo promedios de cada variable por unidad experimental. Para el análisis de datos se utilizó el software de análisis estadístico SAS los cuales se corrieron con un modelo factorial considerando dos factores, que correspondieron a 3 x 11 niveles (cepa x genotipos), tomando en cuenta también al testigo. La prueba de medias se realizó con Duncan a un nivel de confiabilidad del 90% ($\alpha \leq 0.10$).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis de varianza

De las 16 variables en estudio solo 10 variables expresaron significancia a una confiabilidad del 99% y 95% ($\alpha \leq 0.01$ y $\alpha \leq 0.05$, respectivamente) y sólo dos variables presentaron diferencia con una confiabilidad del 90% ($\alpha \leq 0.10$), ésto entre las fuentes de variación consideradas en el arreglo factorial 3 x 11 (cepa de *U. maydis*, genotipo de maíz e interacción cepa x genotipo) para el análisis de varianza (ANOVA) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza, para ocho variables que expresaron significancia en al menos una fuente de variación. Prueba de susceptibilidad de tres cepas de *U. maydis* en 10 genotipos de maíz y sus interacciones. UAAAN, 2017.

F.V.	GI	VARIABLES									
		PSA	PSR	PFA	PFR	HS	CHA	BT	I12D	S12D	I15D
CEPA	2	0.015***	0.007NS	0.889NS	0.698NS	0.291NS	0.724**	0.033NS	3.113*	4.27*	0.047NS
GENOTIPO	10	0.016***	0.037***	0.879***	2.790**	1.774**	0.796***	0.102***	1.298NS	1.62NS	0.653**
CEP*GEN	20	0.006***	0.017**	0.253NS	1.350NS	0.828NS	0.293NS	0.045**	0.93NS	2.34NS	0.326NS
Error	80	0.003	0.009	0.252	1.247	0.720	0.201	0.021	1.582	2.403	0.369
Total	112										
CV (%)		29.385	47.847	39.174	55.656	45.641	40.902	37.845	73.08	65.98	45.689
R²		0.574	0.480	0.430	0.355	0.374	0.499	0.534	0.23	0.25	0.302
Media		0.187	0.208	1.282	2.007	1.859	1.096	0.389	1.72	2.34	1.330

F.V.: fuente de variación; gl: grados de libertad del error; C.V.: porcentaje del coeficiente de variación; R²: coeficiente de determinación; *: confiabilidad del 90% y $\alpha \leq 0.10$; **: confiabilidad del 95% y $\alpha \leq 0.05$; ***: confiabilidad del 99% y $\alpha \leq 0.01$.

4.1.1. Factor cepa de *U. maydis*

En el ANOVA, se encontró que para la fuente de variación cepas de *U. maydis* solo se presentaron diferencias altamente significativas en la variable, peso seco aéreo (PSA), con un nivel de confiabilidad del 99% ($\alpha \leq 0.01$); y diferencias significativas en la variable contenido de humedad aéreo (CHA), con una confianza del 95% ($\alpha \leq 0.05$); además para las variables incidencia y severidad a los 12 días (I12D y S12D) se encontraron diferencias significativas con una confianza del 90% (Cuadro 3). Schilling *et al.* (2014) indican que las diferentes cepas de *U. maydis* afectan varios órganos

aéreos en la planta de maíz, esta diferencia es marcada con otros tipos de carbones que solo afectan inflorescencia; sin embargo, estos autores reportan 20 genes que están involucrados en la especificidad que tienen las cepas de *U. maydis* para afectar diferentes órganos en una misma planta, por lo que en este estudio es probable que la respuesta de las cepas en las plántulas de maíz, estén influenciada por estos genes, ya que se vio efecto en hoja e hipocótilo.

4.1.2. Factor genotipos de maíz

En la fuente de variación relacionada con los genotipos de maíz, de las 14 variables en estudio ocho presentaron significancia; de las cuales cinco fueron altamente significativas con una confiabilidad del 99% ($\alpha \leq 0.01$): PSA, PSR, PFA, CHA y BT; mientras que las variables PFR, HS y I15D, tuvieron diferencias solo significativas con una confiabilidad del 95% ($\alpha \leq 0.05$) (Cuadro 3). Por lo tanto, Villanueva *et al.* (2007) mencionan que la respuesta en los híbridos es determinante para tolerar la patogenicidad de la cepa, ya que cada variedad de maíz puede responder de diferente manera a la fecha de siembra y densidad de inóculo aplicado.

4.1.3. Interacción cepa x genotipo

La variación relacionada con la interacción de las cepas de *U. maydis* por los genotipos de maíz indicó que la variable peso fresco aéreo (PFA) tuvo diferencias altamente significativas con una confiabilidad del 99% ($\alpha \leq 0.01$) y solo significativas para la variable BT con una confiabilidad del 95% ($\alpha \leq 0.05$). Muchas deformaciones características de los tejidos del hospedero y anomalías del desarrollo se deben a alteraciones del equilibrio hormonal de la planta, entre estas hormonas, se encuentran las auxinas producidas por *U. maydis*, por tanto, el nivel de virulencia sobre la planta depende del nivel de patogenicidad del hongo y la susceptibilidad de la planta huésped (Dickinson y Lucas, 1987).

