



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

**“Inoculación de Esporas de
Sphacelotheca reiliana, causante
del carbón de la espiga, para
Identificación de Germoplasma de
Maíz Susceptible”**

Tesis

que para obtener el grado de

**Maestro en Ciencias en Biosistemática
y Manejo de Recursos Naturales y
Agrícolas**

Presenta

Miguel Ángel Paniagua González

Zapopan, Jalisco

23 de Febrero de 2018

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA



Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

“Inoculación de Esporas de *Sphacelotheca reiliana*, causante del carbón de la espiga, para Identificación de Germoplasma de Maíz Susceptible”

Tesis que para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias en Biosistemática y Manejo de Recursos Naturales y Agrícolas

Presenta:

Miguel Ángel Paniagua González

Director

Dra. Martha Escoto Delgadillo

Zapopan, Jalisco

23 de Febrero 2018



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

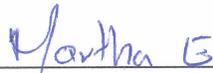
Inoculación de esporas de *Sphacelotheca reiliana*, causante del carbón de la espiga, para identificar germoplasma de maíz susceptible.

Por

Miguel Ángel Paniagua González

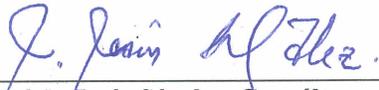
Maestría en Ciencias en Biosistemática y Manejo de Recursos
Naturales y Agrícolas

Aprobado por:



Dra. Martha Escoto Delgadillo
Director de Tesis e integrante del jurado

29/01/2018
Fecha



Dr. José de Jesús Sánchez González
Asesor del Comité Particular e integrante del jurado

29/1/2018
Fecha



Dr. Lino De la Cruz Larios
Asesor del Comité Particular e integrante del jurado

29/01/2018
Fecha



Dr. Eduardo Rodríguez Guzmán
Sinodal del Comité Particular e integrante del jurado

29/1/18
Fecha



M en C. Carlos León Ochoa
Sinodal del Comité Particular e integrante del jurado

21/1/18
Fecha

DEDICATORIA

A mis Padres y hermanos:

Miguel Angel Paniagua Rodriguez, Ofelia Gonzalez Flores, Daniel, Serena porque es mi tesoro más preciado, se conforma por las personas que más quiero en el mundo; estas personas son dignas de todos los orgullos, y merecen siempre destacarse por sus excelentes virtudes. Sus enseñanzas me han hecho quien soy actualmente, y me han orientado hacia las sendas correctas, llenas de valores y ética.

A mi Esposa e Hijas:

María Belem Hernandez Urueta, María Fernanda y María José, que son el amor de mi vida y fuente de inspiración, les agradezco su apoyo incondicional para continuar mis planes profesionales sin pensar en el tiempo que les he quitado.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad de Guadalajara por la formación académica recibida.

A los Drs. de la maestría BIMARENA Martha Escoto Delgadillo, José de Jesus Sanchez, José Ron Parra (†), Lino de la Cruz, Eduardo Rodriguez, Por su apoyo, participación y tiempo dedicado a este documento.

A los M. C. Carlos Leon por su colaboración, tiempo dedicado y sugerencias a la revisión de este documento, Juan Manuel Cruz, por la oportunidad y apoyo para consolidar mis estudios de maestría.

A la empresa Monsanto por la oportunidad brindada se seguir creciendo y formar parte de ella, así como a todas las personas que no pueden ser nombrados por que la lista sería muy extensa, gracias a todos por su profesionalismo y excelente trabajo.

ÍNDICE

LISTA DE CUADROS.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
III. OBJETIVOS.....	4
General.....	4
Específicos.....	4
IV. HIPÓTESIS.....	5
V. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
Maíz y su importancia.....	6
Principales enfermedades en el maíz.....	7
Enfermedad del carbón de la espiga.....	8
Síntomas y signos del carbón de la espiga.....	9
Agente causal del carbón de la espiga y generalidades.....	11
Ciclo de infección de la enfermedad de carbón de la espiga.....	14

Factores que favorecen el desarrollo de <i>Sphacelotheca reiliana</i>	16
Importancia económica.....	17
Control del carbón de la espiga.....	18
Métodos de inoculación.....	20
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.	23
Ubicación del sitio experimental.....	23
Material vegetal.....	23
Diseño experimental.....	25
Obtención del patógeno.....	25
Preparación del inóculo e inoculación.....	25
Viabilidad.....	26
Tratamientos.....	26
Siembra y labores agronómicas	27
Fase 1.....	28
Fase 2.....	29
Evaluación.....	29
Condiciones climáticas.....	30
Pruebas estadísticas.....	30
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	31

Viabilidad de las esporas.....	31
Inoculación del sustrato, Fase 1.....	31
Análisis de datos de segunda etapa.....	33
VIII. CONCLUSIONES.....	42
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	43

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Taxonomía del Maíz.	6
Cuadro 2. Taxonomía de <i>Sphacelotheca reiliana</i>	12
Cuadro 3. Ejemplos de métodos de inoculación.	21
Cuadro 4. Localidades de las parcelas de evaluación y fechas de siembra.....	23
Cuadro 5. Características de los materiales utilizados.....	24
Cuadro 6. Resultados de concentración y porcentaje de esporas germinadas.....	31
Cuadro 7. Pruebas de normalidad.....	34
Cuadro 8. Pruebas de transformación logarítmica.....	35
Cuadro 9. Análisis GLMM para fechas de siembra.....	36
Cuadro 10. Significancia de los valores de F en el análisis de varianza con GLIMMIX...36	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Masa de esporas de carbón de la espiga.....	11
Figura 2. Teliosporas de <i>Sphacelotheca reiliana</i>	13
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Sphacelotheca reiliana</i>	16
Figura 4. Cuadrantes en la cámara de Neubauer con las esporas.	26
Figura 5. Método de inoculación	27
Figura 6. Características evaluadas.....	30
Figura 7. Registro de la temperatura y horas lluvia del municipio de San Juan de Abajo, Nayarit en el año 2014.	32
Figura 8. Porcentajes de Infección de la fase 1.	33
Figura 9. Registro de temperatura y humedad en el municipio de Nextipac, Jalisco durante el año 2015.....	34
Figura 10. Medías de infección por fechas en porcentaje.....	37
Figura 11. Porcentaje de infección de los híbridos y de controles.....	39

RESUMEN

El hongo *Sphacelotheca reiliana* es el agente causal de la enfermedad conocida como el carbón de la espiga del maíz. Los factores que influyen en el desarrollo de la enfermedad son entre otros la humedad y temperatura del suelo. Al tener mayor estrés por sequía hay más probabilidades de que desarrolle la infección en las plantas. La finalidad de este trabajo es mejorar el procedimiento de inoculación de carbón de la espiga en el maíz con *Sphacelotheca reiliana* para identificar germoplasma susceptible y resistente a la enfermedad. Se introdujo 1.5 gr de esporas en un pellet de sustrato de fibra de coco. El experimento se sembró en dos fases: la primera se sembró en un suelo libre de esporas que causan la enfermedad del carbón de la espiga, se sembraron tres híbridos susceptibles y una línea pura susceptible a los 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación. La segunda fase, se sembró en un predio con registro de la enfermedad, en tres fechas de siembra. Se sembraron 15 híbridos con cinco repeticiones (cuatro con inoculación y un testigo). Durante la etapa de madurez de la planta, se examinó la espiga y la mazorca para encontrar malformaciones y se obtuvo el total de plantas infectadas. La fase 1 mostró que a los 25 días después de la inoculación todos los híbridos muestran la mayor infección. En la fase 2, se encontró que el mayor porcentaje de infección se observó en la primera fecha con un promedio de 32.5 % en la segunda fecha con un promedio de 19.1% y la tercera fecha con un promedio de 0.0002%. Los híbridos experimentales presentaron los más altos porcentajes de infección, en tanto que los híbridos DK2017 y DK2061 mostraron los valores más bajos de infección. El método de inoculación propuesto funciona mejor a bajo costo y menor infraestructura comparado con los reportados en la literatura. La fecha de siembra influye en el desarrollo de la infección.

ABSTRACT

The fungus *Sphacelotheca reiliana* is the causal agent of the disease known as head smut in maize. The factors that influence the development of the disease are, among others soil moisture and temperature. Having more stress due to drought there is more probabilities to develop the infection in plants. The purpose of this work is to improve the inoculation procedure of head smut in maize with *Sphacelotheca reiliana* to identify germplasm susceptible and resistant to the disease. 1.5 g of spores was introduced into a coconut fiber substrate pellet. The experiment was planted in two phases: the first was planted in a soil free of spores that cause head smut disease, three susceptible hybrids and a pure line susceptible were sown at 15, 20, 25 and 30 days after inoculation. The second phase was planted in a field with disease register, in three sowing dates. Fifteen hybrids were planted with five replicates (four with inoculation and one control). During the stage of plant maturity, the tassels and corn cobs were examined to find malformations and the total number of infected plants was obtained. Phase 1 showed that 25 days after inoculation, all the hybrids showed the highest infection. In phase 2, it was found that the highest percentage of infection was observed on the first date with an average of 32.5% on the second date with an average of 19.1% and the third date with an average of 0.0002%. The experimental hybrids presented the highest percentage of infection, while the hybrids DK2017 and DK2061 showed the lowest percentage of infection. The proposed inoculation method works better at low cost and less infrastructure compared with reported in the literature. Sowing date influences the development of infection.

I. INTRODUCCIÓN

El carbón de la espiga es una enfermedad de importancia económica a nivel mundial que afecta al maíz. Es causada por *Sphacelotheca reiliana*. Es un patógeno biotrófico, que puede infectar el maíz por la invasión de la raíz durante la etapa inicial de las plántulas, destruye la inflorescencia masculina y femenina sustituyéndolas por una masa polvorienta de esporas (Zhang y cols, 2013).

Se tiene registro de carbón de la espiga en todas las zonas productoras de maíz a nivel mundial con diferente nivel de contaminación, lo que causa enormes pérdidas económicas a los agricultores (Yu y cols, 2014). Desde la década de 80s, se ha convertido en una limitante en la producción de semilla y grano comercial de maíz. Se tiene registro de hasta 80% de contaminación y pérdidas de rendimiento (Lübberstedt y cols, 1999; Yu y cols, 2014).

En México, esta enfermedad se encuentra presente en los estados de Jalisco, Durango, Chihuahua, Hidalgo, Puebla, Querétaro, Guanajuato, Michoacán, Oaxaca, Sonora, Tamaulipas y Aguascalientes (Aquino y cols, 2011; Quezada y cols, 2013). En el estado de México se ha estimado una reducción en el rendimiento hasta del 15 % en variedades e híbridos susceptibles, en el Bajío, ocasiono pérdidas del 30% (CESAVEM, 2015; Ramírez y cols, 2011). Recientemente la enfermedad se ha reportado en teocintle y en cultivares criollos poniendo en riesgo la diversidad genética del maíz. En México la incidencia oscila desde 0.1 hasta 40% (Ramírez y cols, 2011).

Las esporas son viables en el suelo hasta por 10 años (Sánchez Pale y cols, 2015). Temperaturas en el suelo entre 21 y 28 °C y humedad entre 15 y 25 % favorecen la infección (Pataky, 1999; Ramírez y cols, 2011). Con los recientes cambios climáticos se están favoreciendo las condiciones ideales para el desarrollo de la enfermedad en zonas que no se tenía registro.

Es una enfermedad sistémica que afecta la espiga con deformación y crecimiento excesivo. Se manifiesta en mazorcas pequeñas, suaves y redondas donde el grano es remplazado parcial o totalmente por una masa polvorienta negra o soros (esporas del hongo), está

cubierta por la hoja del maíz. Los soros son estructuras fructíferas que contienen teliosporas, las cuales en el siguiente ciclo de cultivo germinan en el suelo, que penetra la raíz de las plántulas de maíz e invade los tejidos en forma sistémica hasta llegar al meristemo apical (Martínez y cols, 1999).

La principal estrategia para controlar la enfermedad es la aplicación de fungicidas a la semilla para evitar que el patógeno entre en contacto con el huésped (Aquino Martínez y cols, 2011; Álvarez Cervantes y cols, 2016). Existen varias recomendaciones para el manejo de la enfermedad, entre las que destacan la rotación de cultivos, sin embargo, ni los tratamientos ni las recomendaciones controlan la enfermedad (Wright y cols, 2006; Prom y cols, 2014).

La resistencia genética es la alternativa más factible y económica para el manejo de la enfermedad, pero es necesario desarrollar un híbrido tolerante de maíz con alto rendimiento (Aquino y cols, 2011; Zuo y cols, 2015; Álvarez Cervantes y cols, 2016).

Se han intentado varios métodos de inoculación artificial. Que van desde la siembra con mezclas de las esporas en el suelo hasta la inoculación de esporas dentro de la semilla con distintas técnicas (Quezada Salinas y cols, 2013). Pero con todas estas técnicas se han encontrado porcentajes muy variables de infección, lo que limita su uso y reproducibilidad en campo.

Por lo tanto, si los resultados de la inoculación artificial son consistentes con los obtenidos en condiciones de infección natural, se podría seleccionar variedades que sean resistentes a la enfermedad del carbón de la espiga.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Históricamente las enfermedades y su dinámica han sido limitantes de la productividad agrícola. La introducción de materiales extranjeros principalmente de origen tropical a México durante la década de los sesenta y setenta, aunado a las condiciones climáticas favorables, propició que en los ochentas se manifestara el carbón de la espiga.

Aunque la enfermedad no se clasifica como devastadora, tiene grandes pérdidas económica, afectando todas las variedades de maíz, se presentan perdidas que pueden alcanzar 40% del rendimiento de grano, al momento, no existen muchas líneas de maíz inmunes a la infección por *Sphacelotheca reiliana*.

