



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS PUEBLA

POSTGRADO EN ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

**MEJORAMIENTO DE LAS CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS Y
COMERCIALES DEL “CUITLACOCHÉ” MEDIANTE LA INFECCIÓN
CONTROLADA DEL HONGO *Ustilago maydis*, COMO INNOVACIÓN
TECNOLÓGICA DEL MAÍZ PARA LAS COMUNIDADES RURALES**

VLADIMIR TEODORO CASTAÑEDA DE LEÓN

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE**

DOCTOR EN CIENCIAS

PUEBLA, PUEBLA

2018



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS
CAMPECHE-CÓRDOBA-MONTECILLO-PUEBLA-SAN LUIS POTOSÍ-TABASCO-VERACRUZ

SUBDIRECCIÓN DE EDUCACIÓN
CAMPUS PUEBLA

CAMPUE- 43-2-03

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe **Vladimir Teodoro Castañeda de León**, alumno de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección del Profesor **Dr. Hermilo Leal Lara**, y la supervisión del profesor consejero **Dr. Daniel Claudio Martínez Carrera**, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **Mejoramiento de las características productivas y comerciales del "cuitlacoche" mediante la infección controlada del hongo *Ustilago maydis*, como innovación tecnológica del maíz para las comunidades rurales**, y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, el Consejero y el Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las cuatro partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Puebla, Puebla, septiembre del 2018

Vladimir Teodoro Castañeda de León

Vo. Bo. Profesor Consejero
Dr. Daniel Claudio Martínez Carrera

La presente tesis, titulada: **Mejoramiento de las características productivas y comerciales del "cuitlacoche" mediante la infección controlada del hongo *Ustilago maydis*, como innovación tecnológica del maíz para las comunidades rurales**; realizada por el alumno: **Vladimir Teodoro Castañeda de León**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



DR. DANIEL CLAUDIO MARTÍNEZ CARRERA

DIRECTOR:




DR. HERMILO LEAL LARA

ASESOR:



DR. PORFIRIO MORALES ALMORA

ASESORA:



DRA. MERCEDES SOBAL CRUZ

ASESOR:



DR. ABEL GIL MUÑOZ

Puebla, Puebla, septiembre 2018

MEJORAMIENTO DE LAS CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS Y COMERCIALES DEL “CUITLACOCHÉ” MEDIANTE LA INFECCIÓN CONTROLADA DEL HONGO *Ustilago maydis*, COMO INNOVACIÓN TECNOLÓGICA DEL MAÍZ PARA LAS COMUNIDADES RURALES

Vladimir Teodoro Castañeda de León, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2018

Las plantas de maíz que son infectadas por el hongo *Ustilago maydis* desarrollan agallas o tumores comestibles conocidos como “cuitlacoche”, producto apreciado como un manjar gastronómico. Las agallas de cuitlacoche están constituidas por teliosporas que al germinar producen células haploides conocidas como esporidios (células tipo levaduriforme). Tanto teliosporas como esporidios se utilizan para infectar plantas de maíz de manera controlada. En una primera etapa de este trabajo, se aislaron esporidios de seis diferentes muestras de agallas recolectadas en la región central de México, en los Estados de México (EM) y Puebla (Pu). Se determinaron los patrones de compatibilidad sexual mediante la reacción de fuzz y su capacidad infectiva fue evaluada en plántulas e inoculando jilotes de plantas de maíz. En una segunda etapa, un maíz híbrido (Tornado XR™) fue inoculado con 10 cepas de *U. maydis* seleccionadas en la etapa anterior: 4 pares de aislamientos haploides (esporidios) compatibles silvestres, 2 pares de cepas híbridas (aislamientos haploides silvestres × cepa de referencia), una cepa de multi-teliosporas germinadas y tres cepas de referencia. El desarrollo de la infección y virulencia, así como la producción de agallas de cuitlacoche fueron evaluados para las diferentes cepas de *U. maydis*. Posteriormente, las tres mejores cepas del experimento anterior se probaron en cinco variedades de maíz, para evaluar la interacción entre *U. maydis* y las variedades de maíz en la producción de agallas de cuitlacoche. Se empleó un diseño experimental de bloques completos al azar. Se registraron las características fenológicas y fenotípicas de las plantas infectadas, así como la producción, calidad y atributos sensoriales de las agallas resultantes. Las cepas silvestres produjeron agallas con mejor sabor de acuerdo a las preferencias del mercado, presentando menor amargor, pero mayor sabor a dulce, umami y maíz. Las mejores producciones se obtuvieron con todas las cepas de referencia (CP, PK, FB) [incidencia >90%, severidad >80%, productividad >12 t/ha], con la cepa híbrido (EM1-6 × FB1) [incidencia 82.6%, severidad 51.8%, productividad 5.6 t/ha] y con la cepa silvestre (EM4-10 × EM2-4) [incidencia 68.2%, severidad 44.0%, productividad 4.8 t/ha]. Las variedades de maíz donde mejor se desarrollaron agallas de cuitlacoche fueron, ‘Canelo’™, ‘Hoja de oro’™ y ‘Tornado XR’™.

Palabras clave: aislamientos haploides, cepas híbrido, cuitlacoche, evaluación sensorial, hongos comestibles, maíz, producción controlada, *Ustilago maydis*.

IMPROVEMENT OF THE PRODUCTIVE AND COMMERCIAL CHARACTERISTICS OF "CUITLACOCHÉ" BY CONTROLLED INFECTION OF THE FUNGUS *Ustilago maydis*, AS A TECHNOLOGICAL INNOVATION OF THE MAIZE FOR THE RURAL COMMUNITIES

Vladimir Teodoro Castañeda de León, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2018

Maize plants infected by the common smut fungus *Ustilago maydis* develop edible galls or tumors known as "cuitlacoche", a product highly appreciated as a delicacy in Mexican gastronomy. Cuitlacoche galls are full of teliospores that upon germination produce haploid cells known as sporidia (yeast-like form). Both, teliospores and sporidia, are used to infect maize plants for artificial infection. In the first stage of this study, sporidia were isolated from six different gall samples obtained from the central region of Mexico, in the States of Mexico (EM) and Puebla (Pu). Mating-type specificities were determined by the fuzz reaction; the infectious capacity was evaluated in plant seedlings and by inoculating maize plants. In a second stage of the study, a maize hybrid (Tornado XRTM) was inoculated with 10 *U. maydis* strains selected from the previous stage: 4 pairs of wild-type compatible haploid (sporidia) isolates, 2 pairs of hybrid strains (wild-type haploid isolates × tester strain), one multi-teliospore strain and three tester strains. The development of the infection and virulence as well as production of cuitlacoche galls was recorded for the different strains of *U. maydis*. Thereafter, the best performing strains were tested on five maize varieties to evaluate the interaction between *U. maydis* and maize varieties for production of cuitlacoche. A randomized complete block experimental design was used. Phenological and phenotypic characteristics of infected plants, as well as production, quality and sensory attributes of the resulting galls, were evaluated. Wild-type strains produced better flavored galls according to consumer preferences, characterized by less bitterness, but prevailing sweet, umami and maize flavor. Greater yields of edible galls were recorded in tester strains (CP, PK, FB) [incidence > 90%, severity > 80%, productivity > 12 t / ha], a hybrid strain (EM1-6 × FB1) [incidence 82.6%, Severity 51.8%, productivity 5.6 t/ha], and a wild-type (EM4-10 × EM2-4) [incidence 68.2%, severity 44.0%, productivity 4.8 t / ha]. A better development of cuitlacoche galls was observed with maize varieties 'Canelo'TM, 'Hoja de oro'TM and 'Tornado XR'TM.

Key words: controlled production, cuitlacoche, edible fungi, haploid strains, hybrid strains, maize, sensory evaluation, *Ustilago maydis*.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por hacer posible la continuación de mis estudios de posgrado.

Al Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla y a sus docentes por brindarme los conocimientos necesarios para llevar a cabo la presente investigación.

A los miembros de mi honorable consejo:

Dr. Daniel Claudio Martínez Carrera, Dr. Hermilo Leal Lara, Dr. Porfirio Morales Almora, Dra. Mercedes Sobal Cruz, Dr. Abel Gil Muñoz, quienes con sus conocimientos y guía en sus respectivas áreas, dieron realce al siguiente trabajo.

Quiero agradecer, especialmente al Dr. Hermilo Leal Lara mi director de tesis, por haberme guiado en la realización de este trabajo, por compartir sus conocimientos y especialmente por su apoyo, confianza y amistad.

A la Dra. Patricia Severiano Pérez, y su equipo de trabajo del Laboratorio de Análisis Sensorial, de la Facultad de Química, UNAM, por su gran ayuda para realizar el análisis sensorial correspondiente a este trabajo y por las sugerencias para la mejora del mismo, por su amabilidad, disposición y amistad.

A la Empresa Hongos de México S.A. de C.V. a través del su Gerente General Ing. Jorge Petersen Aranguren, y en especial al técnico de laboratorio, Tec. Enrique Cardona C., por su gran apoyo en la logística, durante el desarrollo de la parte experimental de campo.

Al productor de cuitlacoche Sr. Martín Reza, por su valioso apoyo y permitir que se llevara a cabo los experimentos de campo en sus parcelas de producción, localizadas en la comunidad de San Andrés de Nicolás Bravo, Malinalco, Estado de México, México. Por compartir sus conocimientos y especialmente por su confianza y amistad.

A todos ellos GRACIAS

Vladimir Teodoro Castañeda de León

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Biotecnología y desarrollo.....	3
2.2. Hongos comestibles: saprobios y micorrícicos	5
2.3. <i>Ustilago maydis</i> hongo parásito y comestible	6
2.4. Biología del patosistema.....	7
2.5. Teliosporas y esporidios como inductores de la infección.....	10
2.6. Métodos de inoculación en plantas de maíz	11
2.7. Variedades de maíz para la producción de cuitlacoche.....	14
2.8. Infección artificial del maíz por <i>Ustilago maydis</i>	21
2.9. Medición de la infección con <i>Ustilago maydis</i>	21
2.10. Influencia de los factores ambientales sobre el desarrollo de la infección.....	24
2.11. Análisis sensorial de hongos comestibles.....	28
III. MARCO DE REFERENCIA	31
3.1. La producción de hongos comestibles en México.....	31
3.2. Consumo y producción de cuitlacoche en México.....	32
3.2.1. Época prehispánica.....	32
3.2.2. De la época colonial a la actualidad	34
3.3. Cultivo de cuitlacoche	38
3.4. Sistemas de producción de cuitlacoche en México	42
3.5. Experiencias en la producción de cuitlacoche en México.....	43
IV. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	47
V. HIPÓTESIS	49
VI. OBJETIVOS.....	50
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	51
7.1. Planteamiento global de la estrategia del trabajo	51
7.2. Aislamiento y selección de cepas silvestres infectivas de <i>Ustilago maydis</i>	53
7.2.1. Aislamiento de esporidios silvestres de <i>Ustilago maydis</i>	54
7.2.2. Reacción de fuzz (Holliday, 1974), para identificar patrones de compatibilidad sexual en laboratorio	54
7.2.3. Evaluación preliminar de compatibilidad sexual (virulencia) de <i>Ustilago maydis</i> en plántulas de maíz bajo condiciones de invernadero.....	59

7.2.4. Confirmación de compatibilidad sexual y selección de aislamientos haploides silvestres de <i>Ustilago maydis</i> en “jilotes” de maíz en parcela experimental (UNAM).....	60
7.3. Evaluación en campo de la infección de <i>Ustilago maydis</i> en variedades de maíz60	
7.3.1. Sitio de estudio (San Andrés de Nicolás Bravo)	61
7.3.2. Manejo e inoculación de maíz.....	61
7.3.3. Diseño experimental.....	63
7.3.4. Infección en híbrido de maíz ‘Tornado XR’™ inoculado con 10 cepas de <i>Ustilago maydis</i> (1 ^{er} experimento de campo)	64
7.3.5. Infección en 5 híbridos de maíz inoculados con 3 cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i> (2 ^o experimento de campo).....	64
7.4. Variables evaluadas	64
7.4.1. Medición de factores ambientales	64
7.4.2. Evaluación agronómica del maíz.....	65
7.4.3. Evaluación productiva de <i>Ustilago maydis</i>	65
7.4.4. Análisis estadístico (SAS)	66
7.4.5. Evaluación sensorial (perfil flash) de agallas de cuitlacoche.....	66
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	68
8.1. Aislamiento y selección de cepas silvestres infectivas de <i>Ustilago maydis</i>	68
8.1.1. Aislamiento y caracterización de esporidios silvestres de <i>Ustilago maydis</i>	68
8.1.2. Reacción de fuzz (Holliday, 1974) para identificar patrones de compatibilidad sexual en laboratorio	68
8.1.3. Evaluación preliminar de compatibilidad sexual (virulencia) en plántulas de maíz (invernadero)	77
8.1.4. Confirmación de compatibilidad sexual de aislamientos haploides silvestres de <i>Ustilago maydis</i> en jilotes de maíz, en parcela experimental (UNAM)	80
8.2. Evaluación de infección en híbrido de maíz ‘Tornado XR’™ inoculado con 10 cepas de <i>Ustilago maydis</i> (1 ^{er} experimento de campo).....	82
8.2.1. Condiciones climáticas (1 ^{er} experimento)	82
8.2.2. Características fenológicas y fenotípicas del maíz.....	84
8.2.3. Producción de agallas (1 ^{er} experimento)	85
8.2.4. Análisis sensorial (perfil flash) (1 ^{er} experimento).....	91
8.3. Evaluación de infección en cinco variedades de maíz inoculadas con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i> (2 ^o experimento de campo)	99
8.3.1. Condiciones climáticas (2 ^o experimento).....	99
8.3.2. Características fenológicas y fenotípicas del maíz (2 ^o experimento).....	101
8.3.3. Producción de agallas (2 ^o experimento).....	104

