

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Evaluación de la Patogenicidad de [*Ustilago maydis* (D.C.) Corda] en Cinco Híbridos de Maíz Mediante Inoculación Artificial en Parcelas Ubicadas en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Por:

**JOSÉ MALDONADO RODRÍGUEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Evaluación de la Patogenicidad de [*Ustilago maydis* (D.C.) Corda] en Cinco  
Híbridos de Maíz Mediante Inoculación Artificial en Parcelas Ubicadas en  
Buenavista, Saltillo, Coahuila

Por:

**JOSÉ MALDONADO RODRÍGUEZ**

TESIS

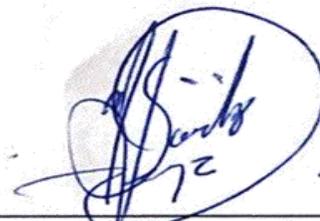
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Alonso Méndez López  
Asesor Principal Interno



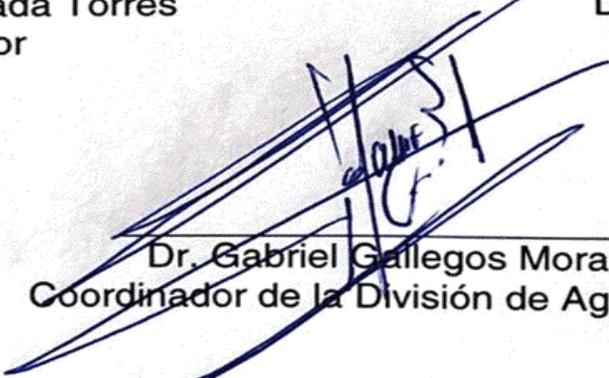
Dra. Miriam Sánchez Vega  
Asesor Principal Externo



M.C. César Estrada Torres  
Coasesor



Dra. Aida Isabel Leal Robles  
Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales  
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México  
Junio, 2019

## AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por otorgarme la vida y darme salud a mí y a mi familia, porque sin ellos nada de esto sería posible, gracias familia porque jamás me soltaron ni en los momentos más difíciles, su apoyo fue incondicional, ustedes fueron mi inspiración para poder concluir esta etapa en mi vida.

A la **Dra. MIRIAM SANCHEZ VEGA** por todo su apoyo para poder concluir este trabajo porque siempre me brindo su confianza y me alentó a hacer bien las cosas, gracias por su apoyo incondicional. Excelente asesora, pero sobre todo una extraordinaria persona.

Al **Dr. ALONSO MENDEZ LOPEZ** que gracias a usted se me dio la oportunidad de realizar este trabajo, por aportarnos de su conocimiento para hacerlo mejor posible y siempre estar cuando lo necesitamos le agradezco todo su apoyo.

A los dos de ante mano muchas gracias, siempre estaré agradecido con ustedes. Que Dios los bendiga.

A mi **Alma Terra Mater**, la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** y al Departamento de Parasitología por la oportunidad y por la formación profesional e integral que me brindaron.

A cada uno de mis profesores que me aportaron de sus conocimientos, lo cual fue parte fundamental de mi educación como estudiante y gracias a ello he cumplido una meta importante en mi vida.

## DEDICATORIA

A mi madre **AGUSTINA RODRÍGUEZ ARELLANO** por todo lo que representa para mi vida, mi ejemplo de superación, la persona que día con día me enseña el valor de la humildad y el respeto, quien nunca se da por vencida, quien no conoce la palabra rendirse, la mujer que día con día lucha hasta más no poder, por superarse y por darnos lo mejor quien con todo su esfuerzo logró darme su apoyo incondicional para poder concluir esta etapa tan importante en mi vida. A ti madre mía de todo corazón gracias, por tanto.

A mi padre **JOSÉ MALDONADO GARCÍA** la persona más sencilla que existe, el espejo en el que me miro, porque más que consejos, me demuestras con hechos que nunca hay que rendirse en la vida a pesar de las adversidades, y que la humildad vale más que cualquier cosa en el mundo. Gracias por ser esa persona tan increíble.

A ustedes queridos padres les estaré eternamente agradecido.

A mis hermanos **Marbella, José Alfredo, Lizbeth, Margarita, Jaime, Abigail y Leandra**, les agradezco tanto el apoyo que cada uno de ustedes me brindo, porque a pesar de que nunca hemos estado todos reunidos somos una gran familia. A ti hermanita **Leandra** con quien comparto grandes momentos de mi vida, fuiste tú quien me animo para continuar con mis estudios me apoyas en todo momento y nunca dejas de creer en mí, en lo que puedo lograr. Agradecido con Dios por tenerlos en mi vida siempre han sido mi ejemplo de superación, personas que sufrieron mucho para poder sobresalir, de ante mano les estaré siempre agradecido.

A cada uno de mis amistades y familiares que creyeron en mí y siempre me apoyaron.

# ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>iii</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>iv</b>
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO</b> .....	<b>v</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	<b>vii</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>viii</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>ix</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
Objetivo General .....	2
Hipótesis .....	2
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	<b>3</b>
El Maíz .....	3
Importancia económica.....	3
Materiales genéticos.....	4
El Huitlacoche .....	5
Importancia económica del carbón común en maíz o huitlacoche.....	6
Valor nutrimental.....	8
Historia cultural del huitlacoche .....	8
Descripción del ciclo de vida y patología .....	9
Condiciones para la expresión de <i>Ustilago maydis</i> .....	11
Interacción maíz- <i>Ustilago maydis</i> .....	13
Sistemas de producción de huitlacoche.....	14
Condiciones de manejo del cultivo de maíz para favorecer la producción de huitlacoche.....	15
Cosecha.....	16
Estudios sobre la susceptibilidad en maíz .....	16

<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>18</b>
Localización geográfica y descripción del sitio experimental .....	18
Unidad y diseño experimental.....	18
Descripción de los tratamientos.....	18
Manejo del cultivo .....	19
Procedimiento para la inducción de huitlacoche .....	20
Selección y obtención de la cepa patogénica .....	20
Preparación del inóculo .....	21
Inoculación.....	21
Cosecha.....	22
Variables evaluadas.....	22
Análisis estadístico.....	23
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>24</b>
Análisis de varianza .....	24
Análisis de correlación entre variables.....	25
Análisis de comparación de medias entre híbridos de maíz .....	26
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>35</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>36</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

**Cuadro 1.** Factores para el desarrollo óptimo de *Ustilago maydis*. ..... **12**

**Cuadro 2.** Características agronómicas de los híbridos evaluados, para probar la susceptibilidad a una cepa patogénica de *Ustilago maydis* en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 2018. .... **19**

**Cuadro 3.** Sumas de rangos asignados en el análisis no paramétrico a cada una de las variables que determinan la susceptibilidad de maíces híbridos a *Ustilago maydis* para la producción de huitlacoche. Buenavista, Saltillo, Coahuila, 2018. .... **25**

**Cuadro 4.** Comparación medias ajustadas entre híbridos de maíz por la prueba de Kruskal-Wallis, para cada una de las variables que determinan la susceptibilidad de maíces híbridos a *Ustilago maydis* en la producción de huitlacoche. Buenavista, Saltillo, Coahuila, 2018. .... **28**

**Cuadro 5.** Correlación ( $r$ ) entre las variables evaluadas para determinar la susceptibilidad de una cepa de *Ustilago maydis* en cinco híbridos de maíz, para la producción de huitlacoche. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, 2018. .... **26**

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1.** Representación esquemática del ciclo de vida de *Ustilago maydis*. ..... **10**

**Figura 2.** Medias de las variables incidencia (INC) y severidad (SEV), en los híbridos de maíz evaluados para determinar la susceptibilidad a una cepa patogénica de *Ustilago maydis*, en la producción de huitlacoche. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, 2018. .... **30**

**Figura 3.** Medias de las variables incidencia longitud (LONG) y grosor (DMC), en los híbridos de maíz evaluados para determinar la susceptibilidad a una cepa patogénica de *Ustilago maydis*, en la producción de huitlacoche. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, 2018. .... **31**

**Figura 4.** Medias de las variables peso total de mazorca (PT) y peso de huitlacoche (PDH), en los híbridos de maíz evaluados, para determinar la susceptibilidad a una cepa patogénica de *Ustilago maydis*, en la producción de huitlacoche. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, 2018. .... **32**

**Figura 5.** Promedio del total de mazorcas cosechadas por híbrido, inoculadas con una cepa patogénica de *Ustilago maydis*, en la producción de huitlacoche. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, 2018. .... **33**

## RESUMEN

El huitlacoche es considerado un alimento con características nutrimentales muy atractivas y un sabor único que se produce en plantas de maíz por la infección de [*Ustilago maydis* (D.C.) Corda]. Su consumo está aumentando considerablemente y su disponibilidad no está asegurada a lo largo del año, es por ello que la tecnología mexicana actual para la producción de huitlacoche está basada mediante inoculación artificial principalmente en maíces híbridos. Este trabajo tuvo como objetivo la evaluación de cinco materiales de maíz híbrido CERES (Gold XR60), H-318, NOBLE, EUROS y AN388 el cual se manejó como testigo, mediante inoculación artificial con esporidias, para proporcionar información de nuevos materiales que puedan ser utilizados para la producción masiva de dicho hongo, en las condiciones ambientales de Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Se manejó un diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones a una densidad de siembra de 44 400 plantas·ha<sup>-1</sup>. Las variables a evaluar fueron: incidencia (INC; %), severidad (SEV; %), longitud de mazorca (LONG; cm), grosor de mazorca (DMC; mm), peso total de mazorca (PT; g) y peso de huitlacoche (PDH; g). El análisis estadístico indicó que existen diferencias altamente significativas ( $\alpha \leq 0.01$ ) para las variables severidad (SEV) y grosor de mazorca (DMC), y solo diferencias significativas ( $\alpha \leq 0.05$ ) para el resto de las variables. Los híbridos NOBLE y EUROS fueron los más sobresalientes con una incidencia de 90.90% y 90.13%, respectivamente, y una severidad de 51.18% y 47.07% siendo variables de gran importancia respecto al rendimiento. El híbrido NOBLE presento el mayor rendimiento con 4.69 t·ha<sup>-1</sup>.

**Palabras clave:** huitlacoche, susceptibilidad a hongos, hongos comestibles, cultivos alternativos, maíz.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente el huitlacoche [*Ustilago maydis* (D.C.) Corda] es considerado como una nueva hortaliza con gran potencial productivo y económico en la región del Centro de México donde la superficie destinada a su producción ha ido en aumento. Desde 2006 su producción artificial es una realidad en México, donde ya es considerado un nuevo cultivo (Villanueva *et al.*, 2007).

Es un alimento con características nutrimentales muy atractivas y sabor único que se produce en plantas de maíz por la infección del hongo [*Ustilago maydis* (D.C.) Corda] (Valverde y Paredes, 1993). Es un alimento considerado una delicadeza culinaria; en la región de Valles Altos del centro de México es donde más se consume este hongo y donde ha concentrado el mayor mercado para su comercialización (Madrigal *et al.*, 2010). En algunas regiones de México, Estados Unidos, Canadá, China, Japón y algunos países de Europa, se está incrementando notablemente demanda y consumo.

La importancia antropocéntrica del huitlacoche se puede concebir desde dos puntos de vista: uno negativo como enfermedad, debido a las pérdidas significativas que puede ocasionar al cultivo del maíz para grano, las cuales pueden llegar hasta el 100% de pérdida en algunos campos de maíz con variedades dulces (Agrios, 2006); y el otro positivo, por la arraigada tradición de uso como alimento humano en la región central de México (Escalante, 2013).