El control químico del patógeno se basa en el tratamiento a la semilla con fungicidas sistémicos, el cual es costoso y no elimina por completo al hongo.

Sin embargo, por razones ecológicas y económicas, la resistencia genética es la alternativa más factible para el manejo de la enfermedad, pero es necesario identificar los genotipos de maíz con alto rendimiento y respuesta al carbón. Por ello se requieren técnicas de inoculación efectiva para promover la infección del hospedante por el patógeno

Por lo anterior, encontrar un método efectivo para la inoculación de éste patógeno permitirá identificar germoplasma susceptible y resistente al carbón de la espiga en maíz

III. OBJETIVOS

General

- Desarrollar un procedimiento eficaz de inoculación al carbón de la espiga del maíz con *Sphacelotheca reiliana* para identificar germoplasma susceptible y resistente a la enfermedad.

Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de fechas de siembra después de la inoculación en el sustrato y su relación con el grado de infección de plantas susceptibles.
- Evaluar el comportamiento de híbridos comerciales susceptibles a carbón de la espiga con y sin inoculo

IV. HIPÓTESIS

Si se mejora el procedimiento de inoculación a carbón de la espiga en maíz con *Sphacelotheca reiliana* podremos identificar el germoplasma que es susceptible y resistente a la enfermedad.

V. REVISIÓN DE LITERATURA

Maíz y su Importancia.

El maíz, *Zea mays* L., es uno de los granos alimenticios más antiguos que se conocen. Pertenece a la familia Poaceae (Gramíneas), la taxonomía del maíz se presenta en el Cuadro 1 (Valladares, 2010). Otras especies del género *Zea*, comúnmente llamadas teocintle y las especies del género *Tripsacum* conocidas como arrocillo o maicillo son formas silvestres parientes del maíz. Son clasificadas como del Nuevo Mundo porque su centro de origen está en América (FAO, 2001).

Cuadro 1. Taxonomía del Maíz.

Reino	Plantae
Phylum	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Género	<i>Zea</i>
Especie	<i>mays</i>

México es centro de diversidad genética del maíz, es el cultivo que más se produce en el mundo debido a sus cualidades alimenticias para la producción de proteína animal, el consumo humano y el uso industrial. Se ha convertido en uno de los productos más importantes en los mercados internacionales, por su relevancia económica y social supera a la de cualquier otro cultivo (Gómez Montiel y cols, 2016).

Durante el ciclo comercial 2016-2017 se alcanzó el nivel de producción mundial más alto de la historia, al totalizar 1,025.6 millones de toneladas. Por lo tanto, hubo un incremento anual de 3.2% en el consumo mundial. De esta producción se calcula que el 61.2% corresponde a consumo forrajero, 14.2% a consumo humano, el restante 24.6% a la industrial y semilla. Por otro lado, en México el consumo nacional de maíz grano aumentó 0.4% a tasa anual, para ubicarse en 38.7 millones de toneladas (FIRA, 2016).

La producción mundial para el ciclo 2016/17 indican un incremento de 5.3% respecto a la producción obtenida en 2015/16. Para 2016/17, el 76% de la producción mundial de maíz se concentró en cinco países: Estados Unidos (37%); China (21%); Brasil (8%) y con menores participaciones la Unión Europea y Argentina. En otras palabras, las condiciones climatológicas han sido favorables en las principales regiones productoras del mundo (USDA; FIRA, 2016).

México es el 8vo productor y el 5to consumidor a nivel mundial, la producción de maíz para grano durante el año agrícola 2015 creció a una tasa anual de 6.1% (24.69 millones de toneladas). Diez estados concentraron aproximadamente el 80% de la producción nacional de maíz grano. Sinaloa se ubica como el principal productor de maíz en el país con 21.8% (5.3 millones de toneladas); seguido por Jalisco con 13.5% (3.3 millones de toneladas); y el Estado de México con 8.2 % (2.0 millones de toneladas). El 51.5% del uso del maíz es para consumo humano y el 48.5% para la alimentación animal (IACON- SAGARPA y SIAP; FIRA, 2016).

Principales enfermedades en el maíz.

El maíz en los ambientes tropicales es atacado por un gran número de patógenos que causan importantes daños económicos a su producción. Se estima alrededor de 130 enfermedades que afectan al maíz en los trópicos, comparadas con 85 que ocurren en los ambientes templados (Paliwal y cols, 2001).

La guía de campo ilustrada para la identificación de las enfermedades más importantes del maíz, menciona 44 enfermedades causadas por hongos, tres por bacterias, 10 por virus y una por "mollicutes" (De León, 1984).

Algunas enfermedades son universales y ocurren en casi todos los ambientes en que se cultiva el maíz; estas incluyen los tizones, las royas y las manchas de las hojas y del tallo y la pudrición de la espiga. Hay algunas enfermedades que son de importancia regional pero que pueden causar importantes pérdidas económicas, por ejemplo, el enanismo del maíz en México y Latinoamérica (Paliwal y cols, 2001).

Las que se destacan son las enfermedades provocadas por hongos, dependiendo del daño que provocan se puede clasificar en tres:

Pudrición de semilla, raíz, tallo y mazorca. Estas enfermedades son causadas principalmente por complejo de hongos en las que destacan las causadas por *Fusarium*. Pueden reducir el rendimiento de la planta hasta en un 40% (Quiroz Figueroa y cols, 2014).

Enfermedades foliares. Las de mayor importancia son los tizones, las manchas y las royas de las hojas. Estas matan una importante área de la hoja y reducen de este modo la superficie fotosintetizadora. Por lo general, la planta no muere, sin embargo, la productividad se reduce. En el caso de los maíces forrajeros, el total de materia seca disminuye y la calidad del forraje es menor (Paliwal y cols, 2001).

Enfermedades de la inflorescencia. Existen cinco enfermedades que afectan distintas partes de la inflorescencia, incluyendo las flores, los ovarios en desarrollo y los granos. Estas son: punta loca (*Sclerophthora macrospora*), que afecta la espiga y a la planta; el carbón de la espiga (*Sphacelotheca reiliana*), que afecta la espiga y la mazorca; el falso carbón (*Ustilago virens*), que afecta solo la espiga; el carbón común (*Ustilago maydis*) que afecta sobre todo a la mazorca, y el cornezuelo (*Claviceps gigantea*) que afecta la mazorca (Paliwal y cols, 2001; Quiroz Figueroa y cols, 2014).

Uno de los principales problemas en el país es el carbón de la espiga, que aunque no es considerada una enfermedad devastadora, causa graves pérdidas en los rendimientos de maíz (Álvarez Cervantes y cols, 2016). Es un problema creciente en áreas de producción de semillas, así como en la producción de maíz de grano (Bernardo y cols, 1992). Puede ocasionar daños económicos significativos en zonas maiceras de altitud intermedia y clima templado. En campos infectados puede causar hasta el 80% de pérdidas.

Enfermedad del Carbón de la Espiga.

La enfermedad en los cultivos causada por los hongos representa un gran obstáculo para la agricultura en todo el mundo. El carbón de la espiga es una enfermedad fungosa que afecta todas las regiones de cultivo de maíz y maíz dulce, y constantemente causa pérdidas en las

áreas infectadas (Wright y cols, 2006).

La ocurrencia de carbón de la espiga está influenciada por condiciones ambientales en el suelo como la humedad, temperatura y el tipo del suelo (Matyac y Kommendahl, 1985).

La diseminación de esta enfermedad se da a través del viento, maquinaria agrícola, animales, así como por el agua de lluvia, y esporas adheridas a la semilla del maíz e incluso por el hombre. La rotación de cultivos donde se presenta la enfermedad debe realizarse por cinco años con otros cultivos que no sean hospederos del carbón (CESAVEM, 2015).

El hongo puede permanecer hasta por 10 años en el suelo (Sánchez Pale, 2015), así las plantas se infectan de la espora transmitida por el suelo durante la germinación de la semilla y la emergencia de las plántulas (Wright y cols, 2006). El hongo penetra por la raíz cuando la planta tiene una altura de 10 a 15 centímetros, (SAGARPA, 2016). La infección no ocurre después de este tiempo, y no hay propagación de la enfermedad de una planta a otra durante la temporada de crecimiento (Wright y cols, 2006).

Entre las alternativas para el manejo de esta enfermedad se encuentra el uso de variedades tolerantes y el tratamiento químico de la semilla con fungicidas (SAGARPA, 2016). Tanto el uso de las variedades de maíz tolerante como el tratamiento químico del suelo o la semilla han demostrado ser eficaces en el campo infectado, sin embargo, estos enfoques solo han retrasado la propagación del hongo. (Martinez y cols, 1999; Prom y cols, 2014).

Existen varios informes que tratan sobre el mecanismo de resistencia del maíz a esta enfermedad, y se han identificado varias razas fisiológicas de este hongo, un conocimiento de la biología del hongo es un requisito previo para el desarrollo de nuevas estrategias de control (Martinez y cols, 1999; Díaz Franco y Montes García, 2008).

Síntomas y Signos del Carbón de la Espiga

Esta enfermedad sistémica del maíz empieza en la etapa de la plántula y permanece asintomática hasta que la planta alcanza su etapa reproductiva (Fench y Schultz, 2010), ataca ambos tejidos florales masculino y femenino de la planta. El principal síntoma de esta enfermedad es la producción del hongo con una masa de esporas negra sustituyendo la

mazorca y en ocasiones la espiga de la planta huésped. (Martínez y cols, 2001). La enfermedad da como resultado la incapacidad de las plantas infectadas para producir grano (Prom y cols, 2011).

Antes de la aparición de las esporas en la mazorca se puede observar manchas cloróticas al reverso de las hojas y la acumulación de antocianinas en el vástago, estos síntomas son discretos y a menudo muy difícil de detectar en campo. Los síntomas adicionales como retraso en el crecimiento y filodia se observan en líneas e híbridos de maíz muy susceptibles (Martínez y cols, 2002).

La masa de esporas generalmente está cubierta por un tejido delgado, que se rompe para liberar las esporas secas y negras (teliosporas) que son diseminadas por el viento. Después de la ruptura de la masa de esporas, frecuentemente se observan en una masa enmarañada de hilos vasculares (Davis, 2016). Al infectar la espiga o la mazorca, estas pueden tener un crecimiento anormal y en la mazorca sustituir los granos por masas de teliosporas (Biswanath, 2017; Davis, 2016).

En la infección menos severa, la mazorca puede producir algunos granos normales y otras secciones pueden ser sustituidas por la masa de esporas. Ocasionalmente puede formarse en las hojas donde se desarrollan como rayas delgadas que son la masa de esporas (Biswanath, 2017; Davis, 2016).

Síntomas de la espiga

- Deformación y crecimiento excesivo
- Aparece una masa polvorienta negra, que son las esporas del hongo (Figura 1a)

Síntomas en la mazorca

- Mazorcas pequeñas, abultamiento, de consistencia suave y redondas, puede presentar malformaciones
- El grano es remplazado parcial o totalmente por una masa de esporas cubiertas por la hoja (CIMMYT, 2014; CESAVEM, 2015; SAGARPA, 2016) (Figura 1b).



Figura 1. Masa de esporas de carbón de la espiga. En la espiga (a) y en la mazorca (b)

Agente Causal del Carbón de la Espiga y Generalidades

Sphacelotheca reiliana es el agente causal del carbón de la espiga en el maíz. Es un hongo basidiomiceto fitopatógeno tanto biotrófico como dimórfico (Wollenberg y Schirawki, 2014).

Pertenece a la familia *Ustilaginaceae* y fue descrita por primera vez como *Ustilago reiliana* (Kühn) y luego renombrada como *Sphacelotheca reiliana* (Kühn). Por sus características genéticas observadas en diversos estudios, se clasificó en el género *Sporisorium* con dos subespecies: *Sporisorium reilianum* f. *Sp. reilianum* que es altamente virulento en sorgo, pero no produce esporas en maíz y *Sporisorium reilianum* f. *Sp. zae* que es virulento en el maíz, pero no produce carbonización de la espiga en el sorgo. (Cuadro 2) (McTaggart y

cols, 2012; Wollenberg y Schirawki, 2014; Álvarez-Cervantes y cols, 2016). Actualmente se conoce como *Sphacelotheca reiliana* (Index Fungorum, 2018) y se considera como sinónimo *Sporisorium reilianum*, y no se recomienda utilizarlo.

Cuadro 2. Taxonomía de *Sphacelotheca reiliana*

Reino	Fungi
Phylum	Basidiomycota
Subphylum	Ustilaginomycotina
Clase	Ustilaginomycetes
Orden	Ustilaginales
Familia	Ustilaginaceae
Género	<i>Sphacelotheca</i>
Especie	<i>Reiliana</i>

De acuerdo con Index Fungorum, 2018

El análisis de transcriptoma de hojas de maíz colonizadas por ambos patógenos mostró que la mayoría de los genes son inducidos con *Sporisorium reilianum* f. *Sp. zae* comparado con el de *Sporisorium reilianum* f. *Sp. reilianum*, mostrando que la especificidad del huésped está determinada por diferentes mecanismos en el sorgo y el maíz (Álvarez-Cervantes y cols, 2016).

Sphacelotheca reiliana al ser un hongo dimórfico cuenta con una fase de esporidios unicelulares saprofita y una fase multicelular de micelios filamentosos parasitarios. (Bhaskaran y Smith, 1995; Martínez y cols, 1999). La fase esporidial es monocariótica, mientras que la fase parásita es dicariótica (Wilson y Frederiksen, 1970).

El crecimiento esporidial se produce en varios medios de cultivo, pero el crecimiento filamentosos invasivo se ha observado sólo dentro de la planta huésped. Por lo tanto, es esencial para la patogenicidad la conversión de esporidial a micelial (Bhaskaran y Smith, 1994). Este hongo sobrevive en el suelo en forma de teliospora.