8.3.4. Análisis sensorial (perfil flash) (2° experimento)	114
8.3.4.1. Atributos de apariencia.....	114
8.3.4.2. Atributos de olor.....	117
8.3.4.3. Atributos de textura en mano	120
8.3.4.4. Atributos de textura en boca.....	123
8.3.4.5. Atributos de sabor.....	126
IX. CONCLUSIONES	134
X. ESTRATEGIA PARA MEJORAR LAS CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS Y COMERCIALES DEL CUITLACOCHÉ (<i>Ustilago maydis</i>), EN LAS COMUNIDADES RURALES DE MEXICO	137
10.1. Introducción.....	137
10.2. Estrategia para el establecimiento de centros rurales de estudio y cultivo de cuitlacoche para contribuir al desarrollo agrícola regional.....	139
10.2.1. Objetivo general de la estrategia	139
10.2.2. Objetivos particulares de la estrategia.....	139
10.2.3. Acciones a corto plazo:	140
10.2.4. Acciones a mediano y largo plazo:.....	141
10.3. Beneficios esperados de la estrategia implementada para el establecimiento de centros rurales de estudio y cultivo de cuitlacoche para contribuir al desarrollo agrícola regional.....	143
XI. LITERATURA CITADA.....	145

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Métodos de inducción de cuitlacoche (<i>Ustilago maydis</i>) para investigaciones fitopatológicas o para su producción como alimento.	13
Cuadro 2. Variedades de maíz utilizadas en estudios para la producción de cuitlacoche.	15
Cuadro 3. Condiciones ambientales que promueven la infección de <i>Ustilago maydis</i>	26
Cuadro 4. Historia de la culturización del cuitlacoche	35
Cuadro 5. Aportes biotecnológicos en el desarrollo de la producción de agallas de cuitlacoche.	39
Cuadro 6. Tratamientos, fechas de siembra y variedades de maíz utilizados en el primer y segundo experimentos de campo.	63
Cuadro 7. Descriptores generados por los jueces para evaluar las agallas de cuitlacoche.	67
Cuadro 8. Apareamientos y caracterización de compatibilidad genética (reacción de fuzz) entre esporidios silvestres de Estado de México (EM1) contra cepa de referencia (FB).	69
Cuadro 9. Apareamientos y caracterización de compatibilidad genética (reacción de fuzz) entre esporidios silvestres de Estado de México (EM2) contra cepa de referencia (FB).	70
Cuadro 10. Apareamientos y caracterización de compatibilidad genética (reacción de fuzz) entre esporidios silvestres de Estado de México (EM3) contra cepa de referencia (FB).	71
Cuadro 11. Apareamientos y caracterización de compatibilidad genética (reacción de fuzz) entre esporidios silvestres de Estado de México (EM4) contra cepa de referencia (FB).	72
Cuadro 12. Apareamientos y caracterización de compatibilidad genética (reacción de fuzz) entre esporidios silvestres de Puebla (Pu1) contra cepa de referencia (FB).	73
Cuadro 13. Apareamientos y caracterización de compatibilidad genética (reacción de fuzz) entre esporidios silvestres de Puebla (Pu2) contra cepa de referencia (FB).	74
Cuadro 14. Aislamientos haploides recuperados a partir de una sola teliospora de agallas silvestres de <i>Ustilago maydis</i> del EM (Estado de México) y Pu (Puebla).	75
Cuadro 15. Infección* en plántulas de maíz cacahuacintle inoculadas con cruas entre aislamientos haploides silvestres EM y cepas de referencia FB y CP de <i>Ustilago maydis</i>	77
Cuadro 16. Infección* en plántulas de maíz cacahuacintle inoculadas con cruas entre aislamientos haploides silvestres Pu (1, 2) y cepas de referencia FB de <i>Ustilago maydis</i>	79
Cuadro 17. Cuantificación de infección en jilotes, inoculados con apareamientos entre cepas haploides silvestres de EM, de estas contra cepas de referencia (FB), y con cepas de referencia: CP, PK y FB de <i>Ustilago maydis</i>	81
Cuadro 18. Cepas seleccionadas para la infección de jilotes de maíz en 1 ^{er} experimento de campo.	82
Cuadro 19. Características fenológicas y fenotípicas del híbrido de maíz ‘Tornado XR’ TM , inoculado con 10 cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	85
Cuadro 20. Producción de agallas en un híbrido comercial de maíz Tornado XR TM , inoculado con apareamientos entre aislamientos silvestres y cepas de referencia de <i>Ustilago maydis</i>	87

Cuadro 21. Cepas de <i>Ustilago maydis</i> con los mayores y menores valores de protección de las hojas y calidad de agallas, inoculadas en jilotes de maíz ‘Tornado XR’ TM	88
Cuadro 22. Atributos sensoriales en la variedad de maíz Tornado XR inoculada con 10 cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	98
Cuadro 23. Características fenológicas y fenotípicas en cinco híbridos de maíz inoculados con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	102
Cuadro 24. Producción de agallas en cinco híbridos de maíz inoculados con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	106
Cuadro 25. Comparación de atributos sensoriales en diferentes variedades de maíz inoculadas con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	133

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Parcela de maíz inoculada con <i>Ustilago maydis</i> para la producción controlada de cuitlacoche.	11
Figura 2. Equipos de inoculación artificial para el cultivo de cuitlacoche (<i>Ustilago maydis</i>). A: Inoculación con jeringa hipodérmica. B: Inoculación con mochila de fumigación adaptada con manguera y pistola de inoculación de acero inoxidable.	12
Figura 3. Grado de severidad de mazorcas infectadas con <i>U. maydis</i> G1, G2, G3, G4 y G5 que equivalen a, 5 %, 25 %, 50 %, 75 % y 100 %, respectivamente.....	22
Figura 4. Protección de las hojas. Caracterizado de 1 = nula protección, a 5 = protección total.	23
Figura 5. Tamaño de agallas = 1 (malo <1.5 cm Ø), 5 (muy bueno >6 cm Ø).	23
Figura 6. Venta de agallas de cuitlacoche (<i>Ustilago maydis</i>) silvestre en los mercados y tianguis de México.	36
Figura 7. Cuitlacoche (<i>Ustilago maydis</i>) en presentación enlatado, para venta fuera de temporada.	37
Figura 8. Producción (%) de hongos comestibles en México (2016).	37
Figura 9. Principales etapas experimentales involucradas durante el desarrollo global del proyecto de investigación.....	52
Figura 10. Aislamiento y obtención de cepas haploides a partir de agallas con teliosporas de <i>U. maydis</i> silvestres de acuerdo a Holliday (1974).....	57
Figura 11. Entrecruzamientos de cepas haploides silvestres (líneas verticales) × cepa de referencia FB1 (líneas horizontales) de <i>Ustilago maydis</i>	58
Figura 12. Reacciones de fuzz en medio completo con carbón activado: a) Reacción de Fuz+, b) Reacción de Fuz-.	58
Figura 13. Aplicaciones de insumos agrícolas para la producción de maíz y cultivo de cuitlacoche.	62
Figura 14. Entrecruzamiento entre cepa de referencia FB1 (línea vertical) contra aislamiento silvestre EM (línea horizontal), en reacción de fuzz.....	75
Figura 15. Infección en plántulas de maíz, inoculadas con cepas haploides silvestres EM × cepa de referencia (FB) de <i>Ustilago maydis</i> , con 5 días (a), 12 días (b) y 16 días (c) post-inoculación.	78
Figura 16. Parcela de maíz criollo (cacahuacintle), con jilotes inoculados con cepas silvestres de EM, cepas híbrido y de referencia de <i>Ustilago maydis</i>	80
Figura 17. Desarrollo de infección (agallas de cuitlacoche) en mazorcas de maíz inoculadas con aislamientos haploides silvestres EM y cepas de referencia de <i>Ustilago maydis</i>	81
Figura 18. Temperaturas y precipitación pluvial promedio durante la producción de agallas de cuitlacoche (mayo).	83
Figura 19. Humedad relativa y evapotranspiración durante la producción de agallas de cuitlacoche (mayo).	84
Figura 20. Espacio sensorial para atributos de apariencia en agallas producidas con cruza entre esporidios silvestres y con cepas de referencia de <i>Ustilago maydis</i>	92
Figura 21. Espacio sensorial para atributos de olor en agallas producidas con cruza entre esporidios silvestres y con cepas de referencia de <i>Ustilago maydis</i>	93
Figura 22. Espacio sensorial para atributos de textura en mano de agallas producidas con cruza entre esporidios silvestres y con cepas de referencia de <i>Ustilago maydis</i>	94

Figura 23. Espacio sensorial para atributos de textura en boca de agallas producidas con cruizas entre esporidios silvestres y con cepas de referencia de <i>Ustilago maydis</i>	95
Figura 24. Espacio sensorial para atributos de sabor en agallas producidas con cruizas entre esporidios silvestres y con cepas de referencia de <i>Ustilago maydis</i>	96
Figura 25. Temperaturas y precipitación pluvial durante la producción de agallas de cuitlacoche 2° experimento (agosto-septiembre).	100
Figura 26. Humedad relativa y evapotranspiración durante la producción de agallas de cuitlacoche 2° experimento (agosto-septiembre).	101
Figura 27. Espacio sensorial para atributos de apariencia de agallas producidas en la variedad ‘Amarillo’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	115
Figura 28. Espacio sensorial para atributos de apariencia de agallas producidas en la variedad ‘Canelo’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	115
Figura 29. Espacio sensorial para atributos de apariencia de agallas producidas en la variedad ‘Hoja de oro’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	116
Figura 30. Espacio sensorial para atributos de apariencia de agallas producidas en la variedad ‘Tornado XR’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	117
Figura 31. Espacio sensorial para atributos de olor de agallas producidas en la variedad ‘Amarillo’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	118
Figura 32. Espacio sensorial para atributos de olor de agallas producidas en la variedad ‘Canelo’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	119
Figura 33. Espacio sensorial para atributos de olor de agallas producidas en la variedad ‘Hoja de oro’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	119
Figura 34. Espacio sensorial para atributos de olor de agallas producidas en la variedad ‘Tornado XR’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	120
Figura 35. Espacio sensorial para atributos de textura en mano de agallas producidas en la variedad ‘Amarillo’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	121
Figura 36. Espacio sensorial para atributos de textura en mano de agallas producidas en la variedad ‘Canelo’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	122
Figura 37. Espacio sensorial para atributos de textura en mano de agallas producidas en la variedad ‘Hoja de oro’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	122
Figura 38. Espacio sensorial para atributos de textura en mano de agallas producidas en la variedad ‘Tornado XR’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	123
Figura 39. Espacio sensorial para atributos de textura en boca de agallas producidas en la variedad ‘Amarillo’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	124
Figura 40. Espacio sensorial para atributos de textura en boca de agallas producidas en la variedad ‘Canelo’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	125
Figura 41. Espacio sensorial para atributos de textura en boca de agallas producidas en la variedad ‘Hoja de oro’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	125
Figura 42. Espacio sensorial para atributos de textura en boca de agallas producidas en la variedad ‘Tornado XR’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	126
Figura 43. Espacio sensorial para atributos de sabor de agallas producidas en la variedad ‘Amarillo’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	127
Figura 44. Espacio sensorial para atributos de sabor de agallas producidas en la variedad ‘Canelo’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	128
Figura 45. Espacio sensorial para atributos de sabor de agallas producidas en la variedad ‘Hoja de oro’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	129

Figura 46. Espacio sensorial para atributos de sabor de agallas producidas en la variedad ‘Tornado XR’ TM , con tres cepas seleccionadas de <i>Ustilago maydis</i>	130
Figura 47. Estrategia planteada para el establecimiento de centros regionales de estudio y producción de cuitlacoche para las comunidades rurales.	145

I. INTRODUCCIÓN

México es el mayor productor de hongos cultivados de Latinoamérica, aportando cerca del 80 % de la producción total en la zona, ubicándose entre los principales productores a nivel mundial, con una proyección de crecimiento anual del 5 %. Durante el período 1991-2014, se observó un incremento de *ca.* 600 % en la producción nacional de hongos cultivados, pasando de 9,000 toneladas en 1991 a > 64,000 toneladas para el año 2014. El monto de las operaciones comerciales supera los 200 millones de dólares, generando alrededor de 25 mil empleos directos e indirectos. Adicionalmente, existe en nuestro país un gran potencial de expansión en esta actividad agroeconómica. Por otra parte, conviene señalar que México es un país tradicionalmente micófago es decir habituado a comer hongos; su consumo en la región central se incrementó un 10 % durante los años 2000-2011 (Martínez-Carrera *et al.*, 2010; Martínez-Carrera *et al.*, 2012; Martínez-Carrera *et al.*, 2016). En el año 2012, Mayett *et al.* reportaron el aumento en el número de especies de hongos y variedad de presentaciones disponibles en el mercado en comparación al 2005. Cabe destacar que adicionalmente se ha presentado incremento en la demanda de cuitlacoche fresco durante todo el año, sin embargo, esta demanda no ha sido satisfecha por la producción natural y tampoco por lo generado de manera artificial.