4.2. Comparación de medias

La comparación múltiple de medias se realizó con la prueba de Duncan con una confiabilidad del 90% ($\alpha \leq 0.10$), debido a que es una prueba con más exigencia para detectar diferencias significativas entre los tratamientos y tiene la capacidad de encontrar umbrales entre estas diferencias más pequeños y por tanto ser detectadas; Duncan es una prueba que se emplea para datos experimentales realizados en campo o con variantes en factores abióticos, más que para laboratorio (Castillo *et al.*, 2007), por tal motivo con esta prueba fue posible determinar diferencias en algunas variables, que bajo la exigencia del ANOVA no fue posible detectar.

4.2.1. Medias entre cepas de *U. maydis*

En el análisis de comparación múltiple de medias para el factor cepa de *U. maydis*, fue posible detectar diferencias entre las medias de las variables PSA, PFA, CHA, I12D y S12D, debido a que la exigencia disminuyó con un 90% de confiabilidad ($\alpha \leq 0.10$), con la prueba de Duncan. Este cambio favoreció debido a que fue posible detectar información arrojada por variables relacionadas a patogenicidad como incidencia y severidad. En este sentido se encontraron dos grupos en los cuales se expresaron claramente las diferencias, por tanto, la cepa 2 (recolectada en la UAAAN), es diferente a la cepa 1 (maíz blanco) y 3 (maíz azul) (Cuadro 4), probablemente la respuesta obtenida por esta cepa, se debió a que fueron pocos los aislamientos que se realizaron para su purificación, pues era una cepa relativamente nueva, en comparación con las otras dos. La patogenicidad de la cepa 2 se expresó con mayor número de plántulas afectadas por el hongo a los 12 días de la evaluación (I12D), considerando que 1 se denoto como incidencia y 2 plántula normal; de igual forma se expresó mayor severidad del hongo (S12D), además fue la cepa que tuvo en las variables relacionadas a la parte aérea de la plántula la menor acumulación de peso seco (PSA), peso fresco (PFA) y contenido de humedad (CHA) (Cuadro 4). Es decir, menor crecimiento de las plántulas por tal razón se observó que existió mayor impacto de forma negativa en éstas, al respecto el CIMMYT (2005) reporta que *U. maydis* es un

patógeno que ha estado activo y puede provocar en plantas jóvenes enanismo o incluso matarlas.

Cuadro 4. Prueba de comparación de medias por el método de Duncan ($\alpha \leq 0.10$) para el efecto de las cepas de *U. maydis*.

CEPA	Descripción	VARIABLES				
		I12D	S12D	PFA	PSA	CHA
1	Maíz blanco (Cepa blanca)	2.026a	1.973b	1.413a	0.205a	1.207a
2	Cepa UAAAN	1.461b	2.616a	1.117b	0.164b	0.937b
3	Maíz azul criollo (Cepa azul)	1.680ab	2.458b	1.318a	0.196a	1.142a

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales

4.2.2. Medias entre genotipos de maíz

En cuanto al factor relacionados con los genotipos de maíz de detectaron con la comparación de medias de Duncan ($\alpha \leq 0.10$) que, de las 16 variables en estudio, sólo 13 tuvieron variación entre los 11 materiales de maíz (Cuadro 5). El híbrido AN447 presentó las medias más altas en las variables PSA, PSR, PFA, PFR, PAB, HS, CHR y BT (Cuadro 5), esto se puede explicar debido a que es un material adaptado a las condiciones donde se estableció el experimento, ya que se generó en la UAAAN, por otro lado, el valor de PAB puede explicar la acumulación de peso en el resto de las variables, esto debido a la expresión del hongo mediante la presencia de agallas en la base del tallo de la plántula; al respecto Kämper *et al.* (2006) mencionan que los síntomas principales como coloraciones y formación de tumores provocados por *U. maydis* en las plantas de maíz, se expresan principalmente dentro de los órganos florales, sin embargo también se pueden ver afectados el tallo, la raíz e incluso plántulas.

Era de esperarse que el híbrido A7573, inoculado con *U. maydis* presentará susceptibilidad a *U. maydis*, por las características que este genotipo tiene en presencia del patógeno; sin embargo, expresó los valores más bajos en las variables

