

ENSAYOS DE PRODUCCIÓN DE HUITLACOCHÉ (*Ustilago maydis* Cda.) HIDROPÓNICO EN INVERNADERO

José Madrigal-Rodríguez¹; Clemente Villanueva-Verduzco²; Jaime Sahagún-Castellanos²;
Marcelo Acosta Ramos³; Lauro Martínez Martínez⁴; Teodoro Espinosa Solares⁵

¹Doctorado en Ciencias en Horticultura, Universidad Autónoma Chapingo, km 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México, C. P. 56230 MÉXICO. Correo-e: madrigalrj@yahoo.com.mx¹ (Autor responsable)

²Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, km 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México, C. P. 56230. MÉXICO. Correo-e: clemente@correo.chapingo.mx jsahagun@correo.chapingo.mx

³Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, km 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México, C. P. 56230. MÉXICO. Correo-e: acostam14@gmail.com

⁴Andador Diego Rivera, Edificio 6 Depto. 303, Unidad habitacional ISSSTE, Texcoco Estado de México. C. P.56230. MÉXICO. Correo-e: martinezml72@yahoo.com.mx

⁵Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo, km 38.5 carretera México-Texcoco, Chapingo Estado de México C.P. 56230. MÉXICO. correo-e: t.espinosa.s@taurus.chapingo.mx

RESUMEN

Con el objetivo de identificar buenos híbridos comerciales y densidades de siembra de maíz para la producción de huitlacoche hidropónico en invernadero, se realizaron dos experimentos (2005 y 2006). En el primero se evaluaron cuatro híbridos en una densidad de población de 62,500 plantas·ha⁻¹ y en el segundo siete híbridos con una densidad de población de 166,666 plantas·ha⁻¹. Los híbridos se inocularon con su respectivo aislado del hongo, previamente obtenido de cada híbrido. En ambos ensayos individuales y en el análisis combinado (promedio) de los dos experimentos, el mejor híbrido fue el 30G40, con una producción en invernadero de 1,649.2 kg·ha⁻¹ (densidad: 62,500 plantas·ha⁻¹), 7,923.30 kg·ha⁻¹ (166,666 plantas·ha⁻¹) y 4,786.20 (combinado); derivada de sus porcentajes de incidencia de 23.67, 52.41 y 38.04 % y de sus índices de severidad 11.08, 52.48 y 49.85, respectivamente. En el análisis combinado, el rendimiento de huitlacoche fue mayor en 166,666 plantas·ha⁻¹ de maíz (3,592.10 kg·ha⁻¹) que en 62,500 plantas·ha⁻¹ (960.2 kg·ha⁻¹), aunque el rendimiento de hongo por planta inoculada fue igual en ambas densidades (0.02 kg·planta⁻¹) del híbrido 30G40.

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

PRODUCTION TEST OF GREEN HOUSE HYDROPNIC HUITLACOCHÉ (*Ustilago maydis* Cda.)

ABSTRACT

In order to identify good commercial maize hybrids and population densities for huitlacoche production in greenhouse conditions, two experiments were carried out (2005 and 2006) in hydroponics. The first one included four hybrids in a population density of 62, 500 plants·ha⁻¹. In second experiment seven hybrids were evaluated at 166, 666 plants·ha⁻¹. Every hybrid was inoculated with its respective fungus strain, obtained of each hybrid. In both individual assays and in the combined analysis of two experiments, the best hybrid was 30G40 with production of 1,649.2 kg·ha⁻¹, 7,923.30 kg·ha⁻¹ and 4,786.20 kg·ha⁻¹ (combined); derived from their percentage of incidence of 23.67, 52.41 and 38.04 %, and from their severity index of 52.48 and 47.21 and 38.04, respectively. In the combined analysis, the yield of huitlacoche was higher at 166,666 plants·ha⁻¹ (3,592.10 kg·ha⁻¹) than at 62,500 plants·ha⁻¹ (960.2 kg·ha⁻¹), instead of the production of fungus per plant was similar in both densities (0.02 kg·planta⁻¹) of 30G40 hybrid.