El cultivo del maíz (*Zea mays* L.) es importante para México, debido a que junto con el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) constituye la base alimenticia en la dieta de millones de mexicanos. Durante el año agrícola 2015, la producción de maíz en grano para México creció a una tasa anual de 6.1 %, alcanzando un total de 24.7 millones de toneladas. La composición por tipo de maíz muestra que el 85.9 % de la producción nacional correspondió a maíz blanco, 13.6 % a maíz amarillo y el restante 0.5 % a otros tipos de maíz. Por ciclo agrícola, la producción de maíz en México ocurre mayormente durante el ciclo primavera-verano. Así, durante el mismo año agrícola, el 74.5 % de la producción de maíz provino del ciclo primavera-verano, mientras que el restante 25.5 % se produjo en otoño-invierno (Panorama Agroalimentario, 2016). No obstante al crecimiento en la producción nacional, los rendimientos por hectárea; las ganancias económicas que se obtienen del maíz como grano o forraje son mínimos comparados con los gastos que implica su producción; por lo tanto, es importante desarrollar alternativas biotecnológicas que diversifiquen los beneficios de la producción de maíz y le den un valor agregado.

En la mayoría de los países *Ustilago maydis* (DC.) Corda (*Fungi: Basidiomycetes*) [= *U. zea* (Link) Unger] es considerado un agente patógeno del maíz debido a que promueve el desarrollo de agallas o soros (cuitlacoche) en los tejidos meristemáticos de la planta. Las pérdidas por la enfermedad varían dependiendo del número, tamaño y localización de agallas en la planta, usualmente son entre 2% y 5% pero pueden alcanzar el 10%. Los daños cambian con el año, localización geográfica y variedades cultivadas (Pope y Mc Carter, 1992a). Por esta razón, en muchas naciones se desecha e inclusive se implementan estrategias fitosanitarias destinadas a su erradicación. No obstante, en estados del centro y algunos del sur de México, las agallas de cuitlacoche son un producto alimenticio muy apreciado. La demanda de cuitlacoche supera por mucho a la oferta; hasta hace 10 años las agallas eran vendidas en fresco únicamente durante la época de lluvias y sólo se podían conseguir enlatadas el resto del año (Castañeda de León y Leal Lara, 2012). Pocos son los trabajos que se han desarrollado a la fecha en donde se aproveche la diversidad de recursos genéticos nativos, principalmente de origen microbiano como *U. maydis*, y el producto de la interacción que se establece entre este hongo con variedades de maíz, el cuitlacoche.

En esta investigación se planteó el propósito de evaluar el desarrollo de la infección (virulencia) de combinaciones de cepas de *U. maydis*, para precisar el tipo de interacción patogénica que se genera entre cepas del hongo con las distintas variedades de maíz. Y establecer la factibilidad de incorporar el uso de cepas silvestres e híbridas a la producción controlada de cuitlacoche, todo en términos de cantidad y calidad del producto final. Así se logró determinar, sí el aislamiento del hongo tiene influencia sobre las características productivas, comerciales y sensoriales de las agallas, independientemente de la variedad de maíz, o si es, la variedad de maíz la que proporciona las diferencias en las características mencionadas. O bien, sí es la interacción que se establece durante el patosistema entre *U. maydis* y la variedad de maíz, la que permite que se expresen las diferencias en las características de las agallas. Lo anterior proporcionará elementos experimentales para proponer a los productores de cuitlacoche, un proceso estandarizado que permita adecuar la producción de cuitlacoche, para una localidad y condiciones específicas, con cepas del hongo y/o variedades de maíz, apropiadas para satisfacer los requerimientos de un mercado en particular.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. BIOTECNOLOGÍA Y DESARROLLO

La biotecnología se define como cualquier técnica que utilice organismos vivos para hacer o modificar un producto, para mejorar plantas y animales, o para desarrollar microorganismos de uso específico. Hoy es posible el estudio y la manipulación de organismos a nivel celular y molecular, gracias a la biotecnología (Gonzaga Gutiérrez, 2006). Esta técnica debe ser aprovechada de diversas maneras para lograr mejores condiciones, económicas y sociales de la población, y ha sido considerada como área clave de desarrollo. Los planes científicos y tecnológicos de los países o regiones la retoman como un sector que debe ser impulsado debido a su potencial. En la biotecnología, variables como las políticas públicas de ciencia, tecnología e innovación, la creación de incentivos a distintos niveles, el sistema educativo, las leyes y los derechos de propiedad, han jugado un rol muy importante en su crecimiento (Amaro Rosales y Villavicencio Carbajal, 2011).

El desarrollo científico y tecnológico, en el ámbito de las ciencias de la vida, desde los años cincuenta del siglo pasado, ha permitido aplicar principios científicos y de ingeniería a la transformación de materiales por acción de agentes biológicos (microorganismos, enzimas, células de animales y plantas, principalmente) con el fin de proveer a nuestra sociedad de bienes y servicios (Blanch, 2010). La biotecnología consiste en la aplicación de técnicas in vitro de los ácidos nucleicos, incluido el ácido desoxirribonucleico (ADN) recombinante y la inyección directa de ácido nucleico en células u organelos, o la fusión de células más allá de la familia taxonómica, que supera barreras fisiológicas naturales de la reproducción o de la recombinación, y que no son técnicas utilizadas en la reproducción y selección tradicionales, las cuales se aplican para dar origen a organismos genéticamente modificados. De manera que el sector agrícola-alimentario relacionado con la biotecnología, se compone por todos aquellos involucrados en el desarrollo de técnicas, procesos o productos mejorados genéticamente o basados en procedimientos moleculares controlados (Amaro Rosales y Villavicencio Carbajal, 2011).

La aplicación de la biotecnología en este sector se ha concentrado en la producción primaria y de transformación de productos agrícolas; además de procesos industriales de transformación de

insumos agrícolas para la generación de productos. Esta se ha orientado a las cuatro fases de la producción y transformación agrícola: semillas y variedades vegetales derivadas de mejoramiento tradicional, insumos y sistemas para el manejo agronómico, productos y procesos para el manejo post-cosecha y procesos industriales de transformación de insumos agrícolas para la generación de productos (SE, 2010). En el área de alimentos, la biotecnología se ha concentrado en la generación de procesos integrados de transformación de productos animales, vegetales y de microorganismos; en la producción de ingredientes y en la preparación de alimentos formulados, además de los sistemas orientados a la preservación de la inocuidad y la calidad nutricia de los alimentos (SE, 2010).

México, cuenta con más de 100 millones de habitantes, y con un crecimiento previsible de 20 millones más en los próximos 20 años, enfrenta grandes retos para poder proporcionar a sus habitantes servicios y condiciones necesarios para una vida digna. Existe la demanda de alimentos seguros y nutritivos; medicamentos y servicios de salud modernos, con un medio ambiente no contaminado por industrias, con procesos limpios y productos competitivos, cuidando y usando sustentablemente nuestra biodiversidad; todos representan retos extraordinarios para la sociedad mexicana que debemos enfrentar y resolver de manera concertada, inteligente y respetuosa con el medio ambiente. La biotecnología es una de las herramientas más poderosas con las que cuenta México para contender con muchos de estos retos nacionales (Bolívar-Zapata, 2003).

La biotecnología se ha considerado como una de las cinco áreas estratégicas del conocimiento señaladas por el CONACYT dentro del Programa Especial de Ciencia, Tecnología e Innovación (PECYT) 2001-2006. Dentro del PECyTI 2007-2012 se estableció como uno de los programas de importancia nacional para el desarrollo del país. Así surgió la iniciativa del Programa para el desarrollo de la Bioseguridad y la Biotecnología. Se revisaron objetivos y estrategias, se establecieron varias líneas de acción reconociendo que la biotecnología ha sido desarrollada principalmente en centros e instituciones de investigación pública; y que no obstante es necesario articular y vincular estos centros de investigación con las empresas, para lograr el desarrollo de tecnología competitiva a nivel internacional, al menos en algunos campos (PECYT 2001-2006), además se debe fortalecer y ampliar la red de laboratorios de detección de organismos

genéticamente modificados de las diferentes instancias gubernamentales y extender lazos con los laboratorios de las instituciones educativas y de investigación (PECyTI 2007-2012).

México posee una gran cantidad de recursos fúngicos. En esta gran diversidad encontramos a los macromicetos, de los cuales algunas especies son comestibles y pueden ser aprovechadas como recursos económicos y alimenticios, ya sea para autoconsumo o para su comercialización. El estudio de diferentes especies de hongos puede dar pie a su cultivo (in vitro) o semicultivo (in situ). La mejora en los procesos de cultivo de hongos comestibles mediante el aumento de la producción de enzimas extracelulares a través de procedimientos convencionales de mejoramiento, es probable y útil debido a que tales cepas aumentarían la bioconversión de los sustratos. Así mismo, resulta importante impulsar el desarrollo de nuevas técnicas y métodos de cultivo para hongos comestibles que tradicionalmente no se habían cultivado y que actualmente se están probando. Esta es una ventana de oportunidad importante donde la aplicación de las nuevas técnicas genéticas se beneficiará tanto de la tecnología académica e industrial. La biotecnología es un factor clave en el desarrollo de procesos para la conversión completa de la lignocelulosa a alimentos útiles (Ohga y Kitamoto, 1997). El desarrollo de la biotecnología de producción de hongos comestibles en la seguridad y soberanía alimentaria de México, es fundamental para fortalecer la sostenibilidad agrícola mediante el aprovechamiento y reciclaje de subproductos agroindustriales y forestales; para obtener alimento humano socialmente aceptado de alto valor proteínico y medicinal, incrementando la rentabilidad de los cultivos agrícolas (Martínez-Carrera *et al.*, 2000 a).

2.2. HONGOS COMESTIBLES: SAPROBIOS Y MICORRÍDICOS

La gran mayoría de hongos comestibles cultivados son de hábitos alimenticios saprobios, esta característica fisiológica facilita su domesticación y cultivo debido a que se les puede aislar y conservar con técnicas biotecnológicas relativamente sencillas. Adicionalmente, poseen la capacidad de producir enzimas que les permiten nutrirse de una gran gama de materiales orgánicos al desintegrarlos y reabsorberlos. En la actualidad se reconocen alrededor de 10 especies de hongos saprobios, agrupadas en varios géneros, que son cultivados a gran escala en China, Japón, Estados Unidos y otros países asiáticos. De esta diversidad de hongos comestibles

sólo tres especies se cultivaban a nivel industrial en México, los champiñones (*Agaricus* spp.), las setas (*Pleurotus* spp.) y el shiitake (*Lentinula* sp.) [Andrade Gallegos *et al.*, 2012].

Existe también un número considerable de hongos comestibles que son consumidos casi exclusivamente durante la temporada de lluvias y que pertenecen a otra categoría nutricional. Estos hongos que en su mayoría son micorrícicos, establecen relaciones ecológicas estrechas de mutuo beneficio con las raíces de ciertos árboles. Sin embargo, la biotecnología que se ha desarrollado a la fecha para su cultivo se encuentra en una etapa inicial, por lo que su cultivo aún es complicado y se requiere de mucho tiempo para obtener los cuerpos fructíferos. Actualmente, esta gama de hongos comestibles se les obtiene principalmente por recolección de ejemplares que fructifican de manera natural en condiciones ecológicas particulares. Una excepción a este sistema lo representan las “trufas” (*Tuber* spp.), hongo comestible que se ha logrado producir mediante la aplicación de técnicas que involucran una micorrización controlada y el desarrollo de prácticas de manejo forestal. Sin embargo, hay que esperar algunos años para cosechar los esporomas; adicionalmente este sistema implica un manejo delicado y cuidadoso de las condiciones agroecológicas óptimas de producción que hacen su cultivo prolongado, azaroso y ciertamente complicado. Otro interesante ejemplo lo constituyen las “mórquelas” o “morillas” (*Morchella* spp.), un hongo cuyo cultivo ha sido reportado en Estados Unidos con un sistema ya patentado (Staments, 2000).

2.3. USTILAGO MAYDIS HONGO PARÁSITO Y COMESTIBLE

Otro hongo comestible, con una forma de nutrición totalmente distinta a los antes mencionados, con amplio arraigo y aceptación cultural entre los mexicanos y ahora mismo en un proceso de internacionalización es *Ustilago maydis*, que produce agallas o soros comestibles al infectar el maíz (*Zea mays* L.) o teocintles (*Zea* spp.), conocidos comúnmente como “cuitlacoche” (sinonimia huitlacoche), las agallas se forman a partir de la interacción entre este hongo parásito y los tejidos meristemáticos de sus hospederos. Las agallas de cuitlacoche son mejor conocidas a nivel internacional como “carbón común”. El cuitlacoche aparece en cualquier parte del mundo donde crece el maíz; todas las partes aéreas de la planta son susceptibles de ser infectadas, pero los tumores que se forman en los meristemas apicales de plántulas o en mazorcas causan las mayores pérdidas (du Toit y Pataky, 1999 a-b). Los tejidos meristemáticos son infectados por un

micelio dicariótico infectivo que se forma de una fusión esporidial. Las células del hospedero son estimuladas a incrementar su tamaño y número, formando las agallas de cuitlacoche. El desarrollo de agallas es el resultado de una infección local. Las agallas frescas son firmes y de color brillante. Al madurar se tornan oscuras con una apariencia entre plata y negro. Hasta hace pocos años el cuitlacoche sólo se obtenía por infección natural en los cultivos de maíz. Algunos productores de maíz recolectan y venden cuitlacoche fresco en la zona central de México durante la época de lluvias entre los meses de julio a septiembre (Castañeda de León y Leal Lara, 2012).