PSA, PAB, HS, DT, I12D y I15D, y el más alto en HV (Cuadro 5), por lo tanto, no se tuvo la respuesta de susceptibilidad que se esperaba. Este híbrido se utiliza comúnmente en la producción de huitlacoche, debido a las características de elotero que tienen y a que se produce muy bien el huitlacoche, cuando se inocula de forma comercial, obteniendo rendimientos de hasta $(0.02 \text{ kg}\cdot\text{planta}^{-1})$; Villanueva *et al.*, 2007). Salazar *et al.* (2013) mencionan que con el método de inoculación artificial y bajo condiciones controladas en la producción, llegaron a obtener rendimientos de hasta $15 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ con maíces criollos. Cabe destacar que durante el desarrollo del experimento (2017) se presentó una nevada que por las temperaturas bajas que se tuvieron en la zona se esperaba que las plantas de maíz no sobrevivieran y murieran, este es un dato relevante ya que las plántulas no murieron y hubo oportunidad de seguir evaluando el experimento. Se hace mención de este acontecimiento, debido a que explica el proceso de coevolución reflejado entre el patógeno y su hospedero, que incluso a temperaturas tan extremas el patógeno, le pudo haber conferido al maíz protección contra las inclemencias del tiempo; a ello se explica por qué uno de los materiales reportados como de los más susceptibles a este hongo, como es el caso del híbrido A7573, presentará el valor más alto en cuanto a HV y sin incidencia en las plántulas de maíz; sin embargo, cuando este genotipo se utilizó como testigo presentó medias menores a la que se tienen de forma general en todas las variables (Cuadro 5), por tanto se corrobora que *U. maydis* confiere características de tolerancia al cultivo que fisiológicamente provoca que responda de forma favorable a las inclemencias del clima.

Por otro lado, el híbrido Jabalí fue el que expresó la mayor incidencia a los 12 días (I12D), y esto pudo haber favorecido en las variables PSA, PSR, PFA, PFR, HS, CHR y BT ya que fueron las más bajas con respecto al resto de los híbridos (Cuadro 5), lo que indica que la susceptibilidad a las cepas de *U. maydis* es alta, esto puede explicar, por qué este híbrido, ya se encuentra fuera del mercado y dejó de producirse. Al respecto, Pagano y Maddonni (2007) indican que el estado fisiológico de cada planta de maíz al inicio del período crítico causado por algún tipo de estrés, condiciona su éxito reproductivo, probablemente a través de cambios en la partición de asimilados a

la espiga, las plantas dominantes exhiben una mejor partición de biomasa a la espiga que las dominadas; además Otegui y Melón (1997) hacen mención que el crecimiento de las plantas durante el período crítico no afecta el desarrollo, por ejemplo la morfogénesis de la espiga, sino el crecimiento de las estructuras reproductivas, esto se puede explicar en plántula, donde el cultivo debe de asegurar su sobrevivencia, mediante la acumulación de biomasa, con la presencia de hojas verdes y mayor número de raíces.

4.2.3. Medias entre las interacciones cepa x genotipo

De las 16 variables analizadas con la prueba de Duncan ($\alpha \leq 0.10$) entre las interacciones cepa x genotipo, se obtuvo que sólo tres variables tuvieron un comportamiento igual entre sus medias (I12D, PAH y PAB, datos no mostrados) y el resto expresaron diferencias (Cuadro 6); por tanto, de las 33 interacciones, 30 presentaron al menos una comparación de medias diferente, lo cual representó un 87.87% del total (Cuadro 6). Villanueva *et al.* (2007) mencionan que cada variedad susceptible y localidad con clima favorable para el desarrollo del huitlacoche, deben definirse de manera específica, en cuanto a la edad óptima para la inoculación y la mejor fecha de siembra.

Con este análisis se corroboró que el híbrido A7573, que se empleó como testigo (inoculación con solo agua), presentó el mayor número de medias diferentes en nueve variables, con los valores más bajos (PFR= 0.45 g, PFA= 0.60 g, PSR= 0.06 g, HS= 0.10, DT= 2.62 mm, CHA= 0.42 g, CHR= 0.39 g, BT= 0.24 y I15D= 0.10; Cuadro 6), esto indica que el híbrido fue afectado de forma considerable por las condiciones abióticas, es decir exposición a frío extremo que se presentó durante el desarrollo del experimento, ya que como se mencionó anteriormente, hubo una nevada en la cual las temperaturas descendieron a -12°C , por tanto los genotipos que expresan medias bajas es debido a esta condición. Al respecto, Inzé y Van Montagu (2002) mencionan que esta adaptación es más dirigida a la supervivencia que a una buena performance (producción cosechable). Un estrés sub-óptimo para el maíz provoca una reducción

en el crecimiento o induce a un daño metabólico, celular y de los tejidos que resulta en la limitación del potencial de producción genéticamente determinado.

Se asume que el hongo proporciona al cultivo tolerancia al frío, dándose una relación trófica mutualista entre los dos organismos, donde el hongo no permita que muera su hospedero para asegurar su sobrevivencia; en muchos casos es evidente que existe una interacción entre dos o más organismos (Paré & Tumlinson, 1999; Ashen & Goff, 2000; Percy, 2000; Pfunder & Roy, 2000), de esta forma, la planta se expresará fenotípicamente de forma positiva sin ser afectada por el frío; por tanto, las interacciones que expresen medias con valores altos, es debido a los efectos que el hongo provoco en las plantas y esto se ve reflejado en los valores de PAB que se muestran en el Cuadro 5. El huitlacoche *U. maydis*, no utiliza estrategias agresivas de virulencia para matar a su huésped, por tal razón pertenece al grupo de los parásitos biotróficos los cuales dependen de los tejidos vivos para su propagación y desarrollo (Kämper *et al.*, 2006).