Las teliosporas son de forma esférica a subesféricas, equinuladas, con un diámetro de 9 a 11 μm , de color café amarillento, pero puede variar en un rango de pálido a rojo oscuro o negro, Figura 2 (Álvarez-Cervantes y cols 2016; French y Schultz, 2010).

Las teliosporas germinan a partir de basidios y esporidios que son unicelulares, hialinos y de 7 a 15 μm de diámetro. El carbón de la espiga se puede diferenciar del carbón común por la ausencia de un prominente peridermo blanco/gris. Además, a diferencia de otras especies de *Ustilaginaceae* tales como *Ustilago maydis*, *Sphacelotheca reiliana* sólo infecta el maíz a través de la raíz de la planta, Figura 2 (Biswanath, 2017).



Figura 2. Teliosporas de *Sphacelotheca reiliana*. Longitud del esporocarpio cca. 4 cm (1.6 pulgadas). Impresión de esporas en negro. Diámetro de las esporas :75 (SD = 16) x 62 (SD = 14) micras, n = 21. Dimensión de la espora 12.1 (SD = 0.8) x 10.9 (SD = 0.7) micras, Q = 1.07 (DE = 0.08), n = 30. Forma: esférica a subesférica, algunas ligeramente irregular, minuciosamente equinulado. Motic 2B-211A, aumento 1000X. http://eol.org/data_objects/25782432 Foto: Dr.Amadej Trnkoczy.

Las plantas solo son infectadas por las teliosporas que germinan en el suelo durante la emergencia de las plántulas. Cuando las teliosporas germinan dan origen a un basidio, formando basidiosporas tipo levadura. El apareamiento de células compatibles conduce a un micelio parasitario que infecta las raíces del maíz y crece hasta el ápice vegetativo (Martínez y cols, 1999).

El crecimiento del micelio hasta el meristemo apical es un paso clave en el desarrollo del

hongo. La esporogénesis depende de la presencia en el ápice del brote y, por tanto, en el meristemo floral. Esta es también una fase importante para el cultivo debido a que el nivel de colonización en el ápice del brote por el hongo puede causar la destrucción parcial o total de la mazorca después de la esporulación, dando lugar a la pérdida de rendimiento (Martínez y cols 1999).

Ciclo de Infección de la Enfermedad del Carbón de la Espiga.

El ciclo de vida de *Sphacelotheca reiliana* presenta dos fases, una levadura saprófita y una fase parásita de micelio. La transición entre las dos fases está relacionada con la sexualidad del hongo:

- (i) La transición entre la levadura y el micelio surge cuando las cepas haploides compatibles se aparean para formar hifas dicarióticas infecciosas,
- (ii) La transición del micelio diploide a la levadura haploide ocurre a través de la meiosis durante la germinación de teliosporas (Martínez y cols, 2002).

Sphacelotheca reiliana ocasiona una infección sistémica y la producción de soros que sustituyen parcial o totalmente a la espiga y mazorca durante la floración. Los soros envuelven las teliosporas del hongo (Aquino y cols, 2011).

Las teliosporas presentes en el soro de maíz contaminado son diseminadas principalmente por el viento. Pueden permanecer en el suelo por varios años y cuando la temperatura y la humedad del suelo son óptimos germinan (Martínez y cols, 2002; Álvarez Cervantes y cols, 2016).

Al igual que en otras especies de *Sphacelotheca*, las teliosporas germinan en el suelo como un basidio de cuatro cilindros (promicelio) que presenta su tabique inferior por encima de la pared celular de las teliosporas, (Martínez y cols, 2002). El núcleo se divide por meiosis y los cuatro núcleos resultantes pasan a las células laterales para formar cuatro basidiosporas haploides de diferente compatibilidad sexual, Figura 3 (Álvarez Cervantes y cols, 2016).

Cada basidio germina en una gran cantidad de basidiosporas haploides, que brotan como levadura para formar esporidios (Martínez y cols, 2002). Estos pueden permanecer en

forma saprófita. Se dice que en este momento el hongo está en su fase de levadura (Álvarez Cervantes y cols, 2016).

Cuando dos levaduras con diferente compatibilidad sexual producen y reconocen feromonas, pueden entrar en contacto con los tejidos jóvenes de una planta, formando un tubo de complementación que permite la fusión celular (somatogamia; Figura 3), (Álvarez Cervantes y cols, 2016).

Los esporidios haploides compatibles pueden fusionarse para dar hifas dicarióticas infecciosas (Martínez y cols, 2002). En este punto inicia la etapa infecciosa que está constituida por un micelio dicariótico septado (Álvarez Cervantes y cols, 2016).

La formación de un apresorio es crucial para la penetración, con la producción de enzimas líticas. Las hifas penetran al maíz por la raíz, *Sphacelotheca reiliana* degrada localmente la pared celular de la epidermis, lo que permite la penetración por la raíz y una invasión sistémica del maíz (Martínez y cols, 2002; Álvarez Cervantes y cols, 2016). La etapa de infección ocurre en los primeros 10 a 20 días de nacida la planta, y a 10 a 15 cm de profundidad del suelo (SAGARPA, 2016).

En la planta, se sabe poco y la mayoría de la información se refiere al estado del hongo en la inflorescencia del maíz con carbón. (Martínez y cols, 2002). Afecta principalmente a los órganos reproductivos, ya sean masculinos o femeninos, de la planta, donde la producción de teliosporas en el momento de la floración se manifiesta como masas carbonosas de coloración negra en la espiga y mazorcas de maíz, formando lo que comúnmente se conoce como soros o agallas (Álvarez Cervantes y cols, 2016). La esporulación en la mazorca puede ser independiente de los soros en la espiga, aunque las plantas con carbón apical generalmente llenan la mazorca con teliosporas del hongo (Aquino y cols, 2011).

Sphacelotheca reiliana forma hifas esporógenas, hifas partición entre bolas de esporas e hifas intercelulares no esporógenas. En el ápice del brote vegetativo, las hifas de *Sphacelotheca reiliana* se incrusta en una matriz de polisacáridos (Martínez y cols, 2002).

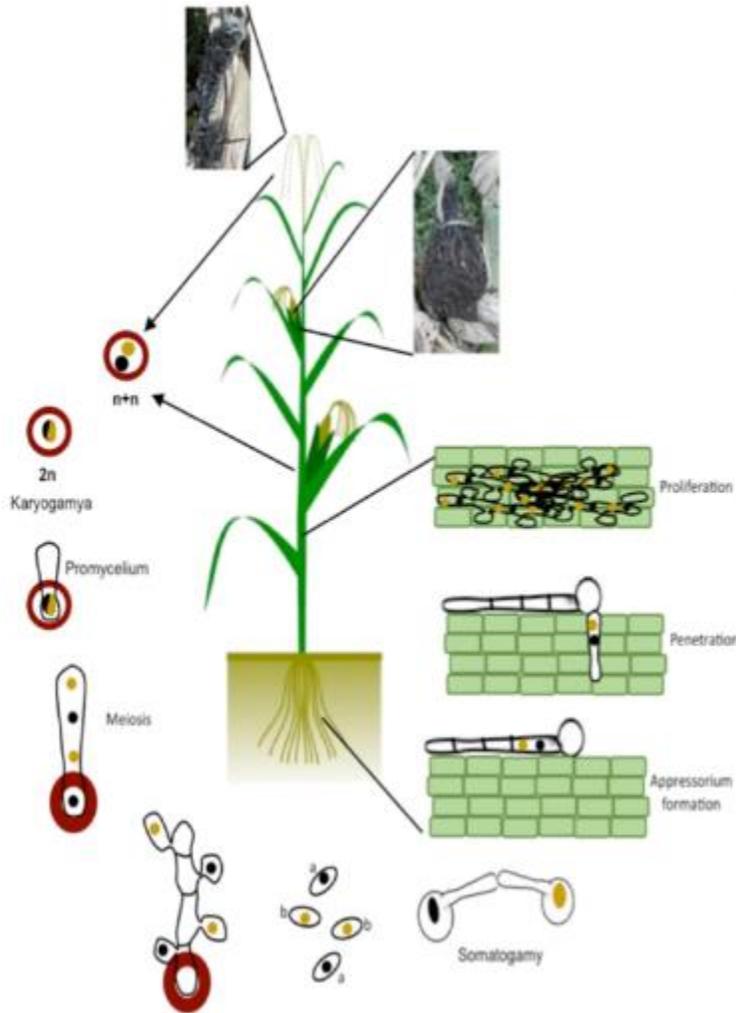


Figura 3. Ciclo de vida de *Sphacelotheca reiliana*. Muestra dos fases, una levadura saprófita y una fase parásita de micelio, las teliosporas son la principal fuente de difusión. Dos levaduras compatibles pueden fusionarse para dar hifas dicarióticas infecciosas. Afecta principalmente a los órganos reproductivos del maíz, donde produce teliosporas en el momento de la floración que se manifiestan como masas carbonosas de coloración negra en la espiga y mazorcas de maíz. (Álvarez Cervantes y cols, 2016).

Factores que Favorecen el Desarrollo de *Sphacelotheca reiliana*

Con los datos agronómicos disponibles para el desarrollo de la enfermedad, se sabe que se favorece cuando hay climas secos y fríos en el inicio de la temporada. Con estos climas, se beneficia el avance de las etapas iniciales de la enfermedad y se retrasa el crecimiento de la plántula de maíz. Una vez en la planta, los climas secos y calientes favorecen el desarrollo

del hongo. Las temperaturas ambientales entre los 23-30 °C son óptimas para la infección en el campo, probablemente debido a la máxima germinación de las teliosporas (Martínez y cols, 2000; CIMMYT, 2014).

El potencial hídrico es también un importante factor abiótico que afecta al desarrollo de microorganismos en el suelo. El contenido de la humedad en el suelo entre 15-25%, es ideal para el desarrollo de la infección en las plántulas. Diversos estudios han demostrado que más plántulas de maíz se infectaron cuando el crecimiento fue en el suelo con bajo potencial de agua. Esto tiene un efecto sobre la transición de basidiosporas a hifas, facilitando la fusión de cepas compatibles, Lo que conduce a una mayor gravedad de la enfermedad (Martínez y cols, 2000; Álvarez-Cervantes y cols, 2016; CIMMYT, 2014).

Los aspectos nutricionales también son importantes, la deficiencia de nitrógeno aumenta la infección, se ha registrado como más grave bajo condiciones de deficiencia de nitrógeno e identificándose con una tasa de incidencia menor en suelos arcillosos que los suelos arenosos (Álvarez-Cervantes y cols, 2016; CIMMYT, 2014).

El efecto del pH sobre el crecimiento de *Sphacelotheca reiliana* está todavía en discusión (Martínez y cols, 2000). La presencia de la enfermedad se tiene registrada principalmente en suelos ácidos.

Importancia Económica

En México, se ha reportado reducción en el rendimiento de grano de maíz de un 15-20% a causa de esta enfermedad en la mayoría de las variedades e híbridos comerciales (Aquino Martínez y cols, 2011; Sánchez Pale y cols, 2015). La incidencia del carbón de la espiga en el país ha oscilado desde 0.1 hasta el 40 %, en el resto del mundo existen reportes de incidencias de hasta 80% (Sánchez Pale y cols, 2015).

El problema más fuerte comenzó en la zona del Bajío alrededor de los años 60s (1958). Por la falta de cuidados tanto de los agricultores, empresas y de dependencias oficiales se fue presentando en varios estados del país. Por ejemplo en el valle de Zapopan la incidencia de la enfermedad fue aumentando hasta que 1981 se observó parcelas dañadas hasta el 40%.

El problema se agravó debido a que los híbridos que se sembraban en la región son de elevada capacidad de rendimiento pero muy susceptibles a la enfermedad. Por lo que los agricultores se mostraban renuentes a cambiar de semilla (Sánchez López, 1984). En esta misma región durante los años 1982-84 hubo incidencias de entre 70 a 80 % en materiales sembrados comercialmente (B666, B670, B680).

La enfermedad está presente en los estados de Jalisco, Durango, Hidalgo, Puebla, Querétaro, Guanajuato, Michoacán, Oaxaca, Sonora, Tamaulipas y Aguascalientes, entre otros (Aquino Martínez y cols, 2011).

Las pérdidas económicas resultantes de la infección de las variedades susceptibles se deben al retraso en el crecimiento de la planta y a que los soros de carbón de la espiga remplazan las inflorescencias (Frederiksen, 1977).

Control del Carbón de la Espiga

El manejo del carbón de la espiga tiene tres enfoques

1. Variedades resistentes. La resistencia del maíz a *Sphacelotheca reiliana*, está bajo control poligénico (Yu y cols, 2014), se ha reportado variedades e híbridos de maíz tolerantes a éste hongo. También se recomienda utilizar variedades con una rápida emergencia de las plántulas para escapar de la infección de la enfermedad (Quezada Salinas y cols, 2013).

2. Métodos culturales. Plantar el maíz durante las estaciones que son desfavorables para la germinación de las teliosporas, puede reducir la infección. Con una fertilización del suelo adecuada, se puede reducir la severidad de la enfermedad, se ha reportado que el carbón de la espiga es más severo bajo condiciones de estrés por nitrógeno. Eliminar el soro de esporas antes de su ruptura, limita la propagación del inóculo (Biswanath, 2017). La rotación de cultivos, el cuidado y la limpieza de la maquinaria agrícola pueden ayudar a reducir la incidencia de la enfermedad.

3. Fungicidas. Se han utilizado para controlar eficazmente carbón de la espiga el tratamiento de semillas con fungicidas sistémicos y tratamientos en el surco con fungicidas.

El tratamiento con fungicidas en el surco no es económico con una baja incidencia de la enfermedad o para la producción de granos (Biswanath, 2017).