El uso potencial del cuitlacoche en las industrias, farmacéutica, biotecnológica y alimenticia, abre un amplio espectro de posibilidades y aplicaciones. Esto podría representar aportes y beneficios económicos significativos para la ya muy golpeada actividad agrícola nacional. En nuestro país, el cultivo de cuitlacoche constituye una alternativa viable de desarrollo económico para las zonas rurales; de acuerdo con León-Ramírez *et al.* (2014) los precios fuera de temporada de una mazorca infectada con el hongo se cotizan en MN 26.00 o USD 2.00 o más. Por su parte, Mayett *et al.* (2012) durante el período 2010-2011 reportaron un precio corriente promedio al consumidor de MN 66.11 pesos/kg para las agallas de cuitlacoche frescas y de MN 124.46 pesos/kg para el cuitlacoche enlatado en la región central de México. Estos precios son competitivos con respecto a otros hongos cultivados, y superiores a los beneficios económicos obtenidos de la venta de mazorcas con grano (MN 2.60 pesos/pieza o USD 0.14 dólares [2017]). Todo lo anterior coloca a este hongo comestible como un producto fúngico interesante, con un amplio potencial de mercado, no exclusivamente para su comercialización y consumo interno, sino también para su exportación (Castañeda de León *et al.*, 2016).

2.4. BIOLOGÍA DEL PATOSISTEMA

El hongo *Ustilago maydis*, se agrupa taxonómicamente dentro de los hongos *Basidiomycetes* en la clase de los *Ustilaginales*, que incluyen aproximadamente 1,200 especies distribuidas en más de 50 géneros. Todos los miembros de esta clase son patógenos de plantas e infectan aproximadamente 4,000 especies de angiospermas distribuidas en más de 75 familias de plantas, causando enfermedades conocidas como “carbones”. *Ustilago maydis* es un hongo dimórfico y su ciclo de vida incluye tres diferentes tipos de células: Las primeras son teliosporas diploides que se forman en las agallas de los huéspedes infectados y que son los propágulos de

hibernación, estas son de esféricas a elipsoides de color oliva-marrón a negro, ornamentadas o equinuladas, es decir, cubiertas de espinas diminutas. Cuando una teliospora germina, se forma un promicelio septado o fragmobasidio, donde ocurre la meiosis y como resultado de esta se producen cuatro células haploides con “forma de cigarrillo” tipo levaduriforme (también llamadas esporidios) (Banuett, 2007). Este segundo tipo de células haploides puede mantenerse fácilmente en medio de cultivo, ya que en esta etapa se reproducen por gemación y además que representan la fase saprobia del hongo. En condiciones ambientales adecuadas, la fase patogénica inicia con la fusión de dos células haploides genéticamente compatibles que forman una hifa dicariótica infectiva (tercer tipo de células), los micelios dicarióticos son patógenos y pueden infectar a los tejidos meristemáticos del maíz o teocintles (Banuett, 1992).

El acoplamiento e infección del hongo están bajo el control de dos genes diferentes, *a* y *b*. Los alelos de ambos *loci* han sido clonados y secuenciados. Al *locus a* se le conoce como de apareamiento, mientras que al *b* como el *locus* de patogenicidad. Con el objetivo de que *U. maydis* pueda infectar, estos genes o “socios de acoplamiento” deben tener diferentes alelos en ambos *loci a* y *b*. El *locus a* tiene dos alelos, *a1* y *a2* los cuales codifican los componentes de una vía de producción de genes de feromonas (*MFA*) y de respuesta (*PRA*) a feromonas. Estos participan en la formación de tubos de conjugación y en la fusión celular. Actualmente, se conocen 33 alelos en el *locus b*, que codifican dos proteínas de diferente tamaño, denominadas *bE* y *bW*, ambas forman un heterodímero con funciones reguladoras que actúa como un regulador transcripcional de proteínas de unión al ADN, además de actuar como un regulador positivo del desarrollo filamentoso y en la inducción de tumores. Dos células haploides tipo levaduriforme (esporidios) que tienen alelos *a* y *b* diferentes en ambos *loci*, se fusionan para formar filamentos delgados o tubos germinativos que crecen unos hacia los otros siguiendo gradientes de feromonas (Pataky y Snetselaar, 2006; Banuett, 2007).

En la última etapa, los filamentos se reconocen y fusionan formándose así un vigoroso micelio dicariótico de infección. El tiempo de vida de esta forma dicariótica no es permanente sin el hospedero y eventualmente puede regresar a su forma haploide. Este comportamiento sugiere la necesidad de algún tipo de señal entre la planta de maíz y *U. maydis*, para mantener la forma micelial infectiva del hongo (Banuett y Herskowitz, 1996; Banuett, 2007). El filamento de

infección sólo responde a una superficie apropiada de células vivas del huésped mediante la formación de un apresorio que le permite al hongo penetrar en la planta. El acoplamiento y penetración se producen dentro de un período de 12-18 horas. En un trabajo realizado por Banuett y Herskowitz (1996) se encontró que este fenómeno ocurre dentro de los 2 primeros días en plantas inoculadas artificialmente. Al mismo tiempo, los tejidos infectados pueden parecer ligeramente cloróticos, pero hay pocos signos visibles de la infección. Los exámenes microscópicos han revelado que en las primeras etapas, el dicarion de *U. maydis* se comporta como un hongo biotrófico. Las hifas crecen principalmente intracelularmente, aunque las membranas plasmáticas de las células huésped y del hongo permanecen intactas. Estos autores mencionaron que la invasión micelial ocurre entre los 3-5 días. Las células de la planta se someten a corrientes citoplasmáticas normales aún y cuando están invadidas por las hifas del hongo (Banuett y Herskowitz, 1996; Pataky y Snetselaar, 2006; Banuett, 2007).

Alteraciones microscópicas como son un agrandamiento anormal de las células del parénquima, se pueden observar 24 horas después de la inoculación. Los tumores resultantes del crecimiento anormal de las células huésped comienzan a desarrollarse una semana después de la infección; Banuett y Herskowitz (1996) encontraron que ello ocurre entre los 5-6 días. Las células huésped permanecen vivas durante las primeras etapas de la formación de los tumores, sin dejar de crecer (hipertrofia) y dividirse (hiperplasia); el desarrollo normal de los tejidos se interrumpe. Como los tumores se agrandan, las hifas comienzan a proliferar cada vez más, dentro, a través y en lugar de las células huésped; de acuerdo con Banuett y Herskowitz esto sucede entre los 7 y 8 días. Al parecer, la cariogamia se lleva a cabo en las primeras etapas del crecimiento del tumor, y es seguida por una rápida proliferación de hifas entre las células huésped. En esta etapa las paredes de las hifas se hinchan y gelatinizan, los protoplastos pierden su forma cilíndrica y se transforman a una forma esférica; en el trabajo de Banuett y Herskowitz (1996) se observó que esto acontece entre los 8 y 9 días. Por procesos que aún no se entienden bien, las esporas se agrandan, desarrollando paredes pigmentadas y ornamentadas, las teliosporas pueden ser vistas saliendo de los restos de las hifas gelatinizadas, Banuett y Herskowitz (1996) refieren que este fenómeno ocurre entre los 12-15 días. El hongo completa su ciclo de vida con cada teliospora formada en las agallas del huésped infectado (Pataky y Snetselaar, 2006; Banuett, 2007).

2.5. TELIOSPORAS Y ESPORIDIOS COMO INDUCTORES DE LA INFECCIÓN

Para inducir la infección con *U. maydis* sobre maíz se han utilizado principalmente tres tipos de inóculo: *i*) teliosporas, *ii*) los productos meióticos de la germinación de varias teliosporas (esporidios no clasificados sexualmente) y *iii*) cepas de aislamientos haploides (esporidios = células tipo levaduriforme) compatibles. Al utilizar teliosporas como inóculo, deben de ocurrir una serie de eventos para el éxito de la infección. Primero, se necesitan condiciones ambientales (humedad y temperatura) y de nutrientes adecuadas para la germinación de las teliosporas y generación de esporidios, después debe llevarse a cabo el reconocimiento sexual y entrecruzamiento de esporidios genéticamente compatibles, para la formación de un micelio dicariótico infectivo. Posteriormente, deberá suceder la invasión y proliferación del micelio en órganos meristemáticos de plantas viables, para finalmente llevarse a cabo la formación de teliosporas en las agallas (Castañeda de León *et al.*, 2016). Esta serie de eventos ocurre de manera natural aunque también es fortuita, por lo que las tasas de infección natural raramente son mayores a 10%. Así mismo, la infección del hongo en los jilotes tiene que suceder antes de la fecundación de los óvulos del maíz por el polen (Snetselaar *et al.*, 2001; Pataky y Chandler, 2003) o previo a que los estigmas fenezcan (Bassetti y Westgate, 1993 a-b; Pataky y Richter, 2007).

Sí se germinan varias teliosporas para usar como inóculo los esporidios resultantes de las meiosis, se produce un medio que disminuye la eficacia de la infección. Ello se debe a que en los esporidios de estos inóculos existe una gran variabilidad genética lo que resulta en inconsistencias en su virulencia (Christensen, 1963). Adicionalmente, la compatibilidad y entrecruzamiento son azarosos para cada mezcla y probablemente bajos. En un medio tan heterogéneo genéticamente, la posibilidad de que ocurra un evento de cruce donde dos esporidios con factores sexuales diferentes (*loci a y b*) pero complementarios (*alelos* diferentes) coincidan específicamente es baja. No obstante que ambos tipos de inóculo (*i* y *ii*) pueden tener cierta capacidad infecciosa, generalmente se obtienen bajas tasas de severidad e incidencia. El uso de inóculos elaborados con una suspensión correspondiente a una mezcla entre dos aislamientos de esporidios compatibles de *U. maydis* (i.e. $a1\ bx \times a2\ by$) asegura la infección en jilotes, así ha sido demostrado por varios autores (Christensen, 1963; Thakur *et al.*, 1989; du Toit y Pataky, 1999 a-b; Pataky y Chandler, 2003).

2.6. MÉTODOS DE INOCULACIÓN EN PLANTAS DE MAÍZ

El reciente interés por desarrollar biotecnologías eficientes para la producción comercial de cuitlacoche ha resultado en diversos estudios para lograr la inducción exitosa de la enfermedad que produce este hongo. Los trabajos realizados en los últimos 25 años se han enfocado principalmente a la infección de jilotes (**Fig. 1**). La generación de agallas en mazorcas puede ser inducida efectivamente con la inoculación de una suspensión de esporidios genéticamente compatibles a través del canal de los estigmas (Pataky, 1991). No obstante, existen diferentes variables que pueden afectar el proceso, tales como el alto índice de polinización, el momento de la inoculación, la concentración de inóculo, la técnica de inoculación y la experiencia del inoculador (Valverde *et al.*, 1993; Snetselaar y Mims, 1993; Pataky *et al.*, 1995; du Toit y Pataky, 1999 b; Pataky, 2002; Tracy *et al.*, 2007).



Figura 1. Parcela de maíz inoculada con *Ustilago maydis* para la producción controlada de cuitlacoche.

Existen varias propuestas para provocar la infección artificial de *U. maydis*, las cuales han surgido en los diferentes grupos de investigación. Estas se han desarrollado en estudios de mejoramiento genético para la obtención de variedades de maíz resistente al parásito, y más recientemente en estudios ya enfocados a lograr una infección controlada para la producción de agallas de cuitlacoche como alimento (Castañeda de León *et al.*, 2016). En ambos tipos de estudios se ha probado la susceptibilidad a la infección en diferentes estructuras de la planta, diversas variedades de maíz, diferentes tipos de inóculo, variando el momento de inoculación, y

la densidad de inóculo, entre otros aspectos. Castañeda y Leal (2012), mencionan que “los métodos diseñados específicamente para la producción de cuitlacoche como alimento implica una inoculación, es decir la inyección directa de inóculos que contienen cepas compatibles de *U. maydis* en los jilotes. Esto se ha llevado a cabo con equipos improvisados que incluyen: jeringas hipodérmicas, mochilas de fumigación adaptadas con mangueras y pistolas de inoculación de acero inoxidable, así como sistemas de vacunación de uso veterinario adaptados para la inoculación de jilotes de maíz con el hongo *U. maydis*” (Fig. 2).



Figura 2. Equipos de inoculación artificial para el cultivo de cuitlacoche (*Ustilago maydis*). A: Inoculación con jeringa hipodérmica. B: Inoculación con mochila de fumigación adaptada con manguera y pistola de inoculación de acero inoxidable.

En el cuadro 1, se presenta los principales métodos desarrollados para la investigación en aspectos fitopatológicos y de sistemas de infección inducida para la producción comercial de agallas de cuitlacoche (Pope y McCarter, 1992 a-b; Paredes-López *et al.*, 2000; Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007). De todas estas propuestas se ha comprobado que la inoculación a través del canal de los estigmas resulta en infecciones altamente eficientes del hongo para provocar el desarrollo de la enfermedad.

Cuadro 1. Métodos de inducción de cuitlacoche (*Ustilago maydis*) para investigaciones fitopatológicas o para su producción como alimento (Tomado de Castañeda de León *et al.* 2016).