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

INTRODUCCIÓN

El huitlacoche o huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) es un hongo comestible que se consume principalmente en la región de los Valles Altos de México. Valverde y Paredes-López (1993) determinaron que contiene proteína de alta calidad y de bajo riesgo para el consumo humano. El hongo

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

En ensayos experimentales y comerciales a cielo abierto, los mejores rendimientos se obtienen cuando se inocula la mazorca en etapa de jilote, alcanzándose hasta 12 t·ha⁻¹ de hongo fresco (Martínez-Martínez *et al.*, 2000).

La producción artificial de huitlacoche requiere que la variedad de maíz (hospedero) sea susceptible al hongo, que la cepa del patógeno sea virulenta y que el ambiente sea favorable, con un 80-85 % de humedad relativa y una temperatura de 16-32 °C (Villanueva *et al.*, 1999; Martínez-Martínez *et al.*, 2000).

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

Villanueva *et al.* (1999) encontraron que existe variación patogénica del hongo; dado que la infección y desarrollo del mismo está en función de la habilidad del patógeno, la susceptibilidad del hospedante y su interacción con el ambiente (Christensen, 1963). Estos mismos autores evaluaron la técnica de inoculación, la cual constituye un factor importante para favorecer el desarrollo del hongo en el interior del jilote.

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

En el desarrollo del huitlacoche en maíz cultivado a cielo abierto durante el temporal de lluvias, la distribución de la precipitación difiere de un año a otro. En algunos años se obtienen precipitaciones espaciadas, las cuales pueden coincidir con el periodo de infección y desarrollo del hongo, lo que afecta negativamente la producción del hongo (Villanueva *et al.*, 2007).

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

Una buena alternativa para obtener consistentemente las condiciones ambientales favorables para producir huitlacoche, es cultivar el maíz bajo condiciones controladas de humedad relativa y temperatura; lo cual es posible en un invernadero equipado para controlar dichos factores.

La presente investigación se realizó con el objetivo de identificar híbridos comerciales adecuados y densidades apropiadas de población de plantas para maximizar la producción artificial de huitlacoche hidropónico en invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del sitio experimental

Los experimentos se establecieron en un invernadero del Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, México a 19°29'27" LN y 98°52'23" LO, a una altitud de 2,240 m. El invernadero es de cubierta

plástica equipado para incorporar humedad al aire y modificar así la humedad relativa.

Diseño y arreglo experimental

La investigación constó de dos experimentos. El primero incluyó la evaluación de cuatro híbridos (H-58, 30G40, H-161 y Cándor) a una densidad de 62,500 plantas·ha⁻¹ y se estableció en diciembre de 2005, en un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. La unidad experimental fue de tres surcos de 10 m de largo con una planta cada 40 cm y surcos separados cada 40 cm.

En junio de 2006, se estableció el segundo experimento en un diseño completamente al azar con siete tratamientos (los híbridos: Gavilán, H-48 y H135, adicionales a los cuatro anteriores) y cuatro repeticiones. La unidad experimental fue de 4 surcos de 10 m de largo con una planta cada 20 cm y surcos separados cada 30 cm (166,666 plantas·ha⁻¹). En ambos experimentos, cada híbrido se inoculó con un aislamiento de huitlacoche, obtenido de elotes infectados de cada correspondiente híbrido.

Manejo de los experimentos

La siembra en el primer experimento, se hizo de forma manual en acolchado plástico con perforaciones cada 30 cm con tres surcos por cama de 1.2 m de ancho (surcos separados cada 40 cm); y en el segundo experimento, las perforaciones del acolchado plástico estuvieron cada 20 cm en cuatro hileras (surcos) en camas de 1.2 m, separadas a 30 cm. Se aplicó la solución nutritiva hidropónica universal de Steiner (1961) con una cinta de riego con goteros cada 20 cm. La solución nutritiva (riego) se aplicó dos veces al día, a las 9 am y a las 4 pm en el primer experimento, durante 5 min en la etapa vegetativa y durante 10 min en la etapa reproductiva del cultivo; y en el segundo experimento se aplicaron cuatro riegos diarios: 9:00, 12:00, 15:00 y 18:00 h durante 10 y 15 min de duración en las etapas vegetativa y reproductiva, respectivamente.