Debido a que *Sphacelotheca reiliana* infecta durante la germinación y en las primeras etapas del desarrollo de la planta, la principal estrategia para controlar la enfermedad es la aplicación de fungicidas a la semilla para evitar que el patógeno entre en contacto con el huésped. Sin embargo, es costoso y no elimina por completo al hongo (Aquino Martínez y cols, 2011; Álvarez Cervantes y cols, 2016).

No obstante, se ha observado que algunos productos químicos pueden retardar el crecimiento de las plantas y otros reducir la germinación de las semillas (Aquino Martínez y cols, 2011; Álvarez Cervantes y cols, 2016). Sánchez López, (1984) concluye que con los fungicidas propiconazol (Tilt) y triadimenol (Baytan), puede erradicar la germinación de las teliosporas que invernan en el suelo y así reducir la fuente de inóculo del patógeno con la dosis más apropiada, también menciona Baytan y Tilt mostraron ser efectivos pero mostraron algo de toxicidad con dosis altas.

Algunos agentes químicos utilizados para controlar la enfermedad son: captan, tebuconazole, propiconazole, y los más recomendados carboxin (Vitavax) y triadimenol (SAGARPA, 2016), además de encarecer el costo de la semilla por los tratamientos.

El carbón de la espiga no puede ser controlado por el tratamiento fungicida en la semilla, y la rotación de cultivos también es cuestionable, el hongo vive en el suelo y crece en respuesta a la germinación de la semilla (Wright y cols, 2006; Prom y cols, 2014).

La resistencia genética es la alternativa más factible y económica para el manejo de la enfermedad, pero es necesario desarrollar híbridos tolerantes de maíz con alto rendimiento (Aquino y cols, 2011; Zuo y cols, 2015; Álvarez Cervantes y cols, 2016). Se ha observado que el uso de híbridos resistentes a la enfermedad en un año puede hacer que la próxima cosecha sea susceptible (Álvarez Cervantes y cols, 2016).

En los últimos años, se ha estado buscando nuevas formas de control que también sean respetuosas del medio ambiente. Uno de estos casos es el uso de controles biológicos

(*Bacillus subtilis*) que representan una alternativa para el manejo de la enfermedad, reduciendo el uso de fungicidas químicos (Mercado Flores y cols, 2014; Álvarez Cervantes y cols, 2016).

Métodos de Inoculación.

Para seleccionar las plántulas de maíz resistentes a *Sphacelotheca reiliana* las evaluaciones de la infección se realizan por dos clases de ensayo: el método convencional o natural y el método artificial.

Las pruebas de campo convencional son el método principal para la evaluación de la resistencia (Kurauchi y cols, 2006), pero el ensayo de campo se requiere mucho tiempo, y esta sujeto a condiciones climáticas y otros factores que pueden afectar la precisión de la evaluación, además no son económicos. En contraste, un método de inoculación artificial, desarrollado para evaluar resistencia en el invernadero, pueden ser reproducible bajo ciertas condiciones y genotipos del maíz (Fujita y cols, 1989; Poloni y Schirawski, 2016).

Ambos enfoques pueden verse obstaculizados por la variación de las condiciones de infección en campos experimentales o por la capacidad limitada que tienen los ensayos de inoculación artificial en estado de plántulas (Lübberstedt y cols, 1999). La inoculación artificial puede ayudar a asegurar un alto nivel de infección y se ha establecido con éxito para *Sphacelotheca reiliana*. Sin embargo, una pregunta crucial para los mejoradores, si los resultados de la inoculación artificial son consistentes con los obtenidos en condiciones de infección natural (Lübberstedt y cols, 1999).

Estas diferencias entre la inoculación artificial y la expresión de la enfermedad en campo se pueden deber a dos razones. Las posibles interacciones genotipo-ambiente causadas por diferentes cepas de *Sphacelotheca reiliana*, interactuando con genes de resistencia raza-específicos o por las diferentes condiciones de crecimiento tanto del maíz como del hongo en los distintos ambientes. (Lübberstedt y cols, 1999; Poloni y Schirawski, 2016).

Recientemente se ha descrito que en los hongos que siguen un proceso de infección hemibiotróficos, la cantidad del inóculo es clave en la respuesta inmune de la interacción planta-patógeno. Cuando la densidad de las esporas es relativamente baja, puede actuar como biotrófico, pero cuando la densidad de las esporas es relativamente alta, el hongo cambia a una infección necrotrofica (Pétriacy y cols, 2016).

Sin embargo, el uso de concentraciones adecuadas de inóculo es necesario para obtener resultados fiables; bajos niveles de inóculo pueden no distinguir entre los niveles de resistencia y susceptibilidad y niveles altos de inóculo pueden dar lugar a errores y a menudo la muerte de las plántulas antes de hacer las evaluaciones (Mert y cols, 2003).

Se han intentado varios métodos de inoculación artificial. Probando concentraciones adecuadas de inóculos y respuesta de la plántula a la enfermedad. Se han utilizado mezclas de suelo con teliosporas junto con la semilla; al momento de la siembra aplican distintas concentraciones de diluciones de suspensiones de esporas; inoculación hipodérmica de plántulas con basidiosporas; infiltraciones de esporas a la semilla mediante la generación de vacío, etc (Cuadro 3.) (Osorio y Frederiksen, 1998; Li y cols, 2008; Prom y cols, 2011; Quezada Salinas y cols, 2013; Konlasuk y cols, 2015; Poloni y Schirawski, 2016). A pesar de que se han encontrado porcentajes de infección muy variada (5 a 95.8%). Esta variabilidad limita su utilización en la selección de variedades resistentes en campo (Quezada Salinas y cols, 2013).

Cuadro 3. Ejemplos de métodos de inoculación (Experiencia personal).

2007-2009 Esporas incorporadas al suelo.

Después de coleccionar las esporas se mezclan con suelo en proporción de $\frac{1}{4}$ esporas $\frac{3}{4}$ suelo se humedece se deja reposar y se distribuye en el suelo a sembrar y se hace un paso de rastra para incorporar las esporas.

2010-2012 Esporas aplicadas en la siembra.

Igual que el método anterior se colectan esporas, se mezclan con suelo y se humedecen antes de la siembra y en la sembradora el día de la siembra se incorpora con el sistema de aplicación de insecticidas granulados directo arriba de la semilla.

2013-2015 Esporas en sustrato.

En 2013 se decidió usar los pellets de sustrato obteniendo mejores resultados. Elaborar un pequeño experimento buscando la mejor fecha de siembra después de inocular el sustrato.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del sitio experimental.

El estudio consistió en dos fases, la primera en el ciclo de invierno 2014 en la localidad de San Juan de abajo Nayarit sin historial de incidencia de carbón y la segunda en el ciclo de verano 2015 en Nextipac, Jalisco históricamente con presencia de carbón endémico, el experimento se estableció en parcelas de evaluación controladas. En el Cuadro 4 se describen las localidades y su ubicación, así como fechas de siembra.

Cuadro 4. Localidades de las parcelas de evaluación y fechas de siembra.

Localidad	Fecha de siembra	Latitud	Longitud	MSNM
San Juan de Abajo, Nayarit	19-nov-14	20° 47' 5''	105° 12' 18''	32
	24-nov-14			
	14-dic-14			
	19-dic-14			
	24-dic-14			
Nextipac, Jalisco	15-abr-15	20° 45' 3''	103° 31' 5''	1640
	30-abr-15			
	15-may-15			

MSNM, metro sobre el nivel del mar.

Material vegetal.

Para evaluar su tolerancia o susceptibilidad a carbón de la espiga, se utilizaron tres híbridos experimentales y 12 híbridos comerciales de las marcas Asgrow, Dekalb y Pioneer. De éstos, 10 se encuentran en el mercado destinados para la zona de Jalisco y dos de zona tropical (Cuadro 5).

Cuadro 5. Características de los materiales utilizados.

Origen	Tipo de Híbrido	Área	Estación	R. Hídrico	Descripción
Garañón	Cruza simple	Trópico seco	Otoño-Invierno	Riego	Híbrido intermedio, simple color de grano blanco, días a floración 64, días a cosecha 140 a 160, altura de mazorca de 1.1 a 1.5 m, altura de planta 2.1 a 2.5 m, densidad de siembra de 90 a 120 mil plantas /ha.
Caimán	Cruza Triple	Trópico seco	Otoño-Invierno	Riego	Híbrido intermedio, simple color de grano blanco, días a floración 66, días a cosecha 140 a 160, altura de mazorca de 1.1 a 1.5 m, altura de planta 2.1 a 2.5 m, densidad de siembra de 90 a 120 mil plantas /ha.
Boa	Cruza simple	Media altura	Primavera-Verano	Riego y buen temporal	Híbrido intermedio, simple color de grano blanco, días a floración 65, días a cosecha 140 a 160, altura de mazorca de 1.1 a 1.5 m, altura de planta 2.1 a 2.5 m, densidad de siembra de 90 a 120 mil plantas /ha.
Antílope	Cruza simple	Media altura	Primavera-Verano	Riego y buen temporal	Híbrido intermedio, simple color de grano blanco, días a floración 66, días a cosecha 150 a 160, altura de mazorca de 1.5 a 1.7 m, altura de planta 2.5 a 2.7 m, densidad de siembra de 75 a 90 mil plantas /ha.
Cimarrón	Cruza simple	Media altura	Primavera-Verano	Riego y buen temporal	Híbrido intermedio, simple color de grano blanco, días a floración 70, días a cosecha 115 a 120, altura de mazorca de 1.3 a 1.6 m, altura de planta 2.3 a 2.7 m, densidad de siembra de 75 a 90 mil plantas /ha.
A7573	Cruza Triple	Media altura	Primavera-Verano	Riego y buen temporal	Híbrido intermedio precoz, triple color de grano crema, días a floración 60, días a cosecha 140 a 160, altura de mazorca de 1.1 a 1.5 m, altura de planta 2.1 a 2.5 m, densidad de siembra de 80 a 110 mil plantas /ha.
DK-2037	Cruza Triple	Media altura	Primavera-Verano	Riego y buen temporal	Híbrido intermedio, triple color de grano blanco, días a floración 64, días a cosecha 160 a 180, altura de mazorca de 1.2 a 1.5 m, altura de planta 1.6 a 1.8 m, densidad de siembra de 85 a 95 mil plantas /ha.
DK-390	Cruza Triple	Trópico Húmedo	Primavera-Verano	Buen temporal	Híbrido intermedio, triple color de grano blanco, días a floración 60, días a cosecha 150 a 160, altura de mazorca de 1.3 a 1.5 m, altura de planta 2.4 a 2.7 m, densidad de siembra de 60 a 65 mil plantas /ha.
DK-2061	Cruza Triple	Media altura	Primavera-Verano	Riego y buen temporal	Híbrido intermedio, triple color de grano blanco, días a floración 70, días a cosecha 175 a 180, altura de mazorca de 1.5 a 1.65 m, altura de planta 2.8 a 2.9 m, densidad de siembra de 80 a 120 mil plantas /ha.
DK-357	Cruza Triple	Trópico Húmedo	Primavera-Verano	Buen temporal	Híbrido intermedio, triple color de grano blanco, días a floración 58, días a cosecha 155 a 165, altura de mazorca de 1.2 a 1.5 m, altura de planta 2.7 a 2.9 m, densidad de siembra de 60 a 90 mil plantas /ha.
P3164W	Cruza Triple	Trópico Húmedo	Primavera-Verano	Buen temporal	Híbrido intermedio, triple color de grano blanco, días a floración 60, días a cosecha 160 a 170, altura de mazorca de 1.5 a 1.6 m, altura de planta 2.8 a 2.9 m, densidad de siembra de 80 a 100 mil plantas /ha.
P4063W	Cruza Triple	Trópico Húmedo	Primavera-Verano	Buen temporal	Híbrido intermedio, triple color de grano blanco, días a floración 55, días a cosecha 145 a 155, altura de mazorca de 1.4 a 1.5 m, altura de planta 2.8 a 2.9 m, densidad de siembra de 60 a 70 mil plantas /ha.
Exp.1	Cruza Triple	Media altura	Primavera-Verano	Riego y buen temporal	Híbrido intermedio, triple color de grano blanco, días a floración 64, días a cosecha 160 a 170, altura de mazorca de 1.5 a 1.7 m, altura de planta 2.5 a 2.7 m, densidad de siembra de 80 a 100 mil plantas /ha.
Exp.2	Cruza Triple	Media altura	Primavera-Verano	Riego y buen temporal	Híbrido intermedio, triple color de grano blanco, días a floración 68, días a cosecha 160 a 170, altura de mazorca de 1.5 a 1.7 m, altura de planta 2.5 a 2.7 m, densidad de siembra de 80 a 100 mil plantas /ha.
Exp.3	Cruza Triple	Media altura	Primavera-Verano	Riego y buen temporal	Híbrido intermedio, triple color de grano blanco, días a floración 66, días a cosecha 160 a 170, altura de mazorca de 1.5 a 1.7 m, altura de planta 2.5 a 2.7 m, densidad de siembra de 80 a 100 mil plantas /ha.
1234	Línea pura	Media altura	Primavera-Verano	Riego y buen temporal	Línea pura, simple color de grano blanco, días a floración 62, días a cosecha 140 a 160, altura de mazorca de 1.1 a 1.4 m, altura de planta 1.7 a 1.9 m, densidad de siembra de 75 a 90 mil plantas /ha.

Diseño experimental.

El diseño experimental fue de bloques completos al azar con cinco repeticiones (cuatro con inoculación y un testigo) usando un arreglo de parcelas subdivididas, en la parcela grande estuvieron las fechas de siembra y en la parcela chica los genotipos.

La parcela experimental utilizada fue de dos surcos de 3.65 m de longitud, separados a 0.75 m entre surcos, con 0.65 m de calle o 3.0 m de longitud de parcela para finalmente obtener un área de parcela útil de 4.5 m² con 25 plantas por surco.