Así mismo Du Toit *et al.* (1999) mencionan que *U. maydis* desarrolla haustorios para su alimentación, los cuales crecen entre la pared celular de las hojas y la membrana plasmática de las células de la planta, mediante una interfaz formada de un hidrato de carbono y proteínas esto facilita el intercambio de señales y nutrientes, la planta genera diferentes procesos metabólicos provocando que las hojas y tejidos infectados se mantengan como fuentes de alimento y el hongo alcance su máximo desarrollo por tal motivo es que las plantas continúan su crecimiento mientras el hongo se desarrolla dentro de ella.

Las interacciones que presentaron el mayor número de medias diferentes al resto fueron: Cepa 1 (maíz blanco) x AN 447 (interacción no. 6) y Cepa 2 (UAAAN) x Criollo (interacción No. 20); en el primer caso esta interacción, presentó las medias más altas en las variables PFR (3.24 g), PSR (0.34 g), PSA (0.25 g), HS (0.29), DT (5.53 mm), CHR (2.89 g) y BT (0.60); mientras que en el caso de la segunda interacción los valores fueron de los más bajos en las variables PFR (0.76 g), PFA (0.62 g), PSR (0.07 g),

PSA (0.07 g), CHA (0.47 g), CHR (0.57 g) y BT (0.14), en el caso de la variable I15D, el valor fue de los más altos (0.24), en este caso hay que considerar que la denotación estuvo referida a 1= planta con incidencia del hongo y 2= planta normal (Cuadro 6). Cuando hay baja producción de auxinas se favorece la infección del hongo y cuando la planta produce grandes cantidades de esta hormona genera un factor de resistencia (Doehlemann *et al.*, 2008). Por lo cual existen diferentes métodos en la planta por los cuales se genera una resistencia impuesta por ella misma.

Debido a los resultados obtenidos, se puede considerar la interacción No. 6 como una propuesta para la producción de huitlacoche, al menos bajo las condiciones que se establecen en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México; sin embargo, se requiere realizar más trabajos en condiciones favorables (ciclo primavera-verano), para evitar la interferencia de factores abióticos atípicos, con la finalidad de conocer la respuesta de las cepas, también se requiere coleccionar más número de cepas de la región y continuar con la constante evaluación de genotipos de maíz, ya que estos son reemplazados fácilmente por las compañías semilleras comerciales y los cambian o sacan del mercado.

Cuadro 5. Prueba de comparación de medias por el método de Duncan ($\alpha \leq 0.10$) para el efecto genotipos de maíz, en la determinación de la susceptibilidad a cepas de *U. maydis*.

Genotipo	Descripción	Variables												
		PSA	PSR	PFA	PFR	PAB	HV	HS	CHR	CHA	BT	DT	I12D	I15D
1	Genex 784	0.139d	0.171 cd	0.955cd	1.928bc	0.500ab	3.208ab	1.875b	1.798abc	0.818def	0.309de	3.266abc	1.590ab	1.166c
2	A7573	0.141d	0.181bcd	1.088bcd	1.769bc	0.227b	4.363a	1.000c	1.600bc	0.942cdef	0.316cd	2.670c	1.090b	1.090c
3	VS-211	0.228ab	0.257b	1.829a	2.561ab	0.458ab	3.416abc	2.083ab	2.307ab	1.597a	0.486ab	3.911abc	1.791ab	1.416abc
4	Jabalí	0.131d	0.126d	0.881d	1.194c	0.500ab	2.722bc	1.777b	1.209c	0.744ef	0.238e	3.072bc	2.256a	1.250bc
5	P4082W	0.171cd	0.192bcd	1.233bcd	1.802bc	0.500ab	3.409abc	1.772b	1.538bc	1.062bcde	0.334cde	3.677abc	2.181ab	1.545abc
6	AN447	0.244^a	0.347 a	1.405b	3.123a	0.800a	2.250c	2.583a	2.617a	1.110bcde	0.592 a	4.195ab	1.863ab	1.318abc
7	Pozolero	0.234ab	0.222bcd	1.438b	2.086bc	0.650ab	3.833ab	1.833b	2.028abc	1.301abc	0.451bc	3.427abc	1.850ab	1.100c
8	Cafime	0.208abc	0.192bcd	1.488ab	1.737bc	0.333ab	3.555ab	1.777b	1.757abc	1.411ab	0.398bcd	3.191abc	1.444ab	1.111c
9	Criollo	0.196bc	0.200bcd	1.419b	2.060bc	0.454ab	2.954bc	2.181ab	1.796abc	1.205bcd	0.397bcd	3.432abc	2.000ab	1.727ab
10	Sorento	0.189bc	0.164cd	1.332cb	1.708bc	0.555ab	3.000bc	1.944ab	1.459bc	1.154bcd	0.344cde	4.557a	1.555ab	1.77a
11	A7573 Testigo	0.172cd	0.197bcd	0.931cd	1.652bc	0.333ab	3.277abc	1.444bc	1.519bc	0.652f	0.363bcd	3.321abc	1.277ab	1.111c
Medía general		0.187	0.204	1.273	1.965	0.483	3.272	1.843	1.784	1.091	0.384	3.520	1.718	1.328

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales

Cuadro 6. Prueba de comparación de medias por el método de Duncan ($\alpha \leq 0.10$) para el efecto de interacción cepa x genotipo de maíz, en la determinación de la susceptibilidad a *U. maydis*.