Durante el periodo de infección y desarrollo del hongo, se aplicó agua por aspersión arriba el follaje, para aumentar la humedad relativa y favorecer el desarrollo del hongo.

Inoculación

El inóculo se obtuvo a partir de cepas derivadas de cada uno de los híbridos, por lo que se consideraron apropiados para cada uno de ellos. Las cepas se reactivaron e incrementaron en cajas de Petri con medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar).

El inóculo se preparó al ajustar en agua destilada estéril a una concentración de 10⁶ esporodias·ml⁻¹. La fecha de inoculación para el primer experimento fue en marzo de 2006 y septiembre de 2006 para el segundo experimento. La inoculación se realizó en etapa de jilote en tres puntos equidistantes a lo largo del mismo (Villanueva *et al.*, 2007).

Durante el periodo de infección la temperatura se mantuvo entre 26 y 32 °C y la humedad relativa alrededor de 70 %.

Caracteres estudiados

Los caracteres estudiados fueron: severidad medida en porcentaje (SEV_i), rendimiento por cada clase de severidad (RSEV_i) en kilogramos, porcentaje de incidencia (PI), índice de severidad (ISE; porcentaje del elote cubierto por agallas de huitlacoche) que es el porcentaje de la mazorca cubierta por agallas, rendimiento promedio por planta inoculada (RPLINC; kg), rendimiento promedio por planta infectada (RPLINF; kg), rendimiento total (RT; kg) de huitlacoche limpio, sin olote y sin granos de elote. Estas variables se registraron por parcela, excepto RPLINC (kg) y RPLINF (kg). Rendimiento por hectárea (RHA en kg). Los datos de rendimiento se pudieron obtener en promedio a los 30 días posteriores a la inoculación.

CUADRO.1 Proporción de la mazorca (%) cubierta por agallas según la categoría de severidad.

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

La medición de severidad (SEV_i), consideró la proporción del elote cubierto con las "agallas" del hongo (Villanueva *et al.*, 1999) y sirvió de base para calcular el índice de severidad (ISE; porcentaje del elote cubierto por "agallas" de huitlacoche) (Cuadro 1).

El porcentaje de incidencia (PI) se obtuvo al dividir el total de elotes infectados en la unidad experimental entre el total de elotes inoculados, y multiplicado por 100; como sigue: $PI = [(No. \text{ Elotes con SEV2}) + \dots + (No. \text{ Elotes con SEV5}) / \text{Total de elotes inoculados}] \times 100$.

El índice de severidad (ISE) se obtuvo con base en Villanueva *et al.*, (1999), mediante la expresión: $ISE = [(NESEV1 \times 0 + NESEV2 \times 0.25 + NESEV3 \times 0.50 + NESEV4 \times 0.75 + NESEV5 \times 1.0) / PLIF] \times 100$; donde, NESEV_i = número de elotes para cada categoría de severidad.

Los rendimientos por hectárea de huitlacoche de los experimentos 1 y 2 (RHA1 y RHA2 respectivamente) se calcularon mediante: $RHA1 = RPLINC \times 62,500 \text{ plantas} \cdot \text{ha}^{-1}$ y $RHA2 = RPLINC \times 166,666 \text{ plantas} \cdot \text{ha}^{-1}$, donde RPLINC: rendimiento de huitlacoche por planta inoculada en cada experimento.

Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza utilizando el paquete estadístico SAS para ambos experimentos, con

el siguiente diseño completamente al azar: $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$; donde $i = 1, \dots, t$ (tratamientos); $j = 1, \dots, r$ (repeticiones); Y_{ij} = valor observado del tratamiento (híbrido de maíz) i , en la repetición j ; μ : media general del experimento; T_i = efecto del i -ésimo tratamiento (híbrido); e_{ij} = efecto aleatorio del error experimental asociado a la observación ij .

Además, se realizó un análisis de varianza combinado, en promedio de los dos experimentos, usando la información proporcionada por cuatro híbridos comunes en ambos experimentos. De tal manera que se pudo analizar como un factorial 4 (híbridos) x 2 (densidades), bajo el modelo lineal $Y_{ijk} = \mu + T_i + D_k + TD(ik) + e_{ijk}$, donde $i = 1, \dots, t$ (tratamientos); $k = 1, \dots, d$ (densidades de siembra); $j = 1, \dots, r$ (repeticiones); Y_{ijk} = valor observado del tratamiento (híbrido de maíz) i en la densidad k y en la repetición j ; μ = media general; T_i = efecto del i -ésimo tratamiento (híbrido); D_k = efecto de la k -ésima densidad de siembra; $TD(ik)$ = efecto de la interacción del i -ésimo tratamiento con la k -ésima densidad; e_{ijk} = efecto aleatorio del error experimental asociado a la observación ijk .

Se realizaron comparaciones múltiples de medias mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CUADRO 2. Comparación de medias de la reacción de cuatro híbridos de maíz a la inoculación huitlacoche en ocho caracteres evaluados.

Carácter / Híbrido	H-58	30G40	H-161	Cóndor	DMSH _{0.05}
SEV1	68.25a	57.25b	57.00b	57.70ab	10.67
SEV2	4.25a	8.25a	9.50a	9.50a	5.97
SEV3	4.25a	4.75a	5.25a	4.50a	10.23
SEV4	0.00b	3.50a	2.50a	2.00ab	2.04
SEV5	0.00a	1.25a	1.00a	1.25a	1.42
PI	9.00b	23.67a	24.00a	23.00ab	14.23
ISE	4.25a	11.08a	10.42a	9.83a	8.04
RHA1	212.50b	1649.20a	941.70ab	1037.50ab	877.95

Medias de híbridos para un mismo carácter dentro de las filas con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey). DMSH_{0.05}: diferencia mínima significativa honesta. SEV1, ..., SEV5: grados de severidad con 0, 25, 50, 75 y 100 % del elote cubierto por agallas, respectivamente; PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad (% promedio del elote cubierto por agallas) y RHA1: rendimiento en kg·ha⁻¹ en invernadero.

Experimento 1. Cuatro híbridos.

Existieron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) entre híbridos para SEV4, rendimiento de hongo con mazorcas con grado de severidad RSEV4 y rendimiento por hectárea (RHA1; kg).

Los híbridos 30G40, H-161 y Cóndor presentaron la mayor expresión en los grados de severidad SEV2 (8.25, 9.50 y 9.50 %) SEV3 (4.75, 5.25 y 4.50 %) y SEV5 (1.25,

CUADRO 3. Comparación de medias de la reacción de siete híbridos de maíz a la inoculación con huitlacoche en ocho caracteres evaluados.

Carácter	Híbrido							DMSH _{0.05}
	H-58	30G40	H-161	Cóndor	Gavilán	H-48	H-135	
SEV1	126.75ab	86.50b	167.00a	153.75a	154.00a	101.00ab	144.25ab	66.79
SEV2	11.50ab	26.50a	4.75b	0.25b	4.75b	1.50b	1.75b	18.31
SEV3	16.25a	21.50a	4.00b	1.25b	3.00b	0.00b	4.75b	7.01
SEV4	7.50b	25.25a	2.75b	...0.00b	0.75b	0.00b	4.75b	9.83
SEV5	5.00bc	10.75a	2.75bc	0.25c	0.00c	0.00c	6.75ab	5.70
PI	24.21b	52.41a	7.88c	1.07c	5.35c	1.47c	11.18c	3.82
ISE	54.00abc	52.25abc	58.25abc	39.38ab	38.39bc	25.00c	73.20a	3.82
RHA2	4664.70b	7923.30	1583.90cd	196.70d	576.70cd	66.30d	2306.20c	3.82