Obtención del patógeno.

En el mes de Octubre de 2014 se realizó la primer colecta de mazorcas de plantas infectadas con el patógeno en un lote de siembras experimentales con antecedentes de alta incidencia de esta enfermedad en la localidad de Nextipac municipio de Zapopan, Jalisco, México. El material seleccionado se almacenó en costales para después hacer la extracción de esporas usando un piscador para abrir las hojas, también se usaron cribas o tamiz para eliminar las hojas y dejar solo las esporas, que se almacenaron en un contenedor hermético a temperatura $10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta la fecha en que se realizó la inoculación en el sustrato,

Preparación del inóculo e inoculación.

La preparación del inóculo se realizó en el laboratorio de Fitopatología del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Para el conteo de las esporas se utilizó un microscopio marca *Carl Zeiss* modelo *Axioskop 40*, utilizando el objetivo 40X, equipado con una cámara fotográfica y una computadora con el software AxioVision versión 4.8. El cálculo de esporas por gramo se realizó con el método reportado por French y Hebert, (1980). Las unidades de inóculo se contaron directamente con una cámara de Neubauer.

De los 9 cuadros principales (CP) de la cámara de Neubauer, se cuentan el contenido de cinco: los cuatro de las esquinas (A, B, C, D) y el cuadrante central (E). El conteo se repite y se saca el promedio. Este se multiplica por una constante, del resultado se obtendrá la concentración de esporas/ml (Figura 4).

Para calcular la concentración de esporas, el volumen sobre cada CP es de 0.1 mm^3 , para calcular la concentración por cc (10.000 veces mayor) se procede con la siguiente fórmula:

Suma de 5 C.P. x 2,000 = número / cc

A=51 B=77 C=48 D=89 E=79 $344 \times 2,000 = 688,000$

$= 688,0000 \times 10 = 6,880,000$

$= 6,880,000 \times 10 = 68,800,000 \text{ Esporas / gr}$

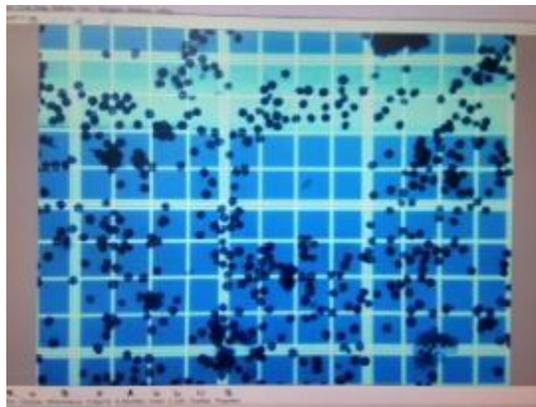


Figura 4. Cuadrantes en la cámara de Neubauer con las esporas, se cuentan y se obtiene concentración de esporas

Viabilidad.

La viabilidad de las esporas se realizó por un laboratorio externo que pertenece al INIFAP, a cargo del Dr. Felipe Delgadillo Sánchez, en Celaya Guanajuato. La metodología descrita en el reporte fue: Tamizado-centrifugado; bomba de vacío; conteo en cámara de Neubauer y microscopía.

Tratamientos.

Con la cantidad de esporas por gramo calculadas se procedió a realizar la inoculación en el rollo de sustrato previamente humedecido (4 horas en hidratación) con una retención de humedad entre 40% - 65% y una porosidad entre 75%-85% insertando dentro del rollo la

cantidad de 1.5 gramos de esporas para posteriormente dejar en campo cubierta bajo una malla sombra con protección anti-pájaro (Figura 5), y plástico negro para conservar la humedad al 50% y temperatura promedio de 27°C.

Para el manejo en campo, los rollos de sustrato se almacenan en charolas de plástico de tamaño 30x30x10 cm, cada charola contiene 50 piezas.

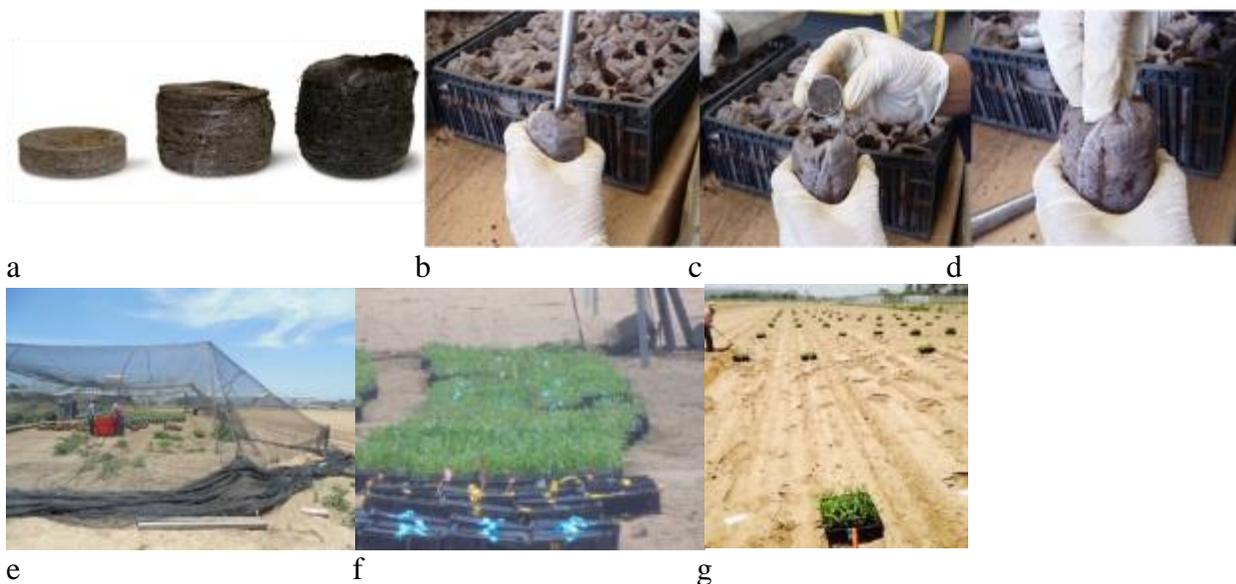


Figura 5. Método de inoculación. El primer paso después de la mezcla del sustrato es hidratarlo (a) después se hace un orificio de 5 cm de profundidad (b) para introducir las esporas (c) y cerrar el rollo de sustrato (d). Posteriormente se pasa a campo, bajo malla sombra (e y f) y la siembra en campo (g)

Siembra y labores agronómicas.

El trabajo experimental se dividió en dos fases: la fase 1, para determinar el día de inoculación óptimo para la germinación de esporas y asegurar su mayor porcentaje de infección. Posteriormente con éste resultado se pasa a la fase 2 del trabajo, que fue determinar el efecto de fechas de siembra y la mayor probabilidad de infección dependiendo de las condiciones ambientales.

Para las dos fases del experimento, la siembra de la semilla se realizó en los rollos de sustrato de 5 cm de diámetro por 10 cm de largo, el contenido de sustrato es de 50% de fibra de coco y 50% de vermiculita, usando un total de 25 rollos por surco.

La inoculación de las esporas se realizó en los rollos de sustrato, la siembra de la semilla se hizo en los días programados dependiendo de la fase del experimento. El trasplante directo en campo se realizó en la etapa V2 de desarrollo de la planta, todo este proceso fue manual (Figura 5).

Las labores agronómicas se realizaron con una dosis de fertilización de 450-130-75 unidades de N-P-K en tres aplicaciones antes del trasplante, en etapa de cultivo y antes de floración. Cinco aplicaciones de insecticida, la primera con Lorsban 5%G usando 20 Kg/ha para control de insectos del suelo; posteriormente para control de gusano cogollero se utilizó Ambush a razón de 300 ml/ha en etapa de desarrollo de V2-V3; en la tercera aplicación se realizó con Palgus con una dosis de 100 ml/ha en etapa de desarrollo de V4-V5; posteriormente se utilizó Pounce 3G con una dosis de 15 kg/ha en etapa de desarrollo V8-V10; y finalmente se aplicó Karate Zeon en una dosis de 250 ml/ha en etapa de desarrollo R1-R2. El control de malezas se realizó con Harness extra con una dosis de 3 lt/ha y algunos deshierbes manuales para mantener libre de malezas.

Fase 1.

Esta fase se sembró en suelo libre de la presencia de esporas de *Sphacelotheca reiliana*. Se sembraron 3 híbridos (Garañon, DK357, P4063W) y una línea pura (1234), éstos materiales están clasificados como susceptibles a la enfermedad de carbón de la espiga.

Las fechas de siembra fueron a los 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación. Se sembró un surco de 3.65 m. con 25 plantas por surco en cada fecha de siembra con un total de 4 surcos por material, anidando los materiales para no tener efectos de sombra entre ellos.

La toma de datos se realizó en libro de campo después de la cosecha de las mazorcas. Se eliminaron las plantas que presentaban la enfermedad antes de su maduración para evitar la

proliferación de esporas dentro del campo. También se hizo la extracción del rollo de sustrato, suelo y raíz de cada una de las plantas con y sin la enfermedad. En esta localidad se realizó el riego por goteo para controlar la cantidad de agua y evitar posibles esparcimientos de esporas.

Fase 2.

Esta fase fue sembrada en un predio donde se tiene registro de la presencia de la enfermedad del carbón de la espiga de forma endémica. Con el resultado de la fase 1 de días de inoculación en el sustrato, se procedió a sembrar.

Se sembraron en tres fechas, con diferencia de 15 días de distancia entre cada una de ellas. Se sembraron (Cuadro 5) 15 híbridos 25 plantas por surco, dos surcos por cada material con un total de 5 repeticiones, (4 con inoculación y una sin inocular). Se realizó riego de auxilio a las dos primeras fechas de siembra para el establecimiento de la plántula.

En esta localidad se hizo la cosecha de mazorcas infectadas para toma de datos y colecta de esporas para almacenar y poder inocular en futuros trabajos de investigación.

Evaluación.

La evaluación y la incidencia de la enfermedad fue examinada y calificada para cada planta durante la etapa de madurez lechosa de maíz hasta la madurez fisiológica. Se examinó la espiga y mazorca para determinar malformaciones y las características propias de la enfermedad (por ejemplo, ensanchamiento en la base de la espiga y la mazorca; Figura 6). Cuando no se visualizó fácilmente se abrían las mazorcas con una navaja para identificar la deformación característica de la mazorca, y al final tener el total de plantas infectadas por híbrido. En la fase 1, para evitar la contaminación en el campo experimental, todas las mazorcas se abren para identificar y evaluar la infección antes de la madurez, para evitar diseminación de esporas, también se cortó la planta a ras de suelo y se transportó a un campo con presencia de la enfermedad en bolsas plásticas junto con los cepellones.

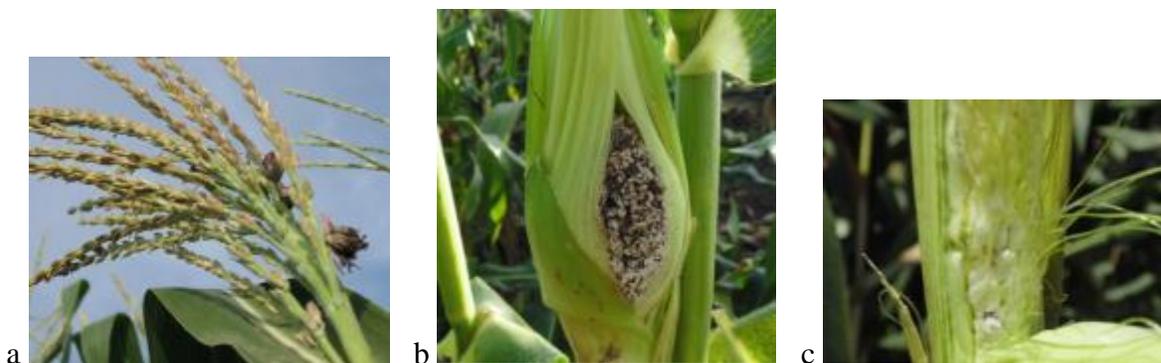


Figura 6. Características evaluadas. En la espiga (a) y mazorca (b), donde es notorio la infección y la apertura de la mazorca (c), donde la infección no es evidente.

Condiciones climáticas

Los datos de temperatura y precipitación pluvial de las localidades experimentales se obtuvieron en la página de internet de weather spark (<https://weatherspark.com>)

Pruebas estadísticas.

Los datos de la fase 1 se analizaron por porcentajes de infección de los materiales en las diferentes fechas de siembra. Los datos de la fase de campo 2, se obtuvieron en porcentaje de plantas enfermas de cada uno de los híbridos, de cada fecha de siembra. Los resultados se analizaron para determinar si se ajustaron a la normalidad, aplicando las pruebas de bondad de ajuste Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk, Camer-von Mises y Anderson-Darling.

Al obtener los resultados y confirmar que no siguen una distribución normal se aplicaron métodos de transformación logarítmicas Arco Seno (Tarsin), logarítmicas (Tlog, Tlog10) y Raíz cuadrada (Tqsr). A los resultados se les aplicó también las pruebas de normalidad. Al no obtenerse un ajuste a la normal, se realizó el análisis mediante el modelo lineal generalizado mixto por sus siglas en inglés (GLMMIX).

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Viabilidad de las esporas.

En el conteo de esporas germinadas se encontró un promedio de 18 % de esporas por gramo (Cuadro 6). La cantidad de esporas germinada resultó muy baja comparado con la cantidad de esporas que presenta por gramo. La muestra uno no se toma en cuenta, no tuvo registro de esporas por lo tanto los análisis resultaron negativos. Cuando la humedad relativa se aumenta, también se ve un incremento en la germinación de las esporas (Cuadro 6) en la preparación del sustrato la humedad máxima recomendada es de 65% por ese motivo se toma el valor bajo de germinación.