La tecnología mexicana que actualmente es utilizada para la producción comercial artificial de huitlacoche está basada en algunos híbridos comerciales para la producción de elote, y la producción de inóculo a base de formulaciones con esporidias de cepas purificadas, para propiciar la infección del hongo en forma artificial mediante inyección. En este sentido se requiere un laboratorio con excelentes características de asepsia y de personal capacitado para producir inóculo purificado (Escalante, 2013).

La búsqueda de híbridos comerciales susceptibles al huitlacoche es una actividad permanente, pues para los fitomejoradores y en las casas semilleras durante el proceso de mejoramiento, ésta es una característica indeseable, por lo que sacan del mercado rápidamente materiales que presentan dicha susceptibilidad y que pueden ser utilizados como cultivo hospedero o para la producción comercial de este hongo como cultivo alternativo. Algunas de las características fenotípicas ideales que debe cubrir los materiales genéticos de maíz están referidas a altura de la mazorca, precocidad en días a cosecha y potencial de rendimiento de huitlacoche, tipo de grano (harinoso, dulce, cristalino, etc.) (Madrigal *et al.*, 2010). Esto a su vez marca la necesidad de la constante evaluación de materiales genéticos de maíz mediante inoculación artificial, con cepas altamente patogénicas, así como de retomar los principios para el desarrollo de formulaciones con mayor longevidad y capacidad infectiva, con la finalidad de obtener producción de huitlacoche planificada y programada, pero sobre todo que asegure la producción comercial en campo.

### **Objetivo General**

Evaluar la susceptibilidad de cinco maíces híbridos con una cepa patogénica de [*Ustilago maydis* (D.C.) Corda], para la producción de huitlacoche bajo condiciones de campo en parcelas ubicadas en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

### **Hipótesis**

Entre la numerosa cantidad de variedades híbridas de maíz para producción de granos y elote, existen algunas más susceptibles a las cepas de *U. maydis* que son potencial para la producción comercial de huitlacoche inducida en forma artificialmente, por lo que al menos uno de los materiales genéticos de maíz evaluados presenta alta susceptibilidad a una cepa patogénica de *U. maydis* y alto potencial para la producción comercial de huitlacoche mediante inducción artificial de este hongo, en condiciones climáticas de Saltillo, Coahuila, México.

# REVISIÓN DE LITERATURA

## El Maíz

El maíz es una gramínea de producción mundial, cuya adaptabilidad permite su cultivo en más de 113 países. Entre sus principales usos se encuentran la alimentación humana, animal y producción de almidones (Chávez, 1995). En México el maíz es ampliamente cultivado por su aportación nutrimental en la dieta de la población, consumiéndose principalmente como grano seco procesado y su consumo en estado fresco o elote, desde el punto de vista alimentario, económico y social, el maíz es el cultivo más importante del país (Marco y Aello, 2003).

### Importancia económica

El maíz es uno de los tres principales cereales de mayor importancia en el mundo, junto con el arroz y el trigo. Alrededor de la mitad de la cosecha mundial se produce en América del Norte; China es el segundo mayor productor, después de Brasil, México y Argentina (Winch, 2006). En E.U.A en 2007 una cosecha de maíz podía producir aproximadamente \$380 dólares·ha<sup>-1</sup>, mientras que el maíz dulce aproximadamente \$2 245 dólares·ha<sup>-1</sup>. El aumento del costo para el maíz dulce incluyó el uso de insecticidas, fungicidas y productos asociados con la cosecha y post cosecha (Tracy *et al.*, 2007).

El cultivo de maíz en América Latina tiene importancia primordial en los aspectos agrícolas, económicos y sociales, pues es la base de la alimentación de los habitantes. En el 2016, en México se sembraron 7'771 000 ha de maíz para grano, con una producción de 28'251 000 t, con rendimiento promedio nacional de 3.7 t·ha<sup>-1</sup>, con estas cifras se ubicó como el séptimo productor mundial y quinto en superficie destinada al cultivo de este grano (SAGARPA, 2017).

Entre las formas de aprovechamiento del maíz se tiene a la producción de elote (estado fenológico lechoso), que representa mayores ventajas respecto al aprovechamiento del grano y semilla, debido a que su ciclo de cultivo es más corto y propicia la posibilidad de desarrollar otra siembra si las condiciones ambientales lo permiten; además, una vez cosechado el elote, permite aprovechar el forraje para ensilado o para uso directo en la alimentación del ganado (Villanueva *et al.*, 2007).

En México la superficie sembrada para la producción de elotes es de 60 715 ha el cual tiene una producción de 60 270 t y un rendimiento promedio de 12.5 t·ha<sup>-1</sup>. Entre los estados con mayor superficie sembrada se encuentra Puebla, San Luis Potosí y Morelos, con una superficie sembrada de 15 393; 8 996 y 7 976 ha respectivamente (SIAP-SAGARPA, 2012).

En el Estado de Coahuila, en 2012 se sembraron 137.9 mil hectáreas con cultivos anuales, de las cuales 22.8 mil correspondieron a maíz para grano (17% de las siembras) (SAGARPA-SIAP, 2012). En el sureste del estado (municipios de Arteaga, General Cepeda, Parras, Ramos Arizpe y Saltillo), en 2012 se sembraron 18 884 ha (83.0%), y de éstas 95.1% correspondió a siembras de temporal, con un rendimiento promedio de 0.51 t ha<sup>-1</sup>.

### **Materiales genéticos**

La composición genética de las plantas de maíz en cada caso es diferente y la respuesta al medio también, ya que es sabido que los maíces con menor grado de mejoramiento genético tienen mayor nivel de resistencia y tolerancia al ataque del huitlacoche debido al proceso de coevolución que durante miles de años han experimentado el maíz y el hongo. Por ello es importante tener en cuenta la condición genética de dichos materiales como raza, criollo, variedad e híbrido que permita realizar una búsqueda de maíces susceptibles al huitlacoche y así entender el cultivo y el nivel de resistencia de los materiales que se utilizan.

**Raza:** son una o más poblaciones de individuos con un número de características significativas en común, que se diferencian y clasifican principalmente por los caracteres de la mazorca (Acosta, 2009).

**Criollo:** es un término campesino que comúnmente se emplea para denotar que es un material nativo de la comunidad, región, estado o país, y que se diferencia de un material extranjero, un maíz híbrido o una variedad mejorada. El cual está conformado por una población heterogénea de plantas las cuales se diferencian por su color, textura, forma del grano, forma de la mazorca, ciclo vegetativo y uso (Acosta, 2009).

**Variedad:** Es aquella cuya reproducción tiene lugar mediante polinización aleatoria (no controlada) y en la población de plantas se observa una relativa uniformidad en cuanto a los caracteres distintivos de la misma (SAGARPA-SNICS, 2007).

**Híbrido:** Es el resultado de la mejora genética, mediante la cruce de dos líneas con características deseables. Algunas características que se buscan con esto son: resistencia al acame, mayor rendimiento, composición del grano, tolerancia a plagas y enfermedades, adaptación a estrés abiótico, resistencia al acame y precocidad entre otras (Delgado, 2017).

## **El huitlacoche**

El hongo *Ustilago maydis* (D.C.) Corda es conocido a nivel mundial por ser un patógeno de suma importancia por causar la enfermedad llamada carbón común en maíz (*Zea mays*), esta enfermedad propicia la formación de grandes tumores o agallas que se pueden desarrollar sobre todas las partes verdes de la planta, tallos, hojas, espiga y mazorca; cuando el micelio del hongo prolifera dentro de los tumores su tamaño puede ser muy notorio. En México, desde el periodo precolombino las agallas que se forman en la mazorca son usadas en la preparación de diferentes platillos (Ruiz y Martínez, 1998), y se le conoce como "huitlacoche" o "cuitlacoche",

nombre que los Aztecas utilizaron para nombrar a las agallas comestibles que se forman cuando el maíz (*Zea mays* L.) está infectado por este basidiomiceto (Pataky, 1991).

### **Importancia económica del carbón común en maíz o huitlacoche**

El carbón común del maíz es una enfermedad que se considera originaria del hemisferio occidental, pero en la actualidad tiene una distribución mundial pues se encuentra en cualquier parte donde se cultiva maíz, el agente causal es el patógeno *Ustilago maydis* [(D.C.) Corda] (Valdez *et al.*, 2008).

Se produce por infecciones naturales y al azar, ya que es considerado un patógeno que en algunas regiones puede ocasionar grandes pérdidas e incluso, puede llegar a ser una enfermedad devastadora para este cultivo, principalmente en variedades dulces (Pataky, 1991).

El carbón común del maíz en varias regiones de México no se considera una enfermedad, por el contrario, se le es muy apreciado, pues se consume como hortaliza y al cual se le conoce como huitlacoche, con características nutrimentales muy atractivas y sabor único que se produce en plantas de maíz (Paredes-López y Valverde-González, 1999).

La infección natural algunas veces no es muy confiable, para una producción comercial, ya que la aparición del hongo en el maíz depende de las condiciones ambientales y a la asociación entre la etapa en el desarrollo del hospedante durante el período de infección y el tejido de la planta en el cual se forman las agallas (Martínez *et al.*, 2000). Las agallas formadas en la mazorca del maíz son las que se consumen comúnmente (Paredes-López y Valverde-González, 1999).

En México, sobre todo en la región central, el huitlacoche es un alimento muy apreciado, considerado incluso una delicadeza al paladar. Entre los meses de julio

a septiembre es común hallarlo en los tianguis y mercados. En el campo, es componente de una rica sopa junto con otros productos de la milpa, es relleno de tamal o guisado con cebolla, ajo, chile y epazote. En restaurantes, forma parte de menús en diferentes sopas, crepas, lasañas, salsas, cremas o rellenos de pastas y carnes o puede ser preparado incluso como postre (Muñoz, 2012).

En México, en el año 2016 el precio por kilogramo de huitlacoche variaba en torno a \$15.00, en la época de producción natural de julio y agosto; y entre \$60.00 y \$120.00, fuera de dichos meses; aunque de manera extraordinaria ha llegado a valer hasta \$380.00 el kilogramo en el mes de abril, esto supera a la producción de forraje verde. Existe una demanda creciente para los mercados de E.U.A, Unión Europea y Japón, llegando a alcanzar precios superiores a los 20 dólares por kilogramo como producto congelado, aunque como producto fresco se comercializa en \$11.16 dólares por kilogramo y \$3.5 dólares por mazorca (García, 2016).

La popularidad del huitlacoche ha aumentado considerablemente en los últimos años, se prepara en gran diversidad de formas y presenta un alto valor nutricional. Es considerado una exquisitez culinaria y ha rebasado las fronteras de México pues se ha introducido a diversos países, donde se le han asignado diferentes nombres como: "Caviar Azteca", "Trufa Mexicana" o "Maizteca", entre otros. Su descripción como delicadeza culinaria ha sido tema de periódicos y revistas (Valdez *et al.*, 2008).

El aumento en el consumo de huitlacoche en el país y en el extranjero ha motivado el desarrollo de tecnologías que conducen a la producción masiva de este inusual y apetecible hongo; y se ha desarrollado un producto de alto valor agregado y con gran beneficio para los agricultores que lo llegan a producir (Valdez *et al.*, 2008).