Medias con la (s) misma (s) letra (s) son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey DMSH_{0.05}: diferencia mínima significativa honesta. SEV1,..., SEV5: grados de severidad con 0, 25, 50, 75 y 100 % del elote cubierto por agallas, respectivamente; PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad (% promedio del elote cubierto por agallas) y RHA2: rendimiento, kg·ha⁻¹ de hongo en el experimento de dos.

1.00 y 1.25 %) con medias estadísticamente iguales; sin embargo, para el grado de severidad SEV4 los híbridos 30G40 y H-161 tuvieron la mayor expresión (3.50 y 2.50) (Cuadro 2).

En cuanto a porcentaje de incidencia (PI), los híbridos 30G40 y H-161 fueron los superiores (23.67% y 24.00%).

El índice de severidad fue estadísticamente igual ($p \leq 0.05$) en los cuatro híbridos evaluados, pero en general 30G40 fue superior en cuanto a rendimiento de hongo en el experimento uno (1,649.20 kg·ha⁻¹) (Cuadro 2).

Experimento 2. Siete híbridos.

El híbrido 30G40 presentó los valores más altos en los grados de severidad SEV2 (26.50 %), SEV3 (21.50 %), SEV4 (25.25 %) y SEV5 (10.75 %); en tanto que los híbridos Cóndor, Gavilán y H-48 mostraron los valores más bajos en dichos caracteres lo que se reflejó en un menor rendimiento del hongo respectivamente (Cuadro 3).

En los caracteres porcentaje incidencia (PI; 52.41%) y rendimiento·ha⁻¹ de hongo del experimento dos RHA2 (7923.30 kg·ha⁻¹), el híbrido 30G40 fue superior que el resto de los evaluados (Cuadro 3).

El híbrido 30G40 (7923.3 kg) fue estadísticamente

superior a los demás en rendimiento por hectárea, seguido del H-58 (4664.7 kg) (Cuadro 3).

Análisis combinado

Hubo diferencias altamente significativas entre híbridos para rendimiento·ha⁻¹, así como entre densidades para los grados de severidad SEV3, SEV4 y SEV5.

No se tienen antecedentes de estos híbridos para producir huitlacoche artificialmente en condiciones de invernadero, debido a que la mayoría de los estudios en los que se ha evaluado germoplasma para producción comercial de huitlacoche, se refieren a cielo abierto donde la producción máxima obtenida es de 14 t·ha⁻¹ (Martínez-Martínez *et al.*, 2000). En otros experimentos se han evaluado genotipos, que en su mayoría son maíces dulces susceptibles inoculados bajo condiciones ambientales favorables de campo abierto (Pan *et al.*, 2008).

Los ensayos que se han realizado en invernadero, por lo general se refieren a estudios fitopatológicos. Thakur *et al.* (1989) determinaron que la fecha de cosecha del huitlacoche varía en híbridos de maíz dulce de 12 a 25 días; lo que difiere de los 30 días promedio requeridos para cosechar el huitlacoche en este estudio; los mismos autores también mencionan que la incidencia obtenida en

CUADRO 4. Comparación de medias de cuatro híbridos de maíz a la inoculación con huitlacoche en ocho caracteres evaluados. Análisis combinado.