Métodos para la investigación de la interacción patógeno-hospedero		
Método	Procedimiento	Autor
Goteo	El inóculo es introducido en lo más profundo del cogollo o en el ápice de los jilotes en desarrollo usando una jeringa con aguja despuntada	Brefeld O. (1888)
Aplicación de abono con teliosporas	Las teliosporas se mezclan con la tierra y/o el abono (estiércol), donde se siembra el maíz	Brefeld O. (1895)
Vacío parcial	El inóculo se introduce por medio de tubos que contienen una suspensión de teliosporas en la espiral del cogollo de plántulas y se someten a un vacío durante 15 minutos	Rowell B. y E. DeVay (1953)
Jeringa hipodérmica	El sistema se lleva a cabo inoculando directamente el órgano o tejido meristemático que se quiere infectar	Christensen J. (1963)
Métodos para la producción de cuitlacoche como alimento		
Corte de estigmas	Se inyecta el inóculo donde se encontraban los estigmas, previamente cortados	
Corte de jilote	Producir un corte de 1.5 - 2.0 cm en la punta del jilote e inocular	
Inoculación a través del canal de los estigmas	Se introduce la aguja dentro del canal de los estigmas y se inyecta el inóculo con una mezcla de esporidios compatibles	Pope D. y M. McCarter (1992 a-b)
Inyección transversal a la mitad del jilote	Se realiza una inyección en el centro del jilote intacto a través de las hojas, justo en la línea media	
Inyección transversal del jilote en tres sitios equidistantes	El inóculo se inyecta en el punto medio de cada uno de los tres tercios en que se puede dividir el jilote	Villanueva-Verduzco C. (1997)

Esta técnica para producir cuitlacoche ha sido utilizada extensivamente en estudios genéticos y para el desarrollo de variedades de maíz resistentes a hongos patógenos, adicionalmente se le ha probado en experimentos de campo e invernadero resultando en una alta incidencia de infección en jilotes (Snetselaar y Mims, 1993; Valverde *et al.*, 1993; du Toit y Pataky, 1999 a-b). Las

plantas deben ser desespigadas previamente a la inoculación para evitar la competencia del polen (Pataky y Chandler, 2003). Adicionalmente, se ha observado que la incidencia y severidad de la infección se incrementan en las mazorcas utilizando una concentración de inóculo de 10^5 y 10^6 UFC/ml (Thakur *et al.*, 1989; Pataky, 1991; Pope y McCarter, 1992 a-b; Snetselaar y Mims, 1993; Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007).

La generación de agallas o soros, como consecuencia de la infección por *U. maydis* ocurre en los órganos meristemáticos, o en cualquier parte tierna de la planta. El estadio fenológico de la planta y tejidos, así como su vigor, son factores determinantes para el buen desarrollo del hongo. En la bibliografía se menciona que las variedades de maíz de grano dulce y de grano con endospermo harinoso (cacahuazintle), son más susceptibles al ataque del hongo (Pataky, 1991; Pope y McCarter, 1992 a-b; Villanueva-Verduzco, 1995). Christensen (1963) reportó que la única manera práctica para controlar la infección de *U. maydis* era el uso de maíces resistentes a la enfermedad. Adicionalmente, también se ha propuesto que existen diferencias en la susceptibilidad a la infección entre variedades de maíz. Debido a la inconsistencia en los resultados obtenidos al inocular plantas con *U. maydis*, ya fuera por el sistema de infección, tipo de inóculo, o bien por la variabilidad genética y/o resistencia de la planta, la forma como se evaluaban los diferentes tipos de maíz era por su susceptibilidad natural a la infección.

2.7. VARIEDADES DE MAÍZ PARA LA PRODUCCIÓN DE CUITLACOCHÉ

Muchos genotipos de maíz han sido evaluados en experimentos para inducir agallas; derivado de ello se ha logrado identificar variedades con buena susceptibilidad a la infección que pueden ser utilizadas para la producción de agallas de cuitlacoche (**Cuadro 2**). También se han encontrado genotipos de maíz híbrido, que pueden presentar alta susceptibilidad a la infección por *U. maydis* (Pataky, 1991; Valverde *et al.*, 1993). Algunos factores, en términos productivos, que deben ser considerados en la elección de una variedad de maíz para la producción controlada de cuitlacoche son: la incidencia, la severidad de la infección y el rendimiento de agallas. El uso de variedades de maíz criollo para producir cuitlacoche puede representar desventajas importantes, debido a su diversidad genética y fenotípica, la cual produce resultados inconsistentes. Las variedades de maíces híbridos son más uniformes (Castañeda de León *et al.*, 2016).

Cuadro 2. Variedades de maíz utilizadas en estudios para la producción de cuitlacoche (Modificado de Castañeda de León *et al.* 2016).

Año	Variedad de maíz	Sitio de estudio	Resultados	Autor
1935	Variedades de maíz dulce <i>Rustler</i> y <i>Crookston</i>	Minnesota E.U.A.	En ambas se encontró un buen desarrollo de cuitlacoche.	Walter J. M.
1963	Maíz dulce	Minnesota E.U.A.	Fue ligeramente susceptible.	Christensen J.
1969	Híbridos de maíz y U12	Polonia	La incidencia de cuitlacoche de manera natural fue del 100%.	Bojanowski J.
1989	140 híbridos de maíz dulce, de 15 compañías diferentes de semillas y 18 híbridos públicos	Urbana, Illinois, y Clayton, Carolina del Norte E.U.A.	Encontraron buena infección en maíz dulce <i>Tastyvee</i> , y en el híbrido B73 X Mo17; indujeron exitosamente la formación de agallas en 94% de los híbridos de maíz dulce que fueron evaluados en invernadero.	Thakur P. <i>et al.</i>
1991	370 híbridos comerciales de maíz dulce	Urbana, Illinois E.U.A.	38 híbridos identificados con alta incidencia de agallas que excedían 40% de infección, la incidencia de agallas fue superior para “ <i>Snowbelle</i> ” y “ <i>SsuperSweet 8701</i> ”.	Pataky J. K.
1992	<i>Pioneer 3320</i> y maíz dulce <i>Silver Queen</i>	Georgia E.U.A.	Los híbridos de maíz dulce variaron significativamente en relación con su susceptibilidad. La variedad <i>Silver Queen</i> fue moderadamente susceptible.	Pope D. y M. McCarter
1993	4 híbridos de maíz dulce “ <i>Florida Staysweet</i> ”, “ <i>How Sweet It is</i> ”, “ <i>Sweetie 82</i> ”, y “ <i>XPH 2688 sh2</i> ”. 350 híbridos con mutación en el endospermo	Urbana Illinois E.U.A.	La severidad de la infección fue diferente entre híbridos de maíz, Estos autores concluyeron que un gran número de estos híbridos podían ser utilizados para producir cuitlacoche, ya que presentan una alta incidencia de mazorcas infectadas, agallas largas y buena protección de sus hojas.	Valverde M. <i>et al.</i>

...continuación de cuadro				
1995	750 híbridos de maíz dulce. Divididos en grupos de 50 a 60 híbridos con mutación del endospermo, <i>sugary-1 (su)</i> , <i>sugary enhancer (se)</i> , y <i>shrunk-2 (sh2)</i> .	Urbana Illinois E.U.A.	Las variedades de maduración temprana, presentaron mayor susceptibilidad a la infección. La reacción a la infección de <i>U. maydis</i> en un híbrido de maíz en particular debe de ser conocida por los productores antes de tomar una decisión sobre la selección de las variedades que se pueden utilizar para la producción de cuilacoche. La incidencia de infección fue mayor para el grupo de híbridos <i>sh2</i> y mínima para <i>se</i> .	Pataky J. K. <i>et al.</i>
1999 (a)	<i>Cabaret, Even Sweeter, Flag-ship, Florida Staysweet, GSS4606, Pegasus, Sch 81615, SS 7710, SS 8102, XHP 3024, y XHP 3056.</i>	Urbana Illinois E.U.A.	Bajos niveles de infección hicieron difícil diferenciar entre híbridos. La relación entre la incidencia de agallas en mazorcas y la edad de los estigmas varió entre híbridos. La aparición de los estigmas puede ocurrir en un período largo de tiempo en algunas variedades.	du Toit L. y J. K. Pataky
1999 (b)	<i>Chieftan, Daystar, Frontier, GSS 7887, Primetime, Punchline, Sch 5005, y Ultimate</i>	Urbana Illinois E.U.A.	La incidencia de agallas se incrementó con la concentración de inóculo para todos los híbridos de maíz. La incidencia aumentó en los híbridos <i>Punchline</i> y <i>Temptation</i> , fue menor para <i>Primetime</i> y <i>Ultimate</i> , fluctuó para <i>Dazzle</i> y GH 2690. Concluyeron que el número de híbridos evaluados mostraron una ligera variación en respuesta a la inoculación con <i>U. maydis</i> . La principal diferencia entre híbridos fue de 20% de incidencia de agallas.	du Toit L. y J. K. Pataky
2003	El maíz dulce <i>Jubille</i> y 3 híbridos de maíz androestéril (LH202 x LH172, LH198 x LH185 y LH235 x LH185)	Urbana Illinois E.U.A.	Las variedades de maíz androestéril presentaron cosechas de cuilacoche 40% mayores que en el maíz dulce.	Pataky J. K. y A. Chandler

...continuación de cuadro				
2005	15 híbridos de maíz androestéril 2024,2680, 3028,1680,2550,2295, 2296,2646,2656,2540 2730,2760,3153RR 3977, 3356Bt	Urbana Illinois E.U.A.	El peso promedio de hongo/planta inoculada y el rendimiento de hongo/planta infectada no fue diferente entre variedades. Los pesos fluctuaron entre 470 a 735 g/mazorca, la calidad de las agallas y la protección de las hojas fueron diferentes entre híbridos, 5 híbridos (3153RR, 3356BT, 2730, 3977 y 2656) presentaron la mejor protección de las hojas, 3 híbridos (3153RR, 3356BT, y 3977) mostraron la mayor calidad de agallas y se consideraron como los mejores híbridos para la producción de cuitlacoche.	Castañeda de León V. <i>et al.</i>
2011	Híbrido 3114 (compañía Petrisco) Derivado de MO17 Derivado de K19 Tlaltizapan – 8946 Po- Tzu- Chia- I8946 Srinagar 8848 SYN- late K3615/1 L7 BSSS C5 B73 línea derivada de [(A662×B73)(3)]	Estación experimental de Karaj. Irán	En general, los componentes aditivos de dominancia y de epistasia, fueron importantes en la resistencia del maíz contra <i>U. maydis</i> . Los autores concluyen que el análisis genético de la resistencia a <i>U. maydis</i> en el maíz mediante el diseño de apareamiento de mestizos con tres progenitores puede ser eficaz en el mejoramiento de la resistencia del maíz a <i>U. maydis</i> , ya que aprovecha los componentes aditivos y no aditivos de variación genética para mejorar la resistencia del maíz.	Namayandeh Anita <i>et al.</i>
2011	44 variedades en 2008, y 30 fueron seleccionadas y cultivadas en 2009	Estación experimental de Karaj y Esfahan. Irán	En este estudio, se determinó con base en intensidad de infección, índice de infección (0-7). Entre las líneas examinadas en 2008, la línea 41 (KE 77004/1-1-1) se clasificó como susceptible y las líneas 28 y 42 (KE 77003/1-8-1) y (37A) como resistentes. También el híbrido, K SC 400 fue identificado como resistente. En una segunda prueba, la línea (29 (KE77004/1-1-1) se especifica como susceptible y la 27 (KE77005/4) y 9 (KE77006/3 xK1263/1) como resistentes.	Zamani Majid <i>et al.</i>

...continuación de cuadro				
2013	Cinco híbridos Un4052 × Zp 707, Un 44052 × DK17, HS × DK17, IK8 × Zp707, y IK8 × HS	Campo experimental Facultad de Agricultura y Forestal de la Universidad de Duhok. Norte de Iraq	Un excelente desarrollo de cuitlacoche se detectó utilizando la inyección del jilote. La mayor incidencia de agallas 44.5 % se produjo en el híbrido Zp 707 × Un 44052, en comparación con el 5.6% cuando se inyectó en la hoja en espiral, las heridas aumentaron la infección a más de 77.5% en otros híbridos. Sin embargo, hasta un 74 % de los jilotes inyectados fueron infectados cuando los estigmas surgieron 5-10 cm, mientras que se observó un 13.34 % de agallas por inyección en vaina foliar. El híbrido más susceptible fue Un44052 × DK17	Wazeer Hassan <i>et al.</i>
México				
1988	Urquiza 54, H-131, H-127 y criollo chalqueño México 633	Apodaca N. L. México	No encontró diferencias en la susceptibilidad de las variedades reportando un promedio de infección mayor al 40%.	López-Aceves F.
1991	NL VS -2, NL VS -30	Apodaca N. L. México	Encontró diferencias significativas entre variedades, presentando un mayor grado de susceptibilidad la variedad NL VS-2.	Flores del Campo R.
1992	Cuatro variedades de maíz para valles altos de México	Texcoco, México	No encontraron diferencias significativas en el porcentaje de plantas infectadas, mismo que oscilo entre un 69% y un 36%.	Villanueva-Verduzco C.
1995	VS-409, P-3428 y H-422	Apodaca N. L. México	Concluyó que las variedades utilizadas presentaron buenos porcentajes de infección de hasta el 93%.	Hidalgo C. H.
1996	Blanco Alemán y H-422	Marín N. L. México	No existió diferencia en los resultados de la infección entre variedades.	Leal Chapa M.
2000	Evaluación de 300 familias de medios hermanos maternos	Universidad Chapingo Texcoco Estado de México, México.	De las 300 familias la número 79 presentó el mayor peso promedio de hongo/planta inoculada (151.87 g). De igual forma las familias 75 y 38 obtuvieron la incidencia del hongo más alta (92.86%). Se seleccionaron 16, con un promedio de 155 g en rendimiento. Del total de las familias estudiadas, 14 fueron clasificadas como altamente resistentes (0% de incidencia) al ataque de <i>U. maydis</i> .	Martínez-Martínez <i>et al.</i>