## **Valor nutrimental**

El contenido nutrimental del huitlacoche está basado en hidratos de carbono y fibra es de 53 a 66.5% y 7.5 a 26.6%, respectivamente; grasas de 1.0 a 6.5%; y con un balance adecuado de aminoácidos esenciales como la lisina, glicina, valina, leucina y ácido glutámico, así como otros catorce aminoácidos comunes, y otros no comunes como el ácido  $\gamma$ -aminobutírico, ornitina y el ácido tricotómico. Su contenido de ácidos grasos es elevado, siendo los predominantes el palmítico, el oleico y linóleico (García, 2016).

El huitlacoche contiene carbohidratos, proteínas, grasas, minerales y vitaminas que contribuyen a su valor nutricional. Al examinar la composición proximal del huitlacoche colectado en diferentes regiones de México se ha reportaron que el contenido de proteínas varía entre 11.5 y 16.4 g·100g<sup>-1</sup> de material seco analizado (Valverde y Paredes, 1993). Las proteínas del huitlacoche contienen aminoácidos en cantidades apropiadas para la dieta de un adulto; como el alto contenido de lisina (6.6 g·100 g<sup>-1</sup> de proteína); el cual es muy elevado en relación a lo que se ha reportado para el maíz y otros vegetales (Paredes *et al.*, 2006).

## **Historia cultural del huitlacoche**

El huitlacoche es uno de los subproductos obtenidos del sistema milpa, que ha sido aprovechado a la par de la domesticación del maíz (Ruiz, 2008). En este sentido, la más temprana mención al huitlacoche se encuentra en una obra del siglo XVI: “Historia General de las Cosas de Nueva España”, escrita por Fray Bernardino de Sahagún, con el objetivo de salvaguardar el conocimiento indígena ante la llegada de la cultura europea y solo se hace una muy breve mención al respecto, indicando que es una anormalidad del maíz que lleva a que la mazorca adquiera un color negruzco y se transforme en algo como lodo. Es aquí donde se tiene el antecedente más antiguo de denominación del hongo el cual fue “cuitlacoche”, que significa algo como mugre que crece encima del maíz y que es molesto. En otros lugares por

ejemplo en la zona maya, se le conocía como “Ta’Wa nal chaak”, es decir excremento del Dios de la Lluvia “chaak” (Valdez, 2012).

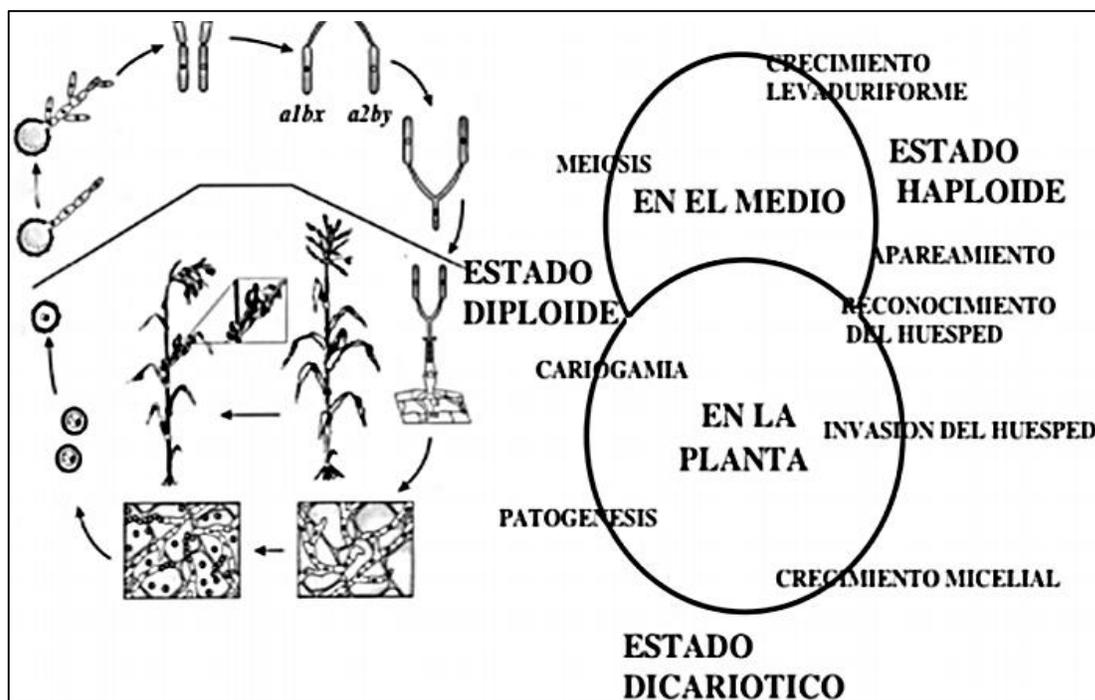
En México desde épocas prehispánicas se consume, la cultura Azteca lo consideraba un ingrediente básico en la preparación de platillos (Ruiz y Martínez, 1998). El tumor o agalla que se forma en la mazorca del maíz fue llamado por los Aztecas "Popoyotl" (maíz quemado), "Huitlacoche" o "Cuitlacoche (suciedad dormida o suciedad del cuervo) que es como actualmente se conoce (Paredes *et al.*, 2006).

### **Descripción del ciclo de vida y patología**

El hongo, basidiomiceto [*Ustilago maydis* (D.C.) Corda] no es un parásito obligado, pero requiere de uno de sus dos huéspedes naturales (maíz o teocintle) para realizar su ciclo sexual. Durante el ciclo de vida de *U. maydis* se distinguen dos fases, una de ellas es saprofítica, durante la cual el hongo crece en forma de levaduras haploides alargadas que se reproducen por gemación (también llamadas esporidias). La gema aparece en la zona de máxima curvatura formando un ángulo de 30-45 grados con respecto a la célula madre. La gemación bipolar es común en el hongo; sin embargo, *U. maydis* no es un colonizador eficiente de nichos naturales, ya que el rango de las fuentes de carbono que puede utilizar es muy restringido (Ruiz, 2008). Solamente las células dicariones y los diploides son infecciosos, lo que muestra la interrelación entre los aspectos de sexualidad, morfogénesis y patogénesis, y revela la complejidad de los tres procesos (Figura 1) (Ruiz *et al.*, 2000).

La segunda fase del ciclo es la micelial y patogénica, en la cual el hongo crece en forma de hifas dicarióticas y estas solo se desarrollan en el interior del huésped. Esta fase se inicia con el apareamiento de dos células *loci* (sexuales) a y b compatibles. La cercanía de células compatibles provoca una inhibición de la gemación y la formación de filamentos delgados (tubos de conjugación) que se

dirigen el uno hacia el otro por una acción quimiotrópica, para finalmente fusionarse en el extremo apical para formar el micelio dicariótico infeccioso, el cual continúa su crecimiento y es capaz de invadir a un huésped susceptible a través de aberturas naturales, ya sea por estomas o por los órganos florales, o activamente formando un (apresorio). Se ha sugerido que los estigmas son la ruta más importante de infección, ya que los tumores presentes en las mazorcas son los más prominentes. Es importante señalar que también los diploides son infecciosos, pero no las cepas haploides. En el interior de la planta el hongo crece de manera intracelular o extracelular sin causar gran daño al huésped originalmente en forma de micelio delgado. La mayor parte del crecimiento ocurre en los tejidos meristemáticos de la planta con la formación final de las agallas o tumores en los cuales ocurre la esporulación del hongo. Las hifas adquieren formas irregulares y se fragmentan, cubriéndose finalmente con una pared gruesa equinulada y pigmentada (Figura 1) (Ruiz, 2008).



**Figura 1.** Representación esquemática del ciclo de vida de *Ustilago maydis*. (Agris, 2006).

Durante la fase micelial de este proceso ocurre la citocinesis con la formación del estado diploide del hongo. Las esporas maduras (teliosporas) son liberadas cuando las agallas se secan y se abren. Las teliosporas constituyen el estado diploide del hongo y hasta el momento no se ha logrado su formación fuera de las plantas de maíz. Los síntomas de la enfermedad son principalmente la formación de tumores, aunque también ocurren clorosis, distorsiones y enanismo de la planta y acumulación de antocianinas. La inducción de tumores probablemente involucra fitohormonas y citocininas como ocurre en algunas infecciones de plantas producidas por bacterias fitopatógenas; sin embargo, su naturaleza no ha sido aún determinada. Las teliosporas germinan rápidamente en un medio nutritivo e incluso en agua, aunque se ha descrito que la presencia de disacáridos favorece el proceso. La germinación de la teliospora se inicia con la formación de un tubo germinativo denominado promicelio. El núcleo de la espora migra hacia el promicelio y en este punto ocurre la meiosis. A partir del promicelio se forman cuatro basidiosporas en forma acropétala las cuales germinan para reiniciar el ciclo de vida (Figura 1) (Ruiz; *et al.* 2000).

### **Condiciones para la expresión de *Ustilago maydis***

Se cree que el contacto del hongo con la superficie de la planta estimula muchos de los procesos que se llevan a cabo dentro del maíz para el desarrollo del hongo y, por lo tanto, la formación del huitlacoche (Valdez *et al.*, 2008). Por otro lado, el crecimiento de los hongos se ve afectado por una gran variedad de factores físicos, químicos, biológicos y ambientales: por lo que entender la respuesta de las diferentes especies a estos factores es primordial para diseñar tecnologías apropiadas para la producción. Los hombres de campo, especialmente en México, han identificado los factores que estimulan la infección de *U. maydis* en el maíz; sin embargo, científicamente no está muy claro. Se sabe que la humedad es necesaria para la germinación de las esporas, lo mismo que para el crecimiento del tubo germinativo antes de que el hongo invada la planta de maíz. También es conocido que las temperaturas relativamente altas son favorables, la mayoría de los

investigadores coinciden en que el hongo se desarrolla muy bien entre 25-30°C (Cuadro 1) (Valdez *et al.*, 2008).

El desarrollo de la planta es de vital importancia en el crecimiento del hongo, plantas más vigorosas y suculentas presentan más agallas y éstas son mucho más grandes. Los tratamientos que estimulan la producción y el vigor, como altas dosis de nitrógeno y materia orgánica, también incrementan la enfermedad significativamente. Por otro lado, la respuesta del maíz al ataque de [*Ustilago maydis* (D.C.) Corda] está condicionada por la variabilidad del hongo y de la planta; así como por los mecanismos de infección y el medio ambiente. Las variedades de maíz difieren en su susceptibilidad a este hongo se sabe que el maíz dulce es muy susceptible al patógeno Aguayo *et al.* (2016). La resistencia de algunas variedades de maíz parece que está asociada a caracteres morfológicos, funcionales y fisiológicos de las plantas (Valdez *et al.*, 2008).

**Cuadro 1.** Factores para el desarrollo óptimo de *Ustilago maydis*.

<b>FACTORES</b>	<b>RANGO</b>	<b>Aspectos en los que favorece al hongo</b>
<b>Humedad suelo</b>	80-85 %	Para la germinación de esporas.
<b>Humedad relativa</b>	77-80 %	Para desarrollo del tubo germinativo del hongo antes de que invada la planta.
<b>Temperatura</b>	20-30°C	Para el desarrollo y formación de agallas.
<b>Suelo</b>	Altas cantidades de nitrógeno y suelos abonados con materia orgánica.	Predisponen a la planta a la infección del hongo.
<b>Planta</b>	Vigorosas y suculentas	Mayor cantidad y tamaño de agallas
<b>Morfología de mazorca</b>	Mayor longitud y grosor	Aumenta la incidencia y severidad del hongo.