Carácter	Híbrido				DMSH _{0.50}
	H-58	30G40	H-161	Cóndor	
SEV1	95.50b	71.87c	112.00a	105.75ab	13.94
SEV2	7.87ab	17.37a	7.00ab	4.85b	10.56
SEV3	10.25ab	13.12a	4.87bc	2.87c	6.02
SEV4	3.75b	14.37a	2.65b	1.00b	5.53
SEV5	2.50b	6.00a	1.87b	0.75b	3.03
PI	16.61b	38.04a	15.94b	12.03b	8.47
ISE	72.00a	49.85a	250.48a	50.94a	70.72
RHA	2438.60b	4786.20a	1262.80c	617.10c	1011.30

Medias con la (s) misma (s) letra (s) son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey DMSH_{0.05}: diferencia mínima significativa honesta. SEV1,..., SEV5: grados de severidad con 0, 25, 50, 75 y 100 % del elote cubierto por agallas, respectivamente; PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad (% promedio del elote cubierto por agallas) y RHA: rendimiento, kg·ha⁻¹ de hongo.

la mayoría de los híbridos más susceptibles es del 39 % y que sólo en un híbrido se obtuvo el 73 %, incidencias que son menores a las obtenidas en el presente trabajo.

El 30G40 presentó el valor más bajo en el carácter SEV1 (cero % del elote cubierto por agallas), de todos los híbridos inoculados; lo que se reflejó en un mayor rendimiento por hectárea (4,786.20 kg). En contraste, el híbrido Cóndor presentó el menor rendimiento·ha⁻¹ (617.10 kg) (Cuadro 4).

En la comparación de medias de los tratamientos el híbrido 30G40 mostró la mayor expresión en casi todos los caracteres evaluados.

CUADRO 5. Comparación de medias de dos densidades de población para ocho caracteres de la reacción de maíz a huitlacoche, según el análisis combinado de dos años de evaluación de cuatro híbridos.

Carácter/ Densidad	62,500 plantas·ha ⁻¹	166,666 plantas·ha ⁻¹	DMSH _{0.05}
SEV1	60.06b	133.50b	7.37
SEV2	7.81a	10.75a	5.59
SEV3	4.69b	10.75a	3.19
SEV4	2.00b	8.88a	2.93
SEV5	0.88b	4.69	1.60
PI	55.61a	21.39a	4.89
ISE	55.61	56.03a	37.41
RHA	960.20b	3,592.10a	535.00

Medias con la misma letra son iguales, DMSH_{0.05}: diferencia mínima significativa honesta. Medias con la (s) misma (s) letra (s) son iguales, según la prueba de Tukey. SEV1,---,SEV5:grados de severidad con 0, 25, 50, 75 y 100 % del elote cubierto por agallas, respectivamente,; PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad (% promedio del elote cubierto por agallas) y RHA: rendimiento, kg·ha⁻¹ de hongo del análisis combinado.

CUADRO 6. Comparación de las dos densidades en cada híbrido y de los cuatro híbridos en cada densidad en el análisis combinado.

Carácter	Unidades	Densidad	H-58	30G40	H-161	Cóndor	DMSH _{0.05}	DMSH _{0.05}
SEV1	plantas	62,500	68.25ba	57.25ba	57.00ba	57.75ba	19.7	14.75
		166,666	126.75ab	86.50ac	167.00aa	153.75aa		
SEV2	plantas	62,500	4.25aa	8.25ba	9.25aa	9.50aa	14.93	11.18
		166,666	11.50ab	26.50aa	4.75ab	0.25ab		
SEV3	plantas	62,500	4.25aa	4.75ba	5.25aa	4.50aa	6.19	4.63
		166,666	16.25ba	21.50aa	4.00ab	1.25ab		
SEV4	plantas	62,500	0.00ba	3.50ba	2.50aa	2.00aa	7.82	5.86
		166,666	7.50ab	25.25aa	2.75ab	0.00ab		
SEV5	plantas	62,500	0.00ba	1.25ba	1.00aa	1.25aa	4.28	3.21
		166,666	5.00ab	10.75aa	2.75abc	0.25ac		
PI	%	62,500	9.00ba	23.67ba	24.00aa	23.00aa	17.2	12.88
		166,666	24.21ab	52.41aa	7.88bbc	1.07bc		
ISE	%	62,500	90.00aa	47.21aa	42.71aa	42.50aa	99.98	74.85
		166,666	54.00aa	52.48aa	58.25aa	59.38aa		
RHA	kg	62,500	212.50bb	1649.17ba	941.67aab	1037.50aab	1429.71	1070.45
		166,666	4664.67ab	7923.28aa	583.86ac	196.67ac		