...continuación de cuadro				
2000	19 híbridos de maíz: 14 maíces dulces, 4 de maíz palomero y uno de maíz dentado de Estados Unidos	CINVESTAV-IPN Irapuato, INIFAP Celaya y CIMMYT Batan, Edo. Mex., Universidad de Illinois E.U.A.	Se observó la misma tendencia tanto para la incidencia del hongo como para el grado de severidad de la infección, presentaron variabilidad entre localidades, pero no entre variedades de maíz. En el Batán, Estado de México, los grados de severidad fueron en promedio de 32 a 36%, en Celaya se obtuvieron grados de severidad de 64 y 65% en C200F y 7525 respectivamente, y 71% con el material CBT. En los experimentos con maíz dulce se encontró gran variación en los resultados de los materiales analizados.	Paredes-López <i>et al.</i>
2003	Híbrido comercial A-7573	Dirección de Recursos Naturales del instituto Tecnológico de Sonora (ITSON)	Los mejores resultados se obtuvieron con la cepa A4-A10, presentando un porcentaje de infección de 56.47%, una severidad de 51-100% y un rendimiento máximo de 2 ton/ha de agallas de cuitlacoche	Cota Navarro
2008	21 híbridos diseñados para valles medios y altos: Pantera, Sb308, Matador, Milenio, As948, As1501, As820, As822, As31, As900, As910, As902, As905, As722, As720, Tornado Elotero, 7573, Cronos, Vulcano, Hoja de Plata y Grano de Oro	Pilcaya Guerrero México	Los híbridos mostraron diferencias en parámetros fenológicos y comerciales, más no en severidad de la infección, en todos los casos fue mayor al 90%. Los pesos de las mazorcas fluctuaron entre 350 a 740 g, la aparición de espigas y jilotes fue entre los 67 a 116 días y la maduración de las agallas entre 19 y 33 días. Las variedades As910, Matador y Milenio presentaron agallas más grandes y con buena protección de hojas; As910, As72, presentaron mejor protección de las hojas y mayores pesos de mazorcas. Los híbridos 7573, Tornado Elotero, As905 y As948, se proponen como los mejores para la producción de cuitlacoche en valles medios.	Castañeda de León V. y H. Leal-Lara

...continuación de cuadro				
2009	16 genotipos de maíz con floración intermedia: Cañada de flores, Del norte, Don Francisco, Loma de cabras, Cruz del palmar, Del Norte de Guanajuato, Del tigre, La biznaga, Las cruces, San Juan Xido, La Palmilla, Pinalillo, La cuadrilla, Corina de Michoacán, Corina cajete y Corina 85-2	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Unidad Irapuato México	Encontraron diferencias significativas entre los maíces evaluados. Los porcentajes de incidencia variaron de 31 a 92% (promedio 72%), con grados de severidad que oscilaron entre 46 a 97%, con un valor promedio de 77%. El rendimiento, o peso de cuitlacoche por mazorca varió considerablemente en las variedades de maíz (80 hasta 450 g), y proponen a la variedad de maíz Criollo de Loma de Cabras como el más adecuado para llevar a cabo la producción de cuitlacoche a escala industrial.	Valdez-Morales M. <i>et al.</i>
2010	Primero incluyó cuatro híbridos, (H-58, 30G40, H-161 y Cándor) después a: los híbridos Gavilán, H-48 y H135	Invernadero del Campo Agrícola Experimental Universidad Autónoma Chapingo, México	Infectaron híbridos comerciales de maíz, a diferentes densidades de siembra en invernadero con nutrición hidropónica, con cepas de <i>U. maydis</i> aisladas de cada híbrido. El mejor híbrido fue 30G40 con infectividad promedio de 35%, otras variedades mostraron infectividades del 15%. Con todos los híbridos alrededor del 60% de las plantas no resultaron infectadas, índice de severidad 0%. El rendimiento de cuitlacoche fue mayor en 166,666 plantas ha ⁻¹ de maíz (3,592 kg/ha ⁻¹) que en 62,500 plantas ha ⁻¹ (960 kg/ha ⁻¹), aunque el rendimiento de hongo por planta inoculada fue igual de bajo en ambas densidades (0.02 kg·planta ⁻¹) con todos los híbridos	Madrigal-Rodríguez J. <i>et al.</i>
2013	Chalqueño, Blanco, Ancho, Cacahuacintle, Chalqueño-bolita, Chalqueños, Azul, Azul Oscuro, Rojo Oscuro. Cinco maíces híbridos (Oso, Cobra, Tigre, A7573 y 30T26)	Campo Agrícola Experimental "San Ignacio" Universidad Autónoma Chapingo	El híbrido Oso fue más susceptible con 3% de severidad y 14.4 t·ha ⁻¹ ; Cobra presentó mayor incidencia 85.8%. De los materiales criollos presentó mayor susceptibilidad el B6 con incidencia de 66.7%, severidad de 1.23 y 8.522 t·ha ⁻¹ de huitlacoche. Los maíces criollos que presentaron mayor susceptibilidad a <i>U. maydis</i> fueron el B6 y B3 de la raza Ancho y el B5 de la raza Cacahuacintle fue el más resistente.	Salazar Torres <i>et al.</i>

2.8. INFECCIÓN ARTIFICIAL DEL MAÍZ POR *USTILAGO MAYDIS*

Se han realizado investigaciones relacionadas con variedades de maíz y su reacción a la infección con *U. maydis*, evidenciando que existen variedades resistentes y susceptibles al ataque natural del hongo (Chistensen, 1963; Pataky *et al.*, 1995; Martínez-Martínez, 2000). Sin embargo, la susceptibilidad del maíz como resultado a la infección artificial con *U. maydis*, también depende de otras variables que ya fueron mencionadas anteriormente y que afectan de forma significativa al patosistema (Snetselaar y Mims, 1993; Pataky *et al.*, 1995; du Toit y Pataky, 1999 a-b; Pataky, 2002; Tracy *et al.*, 2007).

Es importante aislar cepas de *U. maydis* y probar su capacidad infectiva sobre diferentes variedades de maíz para la producción de agallas (Pataky y Chandler, 2003). Actualmente, pocos son los trabajos que se han realizado en este sentido (Álvarez, 1999; Martínez-Martínez *et al.*, 2000; Cota Navarro, 2004; Madrigal-Rodríguez *et al.*, 2010), y los métodos empleados en las diferentes etapas del proceso de producción de agallas son poco claros; por ejemplo, el origen y características sexuales de las cepas (teliosporas, productos meióticos de una o varias teliosporas, líneas haploides compatibles, cepas solopatogénicas). Las técnicas de inoculación tampoco han sido estandarizadas, el criterio para decidir el mejor momento para infectar al maíz, muchas veces depende de decisiones “subjetivas” como el tamaño de los estigmas o un período posterior a la aparición de las espigas. Cuál es la parte idónea para inocular al jilote, con o sin daño físico del jilote, el período que dura la inoculación; si es continua, alternada o a qué obedece. Otro aspecto que no queda claro, es si existe o no control de la polinización. Las variables anteriores, si no se controlan resultan en mayor incertidumbre al momento de realizar los experimentos relacionados con la virulencia de las cepas de *U. maydis*. En algunos casos inclusive se ha propuesto que las condiciones climáticas son determinantes para la incidencia en la infección controlada del hongo (Martínez-Martínez *et al.*, 2000; Madrigal-Rodríguez *et al.*, 2010).

2.9. MEDICIÓN DE LA INFECCIÓN CON *USTILAGO MAYDIS*

Actualmente se puede realizar una evaluación cuantitativa de la infección por el hongo, caracterizando la reacción a la virulencia de cepas de *U. maydis* y la susceptibilidad de las variedades de maíz. Estas evaluaciones permiten establecer parámetros cuantitativos y metodológicos para la selección tanto de cepas de *U. maydis* como de diferentes variedades de

maíz con fines comerciales de producción. Las variables de acuerdo con Martínez-Martínez *et al.* (2000), son las siguientes:

- a) **Grado de severidad:** mide el desarrollo de la infección en el jilote de acuerdo con la cobertura de la mazorca por las agallas de cuitlacoche, en una escala de 5%, 25%, 50%, 75% y 100% que se califican como G1, G2, G3, G4 y G5, respectivamente (**Fig. 3**). Se cuantifica para cada mazorca infectada.

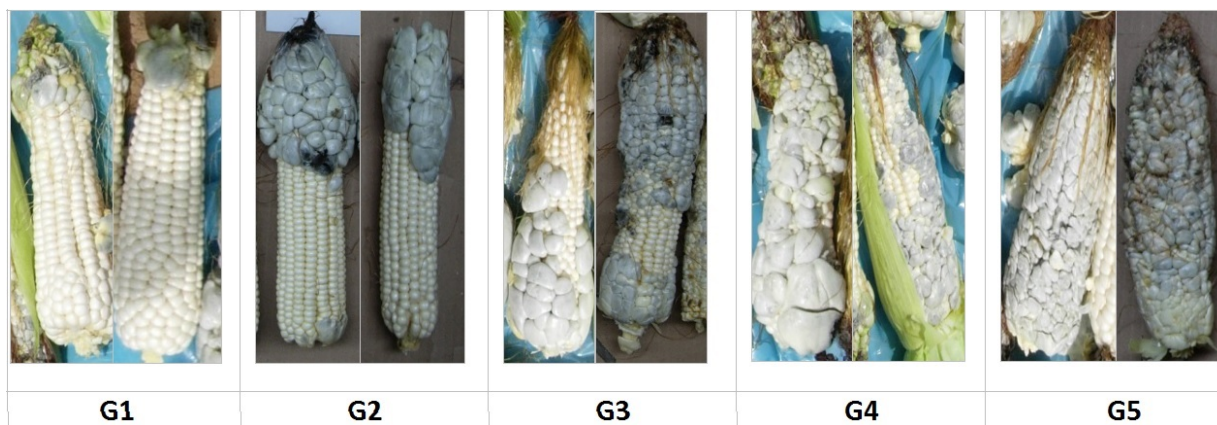


Figura 3. Grado de severidad de mazorcas infectadas con *U. maydis* G1, G2, G3, G4 y G5 que equivalen a, 5%, 25%, 50%, 75% y 100%, respectivamente.

- b) **Rendimiento por mazorca infectada:** se obtiene al dividir el peso total de cuitlacoche fresco (g) de todas las mazorcas infectadas entre el número total de jilotes infectados.
- c) **Rendimiento por planta inoculada:** indica el peso total de cuitlacoche fresco (g) entre el correspondiente número de plantas inoculadas.
- d) **Severidad ponderada:** es la medida ponderada de los grados de severidad, siendo el factor de ponderación el número de plantas en cada grado.
- e) **Incidencia de la infección:** valorada como el número total de jilotes infectados entre el total de inoculados, multiplicados por cien (Martínez-Martínez *et al.*, 2000).

Adicionalmente y como un complemento a las evaluaciones de susceptibilidad y productividad, existen otras variables que se han propuesto para medir y caracterizar las variedades de maíz desde una perspectiva comercial (Castañeda de León y Leal Lara, 2012). Una de éstas es la protección de las mazorcas por las hojas, clasificándola de 1 a 5 para cada mazorca, donde 1 =

mazorcas sin hojas de protección, 2 = 50% de agallas cubiertas por las hojas, 3 = 70% de agallas cubiertas, 4 = 90% de agallas cubiertas, 5 = la totalidad de agallas cubiertas por hojas (**Fig. 4**). Otra variable importante de calidad es el tamaño de las agallas de cuitlacoche, evaluado con una escala de 1 a 5; Donde: 1 = ≤ 1.5 cm de diámetro, inapropiado para su comercialización; 2 = *ca.* 2.5 cm de diámetro, agallas ligeramente más largas que los granos de maíz, pero demasiado pequeñas para un producto de buena calidad; 3 = *ca.* 3.5 cm de diámetro, agallas de tamaño medio; 4 = *ca.* 4.5 cm de diámetro, una mezcla de agallas medianas y largas; 5 = ≥ 6 cm de diámetro, predominantemente agallas grandes, las más apropiadas para la comercialización (**Fig. 5**). Las características de calidad incluyen a las características sensoriales de las agallas destacando el sabor (mayor dulzor y menor amargor). La precocidad del maíz, el tiempo de maduración de las agallas, y la vida de anaquel, son otras características de importancia que se proponen como factores a evaluar para la selección de variedades de maíz destinadas a la producción masiva de cuitlacoche (Castañeda de León y Leal Lara, 2012; Castañeda de León *et al.*, 2016).



Figura 4. Protección de las hojas. Caracterizado de 1 = nula protección, a 5 = protección total.