Fuente: Valdez *et al.*, 2008.

## **Interacción maíz-*Ustilago maydis***

La aparición del hongo en el maíz depende de las condiciones ambientales que conducen a la infección del carbón y a la asociación entre la etapa en el desarrollo del hospedero durante el período de infección y el tejido de la planta en el cual se forman las agallas (Pataky, 1991).

El patosistema maíz-huitlacoche ha coevolucionado desde la época prehispánica hasta mantenerse, en la actualidad, en coexistencia equilibrada. Debido a la importancia económica que el hongo ha adquirido y al desarrollo de técnicas para la inducción artificial de éste. La alta interacción genotipo-ambiente, entre maíces y cepas de *U. maydis* llegan a presentar diferentes comportamientos entre ambientes, lo que dificulta establecer las combinaciones específicas para dicha interacción (Martínez *et al.*, 2005).

La interacción entre *U. maydis* y el maíz está dada también debido a las condiciones en las que el maíz se desarrolla y comparten estas características, por lo que para el caso del maíz este se adapta a una amplia gama de ambientes agroecológicos, pero es esencialmente un cultivo de clima cálido, se cultiva en las regiones tropicales y subtropicales. El maíz requiere una temperatura media diaria de al menos 20°C para el crecimiento y desarrollo adecuado, y las temperaturas diurnas cálidas de 25-30°C y noches frescas para crecimiento y desarrollo óptimo. Las temperaturas superiores a 35°C reducen los rendimientos; temperaturas por debajo de 8°C y superiores a 40°C son extremadamente perjudiciales, provocando el cese del crecimiento. El estrés de alta temperatura impone impacto adverso en el crecimiento (Lim, 2013).

## **Sistemas de producción de huitlacoche**

Existen dos tipos de producción de huitlacoche, el tradicional y el artificial que se realiza por medio de inoculación; en el primer caso se han utilizado muchas estrategias, aplicadas por los agricultores en forma empírica por medio de la mezcla de semillas de maíz con agallas (teliosporas); sin embargo, este procedimiento no dio ningún resultado. Otro método tradicional consiste en dejar esporas del hongo en el suelo antes de sembrar el campo con maíz; del cual tampoco es posible obtener resultados satisfactorios. También se ha tratado de reproducir esparciendo las esporas en las plantas de maíz cuando los jilotes están pequeños; con este procedimiento sí se ha obtenido infección; pero a muy bajo porcentaje como para ser utilizada a gran escala (Valdez *et al.*, 2008).

En un segundo caso, la producción se realiza mediante inoculación de esporas en las plantas, esta técnica en un inicio fue utilizada para buscar variedades de maíz resistentes a este patógeno; sin embargo y debido al aumento en la demanda de huitlacoche como alimento en México y en otros países, se empezó a utilizar para inducir los síntomas de la enfermedad y producir huitlacoche a gran escala. La inyección de esporidias en la planta de maíz produce un alto índice de infección; por lo que esta estrategia se ha utilizado para obtener huitlacoche con buenos resultados (Villanueva *et al.*, 2007; Valdez *et al.*, 2008).

La técnica de inoculación por inyección puede ser muy útil para la producción comercial de huitlacoche, pero es necesario evaluar el estado de desarrollo, localización y genotipo de la planta de maíz, así como la agresividad de las cepas del hongo que se utilicen en la inoculación, para poder obtener óptima producción y calidad. Se ha reportado hasta un 96% de infección cuando las plantas se inoculan con una jeringa hipodérmica en los jilotes (Villanueva *et al.*, 2007). Por otro lado, también se ha visto que la calidad del huitlacoche mejora cuando las variedades de maíz utilizadas para producirlo presentan mazorcas grandes y totalmente cubiertas por hojas. El tiempo óptimo para cosechar el huitlacoche depende del genotipo del

maíz utilizado y del estado de desarrollo de la planta que se inocule, además de las condiciones ambientales que se presentan después de la inoculación (Valdez *et al.*, 2008).

Diversas investigaciones han permitido la producción exitosa del huitlacoche, y se ha encontrado que la técnica de inoculación por inyección produce excelentes rendimientos y buena calidad del hongo (Valdez *et al.*, 2009), el inóculo debe obtenerse en un proceso controlado. La inoculación por el canal de los estilos cuando tienen una longitud entre 5 y 10 cm y cuando no han sido polinizados los granos de maíz es la mejor manera de obtener huitlacoche de buena calidad y es el mejor método para obtener huitlacoche a gran escala (Tracy *et al.*, 2007).

### **Condiciones de manejo del cultivo de maíz para favorecer la producción de huitlacoche**

Con la finalidad de que haya éxito en la producción de huitlacoche, se deben tomar en cuenta dar un manejo adecuado al cultivo de maíz, en actividades como: preparación del terreno, aplicación de riegos y fertilización, control de plagas y malezas, entre otros, ya que son factores sumamente; así como de contar con variedades de maíz susceptibles con características “productivas” y “comerciales” adecuadas, estos son requisitos básicos para lograr una producción eficiente de huitlacoche. Las plantas deben presentar un buen vigor y tamaño, la etapa correcta de desarrollo fisiológico, apariencia sana sin enfermedades, ni presencia de malezas y/o plagas; también es importante el manejo de una densidad adecuada de plantas ( $60,000 \text{ plantas} \cdot \text{ha}^{-1}$ ), son los factores que juegan un papel fundamental para el buen desarrollo del hongo. El diseñar y aplicar en tiempo y forma un paquete tecnológico, adecuado a las condiciones particulares del sitio de siembra, así como seguir las recomendaciones agronómicas al pie de la letra, son condiciones mínimas indispensables para cuidar al máximo los factores agronómicos y disminuir el fracaso durante el proceso del cultivo (Villanueva *et al.*, 2007).

## **Cosecha**

El estado óptimo para cosechar el huitlacoche depende del genotipo del maíz y de las condiciones ambientales que se presenten después de la inoculación. Se deben de tomar medidas precautorias en esta actividad, ya que el huitlacoche es extremadamente delicado en su manejo durante la cosecha y postcosecha. Durante su recolección las mazorcas cosechadas se deben colocar en recipientes rígidos y con mucha delicadeza, pueden ser cubetas de 20 L de capacidad (Valdez *et al.*, 2008).

La cosecha se hace cuando el peridio que cubre las agallas tenga un color blanco e intacto y antes de que las agallas pierdan consistencia y se reblandezcan, el indicador es cuando las agallas alcanzan su máximo grado de desarrollo y sin emerger de las brácteas de la mazorca o totomoxtle, o que las mazorcas se vean muy abultadas por las agallas (Villanueva *et al.*, 2007).

## **Estudios sobre la susceptibilidad en maíz**

Valdez *et al.* (2009), observaron un cierto efecto del material genético de maíz utilizado sobre la cobertura de la mazorca y el rendimiento del huitlacoche. La evaluación de genotipos de maíz para fines de producción de huitlacoche permite conocer su nivel de susceptibilidad genética (Pan *et al.*, 2008).

Se han evaluado la respuesta del porcentaje de severidad e incidencia y rendimiento del hongo por planta en familias de maíz de medios hermanos maternos combinadas con aislados de *U. maydis*. Las diferencias resultantes dificultan recomendar una combinación específica familia y aislado. Se han observado diferencias entre familias y entre aislados, las estimaciones de los componentes de varianza indicaron que la significancia es atribuida a las interacciones (Martínez *et al.*, 2005).

Con la técnica de inoculación por inyección al jilote y utilizando maíces criollos, se han obtenido rendimientos de hasta  $15 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ , para el caso de los maíces híbridos el rendimiento rebasa las  $7 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$  bajo condiciones controladas (Valdez *et al.*, 2009).

Actualmente muchos de los estudios que se han utilizado en la producción de [*Ustilago maydis* (D.C.) Corda] están disponibles y orientados a la obtención artificial de huitlacoche y se encuentran a nivel del ensayo de métodos para obtener la mejor técnica de inoculación sobre híbridos comerciales de maíz dulce y variedades de polinización abierta (Martínez *et al.*, 2000).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Localización geográfica y descripción del sitio experimental**

El experimento se estableció en el Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicado en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. El cual se encuentra dentro de las coordenadas geográficas 23° 37" latitud norte y 100° 38" longitud oeste, con una altitud de 1581 msnm.

### **Unidad y diseño experimental**

Se estableció un experimento con base en un diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones y cinco tratamientos; éstos últimos fueron representados por los híbridos de maíz, a una densidad de 44 400 plantas·ha<sup>-1</sup>. La siembra se realizó el 17 de mayo del 2018. La unidad experimental consistió de dos surcos de 3.0 m de longitud separados a 0.90 m con una distancia entre planta y planta de 0.25 m, se consideró que las plantas del experimento se encontraran en competencia completa por lo que se requirió sembrar bordos y cabecera con maíz.

### **Descripción de los tratamientos**

Los materiales genéticos de maíz utilizados en el experimento como tratamientos fueron en el caso del híbrido CERES (Gold XR60), H-318 y NOBLE provenientes de una agroquímica en el estado de Michoacán; mientras que los materiales EUROS de la empresa UNISEM y AN388 de originado en la UAAAN (Cuadro 2). El AN388, fue considerado como testigo, debido a que, en evaluaciones previas con materiales adaptados al norte del país, resulto ser uno de los más susceptibles (datos no presentados).

**Cuadro 2.** Características agronómicas de los híbridos evaluados, para probar la susceptibilidad a una cepa patogénica de *Ustilago maydis* en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 2018.

HIBRIDO	CICLO	ALTURA DE PLANTA (m)	ALTURA DE MAZORCA (m)	TIPO DE GRANO
<b>1.EUROS</b>	Intermedio	2.5-2.7	1.3-1.4	Blanco Dentado
<b>2.Gold XR60</b>	Intermedio	2.2-2.3	1.5-1.7	Extra Blanco
<b>3.NOBLE</b>	Intermedio	2.8-2.9	1.4-1.5	Dentado
<b>4.H-318</b>	Intermedio	2.6-3	1.3-1.5	Blanco cremoso
<b>5.AN388</b>	Intermedio	2.0	1.0	Blanco Semidentado

### Manejo del cultivo

Se manejó el cultivo mediante labranza convencional, el terreno se surco con tractor y arado de discos. Antes de la siembra se definieron las parcelas y se distribuyeron los tratamientos en forma aleatoria, posteriormente se procedió a realizar la siembra de manera manual colocando dos semillas por golpe, para asegurar la emergencia. El control de malezas se hizo de forma manual y con azadón cada vez que era necesario según la presencia de maleza.

Se ralearon las plantas para dejar una por mata cuando estas tenían una altura de 0.15 m a los 10 días después de la siembra y se aporcaron las plantas para evitar que se acamaran.

El experimento se fertilizo con OrganoDell® a razón de 2 t·ha<sup>-1</sup>, este producto tiene una fórmula distribuida en 39-37-29 (N-P2O5-K2O), además de contener azufre (S) 18.4, Magnesio (Mg) 13.6, Calcio (Ca) 74, y micro nutrientes; es un fertilizante orgánico natural que se aplicó a los 30 días después de la siembra al pie de cada planta.