Numero	Descripción	Variables												
		PFR	PFA	PSR	PSA	HV	HS	DT	CHA	CHR	BT	I15D	S12D	S15D
1	C1 Blanco x Genex	1.76abcde	1.00cdefgh	0.14defgh	0.15efghijk	0.32abcde	0.16abcde	3.40abc	0.84defgh	1.49abcd	0.29fghi	0.10c	0.25abcd	0.37abcde
2	C1 Blanco x A7573	2.36abcd	1.41abcde	0.22abcde	0.15efghijk	0.49abc	0.08e	2.49c	1.25abcde	2.14abcd	0.38cdefghi	0.10c	0.27abcd	0.46abc
3	C1 Blanco x VS-211	2.46abcd	2.08a	0.29abcd	0.27ab	0.27abcde	0.28a	3.79abc	1.82a	2.16abcd	0.56abcd	0.16abc	0.10cd	0.19cde
4	C1 Blanco x Jabalí	1.13cde	0.91defgh	0.12efgh	0.17cdefghi	0.20de	0.16abcde	2.22c	0.74efgh	1.35bcd	0.27ghi	0.13bc	0.05d	0.12e
5	C1 Blanco x P4082W	1.40abcde	1.09bcdefgh	0.15defgh	0.15efghijk	0.35abcde	0.17abcde	2.23c	0.98cdefgh	1.28bcd	0.23ghi	0.15abc	0.23abcd	0.23abcde
6	C1 Blanco x AN447	3.24a	1.61abcd	0.34ab	0.25abc	0.22cde	0.29a	5.53a	1.35abcde	2.89ab	0.60ab	0.13bc	0.23abcd	0.27abcde
7	C1 Blanco x Pozolero	1.55abcde	1.44abcde	0.13defgh	0.19bcdefghi	0.43abcd	0.16abcde	2.28c	1.25abcde	1.66abcd	0.31efghi	0.10c	0.25abcd	0.44abcd
8	C1 Blanco x Cafime	2.70abc	1.86ab	0.32abc	0.22bcdef	0.44abcd	0.12cde	4.15abc	1.64abc	2.37ab	0.55abcde	0.10c	0.25abcd	0.41abcde
9	C1 Blanco x Criollo	2.81abc	1.85ab	0.21abcde	0.23abcde	0.25bcde	0.27ab	3.72abc	1.78ab	2.76ab	0.45abcde	0.13bc	0.15bcd	0.17cde
10	C1 Blanco x Sorento	1.26bcde	1.43abcde	0.12efgh	0.18bcdefghi	0.34abcde	0.18abcde	5.39ab	1.29abcde	1.15bcd	0.28ghi	0.16abc	0.25abcd	0.27abcde
11	A7573 testigo	1.95abcde	1.07bcdefgh	0.24abcde	0.21bcdefg	0.32abcde	0.15abcde	3.00abc	0.57fgh	1.75abcd	0.46abcde	0.12bc	0.18abcd	0.20bcde
12	C2 UAAAN x Genex	2.84abc	1.17bcdefgh	0.27abcd	0.16defghij	0.29abcde	0.23abcd	3.65abc	1.03cdefgh	2.69ab	0.43abcde	0.15abc	0.15bcd	0.19cde
13	C2 UAAAN x A7573	1.26bcde	0.95cdefgh	0.13efgh	0.12ghijkl	0.42abcd	0.11de	2.49c	0.82defgh	1.13bcd	0.25ghi	0.12bc	0.26abcd	0.38abcde
14	C2 UAAAN x VS-211	2.45abcd	1.53abcde	0.23abcde	0.20bcdefg	0.39abcde	0.15abcde	3.84abc	1.32abcde	2.21abc	0.43abcde	0.10c	0.37abc	0.44abcd
15	C2 UAAAN x Jabalí	1.24bcde	0.88defgh	0.12efgh	0.11hijk	0.30abcde	0.18abcde	3.87abc	0.76efgh	1.12bcd	0.23ghi	0.12bc	0.22abcd	0.30abcde
16	C2 UAAAN x P4082W	2.07abcde	1.21bcdefgh	0.20abcde	0.17cdefghij	0.30abcde	0.22abcde	3.53abc	0.98cdefgh	1.68abcd	0.37bcdefghi	0.17abc	0.16abcd	0.17cde