Medias de híbridos con la misma letra son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey. DMSH_{0.05}: diferencia mínima significativa honesta. La DMSH de la primera columna compara las medias en sentido **vertical** (las dos densidades en cada híbrido) y la DMSH de la segunda columna las compara en sentido **horizontal** (los cuatro híbridos en cada densidad); grados de severidad de cubrimiento de mazorca por agallas (SEV1, ..., SEV5); PI: porcentaje de incidencia, ISE: índice de severidad; RHA: rendimiento·ha⁻¹ de huitlacoche.

Densidades de población

La alta densidad produjo la mayor expresión en la mayoría de los caracteres evaluados. En rendimiento unitario de huitlacoche (RHA) las medias fueron 3,592 kg a 166,666 plantas·ha⁻¹ y 960.2 kg·ha⁻¹ a 62,500 plantas·ha⁻¹, como consecuencia mayores severidades en los grados SEV3, SEV4 y SEV5 (elotes con 50, 75 y 100 % cubiertos por agallas), lo que compensó al hecho de que la incidencia en alta densidad haya sido muy inferior (21.39 %) que baja densidad (55.61 %). Por lo que la alta densidad superó en rendimiento a la baja densidad con base en mayor severidad y número unitario de plantas (Cuadro 5).

Interacción híbridos-densidad de población

El enfoque que se le dio en este estudio, al análisis de la interacción híbridos x densidad de población fue el de desagregar el comportamiento de las dos densidades en cada híbrido (comparación de medias en sentido vertical, Cuadro 6) y el comportamiento de los cuatro híbridos en cada densidad (comparación de medias en sentido horizontal, Cuadro 6), respectivamente.

El híbrido 30G40 produjo el mayor rendimiento unitario de huitlacoche (RHA; kg) en alta densidad que en baja, el cual estuvo explicado por una significativamente mayor incidencia (PI; %) y mayor severidad (SEV2, SEV3, SEV4 y SEV5; 25, 50, 75 y 100 % del elote cubierto por agallas respectivamente) (Cuadro 6).

El porcentaje de incidencia fue mayor en 30G40 (52.41 %) en la densidad de 166,666 plantas·ha⁻¹ que en la menor densidad con 23.67 % (Cuadro 6).

Las medias para el índice de severidad (ISE) en los cuatro híbridos y densidades fueron estadísticamente iguales, donde H-58 sobresalió con 90 % de severidad a 62,500 plantas·ha⁻¹, en contraste con Cóndor (59.38 %).

La severidad 5 fue mayor para 30G40 a 166,666 plantas·ha⁻¹, y con 62,500 plantas·ha⁻¹ la medias fueron estadísticamente iguales en 30G40, H-161 y Cóndor, con 1.25, 1 y 1.25 plantas con este grado, respectivamente (Cuadro 6).

El híbrido 30G40 fue numéricamente el mejor con 7,923.28 kg·ha⁻¹, y media estadísticamente igual para H-58, H-161 y Cóndor en la densidad de 166,666 plantas·ha⁻¹, y para 62,500 plantas·ha⁻¹ el 30G40 con 1649.17 kg·ha⁻¹(Cuadro 6).

Con el incremento de la densidad se incrementó notablemente el rendimiento en los híbridos H-58 (4,664 kg·ha⁻¹) y 30G40 (7,923.28 kg·ha⁻¹); no así en los híbridos H-161 y Cóndor, donde ocurrió lo contrario (Cuadro 6) principalmente porque disminuyó drásticamente el porcentaje de incidencia (PI) en alta densidad; esta reducción pudo haber estado asociada a una disminución de la calidad del inóculo durante su almacenamiento prolongado (en aceite mineral) y manejo (varios subcultivos ocurridos antes de su inoculación), ya que son híbridos más tardíos.