El riego se realizó por goteo con cintilla, cada dos o tres días dependiendo de la disponibilidad del agua, las temperaturas y la humedad monitoreada en forma visual al suelo.

El control de plagas como el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* L. E. Smith), que se presentó, entre la cuarta y sexta hoja verdadera (V4-V6), se realizó con aplicaciones de difluzenzuron + lambda cihalotrina a una dosis de 1.0 mL·L<sup>-1</sup> de agua y se agregó 0.5 mL·L<sup>-1</sup> de surfactante (Twin Plus®), la aplicación se realizó con una mochila aspersora manual de 20 L de capacidad.

## **Procedimiento para la inducción de huitlacoche**

### **Selección y obtención de la cepa patogénica**

La cepa fue obtenida de una parcela experimental de maíz establecida en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). La cepa colectada se trasladó al laboratorio y se aisló en medio de cultivo PDA, ya que este medio proporciona nutrientes y las condiciones adecuadas para el desarrollo del hongo, se agregó al medio 1.0 mL de antibiótico (gentamicina de uso veterinario), para evitar el crecimiento de bacterias; la cepa también se purificó de contaminantes producidos por otros hongos y levaduras hasta obtener la cepa pura. Esto se llevó a cabo en el laboratorio de fitopatología del Departamento de Parasitología.

Por tanto, la cepa se seleccionó de una mazorca infestada totalmente del hongo por infección natural, las agallas útiles para el aislamiento fueron aquellas que se encontraban completas y que no estaban dañadas; es decir, abiertas, podridas, o maltratadas por insectos o daño físico. Posteriormente se realizó la esterilización de estas en una solución de hipoclorito al 2.0 % durante tres minutos, después se secaron con papel y con un bisturí se le levanto el peridio, y con la ayuda de una aza bacteriológica se tomó una muestra de teliosporas y se hizo un barrido sobre el medio de cultivo.

## **Preparación del inóculo**

Una vez que la cepa del hongo se purificó, se procedió a realizar el incremento, sembrando la cepa en varias cajas Petri, se evitó realizar muchos reaislamientos, para que la cepa no perdiera patogenicidad.

Una vez que las plantas de maíz en campo se encontraban en la edad óptima para hacer la inoculación, se preparó el inóculo, donde se seleccionaron dos cajas Petri con hongo que tuviera la mejores característica morfológicas y homogéneas del crecimiento micelial, se vertió en una licuadora y se mezclaron con un litro de agua destilada más 1.0 mL de antibiótico, esta solución se filtró y después se procedió a realizar el conteo de las estructuras infectivas (basidiosporas) con la ayuda de una cámara de Neubauer o hematocítometro. Finalmente se ajustó la dilución  $1 \cdot 10^{-6}$  basidiosporas  $\cdot 1.0 \text{ mL}^{-1}$  de agua.

## **Inoculación**

Se monitorearon los híbridos de maíz, para evitar que se pasara la floración femenina; cuando se apreció que en las parcelas, los maíces presentaron aproximadamente un 1% de estigmas expuestos, se realizó la inoculación; para ello, se seleccionaron jilotes de maíz con una longitud aproximadamente de 10 cm y con los estigmas expuestos de 1.0 a 3.0 cm, antes de que fueran polinizados, y se inocularon con 3.0 mL de inóculo, repartido en dos inyecciones de 1.5 mL cada una, esto se hizo con apoyo de una jeringa semiautomática (Henke Sass Wolf®).

Una vez inoculados los jilotes se eliminó la hoja basal, para que quedaran marcados y fácilmente se pudieran identificar en el monitoreo del crecimiento del hongo y a la hora de la cosecha. Esta actividad se hizo cada tercer día durante dos semanas.

## **Cosecha**

La cosecha se realizó a los 18 días después de la primera inoculación. El indicador fue el abultamiento de las mazorcas (elotes), brácteas de las hojas (totomoxtle) de coloración amarillenta y en caso de que estuviera visibles, la agallas que estas presentaran una coloración blanca-grisácea. Una vez realizada la primera cosecha, se procedió a hacer los cortes cada tres días conforme iban madurando las mazorcas inoculadas y la expresión de los síntomas.

Las mazorcas se coloraron en cajas de plástico, y se manipularon con mucha precaución para no afectar las agallas, se trasladaron al laboratorio de Fisiología Vegetal del Departamento de Botánica, ahí se eliminaron las hojas de la mazorca con mucho cuidado y se tomaron los datos correspondientes a cada variable evaluada, en forma independiente por mazorca cosechada.

## **Variables evaluadas**

**Incidencia (INC; %).** Esta variable se registró con base en los valores de 1 cuando había presencia del hongo y 2 no hubo presencia del hongo, en ninguna expresión, morfológica y se obtuvo el porcentaje según el número de mazorcas con incidencia con respecto al total de las mazorcas evaluadas.

**Severidad (SEV; %).** Esta variable se tomó con base en el porcentaje de cubrimiento de la mazorca por el hongo o por la presencia de agallas en una escala de 0, 25, 50, 75 y 100%.

**Longitud de mazorca (LONG; cm).** Se obtuvo a partir de la medición del largo de la mazorca desde la base hasta la punta con ayuda de una regla milimétrica.

**Grosor de mazorca (DMC; mm).** Se midió el ancho o diámetro de la mazorca a la parte media con ayuda de un vernier digital.

**Peso total de mazorca (PT; g).** Cada mazorca recién cosechada se colocó en una báscula analítica, se pesó y se registró el dato.

**Peso de huitlacoche (PDH; g).** Se desgranaron las agallas de las mazorcas en forma independiente y se pesaron. Se eliminó el resto del material que no presentó agallas.

### **Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico, se analizaron los datos mediante una prueba no paramétrica, debido a que se tomó el total de las mazorcas cosechadas por unidad experimental y esto vario considerablemente en cada repetición, además de que se hubo datos de presencia y ausencia y porcentajes que no fueron transformados, para los cual se realizó el análisis de varianza y una comparación múltiple de medias entre tratamientos con una prueba de Kruskal-Wallis con una confiabilidad del 99 y 95% ( $\alpha \leq 0.01$  y  $\alpha \leq 0.05$ ; respectivamente), también se realizó con un análisis de correlación de Pearson entre las variables.

Los análisis se realizaron con el apoyo del paquete estadístico computacional de SAS (SAS Institute, 2002). Estos análisis se llevaron a cabo con la finalidad de identificar el híbrido con mayor susceptibilidad a una cepa patogénica de [*Ustilago maydis* (D.C.) Corda] y mayor adaptación a las condiciones y manejo para el establecimiento de una producción comercial de huitlacoche.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis de varianza

El análisis de varianza se realizó bajo un modelo no paramétrico aplicado sobre datos recabados en seis variables relacionadas a la susceptibilidad de una cepa patogénica de [*Ustilago maydis* (D.C.) Corda] en cinco híbridos de maíz, bajo un diseño experimental de bloques completamente al azar.

El análisis indicó que existen diferencias altamente significativas ( $\alpha \leq 0.01$ ) para las variables Severidad (SEV) y Grosor de mazorca (DMC), y solo diferencias significativas ( $\alpha \leq 0.05$ ) para Incidencia (INC), Peso total mazorca (PT), Peso de huitlacoche (PDH) y Longitud de mazorca (LONG), entre los tratamientos (híbridos de maíz). En el modelo estadístico se utilizó al número de cortes de huitlacoche realizados con el fin de identificar su influencia en cada uno de los híbridos evaluados, esta fuente de variación fue influyente, debido a que todas las variables evaluadas presentaron diferencias estadísticas altamente significativas con un  $\alpha \leq 0.01$  y una confiabilidad del 99% (Cuadro 3).

En este sentido, Salazar *et al.* (2013) reportaron diferencias estadísticas significativas para las variables índice de severidad, porcentaje de incidencia y gramos de huitlacoche por mazorca infectada en la evaluación de la susceptibilidad a *U. maydis* en 12 maíces criollos y cinco maíces híbridos (Oso, Cobra, Tigre, A7573 y 30T26); estos datos concuerdan con lo que encontrado en esta investigación, principalmente en la variable severidad, con 28.76% en el valor más bajo y 51.18% el más alto (Figura 2).

En el caso de los valores que se obtuvieron en el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), estos se encontraron entre un rango de 0.194 a 0.614, lo que indica que solo el 33.3% de las variables se ajustan al modelo empleado (PDH,  $R^2=0.586$  y DMC,

$R^2=0.614$ ), sin embargo, en cuanto al porcentaje del coeficiente de variación (CV) los valores se encontraron en un rango de 33.277 a 50.398 manifestando estabilidad y poca dispersión de los datos, lo que explica que valores bajos en el coeficiente de determinación, por lo tanto, hay confiabilidad en los resultados (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Sumas de rangos asignados en el análisis no paramétrico a cada una de las variables que determinan la susceptibilidad de maíces híbridos a *Ustilago maydis* para la producción de huitlacoche. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, 2018.

FV	gl	INC	SEV	LONG	DMC	PT	PDH
HIBRIDO	4	34933.63 *	161452.67**	246642.92*	293038.45**	292461.07*	610909.88*
CORTES	6	263307.94**	929300.79**	857167.35**	2336919.9**	1349634.24**	2000370.11**
ERROR	656	12353.91	25369.89	28335.41	14534.54	23567.48	15503.73
TOTAL	666						
$R^2$		0.194	0.311	0.247	0.614	0.374	0.586
CV (%)		33.277	47.688	50.398	36.095	45.963	37.279
MEDIA		1.170	39.929	16.139	58.345	214.888	73.414

INC: Incidencia (%); SEV: severidad (%); PT: peso total de la mazorca (g); PDH: peso de huitlacoche desgranado (g); LONG: longitud de la mazorca (cm); DMC: diámetro de la mazorca (mm); \*\*altamente significativo con  $\alpha \leq 0.01$ ; \*Significativo con  $\alpha \leq 0.05$ ;  $R^2$ : coeficiente de determinación; CV (%): porcentaje del coeficiente de variación.

### Análisis de correlación entre variables

Se realizó un análisis de correlaciones de Pearson ( $r$ ), para determinar la condición de las variables evaluadas en la determinación de la susceptibilidad de [*Ustilago maydis* (D.C.) Corda] en cinco híbridos de maíz, por lo que el análisis arrojó que existen correlaciones significativas entre las variables, excepto para las variables INC con PT. Las variables con correlaciones altas y negativas fueron INC con SEV y con PDH, con un coeficiente de correlación de  $r = -0.75$  y  $r = -0.73$  ( $\alpha \leq 0.01$ ), respectivamente; lo cual indica que mientras más cercano sea el valor de la incidencia a dos (sin presencia del hongo) menos severidad tendremos en los híbridos y por lo tanto menos peso de agalla del hongo de huitlacoche. El resto de las correlaciones fueron positivas y un 50% de ellas altamente significativas, por lo

que la presencia de hongo (SEV) puede favorecer a la expresión del resto de las variables, tal es el caso de SEV con PDH (0.89,  $\alpha \leq 0.01$ ) indicándonos que cuando hubo mayor severidad hubo un aumento considerablemente en el peso de huitlacoche (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Correlación (r) entre las variables evaluadas para determinar la susceptibilidad de una cepa de *Ustilago maydis* en cinco híbridos de maíz, para la producción de huitlacoche. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, 2018.