17	C2 UAAAN x AN447	3.06ab	1.21bcdefgh	0.34ab	0.25abcde	0.13e	0.26abc	2.83bc	0.73efgh	2.23abc	0.59ab	0.13bc	0.27abcd	0.38abcde
18	C2 UAAAN x Pozolero	1.40abcde	0.99cdefgh	0.14defgh	0.17cdefghij	0.52a	0.10de	4.14abc	0.82defgh	1.25bcd	0.31efghi	0.10c	0.27abcd	0.31abcde
19	C2 UAAAN x Cafime	1.16cde	1.42abcde	0.15defgh	0.20bcdefgh	0.50ab	0.13bcde	3.01abc	1.55abcd	1.27bcd	0.35cdefghi	0.10c	0.32abc	0.41abcde
20	C2 UAAAN x Criollo	0.76de	0.62gh	0.07gh	0.07k	0.32abcde	0.18abcde	3.32abc	0.47gh	0.57cd	0.14i	0.24a	0.22abcd	0.33abcde
21	C2 UAAAN x Sorento	2.10abcde	1.59abcde	0.21abcde	0.21bcdefg	0.41abcd	0.12cde	4.23abc	1.37abcde	1.89abcd	0.42bcdefgh	0.10c	0.38ab	0.52a
22	A7573 testigo	1.65abcde	0.87defgh	0.18bcdefgh	0.14fghijkl	0.31abcde	0.15abcde	3.81abc	0.76efgh	1.57abcd	0.32efghi	0.10c	0.34abc	0.45abcd
23	C3 Azul x Genex	1.19bcde	0.70fgh	0.10fgh	0.10ijk	0.37abcde	0.16abcde	2.74bc	0.58fgh	1.21bcd	0.20hi	0.10c	0.43a	0.50ab
24	C3 Azul x A7573	1.83abcde	0.98cdefgh	0.20abcde	0.15efghijk	0.45abcd	0.10de	2.99abc	0.82defgh	1.66abcd	0.33defghi	0.10c	0.25abcd	0.32abcde
25	C3 Azul x VS-211	2.77abc	1.87ab	0.24abcde	0.21bcdefg	0.38abcde	0.20abcde	4.10abc	1.65abc	2.54ab	0.45abcde	0.16abc	0.30abcd	0.31abcde
26	C3 Azul x Jabalí	1.27bcde	0.76efgh	0.11efgh	0.08jk	0.33abcde	0.17abcde	3.56abc	0.66efgh	1.13bcd	0.20hi	0.10c	0.20abcd	0.28abcde
27	C3 Azul x P4082W	1.97abcde	1.45abcde	0.22abcde	0.19bcdefghi	0.40abcd	0.11de	5.31ab	1.25abcde	1.73abcd	0.41bcdefgh	0.13bc	0.23abcd	0.34abcde
28	C3 Azul x AN447	3.07ab	1.40abcde	0.36a	0.22bcdef	0.32abcde	0.23abcd	3.88abc	1.15abcde	2.63ab	0.58abc	0.12bc	0.25abcd	0.36abcde
29	C3 Azul x Pozolero	3.00abc	1.76abc	0.35a	0.31a	0.31abcde	0.24abcd	3.75abc	1.83a	3.17a	0.66a	0.12bc	0.24abcd	0.33abcde
30	C3 Azul x Cafime	1.68abcde	1.34abcde	0.15defgh	0.20bcdefgh	0.23cde	0.24abcd	2.85bc	1.22abcde	1.69abcd	0.34cdefghi	0.12bc	0.29abcd	0.33abcde
31	C3 Azul x Criollo	2.29abcde	1.58abcde	0.27abcd	0.25abcde	0.33abcde	0.18abcde	3.22abc	1.32abcde	1.98abcd	0.53abcde	0.16abc	0.13bcd	0.25abcde
32	C3 Azul x Sorento	1.85abcde	1.12bcdefgh	0.17cdefgh	0.18bcdefghi	0.22cde	0.23abcd	4.09abc	0.93cdefgh	1.47abcd	0.35cdefghi	0.22ab	0.13bcd	0.15de
33	A7573 testigo	0.45e	0.60h	0.06h	0.18bcdefghi	0.47abc	0.10de	2.62c	0.42h	0.39d	0.24ghi	0.10c	0.30abcd	0.41abcde