El índice de severidad medido como el porcentaje de la mazorca cubierta con agallas, fue similar en los híbridos 30G40, H-161 y Cóndor, en las dos densidades de población ensayadas (62,500 y 166,666 plantas·ha⁻¹); mientras que el porcentaje de incidencia aumentó significativamente en 30G40 en alta densidad, pero disminuyó en H-161 y Cóndor.

CONCLUSIONES

En los dos ensayos realizados en invernadero con hidroponía para producir huitlacoche, el híbrido 30G40 fue estadísticamente superior (1,649.2 kg·ha⁻¹ a 62,500 plantas·ha⁻¹ y 7,923.30 kg·ha⁻¹ a 166,666 plantas·ha⁻¹), lo que fue explicado por mayores porcentajes de incidencia (52.41 y 23.67 %) e índice de severidad (52.48 y 47.21 %), respectivamente.

El híbrido 30G40 aumentó 134 % el rendimiento de huitlacoche al pasar de baja densidad de población (62,500 plantas·ha⁻¹) a alta (166,666 plantas·ha⁻¹).

El incremento de la densidad de plantas aumentó notablemente el rendimiento unitario de huitlacoche en los híbridos 30G40 y H-58; y la disminuyó en H-161 y Cóndor.

El índice de severidad (porcentaje de la mazorca cubierta con agallas) fue similar en las híbridos 30G40, H-161 y Cóndor, en las dos densidades de población ensayadas (62,500 y 166,666 plantas·ha⁻¹); no así el porcentaje de incidencia que aumentó significativamente en 30G40 en alta densidad y disminuyó en H-161 y Cóndor.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico durante los estudios de doctorado.

LITERATURA CITADA

- AGRIOS, G. N. 2005. Plant pathology, 5th ed. Academic Press. USA. 922 p.
- CHRISTENSEN, J. J. 1963. Corn Smut caused by *Ustilago maydis* Cda. The American Phytopathological Society. Department of Plant Pathology and Botany. Institute of Agriculture, University of Minnesota, St. Paul. 41 p.
- MARTÍNEZ-MARTÍNEZ. L.; VILLANUEVA-VERDUZCO, C.; SAHAGÚN-CASTELLANOS, J. 2000. Susceptibility and resistance of maize to the edible fungus huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) improving its virulence. Revista Chapingo Serie Horticultura 6 (2): 241-255.
- PAN J. J, BAUMGARTEN A. M.; MAY G. 2008. Effects of host plant environment and *Ustilago maydis* Cda. infection on the fungal endophyte community of maize (*Zea mays* L.) New Phytologist 178: 147–156
- PATAKY, J. K.; CHANDLER, M. A. 2003. Production of huitlacoche, *Ustilago maydis* Cda.: timing inoculation and controlling pollination. Mycologia 95: 1261-1270.
- STEINER, A. A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. Plant Soil 15: 134-154.
- THAKUR, R. P.; LEONARD, K. J.; PATAKY J. K. 1989. Smut gall development in adult plants inoculated with *Ustilago maydis* Cda. Plant Disease 73: 921-925.
- TISDALE, W. H.; JOHNSTON, C. O. 1926. A study of smut resistance in corn seedlings grown in the greenhouse. Journal of agricultural research 32(7): 649-668.
- VALVERDE, M. E.; PAREDES-LÓPEZ, O. 1993. Production and evaluation of some food properties of huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.). Food Biotechnology 7 (3): 207-219.
- VILLANUEVA C.; MOLINA J. D.; CASTILLO F.; ZAVALETA E. 1999. Artificial induction of "huitlacoche" (*Ustilago maydis* Cda.): influence of different conditions in the field. Micología Neotropical Aplicada 12: 41-47.
- VILLANUEVA, V. C.; SÁNCHEZ, R. E.; VILLANUEVA, S. E. 2007. El huitlacoche y su cultivo. Ed. Mundi Prensa, México. 96 p.