	<b>INC</b>	<b>SEV</b>	<b>PT</b>	<b>PDH</b>	<b>LONG</b>	<b>DMC</b>
<b>INC</b>	1.00	<b>-0.75**</b>	-0.40 <sup>NS</sup>	<b>-0.73**</b>	-0.53*	-0.52*
<b>SEV</b>		1.00	0.49*	<b>0.89**</b>	0.53*	0.52*
<b>PT</b>			1.00	<b>0.79**</b>	<b>0.85**</b>	<b>0.80**</b>
<b>PDH</b>				1.00	<b>0.77**</b>	<b>0.72**</b>
<b>LON G</b>					1.00	<b>0.64**</b>
<b>DMC</b>						1.00

INC: Incidencia; SEV: severidad; PT: peso total de la mazorca; PDH: peso de huitlacoche rebanado; LONG: longitud de la mazorca; DMC: diámetro de la mazorca; \*\*: altamente significativo con  $\alpha \leq 0.01$ ; \*: significativo con  $\alpha \leq 0.01$ ; <sup>NS</sup>: no significativo.

En el caso de la variable peso total (PT) con respecto a las variables peso de huitlacoche (PDH) ( $r=0.79 \alpha \leq 0.01$ ), longitud de la mazorca (LONG) ( $r=0.85 \alpha \leq 0.01$ ) y diámetro de mazorca (DMC) ( $r=0.80 \alpha \leq 0.01$ ), indican que a medida que se presente mayor longitud y diámetro de mazorca se alcanza mayor peso total y mayor porcentaje en el peso del huitlacoche por mazorca infectada (Cuadro 5).

### **Análisis de comparación de medias entre híbridos de maíz**

Se utilizó un análisis de comparación de medias por la prueba de Kruskal-Wallis, debido a que los supuestos básicos en el planteamiento del experimento no cumplen con una escala nominal u ordinal durante el registro de los datos

experimentales o diseños experimentales comunes como lo indica Castillo (2007), esto se debió a que se consideró el total de la parcela experimental, es decir todas aquellas plantas que fueron inoculadas con [*Ustilago maydis* (D.C.) Corda] fueron evaluadas, además que existen datos de presencia-ausencia que justifican el empleo de estos análisis. Por tanto, la comparación múltiple de medias bajo estos supuestos permitió elegir el material con mayor susceptibilidad a la cepa probada de *U. maydis* (Cuadro 4).

La diferencia entre las medias de rangos ajustadas a los tratamientos identificó 29 comparaciones entre los híbridos con diferente nivel de significancia; del total de comparaciones, 13 fueron altamente significativas, con una confiabilidad del 99% y un  $\alpha=0.01$ , lo representó el 44.82%, y 16 presentaron diferencias estadísticas significativas con diferente nivel de confiabilidad, por lo que de estas, 12 presentaron confiabilidad del 95% ( $\alpha=0.05$ ) y cuatro al 90% ( $\alpha=0.10$ ), lo que representó en cada caso un porcentaje de 41.37% y 13.79%, respectivamente del total de comparaciones identificadas.

Los tratamientos que presentaron mayor diferencia entre sí, para todas las variables evaluadas (INC, SEV, PT, PDH, LONG, DMC) y que además fueron altamente significativas entre los híbridos EUROS vs AN388 (cuatro comparaciones, INC=-2.68, SEV=2.74, PDH=2.67, DMC=-4.70), así como H-318 vs EUROS (cuatro comparaciones, SEV=-4.47, PT=3.37, PDH=-3.10, DMC=3.19) (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Comparación de medias ajustadas entre híbridos de maíz por la prueba de Kruskal-Wallis, para cada una de las variables que determinan la susceptibilidad de maíces híbridos a *Ustilago maydis* en la producción de huitlacoche. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, 2018.

	<b>AN388</b>	<b>CERES<sup>o</sup></b>	<b>EUROS</b>	<b>H-318</b>
<b>CERES<sup>o</sup></b>				
INC	-1.96*			
SEV				
PT				
PDH	2.04**			
LONG	1.7*			
DMC	-2.03**			
<b>EUROS</b>				
INC	<b>-2.68***</b>			
SEV	<b>2.74***</b>			
PT	-2.42**	-2.77**		
PDH	<b>2.67***</b>			
LONG		-2.49**		
DMC	<b>-4.70***</b>	<b>-2.71***</b>		
<b>H-318</b>				
INC			2.55**	
SEV		-3.03**	<b>-4.47***</b>	
PT			<b>3.37***</b>	
PDH		-2.46**	<b>-3.10***</b>	
LONG			2.20**	
DMC			<b>3.19***</b>	
<b>NOBLE</b>				
INC	<b>-1.83***</b>			
SEV	2.28**			<b>3.85***</b>
PT			2.23**	
PDH	2.12**			2.44**
LONG			1.76*	
DMC	<b>-3.63***</b>			-2.04*

<sup>o</sup>: Híbrido Gold XR60; INC: Incidencia; SEV: severidad; PT: peso total de la mazorca; PDH: peso de huitlacoche desgranado; LONG: longitud de la mazorca; DMC: diámetro de la mazorca; \*\*\*altamente significativo con  $\alpha \leq 0.01$ ; \*\*significativo con  $\alpha \leq 0.05$ ; significativo  $\alpha \leq 0.10$ .

Es importante recalcar que el principal inconveniente de las pruebas de comparaciones múltiples no paramétricas radica en su escasa capacidad de detectar diferencias significativas reales entre pares de tratamientos (Araya, 2011), por lo que al analizar las medias de cada variable en cada uno de los tratamientos se tienen que los híbridos que presentaron mayor INC y SEV fueron EUROS y NOBLE, con respecto al resto de los tratamientos y que los materiales más resistentes y/o tolerantes a los efectos de los hongos para estas dos variables fueron H-318 y AN388 por tal motivo es que algunas comparaciones son negativas (Cuadro 4).

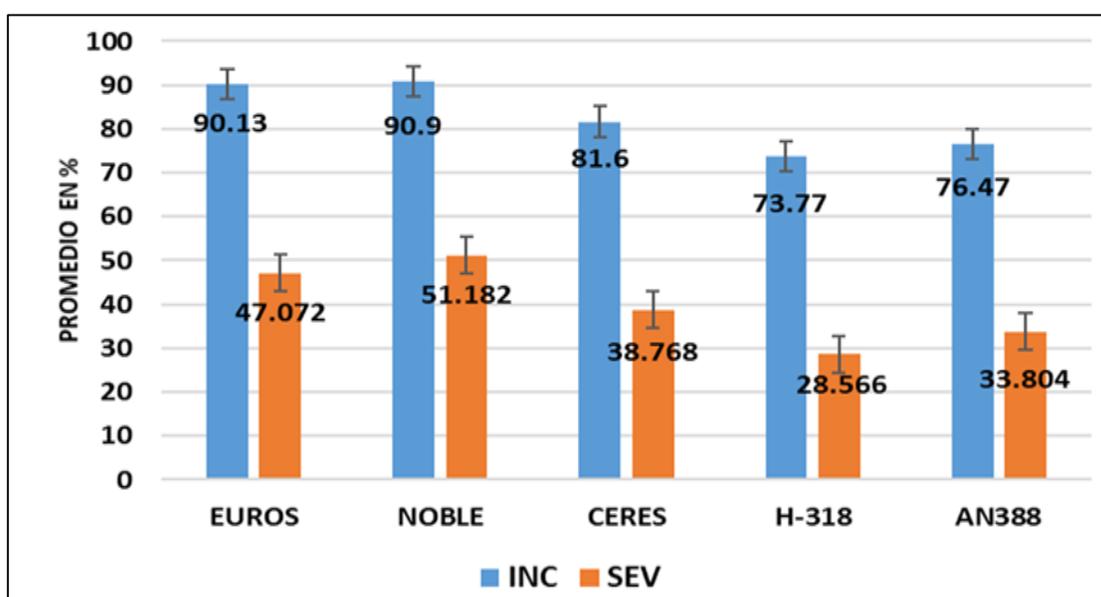
En trabajos previos relacionados al estudio de la susceptibilidad de [*Ustilago maydis* (D.C.) Corda] en materiales genéticos de maíz adaptados al norte de país, el híbrido AN388, resultó ser un material con alta susceptibilidad (Estrada-Torres *et al.*, 2018<sup>1</sup>; comunicación personal), por eso fue considerado como testigo; sin embargo, en esta investigación la respuesta de éste híbrido fue diferente, esto puede explicarse debido a que el resto de los materiales evaluados no se encuentran adaptados a las condiciones climáticas de Buenavista, por tanto la expresión del patógeno se presentó con mayor incidencia y severidad (Figura 2).

En esta investigación los híbridos NOBLE y EUROS presentaron los más altos porcentajes de incidencia con 90.90% y 90.13%, respectivamente (Figura 3). Estos valores superan a los reportados por Salazar *et al.* (2013), quienes encontraron resultados de 85.83% en la variable incidencia de huitlacoche en el híbrido Cobra. Los Híbridos CERES, AN388 y H-318 también presentaron resultados aceptables de incidencia con valores de 81.6%, 76.47% y 73.77% respectivamente, por lo que todos los materiales evaluados fueron vulnerables a la infección de *Ustilago maydis* manifestándose como materiales susceptibles a una cepa patogénica local.

---

<sup>1</sup>, M.C. Cesar Estrada-Torres, Dra. Miriam Sánchez-Vega y Dr. Alonso Méndez-López (2018). Producción comercial de huitlacoche en el Derramadero, Saltillo, Coahuila. Proyecto de Desarrollo No. 3128. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

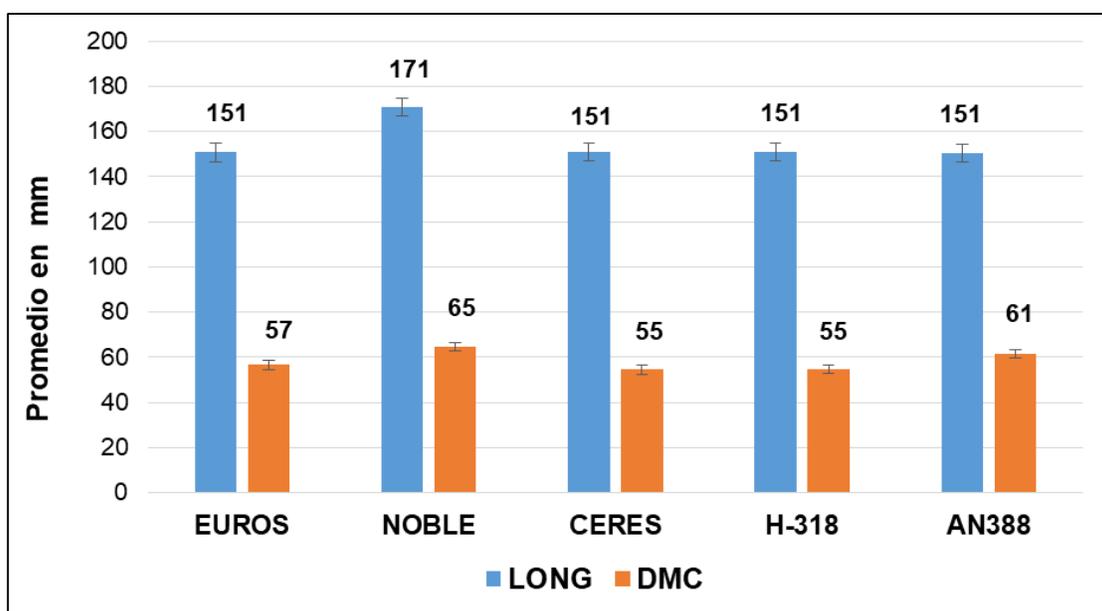
Los máximos valores obtenidos en la variable severidad correspondieron de igual manera a los híbridos NOBLE con un 51.18% y EUROS con 47.07% (Figura 2), estos valores son equivalentes a los obtenidos por Méndez-López *et al.* (2011), quienes encontraron 49.9% como valor máximo de severidad en el híbrido A-722. Los híbridos CERES, AN388 Y H.318 presentaron valores de severidad inferiores al 40% por lo que entre otros factores este efecto pudo deberse a la resistencia genética de estos materiales o a que las condiciones ambientales no fueron las favorables para la máxima expresión del hongo, este comportamiento fue observado por Villanueva *et al.* (2007), al indicar que aun disponiendo de la planta susceptible, del hongo virulento y de la técnica de inoculación eficiente, las condiciones ambientales son determinantes en el sentido de favorecer o inhibir el desarrollo de la infección del huitlacoche.