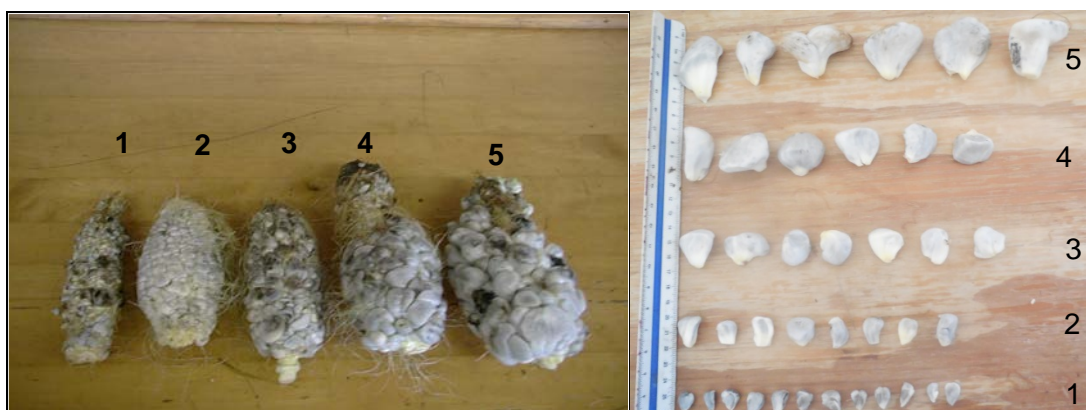


Figura 5. Tamaño de agallas = 1 (malo < 1.5 cm \varnothing), 5 (muy bueno > 6 cm \varnothing).

2.10. INFLUENCIA DE LOS FACTORES AMBIENTALES SOBRE EL DESARROLLO DE LA INFECCIÓN

De acuerdo con Thakur *et al.* (1989), el tamaño de las agallas depende de las condiciones fisiológicas de la planta hospedera, con influencia del ambiente en las que se desarrollaron. Esta aseveración no es compartida por todos los autores y tampoco existe un punto de acuerdo sobre qué condiciones ambientales (humedad y temperatura) son más favorables para el desarrollo natural de las agallas de cuitlacoche (**Cuadro 3**). Una posible explicación a este debate lo presentan Pataky y Snetselaar (2006), quienes propusieron que los óvulos del maíz son protegidos de la infección por *U. maydis* tan pronto son fecundados por el polen. En el punto de unión entre los estigmas y los óvulos ya fecundados, se forma una barrera física de células (zona de abscisión), o bien, si la fecundación no se lleva a cabo en corto tiempo, los estigmas fenecen, entonces estos ya no son capaces de ser el medio por el cual lleguen las hifas dicarióticas a los óvulos para la infección. Ahora bien, es sabido que el calor y la sequía causan una discrepancia en la producción de polen y emergencia de estigmas, lo cual resulta en una pobre polinización y en una mayor susceptibilidad a la infección natural, por lo que se puede concluir que los factores que reducen la producción de polen o inhiben la polinización, incrementan la posibilidad de aparición de agallas de cuitlacoche silvestre.

Tracy *et al.* (2007) coinciden con lo anterior y mencionan que el éxito en la polinización reduce la susceptibilidad a la infección por *U. maydis* (du Toit y Pataky, 1999 a; Snetselaar *et al.*, 2001), con la subsecuente formación de una zona de abscisión (Heslop-Harrison *et al.*, 1985; Bassetti y Westgate, 1993 a-b). Las condiciones ambientales pueden obstruir o retardar la polinización incrementando la incidencia de agallas. Condiciones ambientales como, “caliente y seco” o “frío y húmedo”, pueden retrasar la polinización incrementando la incidencia de cuitlacoche. En la bibliografía Castañeda de León *et al.* 2016 mencionan que existen otras circunstancias “que al parecer afectan la incidencia natural de cuitlacoche. Por ejemplo, el daño físico sobre los plantíos de maíz provocado por granizo o por el paso de tractores, eventos que facilitan la invasión del hongo en su hospedero (Duncan *et al.*, 1995; Gotlieb, 1999). Otros factores que se propone inciden en la infección natural por *U. maydis* son: la fertilización (fuentes de nitrógeno), daños mecánicos, aplicación de algunos herbicidas, periodicidad de riegos, fallas en la polinización e incidencia de virus” (Christensen, 1963; López-Aceves, 1988; Pataky, 1991; Pope y McCarter, 1992 a-b).

Se asume, sin embargo que un ambiente de alta humedad y temperaturas de templadas a altas, son algunos de los factores climáticos esenciales que promueven un buen desarrollo de las agallas de cuitlacoche mediante una inoculación artificial y controlada; siempre y cuando existan los cuidados agronómicos adecuados, variedades de maíz susceptibles con atributos productivos y comerciales idóneos, así como un riguroso control de la técnica y momento de inocular. No obstante, aún en esos casos pueden presentarse diferencias en la infección del maíz por *U. maydis* entre localidades, temporadas y años (Castañeda de León y Leal Lara, 2012). Se ha propuesto, que el buen desarrollo de agallas a partir de la inoculación artificial con *U. maydis* se incrementa, sí en los 20 días posteriores a esta se tiene una humedad relativa alta (75-85%), mayor precipitación pluvial (40-50 mm), humedad del suelo apropiada (80-85 % de humedad aprovechable) y temperaturas moderadamente cálidas (28 a 35 °C) (Villanueva-Verduzco *et al.*, 1997; Martínez-Martínez *et al.*, 2000; Cruz, 2006).

Cuadro 3. Condiciones ambientales que promueven la infección de *Ustilago maydis* (Tomado de Castañeda de León *et al.* 2016).

Autor	Año	Consideraciones
TEMPERATURA		
Immer y Christensen	1928	Consideraron que la temperatura era un factor poco relevante para la infección de plantas en campo. Temperaturas relativamente altas favorecen la germinación de teliosporas, la gemación de esporidios, el desarrollo del micelio y formación de teliosporas.
Christensen	1963	El desarrollo de agallas y la maduración de teliosporas es mucho más rápido en temperaturas relativamente altas que en bajas.
du Toit	1998	Si las condiciones climáticas que se presentan son estresantes (mucho calor o frío) al momento que el polen se libera y emergen los estigmas, los productores podían esperar niveles severos de infección.
Valverde <i>et al.</i>	1993	Reportaron que la maduración de cuitlacoche está relacionada con la maduración del hospedero. En la zona centro de Illinois, la temperatura fue inusualmente fría y quizá por esta razón, el tiempo de maduración del hospedero y de cuitlacoche se vio afectado negativamente.
Castañeda de León <i>et al.</i>	2009-2010	Durante los meses de noviembre a enero se presentó un clima más frío de lo normal, con temperaturas promedio por debajo de 10°C en períodos de más de 10 horas, esto probablemente provocó un retraso en la maduración de las plantas y de agallas, ocasionando la pérdida total en la producción.
HUMEDAD		
Immer y Christensen	1928	Se ha reportado que los años con alta incidencia de cuitlacoche fueron aquellos en los que se presentaron condiciones de clima seco con altos porcentajes de días soleados y pocos días de precipitación pluvial.
Platz	1929	Una lluvia ligera puede proveer humedad suficiente para la multiplicación de esporidios durante la inducción de la infección.
Kyle	1930	Concluyó que la cantidad de agua en plántulas de maíz está directamente asociada con el rango de desarrollo de <i>U. maydis</i> y el número relativo de agallas.
Walter	1935	Expresó sus dudas acerca de la influencia de la humedad como un factor en el desarrollo de cuitlacoche, encontró de 60 a 80% de tallos infectados en regiones semiáridas y probó que las teliosporas germinan en zonas meristemáticas provocando infecciones aun sin adicionar agua.
López-Aceves	1988	Observó que una alta concentración de humedad favorecía el desarrollo de cuitlacoche y la formación de agallas.
Villanueva-Verduzco	1995	Sugiere que la infección natural de <i>U. maydis</i> , es más frecuente y severa en regiones con clima templado y húmedo que en regiones calientes y secas.

...continuación de cuadro		
Hirschhorn	1986	
López	1988	
Banuet y Herskowitz	1988	Argumentan que existe un predominio de cuitlacoche en años secos y calurosos.
Konstandi y Geisler	1989	
FERTILIZACIÓN		
Brefeld	1888	Concluyó que colocar estiércol en los campos de maíz favorece el desarrollo del hongo. La observación de este fenómeno provocó que algunos agricultores recomendaran no aplicar estiércol en los campos donde ya existía cierto daño de <i>U. maydis</i> .
Walter	1935	Observó que los fertilizantes comerciales y el estiércol no presentaban un efecto sobre la incidencia de cuitlacoche.
Mills <i>et al.</i>	1982	Evaluaron el efecto del nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K) y estiércol (E) en la infección de <i>U. maydis</i> sobre maíz. Los autores encontraron una infección significativa en el tratamiento NE comparado con los otros tratamientos. Los tratamientos NP, NE y PE incrementaron la infección significativamente contrastados con los tratamientos NK y PK.
Texas Plant Disease Handbook	1996	Se concluye que altas cantidades de nitrógeno y suelos fertilizados con materia orgánica favorecen a la enfermedad.
Leal Chapa	1996	No encontró diferencias entre fertilizar y no fertilizar los campos de maíz para inducir la infección con <i>U. maydis</i> .
Aydogdu y Boyráz	2011	La severidad de la infección se incrementó cuando se añadió nitrógeno en una dosis superior a la dosis recomendada (100 kg ha ⁻¹), mientras que la resistencia a la enfermedad se incrementó en los experimentos en los que se aplicó diferentes cantidades de fertilizantes orgánicos (estiércol de corral). Ajustar la cantidad de nitrógeno y estiércol parece ser un factor importante que impacta la severidad de la infección por <i>U. maydis</i> .

2.11. ANÁLISIS SENSORIAL DE HONGOS COMESTIBLES

Si bien las características productivas de los hongos comestibles (rendimiento, productividad, eficiencia biológica) son factores de importancia al momento de seleccionar los diferentes aislamientos o cepas de hongos para su producción comercial. Adicionalmente, todo parece indicar que las características sensoriales se proyectan como un factor más que influirá al momento en que el consumidor elija uno u otro producto fúngico, en consecuencia es importante estudiar las características sensoriales de los diferentes hongos comestibles. Los alimentos tienen una complejidad sensorial que está determinada no solo por el tipo de sustancias que los forman sino por las interacciones de éstas entre sí. Para caracterizar un alimento es necesario tomar en cuenta tanto sus características fisicoquímicas como sus atributos sensoriales. El análisis sensorial es el examen de las propiedades de un producto a través de la percepción por los órganos de los sentidos, se le considera una disciplina científica usada para medir, analizar e interpretar las reacciones del ser humano ante las características de los alimentos, tal y como son percibidas por los sentidos de la vista, gusto, olfato, tacto y oído. Al ser una ciencia se presta especial atención a la precisión y sensibilidad de los métodos y técnicas empleadas, para así evitar posibles errores en el conocimiento que se derive de su aplicación (Anzaldúa-Morales, 1994, Lawless y Heymann, 1998).

Los atributos sensoriales de un producto son, en general, todo lo que se llega a percibir a través de los sentidos, por lo tanto, estos sirven como un instrumento de medición. Se puede hacer una agrupación de atributos de acuerdo con los sentidos por los que son percibidos. Los atributos sensoriales percibidos al sentido de la vista conforman la propiedad del color (apariencia) de un producto. Es una cualidad que depende entre otras variables de la intensidad de luz, del objeto sobre el que incide y el buen funcionamiento del órgano de la vista. Las percepciones táctiles por medio de los dedos, palma de la mano, lengua y paladar son importantes en la evaluación sensorial, ya que nos ayudan a detectar atributos de textura, sensaciones de temperatura y peso. Percibimos esto gracias al sentido del tacto donde se localizan las terminaciones nerviosas situadas debajo de la piel. El sentido del oído ayuda o complementa el conocimiento de la textura de los alimentos, al generar vibraciones por su masticación. Las vibraciones se transmiten a las orejas y se amplifican en el tímpano y huesos del oído para generar una señal nerviosa que llegará al cerebro y que llamamos sonidos (Anzaldúa-Morales, 1994; Ibáñez, 2001).

El sentido del gusto y del olfato son sentidos químicos, ya que dependen principalmente de receptores que son estimulados por sustancias químicas. El sentido del gusto reside en la lengua, la cual tiene varias protuberancias o gránulos llamados papilas gustativas, en las que tienen lugar las interacciones entre las moléculas responsables de los estímulos y los receptores presentes en las células. De acuerdo con Durán y Costell (1999), “la sensación de sabor se percibe utilizando dos sentidos corporales simultáneamente: el gusto, detectado en la boca, principalmente en la lengua, y el olfato, radicado en las fosas nasales, en donde se detecta el aroma. Los estímulos responsables de los aromas son sustancias volátiles y tanto su composición y propiedades como los mecanismos de percepción han sido ampliamente estudiados. No se puede decir lo mismo de los gustos (a menudo citados como sabores) producidos por sustancias no volátiles y que originan las sensaciones básicas de dulce, ácido, salado, amargo y umami, fundamentalmente”. La intensidad y percepción de los gustos básicos depende de muchos factores como: concentración del compuesto, interacción con otros componentes, disolución de los compuestos, salud de la persona, edad, hábitos, entre otros.

El sentido del olfato nos permite percibir el olor de los alimentos. El órgano mediante el cual funciona el olfato es la nariz o sistema nasal. En el interior de la nariz y de la zona facial cercana a la nariz existen regiones cavernosas cubiertas de mucosa, la cual conduce hacia las células y terminales nerviosas, que tienen la capacidad de reconocer los olores y de transmitir al cerebro la sensación olfativa. Las sustancias olorosas por lo general son volátiles y llegan a las fosas nasales por el aire. Esas sustancias se difunden a través de la mucosa, generando una señal que el cerebro interpreta en cada sustancia como un olor (Anzaldúa-Morales, 1994; Ibáñez, 2001).