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales.

CONCLUSIONES

La cepa 2 de *U. maydis*, proveniente de campos de la UAAAN, presento mayor patogenicidad a plántulas de maíz.

El manejo de las cepas en laboratorio y las condiciones adaptativas de la cepa en la zona de colecta y establecimiento del cultivo, influyen en la incidencia y severidad del hongo.

Debido a su origen el hibrido AN447 presento adaptación a las condiciones del ambiente (tolerancia a bajas temperaturas extremas); sin embargo, fue el material genético que tuvo mayor susceptibilidad al patógeno.

U. maydis induce tolerancia a estrés abiótico (bajas temperaturas), como una evidencia de la relación coevolutiva entre planta-patógeno.

LITERATURA CITADA

- Ashen, J. & L. Goff. (2000). Molecular and ecological evidence for species specificity and coevolution in a group of marine algal–bacterial symbiosis. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(7): 3024–3030.
- Agrios, G.N. (2005). Plant Pathology. 5th Edition. Ed. Elsevier Academic Press. USA. 922 p.
- Arnold, C. (1992). Postharvest and marketing of cuitlacoche, maize mushroom (*Ustilago maydis*-corn smut). *Acta Horticulturae* 318: 321-324.
- Banuet, F. & I. Herskowitz. (1996). Discrete developmental stages during teliospore formation in the corn smut fungus, *Ustilago maydis*. *Development*, 122: 2965-2976.
- Boege, E. (2009). Centros de origen, pueblos indígenas y diversificación del maíz. *Ciencias*, 92: (092).
- Bolaños T., J. F. (1998). Guía fitosanitaria para el cultivo del maíz. Publicaciones Sanidad Vegetal. [Http://www.iicasaninet.net/publsoft/fotorep/maiz/indice.htm](http://www.iicasaninet.net/publsoft/fotorep/maiz/indice.htm).
- Brefort, T., G. Doehlemann, A. Mendoza-Mendoza, S. Reissmann, A. Djamei & R. Kahmann. (2009) *Ustilago maydis* as a pathogen. *Annual Review of Phytopathology*, 47: 423–445
- Cabrera, B. E. H.; González, F. C.; González, J. D. J. S.; Paczka, R. O. & Goodman, M. M. (2000). Caracteres morfológicos para valorar la diversidad entre poblaciones de maíz en una región: caso la raza Chalqueño. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 23(2): 335-353.
- Castillo, L.; Acosta, M.; Hernández, R.; Solado, R.; Canul, E. (2007). Introducción al SAS para Windows. 3a ed. Chapingo, Edo de México. Universidad Autónoma Chapingo.
- Calderón, F. M. L. (2010). Caracterización clásica y molecular del huitlacoche [*Ustilago maydis* D.C. (Corda)], hongo de importancia social y económica en la región central de México. Tesis de Doctorado. Posgrado en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. Colegio de Posgraduados, Campus Puebla. Puebla, Puebla. 170 p

- Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). (2005). Enfermedades del maíz. Una guía para su identificación en campo. Libcatalog.cimmyt.org/Download/cim/64574.pdf.
<https://repository.cimmyt.org/xmlui/bitstream/handle/10883/715/25905.pdf>
- Choudhary, D. K., A. Prakash & B. N. Johri. (2007). Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. *Indian Journal of Microbiology*, 47:289-297.
- Christensen, J. J. (1963). Corn smut caused by *Ustilago maydis*. Monograph 2. American Phytopathological Society. 41 p.
- Cortez-Mondaca, E., J. R. Camacho-Báez., J. L. Meza-García., J. I. Valenzuela-Hernández & J. Ramírez-Bojórquez. (2008). *In: Jornada de manejo sustentable del cultivo de maíz. Memoria de capacitación. Fundación Produce Durango. Entomofauna benéfica e insecticidas biorracionales en maíz. 53-65 pp.*
- Davis, R. M. (1997). Common Smut. University of California. Statewide Integrated Pest Management Project. <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r113100311.html>.
- De Wit, P. J., R. Mehrabi, H. A. Van den Burg & I. Stergiopoulos. (2009). Fungal effector proteins: past, present and future. *Molecular Plant Pathology*, 10: 735–747.
- Dickinson, C. H. & J. A. Lucas. (1987). Patología Vegetal y Patógenos de Plantas. 1a Ed. Limusa. México, D.F. pp. 57-59, 117 y 195.
- Du Toit, L. J. & J. K. Pataky. (1999). Variation associated with silk channel inoculation for common smut of sweet corn. *Plant Disease*, 83(8): 727-732.
- Doehlemann, G., R. Wahl, R. J. Horst, L. M. Voll, B. Usadel, F. Poree, M. Stitt, Pons-J. Kühnemann, U. Sonnewald, R. Kahmann, & J. Kämper. (2008). Reprogramming a maize plant: transcriptional and metabolic changes induced by the fungal biotroph *Ustilago maydis*. *The Plant Journal*, 56: 181–195
- Faris J. D., Z. Zhang, H. Lu, S. Lu & L. Reddy. (2010). A unique wheat disease resistance-like gene governs effector-triggered susceptibility to necrotrophic pathogens. *PNAS* 107: 13544–49
- Friesen, T. L., J. D. Faris, P. S. Solomon & R. P. Oliver. (2008). Host-specific toxins: effectors of necrotrophic pathogenicity. *Cellular Microbiology*, 10: 1421–1428.
- Glazebrook, J. (2005) Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 43: 205–227.