**Figura 2.** Medias de las variables incidencia (INC) y severidad (SEV), en los híbridos de maíz evaluados para determinar la susceptibilidad a una cepa patogénica de *Ustilago maydis*, en la producción de huitlacoche. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, 2018.

Las variables de diámetro (DMC) y de longitud (LONG) de la mazorca, son elementos relacionadas con rendimiento en maíz, y por lo tanto para el caso de huitlacoche también es un indicativo, por lo que los valores fluctuaron en un rango

de 55 mm (CERES Y H-318) hasta 65 mm (NOBLE); en tanto que la longitud (LONG) de mazorca se presentó en un rango de 151 mm (EUROS, CERES, H-318 Y AN388) a 171 mm (NOBLE), por lo que las mazorcas con mayor grosor (DMC) y LONG las presentó el híbrido NOBLE. En general estas dos variables fueron estables en cuanto al comportamiento de los valores para los cinco híbridos evaluados (Figura 3). Al respecto, Valdez *et al.* (2009) reportaron mazorcas de 100 a 170 mm de longitud en maíces criollos adaptados al bajío en los que se evaluó la susceptibilidad de dichos materiales para la producción masiva del huitlacoche; estos datos se ajustan a los encontrados es esta investigación.

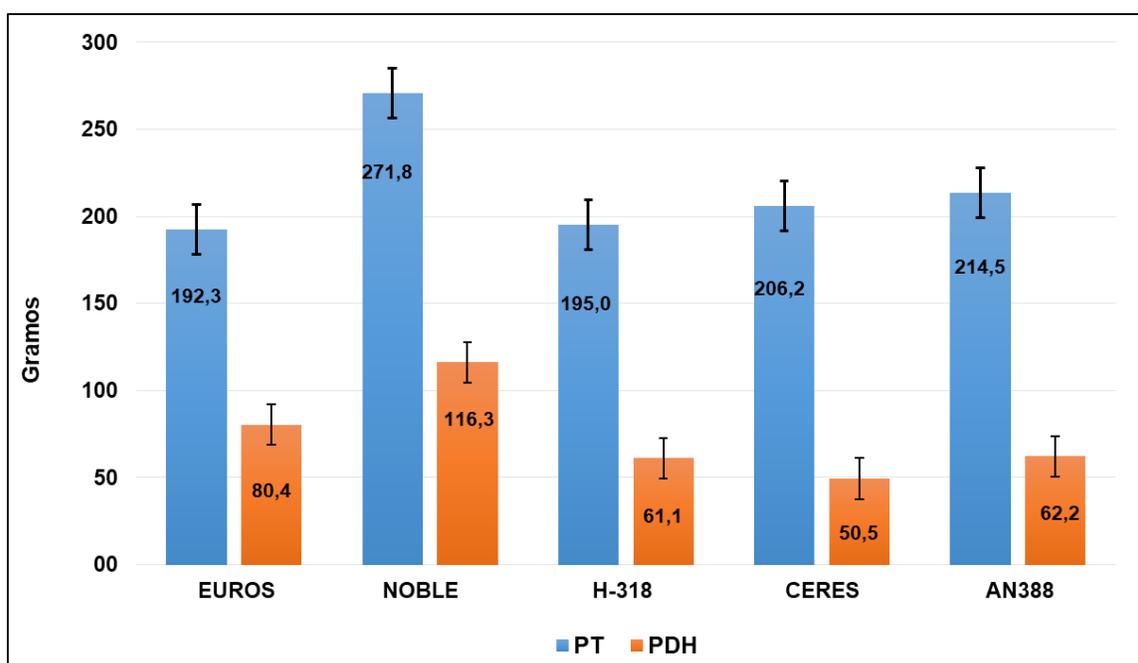


**Figura 3.** Medias de las variables incidencia longitud (LONG) y grosor (DMC), en los híbridos de maíz evaluados para determinar la susceptibilidad a una cepa patogénica de *Ustilago maydis*, en la producción de huitlacoche. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, 2018.

Datos reportados por Ángeles *et al.* (2010), relacionados con las variables de longitud y diámetro en mazorca indican que son variables que están relacionada al rendimiento de grano en híbridos de maíz, por lo que estos autores reportan un promedio de 140.7 mm de largo y 20.4 mm de ancho de mazorca, los cuales fueron significativos para rendimiento. Los valores promedio obtenidos en la presente investigación para los cinco híbridos evaluados, fueron de 154.75 mm de longitud y

58.3 mm de diámetro, valores más altos; lo que indica que el hongo influye directamente en estas variables y que, en la producción de huitlacoche, es común encontrar mazorcas más grandes y abultadas por la hiperplasia e hipertrofia deformando el grano del elote y con ello la formación de agallas.

En el caso de las variables relacionadas al peso total (PT) y peso de huitlacoche (PDH), se encontró que los híbridos NOBLE y EUROS, presentaron las medias más altas (270.81 g y 116.30g; 192.33 g y 80.39 g, respectivamente); con un porcentaje de huitlacoche del 42.94% para NOBLE y 41.79% para EUROS, con respecto al total del peso de la mazorca (PT) (Figura 4).

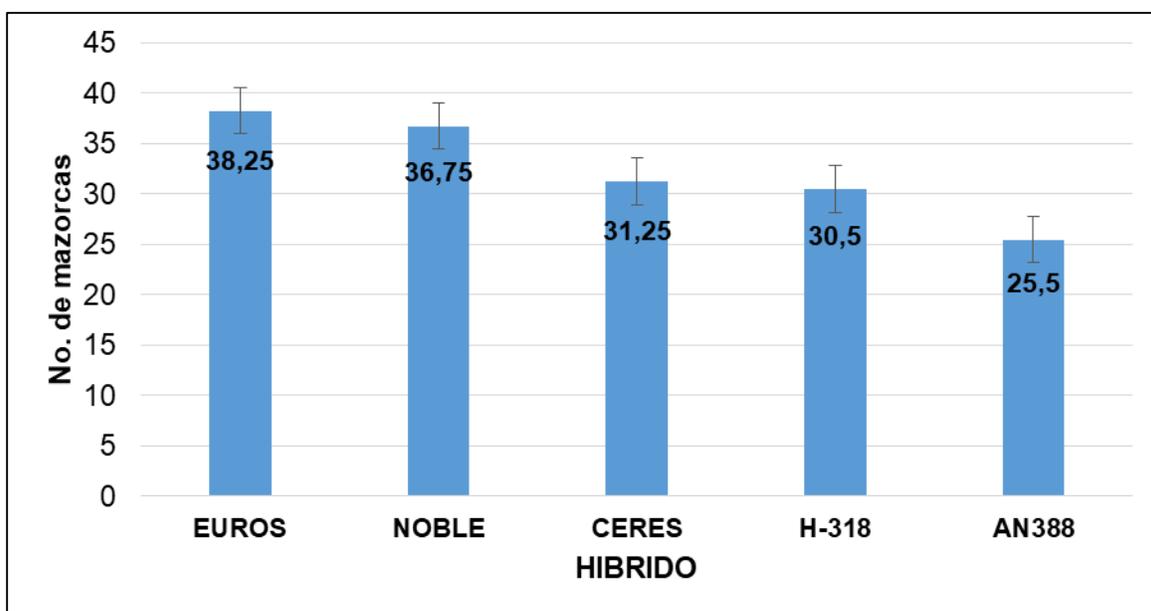


**Figura 4.** Medias de las variables peso total de mazorca (PT) y peso de huitlacoche (PDH), en los híbridos de maíz evaluados, para determinar la susceptibilidad a una cepa patogénica de *Ustilago maydis*, en la producción de huitlacoche. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, 2018.

El rendimiento promedio que se obtuvo por híbrido supera los resultados obtenidos por Méndez *et al.* (2011), donde de los mejores híbridos evaluados fueron: TROMBA con 131.2 g-mazorca<sup>-1</sup> y D2020Y con 123 g-mazorca<sup>-1</sup>; comparados con los valores

obtenidos en los híbridos evaluados en este trabajo: NOBLE 270.81 g-mazorca<sup>-1</sup> y CERES con 195.04 g-mazorca<sup>-1</sup>.

El rendimiento también está relacionado directamente con el número de mazorcas infectadas por el hongo, ya que es claro que a mayor número de mazorcas infectadas y alto porcentaje de cobertura el rendimiento de huitlacoche será mayor. En este trabajo los valores promedio de mazorcas cosechadas fueron relativamente bajos y por tal razón este factor es determinante en el volumen de producción alcanzado, el mayor promedio lo presentó EUROS con 38.25% de mazorcas cosechadas respecto al total inoculadas, seguido de NOBLE CON 36.75% (Figura 5). El menor promedio de mazorcas cosechadas lo presentó el híbrido AN388 con 25.5%, este resultado se atribuye a que es un maíz desarrollado en la UAAAN por lo que está adaptado a las condiciones bióticas y abióticas de la zona, ya que se manifiesta cierto nivel de tolerancia a la cepa local utilizada.



**Figura 5.** Promedio del total de mazorcas cosechadas por híbrido, inoculadas con una cepa patógena de *Ustilago maydis*, en la producción de huitlacoche. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, 2018.

En relación al rendimiento por unidad de superficie promedio de huitlacoche, Escalante (2013) reporta rendimientos de  $1.88 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$  en el híbrido Gladiador, este valor se encuentra por debajo del rendimiento que se obtuvo para NOBLE de  $4.69 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Salazar *et al.* (2013) obtuvieron rendimientos de hasta  $14.10 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$  con el híbrido Oso. Dichos valores superan a los alcanzados en este trabajo, estos resultados se atribuyen como principal factor a la influencia de las condiciones ambientales de baja humedad relativa que se presentan en Buenavista, Saltillo, ya que se encuentra en una zona con clima semidesértico. Según los datos de CONAGUA (2019) reporta en un periodo de 10 años (1981-2010) para los meses en los que se estableció el cultivo (mayo a septiembre), temperaturas alrededor de  $28.8 \pm 2.0^\circ\text{C}$  (máx.),  $22.02 \pm 2.0^\circ\text{C}$  (media) y  $15.2 \pm 2.0^\circ\text{C}$  (mínima), con una precipitación de 252.4 mm y una evaporación de 1 068.4 mm, por lo que estas condiciones no se consideran apropiadas u óptimas para que el hongo exprese su mayor potencial, a diferencia de las regiones del centro del país con condiciones más estables y homogéneas y donde se tienen rendimientos, como los reportados por Salazar *et al.* (2013).