Cuadro 6. Resultados de concentración y porcentaje de esporas germinadas.

Clave	Concentración 1 g	Porcentaje de esporas germinadas al momento	Porcentaje de esporas germinadas*
Muestra 1	0	0	0
Muestra 2	4×10^2	10	15
Muestra 3	5×10^6	25	56

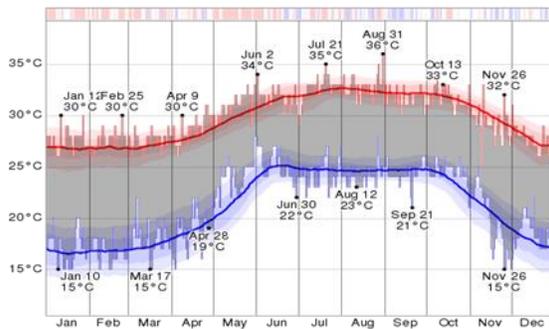
*Esporas germinadas al ser sometidas a 100 % de humedad relativa a 28 °C por 24 horas

Inoculación del sustrato, Fase 1.

La manifestación de la enfermedad por *Sphacelotheca reiliana* se observó tanto en la línea pura susceptible como en los híbridos experimentales. La línea pura presentó mayor incidencia de infección, seguida de los híbridos P4063, DK 357 y Garañón.

El registro de la temperatura en el municipio de San Juan de Abajo, muestra que el mes de noviembre del 2014 presentó la más alta con 32°C, mientras que la más baja fue de 15°C en el mes de diciembre (Figura 7). También el registro de precipitación pluvial muestra que a principios del mes de noviembre se registró lluvia (Figura 7). Estos dos factores ayudan a que las fechas de siembra influyan en el éxito de la infección.

Temperatura



Horas Lluvia

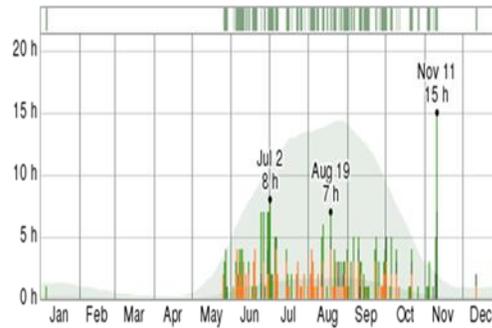


Figura 7. Registro de la temperatura y horas lluvia del municipio de San Juan de Abajo, Nayarit en el año 2014.

La presencia de la enfermedad se observó en las cuatro fechas de siembra. La línea pura muestra cerca del 100% de infección en las cuatro fechas de siembra 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación. El híbrido P4063W, mostró una disminución de plantas infectadas cuando se siembra a los 20 días de inoculación, mientras que el híbrido DK357, muestra un claro aumento de la infección a los 25 días después de la inoculación. Estos híbridos tienen registro de ser susceptibles a la enfermedad. Todos los híbridos muestran mayor incidencia de la enfermedad por *Sphacelotheca reiliana* en la tercera fecha de siembra, a los 25 días después de inocular el sustrato (Figura 8) y por lo tanto se toma este resultado para la segunda fase del experimento. Lo anterior coincide con lo reportado por Quezada Salinas y cols, (2013) quien observó en tejido vegetal de plántulas desarrolladas a partir de semillas inoculadas con *Sphacelotheca reiliana* evidencia molecular del micelio en las plántulas colectadas después de 25 días de siembra, además de evidencia del micelio en el tejido del hospedante y la presencia de soros al final del experimento.

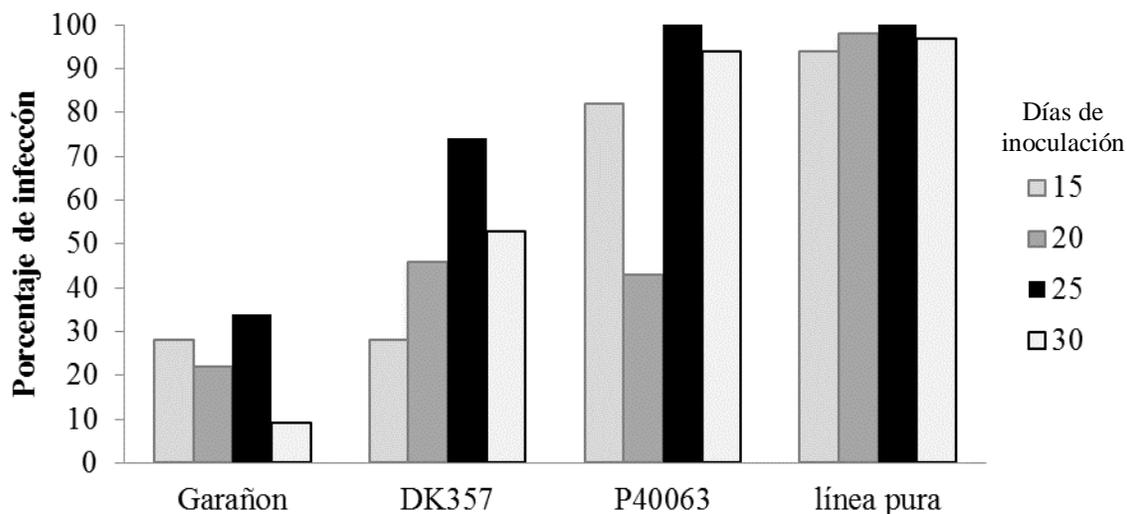


Figura 8. Porcentajes de Infección de la fase 1. Porcentaje de infección de los tres híbridos identificados como susceptibles, así como en la línea pura (1234); se plantaron los materiales en cuatro fechas de siembra 15, 20, 25 y 30 días después de la inoculación en el sustrato.

Análisis de datos de segunda etapa.

El desarrollo del carbón de la espiga está influenciado por condiciones ambientales. Esta enfermedad del maíz se favorece cuando hay climas secos y fríos en el inicio de la temporada. Con estos climas, se beneficia el avance de las etapas iniciales de la enfermedad y se retrasa el crecimiento de las plántulas. Una vez que infecta la planta, los climas secos y calientes favorecen el desarrollo del *Sphacelotheca reiliana*. La temperatura en el suelo entre 21-30 °C y humedad entre 15-25 % favorecen el desarrollo de la infección (Pataky, 1999; Martínez y cols, 2000; Ramírez y cols, 2011; CIMMYT, 2014).

Los registros de la temperatura en el municipio de Nextipac, Jalisco muestran que los meses de abril y mayo osciló entre 10°- 34°C, y estas fueron las más altas registradas en el año 2015. La primera y segunda siembra (15 y 30 de abril) la temperatura más alta fue aproximadamente 31°C mientras que la tercera siembra (15 de mayo) registró la temperatura aproximada de 34°C. El registro de humedad estuvo entre 12 a 60% también las más bajas registradas en el año (Figura 9). Estas temperaturas registradas, aunque su rango es muy amplio, favorecen a que la enfermedad progrese, aunque son distintas a las de la fase 1, la germinación de *Sphacelotheca reiliana* se realizó bajo condiciones controladas

y solo se permitió el progreso de la enfermedad en un campo que ya tiene registro de la presencia de la enfermedad.

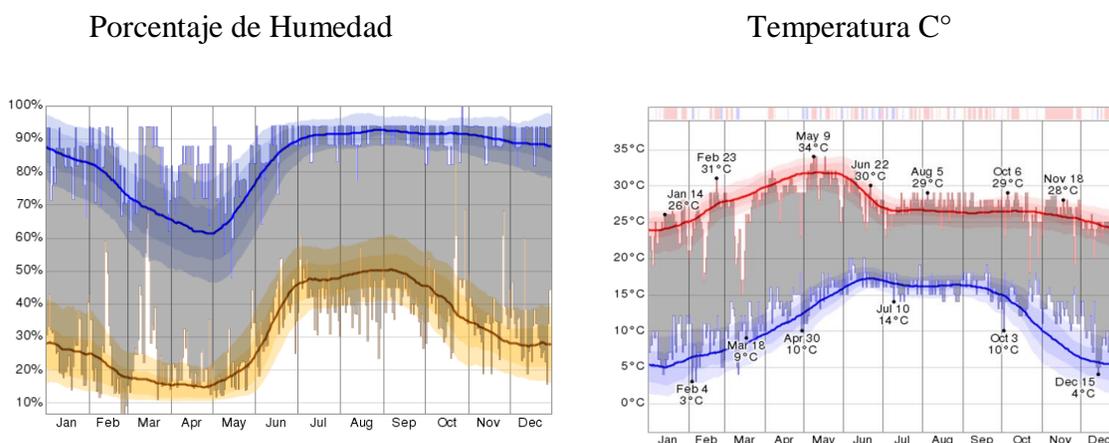


Figura 9. Registro de temperatura y humedad en el municipio de Nextipac, Jalisco durante el año 2015

Es conocido que muchas de las variables biológicas no siguen una distribución normal, (Pedrosa y cols, 2015) por tal motivo, los datos obtenidos se sometieron a pruebas de bondad de ajuste para comprobar si se comportaban con una distribución normal, al ser datos obtenidos en campo, la infección con *Sphacelotheca reiliana* al maíz podía ser variable.

En el Cuadro 7 se muestran los datos de porcentaje de infección con prueba de normalidad donde se reporta que efectivamente los resultados obtenidos no siguen una distribución normal.

Cuadro 7. Pruebas de normalidad.

Prueba	Estadística	p Valor
Shapiro-Wilk	W 0.735662	Pr < W <0.0001
Kolmogorov-Smirnov	D 0.226912	Pr > D <0.0100
Cramer-von Mises	W-Sq 2.951694	Pr > W-Sq <0.0050
Anderson-Darling	A-Sq 17.312	Pr > A-Sq <0.0050

Para transformar los datos, fue necesario buscar que se ajustaran por medio de transformaciones logarítmicas como Arco Seno (Tarsin), logarítmicas (Tlog, Tlog10) y Raíz cuadrada (Tqsr). Al someter los datos a las transformaciones logarítmicas, éstos no fueron capaces de ajustarse a una distribución normal (Cuadro 8).

Cuadro 8. Pruebas de transformación logarítmica para los ajustes de normalidad

Prueba	Shapiro-Wilk		Kolmogorov-Smirnov		Cramer-von Mises		Anderson-Darling	
	Pr < W	p <0.0001	Pr > D	p <0.0100	Pr >W-Sq	p <0.005	Pr >A-Sq	p <0.005
	W		D		W-Sq		A-Sq	
Tarsin	- - -		0.14954942		0.89720613		6.64083509	
Tlog	0.882205		0.188943		0.893746		7.113775	
Tlog10	0.905995		0.175404		0.576781		4.996106	
Tsqrt	0.884792		0.143284		0.766233		5.858331	

Las pruebas de normalidad aplicadas confirman que no podemos aceptar la hipótesis de normalidad de la muestra. Por lo tanto, los datos observados tienen una naturaleza de distribución no normal. Debido a lo anterior se usó el procedimiento GLIMMIX con los datos originales de porcentaje usando la distribución Binomial Negativa, la que se ajustó de manera apropiada con un valor de Ji-cuadrada de 0.77 (Se recomiendan valores inferiores a 1.0:Stroup, 2013).

Estos resultados coinciden con Sanchez Pale y cols, (2011), mostraron en un estudio en campo que *Sphacelotheca reiliana* no hubo distribución de probabilidad uniforme. No encontraron una relación entre las tasas de infección en campo con lo estimado y sugieren la presencia de condiciones ambientales o genotipos de maíz susceptibles que favorecieron la expresión de la enfermedad, además de que un organismo dañino muestra densidades variables. Resultados similares con una distribución normal se reportaron en otros cultivos (Roumagnac y cols, 2004; Gavassoni y cols, 2001; Mouen Bedimo y cols 2007).

Con la información obtenida de los experimentos realizados en Nextipac, Jalisco se encontró que el mayor porcentaje de infección ocurrió en la primera fecha (15 de Abril) con

un promedio de 32.5 %; en la segunda fecha (30 de Abril) con un promedio de 19.1%. y la tercer fecha (15 de Mayo) con un promedio muy bajo 0.0002 %.

Al analizar el porcentaje de infección de los 15 híbridos se observaron diferencias altamente significativas en fechas de siembra (Cuadro 9), interacción híbridos y fechas. En tanto que entre híbridos las diferencias fueron significativas (Cuadro 10).

Cuadro 9. Análisis GLIMMIX para fechas de siembra en Nextipac, Zapopan, Jalisco 2015.

Fechas	Estimado	Error Estándar	DF	t Valor	Pr > t	Media	Media de Error Estándar
Abril_15	3.4843	0.1142	6	30.52	<.0001	32.5998	3.7221
Abril_30	2.9542	0.1165	6	25.36	<.0001	19.1859	2.2345
Mayo_15	-8.4995	114.47	6	-0.07	0.9432	0.000204	0.02330

(Hipótesis nula: Porcentaje de carbón para fechas = 0)

Cuadro 10. Significancia de los valores de F en el análisis de varianza con GLIMMIX.

Efecto	Num DF	Den DF	F Valor	Pr > F
Híbridos	14	126	5.67	<.0001
Fechas	2	6	5.29	0.0474
Hib.*Fechas	23	126	61.56	<.0001

Al observar y analizar los datos de porcentaje de carbón de la espiga en maíz, se observaron diferencias significativas entre los híbridos (<.0001) y también en la interacción de híbrido por cada una de las fechas de siembra (<.0001) así como en la primera fecha (15 de Abril) de siembra (<.0001) y en la segunda fecha (30 de Abril) de siembra (<.0001) pero en la tercera fecha (15 de Mayo) de siembra no hubo diferencias significativa (0.9432) (Cuadro 9)

Como se observa en la Figura 10, la primera fecha muestra un alto porcentaje de infección en la mayoría de los híbridos, y en la segunda fecha es menor y está más concentrado el porcentaje de infección de la enfermedad, y en la última fecha la presencia de la enfermedad disminuyó considerablemente. Este puede estar relacionado que en la primera fecha las condiciones de temperatura y humedad registradas, estuvieron más acordes con las necesarias para la progresión de la enfermedad (Figura 9). Conforme transcurrieron los días, la temperatura y la humedad aumentaron, lo que pudo afectar y tener como resultado la disminución de la presencia de los síntomas de la enfermedad por *Sphacelotheca reiliana*.