- Gotlieb, A. (1999). Corn smut-Garden Disease control leaflet 3. [Http://ctr.uvm.edu /logos /extlogo1.gif](http://ctr.uvm.edu/logos/extlogo1.gif).
- Govrin, E. M. & A. Levine. (2000). The hypersensitive response facilitates plant infection by the necrotrophic pathogen *Botrytis cinerea*. *Current Biology*, 10: 751–757
- Guimarães B. M. A., D. Laranjeira & R. S. Barbosa. (2008). Physiological cost of induced resistance in cotton plants at different nitrogen levels. *Summa Phytopathologica* 34: 338- 342.
- Inzé, D. & M. Van Monta. (2002). "Oxidative Stress in Plants". CRC Press
- INIAP. (2011). Manejo Integrado del Cultivo del Maíz Suave. Seguridad y soberanía alimentaria basada en la producción sana de alimentos. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfndmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Frepositorio.iniap.gob.ec%2Fbitstream%2F41000%2F3302%2F1%2Finia_pscpm190.pdf&clen=3217987
- INTA. (2012). "Fenología del maíz". chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfndmkaj/viewer.html?pdfurl=http%3A%2F%2Fwww.ainfo.inia.uy%2Fdigital%2Fbitstream%2Fitem%2F2844%2F1%2F11219240807135855.pdf&clen=8200021
- Jones J. D. & J. L. Dangl. (2006). The plant immune system. *Nature* 444:323–29
- Kealey, K. S. & F. V. Kosikowski. (1981). Corn smut as a food source: perspective on biology, composition and nutrition. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 15: 321- 351.
- Kilian M., U. Steiner, B. Krebs, H. Junge, G. Schmiedeknecht & R. Hain. (2000). FZB24 *Bacillus subtilis* mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 53: 72-93.
- Oerke E. C. (2006). Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science*, 144: 31–43
- Otegui, M. E. & S. Melon. (1997). Kernel set and flower synchrony within the ear of maize: I. Sowing date effects. *Crop Science*, 37: 441–447.
- Paré, P. & J. Tumlinson. (1999). Plant Volatiles as a Defense against Insect Herbivores. *Plant Physiology*, 121: 325–331.

- Pataky, J. K. (1991). Production of cuitlacoche [*Ustilago maydis* (D. C.) Corda] on sweet corn. *Hortscience* 26:1374-1377.
- Percy, D. (2000). Origins and host specificity of legume-feeding psyllids (Psylloidea, Hemiptera) in the Canary islands. University of Glasgow <http://taxonomy.zoology.gla.ac.uk/~dpercy/psyllids.htm>
- Pagano, E. & G. A. Maddonni. (2007). Intra-specific competition in maize: early established hierarchies differ in plant growth and biomass partitioning to the ear around silking. *Field Crops Research*, 101: 306–320.
- Paredes-Lopez, O. (2000). Tecnologías para la producción masiva de huitlacoche. SEPCONACYT. Cuaderno de trabajo: sistema de investigación Miguel Hidalgo. Área de alimentos. pp. 11-33.
- POPE, D. D. & S. M. McCarter, (1992). Evaluation of inoculation methods for inducing common smut on corn ears. *Phytopathology*, 82(9): 950-955.
- Quintero V. C. & Z. J. Castaño. (2012). Evaluación de inductores de resistencia para el manejo de nematodos fitoparásitos en plántulas de plátano. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 36: 575-586.
- Riveros A. S. (2001). Moléculas activadoras de la inducción de resistencia, incorporadas en programas de agricultura sostenible. *Manejo integrado de plagas*, 61: 4-11.
- Ruiz-Herrera, J., León-Ramírez, C. & Martínez-Espinoza, A. D. (2000). Morphogenesis and pathogenesis in *Ustilago maydis*. *Recent Research Development Microbiology*, 4: 585-598
- Saint, G. & P. M. A. López. (1997). Producción de maíz y políticas agrícolas en Centro América y México CIMMYT. San José, Costa Rica. 39p.
- Schreiber K. & D. Desveaux. (2008). Message in a bottle: Chemical biology of induced resistance in plants. *The Plant Pathology Journal*, 24:245-268
- SIAP. (2014). Servicio de información agroalimentaria y pesca. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. <https://datos.gob.mx/busca/dataset/datos-estadisticos-de-la-produccion-agricola-generada-a-nivel-nacional/resource/91fb244e-4f49-4c97-9f6deae06a4fdb74> (consultado, mayo 2018).

- Sánchez, G. J. J., M. M. Goodman & C. W. Stuber. (2000). Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of México. *Economic Botanic*, 54: 43-59.
- Texas Plant Disease Handbook. (1996). Common smut symptoms on corn. [Http://cygnus.tamu.edu/Textlab/Grains/corn/cs.html](http://cygnus.tamu.edu/Textlab/Grains/corn/cs.html).
- Van Kan, J. A. (2006). Licensed to kill: the lifestyle of a necrotrophic plant pathogen. *Trends Plant Science*, 11: 247–253.
- Walters, D. R. & J. M. Fountaine. (2009). Practical application of induced resistance to plant diseases: an appraisal of effectiveness under field conditions. *Journal of Agricultural Science* 147:523–535.