Otro factor de importancia es la característica de grano de los híbridos, pues son blancos y dentados lo que indica que el endospermo tiene alto contenido de almidón duro limitado solo a los lados del grano y cuando se empieza a secar el grano se contrae en la parte superior y produce una pequeña depresión. El maíz dentado es generalmente de mayor rendimiento que otros tipos de maíces, pero tiende a ser más susceptible a hongos e insectos en el campo; sin embargo, esta afectación no es comparable con lo mencionado por Aguayo *et al.* (2016) quien reporta que los maíces de grano dulce son los más susceptibles a *Ustilago maydis*.

Con respecto a la cepa evaluada, Calderón (2010) reporta que la producción de huitlacoche, no está relacionado con la variedad ni el color de maíz esto más bien depende de la virulencia de la cepa, y de las condiciones ambientales que se presenten en la localidad donde se establece el maíz para este propósito y que con ello se expresen los síntomas de *Ustilago maydis*.

## CONCLUSIONES

Los híbridos con mayor susceptibilidad a la cepa patogénica de *Ustilago maydis* para la producción de huitlacoche mediante inoculación artificial bajo las condiciones de Buenavista, Saltillo, Coahuila, México fueron NOBLE y EUROS, ya que presentaron los valores más altos en cuanto a las variables de productividad para este hongo como incidencia, severidad, número de mazorcas infectadas cosechadas, peso total de la mazorca, peso del huitlacoche, largo de mazorca y ancho de mazorca.

La producción comercial de huitlacoche en las condiciones de Saltillo es factible, sin embargo es necesario continuar evaluando maíces adaptados y cepas locales con el propósito de encontrar la mejor combinación entre maíz con alta susceptibilidad y la cepa altamente virulenta, en el entendido de que es necesario proveer del ambiente adecuado para el desarrollo de hongo.

## LITERATURA CITADA

- Acosta, R. 2009. El cultivo del maíz, su origen y clasificación. El maíz en cuba. Cultivos Tropicales. 30(2): 00. Recuperado el 20 de febrero de 2019, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362009000200016](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362009000200016)
- Agrios, G. N. 2006. Patología vegetal. 5ª ed. LIMUSA. México, D.F. 922 p.
- Aguayo G.; Dulce J.; Acosta R., M.; Pérez C., L. E.; Guevara L., F.; García M., A. M. 2016. Producción natural de huitlacoche [*Ustilago maydis* (DC) Corda] en el estado de Aguascalientes. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 7(5): 1043-1050. Recuperado en 07 de marzo de 2019, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S200709342016000501043&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200709342016000501043&lng=es&tlng=es).
- Ángeles G., E.; Ortiz T., E.; López, P. A.; López R., G. 2010. Caracterización y rendimiento de poblaciones de maíz nativas de Molcaxac, Puebla. *Revista fitotecnica mexicana*, 33(4): 287-296. Recuperado en 07 de marzo de 2019, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S018773802010000400006&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018773802010000400006&lng=es&tlng=es).
- Araya, P. S. 2011. Evaluación de los procedimientos de comparaciones múltiples no paramétricas para una o dos vías de la clasificación utilizados en la investigación bilógica. Tesis licenciatura. Universidad Central de Venezuela. Venezuela. P. 80. Consultado en: <https://mail.google.com/mail/u/2/#inbox/FFNDWLHwnhZJLKVZbRDmrzbqmHJwjbzr?projector=1&messagePartId=0.1>
- Calderón, F. M. L. 2010. Caracterización clásica y molecular del huitlacoche [*Ustilago maydis* D.C. (Corda)], hongo de importancia social y económica en la región central de México. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados.

- Campus Puebla, México. 182 p. Composición y producción. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition 35: 191-229.
- Castillo, M. L. E. 2007. Introducción al SAS para Windows. 3 Ed. Chapingo, Edo de México. Universidad Autónoma Chapingo. P.196.
- Chávez A., J. L. 1995. Mejoramiento de Plantas 1. Segunda Edición. Ed. Trillas. México. 136 p.
- Delgado R., J. 2017. La selección del Híbrido de Maíz. Serie Cereales. Núm. 35. Artículos Técnicos del INTAGRI. Mexico.3 p.
- Marco, O. N. D.; Aello, M. S. 2003. Calidad nutritiva de la planta de maíz para silage. Unidad Integral Balcarse. (Facultad de Ciencias Agrarias (UNMdP)-INTA EEA Balcarse). Verificado en marzo del 2006.
- Escalante, P. C. 2013. Estudios de la reacción del maíz al huitlacoche con fines de planificación de la cosecha. Tesis maestría. Instituto de Horticultura. Chapingo.  
México.<https://chapingo.mx/horticultura/pdf/tesis/TESISMCH2013062510128064.pdf>.
- García M., A. 2016. Producción de huitlacoche [*Ustilago maydis* (D.C) Corda] en el estado de Aguascalientes. (Tesis maestría). Centro de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma De Aguascalientes.  
<http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/>.
- INEGI 2012. Anuario estadístico de Chiapas 2011. Chiapas, México. Disponible en:<http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/sistemas/aee12/estatal/chis/default.htm>.
- Lim, T. K. 2013. Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants. Volumen 5, Fruits. Springer. New York. Pp. 416-447.
- Madrigal R., J.; C. Villanueva V.; J. Sahagún C.; M. Acosta R.; L. Martínez M.; T. Espinosa S. 2010. Ensayos de producción de huitlacoche (*Ustilago maydis*

- Cda.) hidropónico en invernadero. Revista Chapingo. Serie Horticultura. 16(3): 177-182.
- Martínez M., L.; A. Muñoz O.; J. A. Mejía C.; J. D. Molina G.; E. Zavaleta-Mejía; J. S. Sandoval I.; C. Villanueva V. 2005. Efectos genéticos e interacciones entre familias de maíz y aislados de huitlacoche (*Ustilago maydis* D. C. Corda). Chapingo. Serie Horticultura. 11(1): 121-128.
- Martínez, L., Villanueva, C.; Sahagún, J. 2000. Susceptibilidad y resistencia del maíz al hongo comestible huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) mejorando su virulencia. Revista Chapingo Serie Horticultura, 6(2): 241-248.
- Méndez L. A; Salazar. T. J. C.; Álvarez. H. R. 2011. Híbridos de maíz elotero susceptibles al huitlacoche. Extensión al campo: Agricultura y Agronomía. Año 5. No 19-20. pp. 20-26. Consultado en: <https://www.researchgate.net/publication/326782453>.
- Muñoz, Z. R. 2012 Diccionario enciclopédico de la gastronomía mexicana. Larousse. México, D. F. ISBN-13: 978-6072106192.
- Pan, J. J.; Baumgarten, M. A.; May, G. 2008. Effects of host plant environment and *Ustilago maydis* infection on the fungal endophyte community of maize (*Zea mays*). New Phytologist 178: 147-156.
- Paredes L., O.; Guevara L., F.; Bello P., L. A. 2006. Los Alimentos Mágicos de las Culturas Indígenas Mesoamericanas. Fondo de Cultura Económica- Serie Ciencia para Todos. México, DF. 205 pp. ISBN 968-16-7567-3.
- Paredes-López, O.; Valverde-González, M. E. 1999. Los alimentos mágicos de las culturas indígenas de México—El caso del huitlacoche. México: El colegio de Sinaloa. Pp. 31-40.
- Pataky, J. K. 1991. Production of huitlacoche [*Ustilago maydis* (D. C.) Corda] on sweet corn. Horticultural Science. 26:1374-1377. Obtenido de: <http://www.mycologia.org/content/95/6/1261.full.pdf+html>

- Ruiz H., J.; León R., C.; Martínez E., A. D. 2000. Morphogenesis and pathogenesis in *Ustilago maydis*. Recent Research Developments in Microbiology.4: 585-598.
- Ruiz H., J.; Martínez E., A. D. 1998. El hongo *Ustilago maydis*, desde la cocina azteca hasta el laboratorio de investigación. Microbiología internacional. 1: 149-158.
- Ruiz H., J. 2008. *Ustilago maydis*: ascenso de un hongo mexicano de la gastronomía local al mundo científico. Revista electrónica *Nova Scientia*, 1(1): 118-135. Consultado en <https://www.redalyc.org/html/2033/203315665007/>.
- SAGARPA-SNICS (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación & Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas). 2007. Regla para la clasificación de semilla de maíz (*Zea mays* L.) <https://www.conacyt.gob.mx/cibiogem/images/cibiogem/normatividad/vigente/SAGARPA/Maiz.pdf>.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2017. Atlas Agroalimentario. México Siembra Éxito. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 231 p.
- SAGARPA-SIAP 2012. Producción Agrícola Anual (1980-2012). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA)-Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (Consultado en marzo del 2019). Disponible en: [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10&Itemid=15](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=10&Itemid=15).
- Salazar T., J. C.; E. Martínez T.; R. Álvarez H.; A. Méndez L. 2013. Susceptibilidad de maíces híbridos y criollos al huitlacoche (*Ustilago maydis* (D.C.) CDA.), y rentabilidad de la producción, en Chapingo, México. Ciencias Agronómicas y ambientales. 1er. Congreso Internacional de Ciencias Aplicadas. Universidad Autónoma de Chapingo. pp. 84-93.

- SIAP-SAGARPA. 2012. Estadísticas del Sector Agropecuario. Coordinación General de Agricultura. Disponible en: [http:// www.sagarpa-siap.gob.mx](http://www.sagarpa-siap.gob.mx). Consultado en marzo 2019.
- Tracy, W. F.; Vargas, C.; Zepeda, L.; Pataky, J. K.; Chandler, M. A. 2007. Production and Marketing of huitlacoche. *In: Sigues in new crops and new uses*. (pp: 233-236), Janick J. y Whipkey (Eds.) ASHS Press. Alexandria, VA.
- Valdez, A. R. 2012. El huitlacoche un recurso alimentario mexicano no tan milenario. UNAM. Instituto de investigaciones antropológicas. México. Recuperado de: [dqkjsx3xr6pzf.cloudfront.net/c185038/Cuitlacoche.pdf](http://dqkjsx3xr6pzf.cloudfront.net/c185038/Cuitlacoche.pdf).
- Valdez, M. M.; Valverde M. E.; Paredes L. O. 2009. Procedimiento tecnológico para la producción masiva de huitlacoche. CINVESTAV Irapuato. Sinnco. pp. 10-37.
- Valdez, M., M.; Valverde, M. E.; Paredes L., O 2008. Producción comercial de huitlacoche de alta calidad. Reporte técnico. Unidad Irapuato, CINVESTAV-IPN [http://sistemanodalsinaloa.gob.mx/archivoscomprobatorios/\\_16\\_informetecnicoconsultorias/1407.pdf](http://sistemanodalsinaloa.gob.mx/archivoscomprobatorios/_16_informetecnicoconsultorias/1407.pdf).
- Valverde, M. E.; Paredes L., O. 1993. Producción y evaluación de algunas propiedades alimenticias de huitlacoche (*Ustilago maydis*). *Biología de Alimentos* 7(3): 207-219.
- Villanueva V., C.; E. Sánchez R.; E. Villanueva S. 2007. El Huitlacoche y su Cultivo. Ed. Mundi Prensa. México, S.A. de C.V. 96 p.
- Winch, T. (2006). *Growing Food, a guide to food production*. Springer. Hereford, UK. 342 pp.