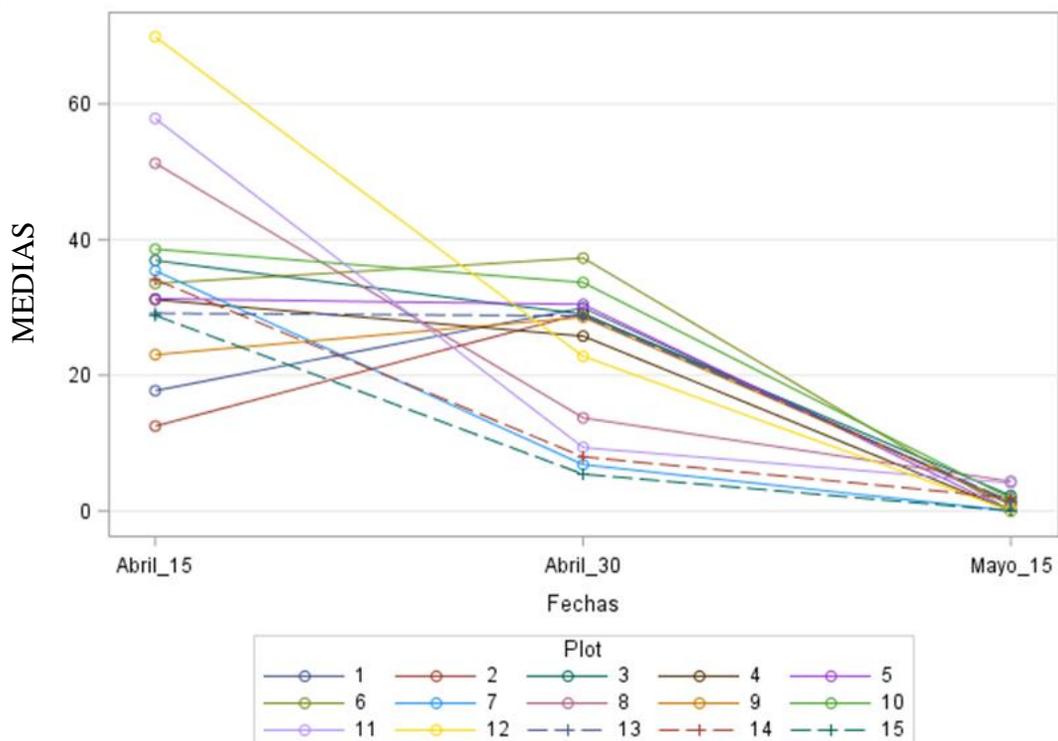


Figura 10. Medias de infección por fechas en porcentaje. La infección es muy alta en la primera fecha y esta disminuye conforme pasa los días. 1, A7573; 2, Garañón; 3, Caimán; 4, Cimarrón; 5, Antílope; 6, Boa; 7, DK2061; 8, DK357; 9, DK2037; 10, DK390; 11, Experimental 1; 12, Experimental 2; 13, Experimental 3; 14, P4063W; 15, P3164W.

En la primera fecha se tuvieron altos porcentajes de infección de los híbridos, se encontró un amplio rango de respuesta a la enfermedad por *Sphacelotheca reiliana*, que se clasificó en tres grupos: a) altamente susceptibles, con tres híbridos (Experimental 1, Experimental 2 y DK357), b) susceptibles, con nueve híbridos y c) no infectados, con tres híbridos (Garañón, A7573 y DK2037) (Figura 10).

En la segunda fecha se diferencian dos grupos: a) susceptibles con diez híbridos y b) no infectados con cinco híbridos (P3164W, DK2061, P4063W, Experimental 1 y DK357). En la tercera fecha todos están concentrados como no infectados con porcentajes muy bajos de infección (Figura 10).

La respuesta a la enfermedad de los híbridos Cimarrón, Experimental 3 y Antílope fueron más o menos constantes en las dos primeras fechas de siembra (Figura 10).

Cuando se evalúa el porcentaje de infección de los híbridos junto con los testigos (la resta del testigo al híbrido en evaluación) (Figura 11) se observa que el híbrido DK2017 muestra el nivel más bajo de infección y es igual en el 15 y 30 de abril (4 y 3% respectivamente). DK2061 muestra un comportamiento similar (12 y 10%). El híbrido Boa muestra un comportamiento distinto, en la primera fecha de siembra se observa 7% en la segunda 3% mientras que en la última fecha de siembra se obtiene un resultado negativo (-8) el testigo muestra 9% de infección mientras que la siembra con inóculo 1%.

Los híbridos experimentales y el híbrido P4063W, son los que muestran más alto porcentaje de infección. El 15 de abril es la fecha con mayor infección, la experimental 1 muestra 46%, el experimental 2 65%, el experimental 3 77% y el híbrido P4063W 62%; en la fecha 30 abril fueron 48,35,49 y 41% respectivamente (Figura 11).

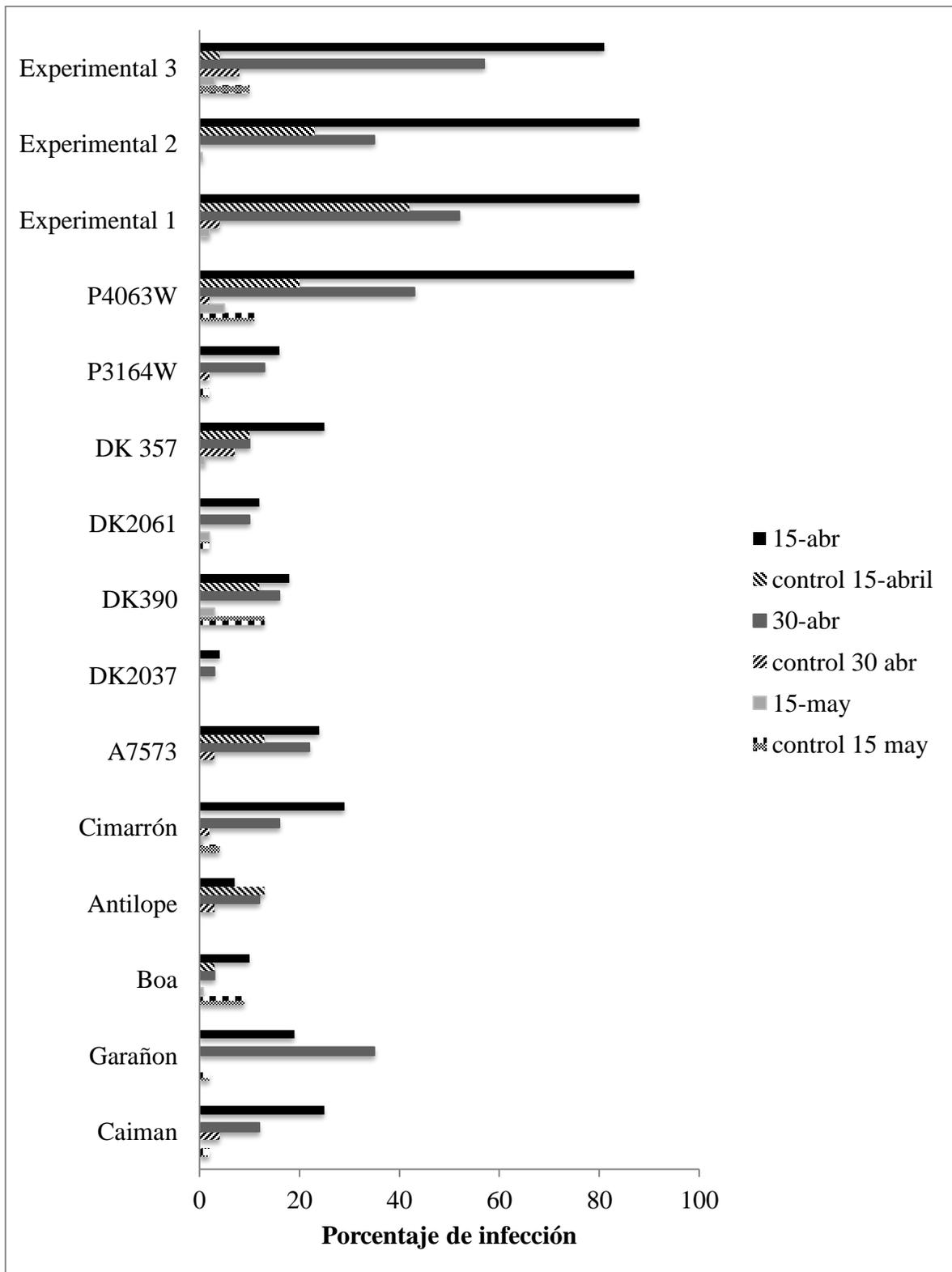


Figura 11. Porcentajes de infección de los híbridos y de controles.

El manejo de las enfermedades a través de la resistencia es reconocido como el método más deseable y rentable. El uso de cultivares con un nivel aceptable de resistencia a las principales enfermedades se considera el mejor enfoque, ya que puede reducir o eliminar el gasto y los efectos de otros métodos químicos, físicos, biológicos, culturales y de control reglamentario (Lübberstedt y cols, 1999; Narayanasamy, 2008).

La identificación de los genotipos que poseen genes de resistencia se puede lograr mediante el uso de la evaluación visual y categorizando en diferentes grupos en función de los niveles de resistencia. Aunque la evaluación visual es simple y fácil de realizar, carece de precisión y especificidad (Narayanasamy, 2008; Lübberstedt, 2013).

En este trabajo se observaron diferentes niveles de respuesta de los híbridos utilizados, por lo que se pueden seleccionar de manera visual cuales fueron los que se comportaron mejor ante la inoculación de *Sphacelotheca reiliana* y el desarrollo de la enfermedad. Los trabajos reportados en la literatura con porcentajes de infección variables, no son comparables con este trabajo, sus diferencias son que en éste trabajo se utilizaron 15 genotipos distintos cuyo rango de variabilidad es amplio y en los reportes en la literatura solo son pocos los genotipos evaluados. En Quezada (2013), la inoculación se hace en la semilla y el cultivo se lleva a cabo en el invernadero, otros investigadores como Baggett y Koepsell (1983), además de la inoculación en la semilla, utilizaron distintos híbridos de maíz. Además, se requiere mayor infraestructura que la utilizada en este trabajo de investigación.

La inoculación en el sustrato, las condiciones controladas de humedad y temperatura produjeron las condiciones óptimas para la germinación del patógeno que infectó en diferentes porcentajes a todos los híbridos de maíz utilizados y que por las condiciones de estrés fue que se desarrolló la enfermedad. Como lo reportado por Martínez y cols (2000), los datos agronómicos disponibles sobre la infección de raíces por *Sphacelotheca reiliana*. Temperaturas de 21-30 °C son óptimas para la infección de maíz en campo. Además de que el potencial de agua también es un factor abiótico que afecta el desarrollo de microorganismos en el suelo. Estudios de severidad de la enfermedad han demostrado que se infectaron más plántulas de maíz cuando el crecimiento fue en el suelo con bajos potenciales de agua (Matyac y Kommendahl, 1985; Martínez y col, 2003).

La recomendación es que al utilizar los híbridos comerciales Cimarrón y Antílope en la primera quincena de abril, aunque tiene una mayor probabilidad de que la enfermedad se manifieste, el rendimiento del maíz es mayor. Evitando el estrés por sequía, la enfermedad por *Sphacelotheca reiliana* disminuye considerablemente. Al sembrar en las fechas de mayo la enfermedad tiene menos probabilidad de que se presente, pero el rendimiento del maíz disminuye considerablemente.

VIII. CONCLUSIONES

1. El procedimiento de inoculación con teliosporas de *Sphacelotheca reiliana* no registró un efecto negativo en el porcentaje de germinación de las semillas de maíz.
2. La fecha óptima de la germinación de esporas y su mayor porcentaje de infección es de 25 días de inoculación previo a la siembra.
3. Se logró tener un acercamiento al manejo en campo de la enfermedad, logrando identificar híbridos altamente susceptibles a la enfermedad, así como tolerantes.
4. Los híbridos experimentales 1 y 2 y el comercial DK357 no lograron evadir la infección por *Sphacelotheca reiliana* en la fecha que mejor rendimiento hay de maíz.
5. Los híbridos comerciales Cimarrón y Antílope y el híbrido experimental 3 son los que mejor respuesta tuvieron a la enfermedad, aunque no se pueden clasificar como tolerantes, se debe evaluar el balance entre infección y rendimiento del maíz para sembrarlos.
6. El método de inoculación propuesto en éste trabajo nos permitió detectar las mejores fechas de siembra con el inóculo.
7. Se puede analizar mayor cantidad de materiales a bajos costos y no se requiere mayor infraestructura.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Aquino Martínez, J.G., Sánchez Flores, A., González Huerta, A., Sánchez Pale, J.R. (2011). Resistencia de Variedades e Híbridos de Maíz (*Zea mays*) a *Sporisorium reilianum* y su Rendimiento de Grano. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 29(1): 39-49
- Álvarez-Cervantes, J., Hernandez-Domínguez, E.M., Tellez-Tellez, M., Mandujano-González, V., Mercado-Flores Y., Diaz-Godínez G. (2016). *Stenocarpella maydis* and *Sporisorium reilianum*: Two Pathogenic Fungi of Maize. Sadia Sultan (Ed.), Fungal Pathogenicity, (pp.45-60) InTech. DOI: 10.5772/62662.
- Baggett, J. R., & Koepsell, P. A. (1983). Field inoculation of sweet corn with the head smut pathogen (*Sphacelotheca reiliana*) [*Zea mays*, disease resistance, vegetable breeding]. Hortscience. Obtenido de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US19840032591>
- Bernardo, R., Bourrier, M., Oliver, J.L. (1992). Generation means analysis of resistance to head smut in maize. *Agronomie*, 12:303-306
- Bhaskaran, S., Smith, R. H. (1995). Effect of proteolytic and glycolytic enzymes on a factor in *Sorghum bicolor* that induces mycelial growth in the smut fungus, *Sporisorium reilianum*. *Mycopathologia*, 130(2), 95-101.
- Biswanath D. (2017). Head smut (extenden information). Obtenido de <http://maizedoctor.org/en/head-smut-extended-information>
- Gavassoni, W. L., Tylka, G. L., Munkvold, G. P. (2001). Relationships between tillage and spatial patterns of *Heterodera glycines*. *Phytopathology*, 91(6), 534-545
- CESAVEM. (2015). Carbón de la espiga del maíz. Obtenido de <http://cesavem.mx/img/fitosanitariodelmaiz/maiz2.pdf>. Acceso el 18 de septiembre de 2017

- CIMMYT. (2014). Problemas Fitosanitarios del carbón de la espiga de maíz en el valle del Mezquital. Obtenido de <http://conservacion.cimmyt.org/es/hubs/1554-problemas-fitosanitarios-del-carbon-de-la-espiga-de-maiz-en-el-valle-del-mezquital>. Acceso el 18 de septiembre de 2017
- Davis, R. M. (2016) *UC IPM Pest Management Guidelines: Corn Head smut*. Agriculture and Natural Resources, University of California. Obtenido de <http://ipm.ucanr.edu/PMG/r113101111.html>
- De León, C. (1984). *Maize diseases, a guide for field identification*. Mexico, DF, CIMMYT.
- Díaz Franco, A., Montes García, N. (2008). La fitopatología en la región semiárida de Tamaulipas, México: reseña histórica. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 26 (1):62-65
- FIRA. Panorama Agroalimentario, Maíz 2016. (2016) Dirección de Investigación y evaluación económica y sectorial. Obtenido de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200637/Panorama_Agroalimentario_Ma_z_2016.pdf
- Frederiksen, R.A. (1977). Head smuts of corn and sorghum. In: Proc. 32nd Annu. Corn Sorghum Res. Conf. H.D. Loden and D. Wilkinson, eds. American Seed Trade Association, Washington, DC. Pp: 89-105
- French, E. R., Hebert, T. T. (1980). *Métodos de investigación fitopatológica*. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, San José, Costa Rica. Libros y Materiales Educativos No. 43. Editorial Lica.
- French, R. D., Schultz, D. (2010). *Head Smut of Corn*. Texas AgriLife Research and Extension Service: The texas A&M System. Obtenido de <http://amarillo.tamu.edu/files/2010/11/HeadSmutCorn.pdf>

- Fujita, Y., Sonoda, R., Yaegashi, H. (1989). Inoculation with conidiospores of false smut fungus to rice panicles at the booting stage. *Japanese Journal of Phytopathology*, 55(5): 629-634.
- Gómez Montiel, N.O., Palemón Alberto, F., Reyes García, G., Hernández Galeno, C. A., Cantú Almaguer, M. A., Juárez López, P., Ascencio Álvarez, A. (2016). Grain yield and phenotypic characteristics of maize: effect of environment and fertilization doses. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7 (8): 1801-1813.
- Index Fungorum, (2018) obtenido de <http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>
- Konlasuk, S., Xing, Y., Zhang, N., Zuo, W., Zhang, B., Tan, G., Xu, M. (2015). ZmWAK, a quantitative resistance gene to head smut in maize, improves yield performance by reducing the endophytic pathogen *Sporisorium reilianum*. *Molecular Breeding*, 35(8):174.
- Kurauchi, K. Kudo, Y. Kimura, T. Uemura, T. (2006). Difference in resistance to false smut disease between rice [*Oryza sativa*] cultivars in Aomori prefecture [Japan]. *Annual Report of the Society of Plant Protection of North Japan*, 57: 17-21
- Li, X.H., Wang, Z.H., Gao, S.R., Shi, H.L., Xie C.X. (2008). Analysis of QTL for resistance to head smut (*Sporisorium reilianum*) in maize. *Field Crops Research*. 106, (2): 148-155.
- Littell, R. C., Milliken, G. A., Stroup, W. W., Wolfinger, R. D., Schabenberger, O. (2007). SAS for mixed models. SAS Institute.
- Lübberstedt, T., Xia, X. C., Tan, G., Liu, X., Melchinger, A. E. (1999). QTL mapping of resistance to *Sporisorium reilianum* in maize. *Theoretical and Applied Genetics*. 99(3-4): 593-598 99.
- Lübberstedt, T. (2013). Diagnostics in plant breeding. In: Lübberstedt, T., Varshney R. (eds) *Diagnostics in Plant Breeding* (pp. 3-9). Dordrecht, Netherlands: Springer.

- Martinez, C., Roux, C., Dargent, R. (1999). Biotrophic development of *Sporisorium reilianum* f. sp. *zeae* in vegetative shoot apex of maize. *Phytopathology*, 89(3), 247-253.
- Martinez, C., Jauneau, A., Roux, C., Savy, C., Dargent, R. (2000). Early infection of maize roots by *Sporisorium reilianum* f. sp. *zeae*. *Protoplasma*, 213(1), 83-92.
- Martinez, C., Buée, M., Jauneau, A., Bécard, G., Dargent, R., Roux, C. (2001). Effects of a fraction from maize root exudates on haploid strains of *Sporisorium reilianum* F. Sp. *Zae*. *Plant and Soil*, 236:145-153.
- Martinez, C., Roux, C., Jauneau, A., Dargent, R. (2002). The biological cycle of *Sporisorium reilianum* f.sp. *zeae*: an overview using microscopy. *Mycologia*, 94(3):505-14.
- Martinez, C., Roux, C., Jauneau, A., Bécard, G., Dargent, R. (2003). Effect of water potential on the development of an haploid strain of *Sporisorium reilianum* f. sp. *zeae*. *Plant and soil*, 251(1): 65-71.
- Matyac, C.A., and Kommendahl, T. (1985). Factors affecting the development of head smut caused by *Sphacelotheca* on corn. *Phytopathology*, 75:577-581
- McTaggart, A. R., Shivas, R. G., Geering, A. D. W., Vánky, K., Scharaschkin, T. (2012). Taxonomic revision of *Ustilago*, *Sporisorium* and *Macalpinomyces*. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 29, 116.
- Mercado-Flores, Y., Cárdenas-Álvarez, I. O., Rojas-Olvera, A. V., Pérez-Camarillo, J. P., Leyva-Mir, S. G., Anducho-Reyes, M. A. (2014). Application of *Bacillus subtilis* in the biological control of the phytopathogenic fungus *Sporisorium reilianum*. *Biological Control*, 76: 36-40
- Mert, Z., Karakaya, A. (2003). Determination of the suitable inoculum concentration for *Rhynchosporium secalis* seedling assays. *Journal of Phytopathology*, 151(11- 12): 699-701.

- Mouen Bedimo, J. A., Bieysse, D., Cilas, C., Nottéghem, J. L. (2007). Spatio-temporal dynamics of arabica coffee berry disease caused by *Colletotrichum kahawae* on a plot scale. *Plant Disease*, 91(10), 1229-1236.
- Narayanasamy P. (2008) Genetic Resistance of Crops to Diseases. In: Molecular Biology in Plant Pathogenesis and Disease Management. Springer, Dordrecht.
- Osorio, J. A., Frederiksen, R. A. (1998). Development of an infection assay for *Sporisorium reilianum*, the head smut pathogen on sorghum. *Plant Disease*, 82(11): 1232-1236.
- Paliwal, R.L., Granados, G., Lafitte, H.R., Violic, A.D., Marathée, J.P. (2001). El Maíz en los Trópicos Mejoramiento y producción. Publicado por FAO, Roma, Italia
Obtenido en: <http://www.fao.org/docrep/003/x7650s/x7650s00.htm#toc>
- Pataky, J.K. (1999). Smuts. In: White, D.G. (ed.). Compendium of Corn Diseases. Third edition. APS Press. St. Paul, Minnesota, E.U.A. pp. 33-35.
- Pedrosa, I., Juarros-Basterretxea, J., Robles-Fernández, A., Basteiro, J., García-Cueto, E. (2015). Pruebas de bondad de ajuste en distribuciones simétricas, ¿qué estadístico utilizar?. *Universitas Psychologica*, 14(1), 245.
- Pétriacq, P., Stassen, J. H., Ton, J. (2016). Spore density determines infection strategy by the plant pathogenic fungus *Plectosphaerella cucumerina*. *Plant physiology*, 170(4): 2325-2339.
- Poloni, A., Schirawski, J. (2016). Host specificity in *Sporisorium reilianum* is determined by distinct mechanisms in maize and sorghum. *Molecular plant pathology*, 17(5): 741-754.
- Prom, L. K., Perumal, R., Erattaimuthu, S. R., Erpelding, J. E., Montes, N., Odvody, G. N., Greenwald, C., Jin, Z., Frederiksen, R., Magill, C. W. (2011). Virulence and molecular genotyping studies of *Sporisorium reilianum* isolates in sorghum. *Plant Disease*, 95(5):523-529.

- Prom, L.K., Montes-Garcia, N., Odvody, G.N. (2014). Influence of planting depths on the incidence of sorghum head smut, caused by *Sporisorium reilianum*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17: 33 - 38
- Quezada Salinas, A., De León García De Alba, C., Hernández Anguiano, A. M., & Nava Díaz, C. (2013). Evaluación de Métodos de Inoculación de Semillas de Maíz con *Sporisorium reilianum* f. sp. zea (Kühn) Langdon & Fullerton. *Revista mexicana de fitopatología*, 31(2), 80-90.
- Quiroz Figueroa, F.R., Quiroz-Chávez, J., García-Pérez, L.M., Gabriel Román, S. (2014). Mejoramiento del maíz el caso de la fusioarosis. *Ciencia y Desarrollo*. Obtenido de <http://www.cienciaydesarrollo.mx/?p=articulo&id=102>
- Ramírez Dávila, J. F., Sánchez Pale, J. R., León, C. D. (2011). Estabilidad Espacio Temporal de la Distribución del Carbón de la Espiga del Maíz (*Sporisorium reilianum*) en el Estado de México, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 29(1): 1-14.
- Roumagnac, P., Pruvost, O., Chiroleu, F., Hughes, G. (2004). Spatial and temporal analyses of bacterial blight of onion caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*. *Phytopathology*, 94(2), 138-146.
- SAGARPA. (2016). Problemas Fitosanitarios. Obtenido http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/potencialproductivo/especificos/problemas_fitosanitarios.pdf Acceso octubre de 2017
- Sánchez López, R. (1984). *Control de carbón de la espiga (Sphacelotheca reiliana) del maíz, mediante tratamiento a la semilla con fungicidas sistémicos en el valle de Zapopan, Jal.* (Tesis de Ingeniero Agrónomo) Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco.
- Sanchez-Pale, J. R., Ramirez-Davila, J. F., Gonzalez-Huerta, A., de Leon, C. (2011). Modelization of the spatial distribution of corn head smut (*Sporisorium reilianum*

- Langdon and Fullerton) in Mexico. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 9(3), 882-893.
- Sánchez Pale, J.R., Ramírez Dávila, J.F., González Huerta, A., de León, C. (2015). Patrón espacial del carbón de la espiga del maíz en diferentes localidades del Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(7): 1467-1480.
- Stroup, W.W. 2013. Generalized linear mixed models. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Valladares, C. (2010). Taxonomía y Botánica de los Cultivos de Grano. Universidad Nacional Autónoma de Honduras centro universitario regional del litoral Atlántico (CURLA), departamento de producción vegetal asignatura cultivos de grano Sección, 10 (01).
- Wilson, J. M., Frederiksen, R. A. (1970). Histopathology of the interaction of *Sorghum bicolor* and *Sphacelotheca reiliana*. *Phytopathology*, 60(5), 828-832.
- Wollenberg, T., Schirawski, J. (2014). Comparative genomics of plant fungal pathogens: The Ustilago-Sporisorium paradigm. *PLoS pathogens*, 10(7), e1004218. doi:10.1371/journal.ppat.1004218.
- Wright, P.J., Fullerton, R.A., Koolaard, J.P. (2006). Fungicide control of heas smut (*Sporisorium reilianum*) of sweetcorn (*Zea mays*). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 34:23-26.
- Yu, T., Wang, Z., Jin, X., Liu, X., & Kan, S. (2014). Analysis of gene expression profiles in response to *Sporisorium reilianum* f. sp. *zeae* in maize (*Zea mays* L.). *Electronic Journal of Biotechnology*, 17(5): 230-237.
- Zhang, S., Gardiner, J., Xiao, Y., Zhao, J., Wang, F., Zheng, Y. (2013). Floral transition in maize infected with *Sporisorium reilianum* disrupts compatibility with this biotrophic fungal pathogen. *Planta*, 237(5): 1251-1266.

Zuo, W., Chao, Q., Zhang, N., Ye, J., Tan, G., Li, B., Xing, Y., Zhang, B., Liu, H., Fengler, K.A., Zhao, J., Zhao, X., Chen, Y., Lai, J., Yan, J., Xu, M. (2015). A maize wall-associated kinase confers quantitative resistance to head smut. *Nature genetics*, 47(2): 151-157.