Gómez Alvarado *et al.* (2010), mencionan que “la evaluación sensorial ha generado diversos vocabularios, por ejemplo el vocabulario de la International Standard Organization (ISO), el vocabulario desarrollado mediante paneles entrenados y el vocabulario de los consumidores, siendo estos últimos los que por décadas han sido considerados como medio de juicios hedónicos y actualmente las empresas de alimentos los utilizan ya que requieren de información rápida acerca de la percepción de los consumidores, debido a que los sujetos sin entrenamiento son un medio apropiado para la determinación de atributos sensoriales (Zannoni, 1997; Giménez *et al.*, 2008; Ares *et al.*, 2010). Los avances en la evaluación sensorial han permitido desarrollar

técnicas de descripción rápida como el perfil flash (PF), el cual sustituye largas sesiones de entrenamiento permitiendo el uso de personas sin experiencia en descripción sensorial basándose simplemente en la generación de atributos”. El perfil flash es el resultado de la combinación del perfil libre elección y la evaluación comparativa, donde las personas que realizan la prueba describen los productos y escogen sus propios términos para evaluar los mismos (Dairou y Sieffermann, 2002; Husson y Pagès, 2003; Delarue y Sieffermann, 2004; Blancher *et al.*, 2007). El perfil flash ha sido empleado para la descripción sensorial de salchichas (Rason *et al.*, 2006), purés de manzana y pera (Tarea *et al.*, 2007), para la correlación instrumental-sensorial en productos de panadería (Lassoued *et al.*, 2008) y en la caracterización de camarón ahumado (Ramírez-Rivera *et al.*, 2009). Los datos obtenidos con este estudio pueden ser analizados por técnicas estadísticas univariadas, como el análisis de varianza (ANDEVA), y por técnicas estadísticas multidimensionales como son el análisis de componentes principales (ACP), clasificación jerárquica ascendente (CJA) y el análisis generalizado procrusteno (AGP) (Gower, 1975; Qannari *et al.*, 1997).

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1. LA PRODUCCIÓN DE HONGOS COMESTIBLES EN MÉXICO

La producción de hongos comestibles cultivados alrededor del mundo se ha incrementado en los últimos años en forma considerable, pasando de 2.2 millones de toneladas en 1986 a más de 7.5 millones de toneladas para el año 2001. La derrama económica que se obtiene de esta actividad asciende a los 22.5 mil millones de dólares anuales (Boa, 2004). Recientemente han ocurrido cambios importantes en los géneros que se están cultivando y en la diversidad de presentaciones en las cuales se están comercializando. Desde un punto de vista social, ecológico y económico, la producción de hongos comestibles es una agroindustria importante en México, aun cuando el desarrollo biotecnológico para dicha actividad no ha logrado consolidarse al 100%.

El cultivo de hongos en México se ha desarrollado principalmente en dos vertientes: El industrial privado con aportes de capital y tecnología significativos, y la producción rural (rústica). Con respecto a la primera se puede mencionar que las grandes empresas de producción de hongos comestibles han transitado a través de diferentes momentos históricos desde sus inicios en 1933. Se ha caracterizado por los altos niveles de inversión que se han inyectado a dicha industria, con el sucesivo surgimiento, desaparición y fusión de diferentes empresas medianas y grandes. Adicionalmente, existe una amenaza cada vez más evidente de la peligrosa formación de un monopolio en el ramo. Actualmente la industria de cultivo de hongos en México está representada por no más de 4 empresas importantes (Hongos de México, S. A., Grupo San Miguel, S.A., Hongos Leben, S. A., y Grupo Altex, S. A.) (Martínez-Carrera, *et al.*, 2016).

La otra vertiente del cultivo de hongos lo representa la producción del sector social, constituida por la producción rústica. Esta se fomentó a partir de 1989, cuando el sector académico acompañó al sector social en la implementación de modelos de producción rural de hongos comestibles. Su evolución ha sido lenta, con muchos obstáculos y sin una real consolidación del sistema. Para el año 2009 este grupo estaba conformado por *ca.* 600 pequeños productores (Martínez-Carrera *et al.*, 2012). A través de esos 28 años de evolución a partir de la implementación de los sistemas de producción rústica, un gran número de estos productores han

surgido y desaparecido sucesivamente, debido principalmente a la falta de acceso a nuevas tecnologías de producción, poca asesoría eficaz y especializada, ausencia de estrategias exitosas para su comercialización, escasos apoyos económicos y un abandono total de las instituciones del Estado.

No obstante lo planteado, también han existido avances en el sector. Es importante recalcar que la producción de hongos comestibles en México es una actividad reciente y que, pese a la falta de consolidación en el ramo de cultivo rural, esta actividad a nivel industrial es la más avanzada y la de mayor producción en la región de América Latina. Ello se presenta, entre otras cosas debido a los aportes económicos y tecnológicos de los distintos actores del sector público, social y privado. La activa participación de estos sectores ha dado lugar a la creación de una verdadera cadena agroalimentaria emergente de nivel intermedio, con una dinámica propia en pleno desarrollo y con un futuro prometedor. Es indispensable retomar a la brevedad los sistemas de producción rural como un modelo productivo con grandes áreas de oportunidad. Se ha demostrado que el cultivo de hongos comestibles, funcionales y medicinales, se ha posicionado como una alternativa de producción, económica y de alimentación interesante con gran potencial de crecimiento en México. Ésta debe integrarse a la discusión sobre soberanía agroalimentaria nacional en los sistemas de origen microbiano (Martínez-Carrera *et al.*, 2016), aprovechando las ventajas ecológicas, climáticas, territoriales, culturales, que ofrece México para la implementación de estos sistemas, así como la existencia en distintas partes del país de más de 6,000 sociedades y organizaciones campesinas e indígenas con potencial para desarrollar esta actividad agroeconómica (Martínez-Carrera *et al.*, 2000; Martínez-Carrera, 2002).

3.2. CONSUMO Y PRODUCCIÓN DE CUITLACOCHES EN MÉXICO

3.2.1. ÉPOCA PREHISPÁNICA

Diversos documentos (libros, artículos especializados y tesis) que analizan las características biológicas, de patogenicidad, cultivo, consumo y uso de cuitlacoche habían propuesto la idea de que las agallas producto de la infección de *U. maydis* sobre el maíz, se usaban como alimento desde la época prehispánica. Se ha postulado, sin un sustento científico claro y contundente, que el cuitlacoche era apreciado como un manjar culinario y que inclusive su uso en platillos “especiales” era exclusivo de los miembros de las clases dominantes en algunas culturas prehispánicas. No obstante, recientemente Valadez *et al.* (2011) revisaron diferentes fuentes

etnohistóricas y estudios etnográficos sobre el consumo del maíz y los hongos, incluyendo entrevistas a campesinos, antropólogos y especialistas de la cocina tradicional mexicana, llegando a nuevas conclusiones. Con la información obtenida, dichos autores plantearon un panorama muy diferente a la concepción que se tenía sobre el trinomio, hongo – maíz – hombre; y proponen que no necesariamente donde aparecen las agallas conocidas como cuitlacoche las comunidades las usan o consumen. En relación con las agallas resultado de la infección del hongo *U. maydis* sobre las plantas de teocintle y/o el maíz, Valadez *et al.* (2011) llegaron a la conclusión de que efectivamente desde la época prehispánica existe un reconocimiento de estas agallas como un elemento inherente al maíz. Al parecer en esa época se le concebía como una enfermedad o algo perjudicial del maíz, más que como otro producto aprovechable de la milpa, relacionando su aparición principalmente con la época de lluvias.

Después de la llegada de los españoles se tienen los primeros registros formales sobre la existencia de cuitlacoche. Fray Bernardino de Sahagún en su obra del siglo XVI “Historia General de las cosas de la Nueva España” hizo por primera vez una breve mención en términos descriptivos del resultado de la infección: “...como una anormalidad del maíz que hace que la mazorca adquiera un color negruzco y se transforma en algo como lodo”. Esta descripción tiene congruencia con los nombres en náhuatl que se le daban a los soros o agallas producto de la infección: “*cujtlacochi*”, “*cuitlacohtli*” o “*cuitlacuchtli*” que se pueden traducir como “mugre que crece encima del maíz” (Valadez *et al.*, 2011), aunque tiene otras acepciones tales como “suciedad prieta de cuervo” (Kealey y Kosikowski, 1981), “suciedad dormida” (Leal-Chapa, 1996), o “mierda dormida”. El significado del nombre prehispánico en cualquiera de sus interpretaciones indica una concepción de algo “no muy grato o molesto del maíz”, sugiriendo que contrario a lo que se planteaba hasta hace poco, el reconocimiento de las agallas de cuitlacoche no necesariamente implica que tuvieran un uso o que fueran aprovechadas para un fin en especial. En este sentido, la idea de que el cuitlacoche se consumía desde tiempos prehispánicos parece más bien una construcción cultural reciente para que este producto tuviera una historia propia y aceptación a la par de otros acompañantes del maíz en la milpa (Valadez *et al.*, 2011; Valadez, 2012). Sin embargo, en este caso todavía no queda claro cómo pudo desarrollarse una recepción y consumo tan generalizado del cuitlacoche por las comunidades indígenas y campesinas en la región central de México en un período corto de tiempo (e. g., 100-

200 años), considerando que los patrones alimentarios no cambiaban tan rápidamente en esa época.

3.2.2. DE LA ÉPOCA COLONIAL A LA ACTUALIDAD

Diversos datos indican que el cuitlacoche empezó a tener una multiplicidad de usos y aplicaciones alimenticias, medicinales y cosméticas, a partir de los siglos XVII al XIX principalmente por parte de las comunidades campesinas en México. Asimismo, se tienen reportes de su uso por diferentes tribus amerindias de los E.U.A., como los Hidatsa de las tierras bajas del río Missouri (Wilson, 1987), los indios Tewa (Nuevo México) y la tribu Zuni (Arizona) [McMeekin, 1999]. Al inicio de su aprovechamiento, se ha propuesto que se utilizó principalmente como un producto de subsistencia por algunas comunidades rurales. No fue sino hasta mediados del siglo XX que se empezó a preparar en platillos *gourmet* de la cocina francesa, evento que llevo al cuitlacoche a un ascenso vertiginoso e importante en el ámbito de la cocina internacional (Valadez *et al.*, 2011; Valadez, 2012). A partir de este hecho y gracias en parte a toda esta imagería principalmente popular, y a veces académica, fue que el cuitlacoche logró incorporarse a la cultura culinaria mexicana en la categoría de “alimento tradicional”. Resulta aún más interesante el hecho de que este hongo parásito del maíz, pero también comestible, se encuentre todavía en un proceso de incorporación a la cultura gastronómica mexicana (**Cuadro 4**) [Castañeda de León *et al.*, 2016].

Está bien documentado que México es reconocido como centro de origen, domesticación y diversificación del maíz, el cual en sí mismo es una contribución alimenticia importante para el mundo. Se ha propuesto que *U. maydis* pudo haber desempeñado un papel fundamental en el proceso de domesticación del maíz. El cambio del teocintle al maíz se debió a mutaciones importantes que ocurrieron en un período relativamente corto de tiempo, y que los originarios notaron inmediatamente sólo si eran conscientes de la importancia del teocintle (o de sus parásitos), rescatando al maíz recién nacido resultante de la naturaleza; dando así el primer paso en el proceso lento y continuo que llevó al maíz moderno (Martínez-Soriano y Aviña-Padilla, 2009). Por ello, paralelamente se puede establecer que el hongo *U. maydis* (de origen mexicano partiendo de la teoría de la coevolución parásito-hospedero) [Munkacsi *et al.*, 2008], así como el producto comestible de su infección en el maíz, las agallas de cuitlacoche, son también una

aportación trascendente para el mundo en el sistema agroalimentario microbiano. En este contexto, es factible insertar al cuitlacoche dentro de los llamados Sistemas Agroalimentarios Locales (SIAL) ya que su preservación, cultivo, uso y consumo reúnen características de territorio, alimentación, cultura y salud (Meiners Mandujano y Torres-Salcido, 2013).

Cuadro 4. Historia de la culturización del cuitlacoche.

FASE DE CULTURIZACIÓN	ETAPA HISTÓRICA
De no-apropiación (?)	Desde sus orígenes hasta el siglo XVI
Individualización y reconocimiento de uso	Siglos XVII a XIX
Reconocimiento de existencia y valoración cultural	Siglo XX (mediados)
Encumbramiento en la sociedad y difusión como alimento	Siglo XX (mediados) - Actual

El consumo de cuitlacoche en México se ha extendido a través de diferentes regiones del país. Existe información de que las agallas de cuitlacoche son consumidas en una gran variedad de presentaciones, principalmente en Estados del centro, algunos del norte y sur de México, tanto por la población urbana (en una amplia variedad de platillos tradicionales y de la alta cocina), así como por diferentes grupos campesinos e indígenas del país, en los Estados de Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Puebla, Tlaxcala, Veracruz, y Yucatán, donde tiene diversos usos no sólo como alimento, sino también en la medicina tradicional y con usos cosméticos (Valadez Azua *et al.*, 2011). Sí bien en la época de lluvias las agallas de cuitlacoche se obtienen por recolección de plantas infectadas naturalmente en los cultivos de maíz para su venta en fresco en mercados y tianguis (**Fig. 6**), actualmente el hongo se cultiva de manera controlada en la zona central de México con una tasa de crecimiento importante. En el período 2009-2010, la empresa “Los Aztecas” procesó alrededor de 1 t/semana de cuitlacoche fresco, el cual alcanzó un precio al consumidor de MN 100.00 pesos/kg en tiendas de autoservicio (Castañeda de León y Leal Lara, 2012). En la Central de Abasto de la Ciudad de México llegan un promedio de 1.5 a 2 t/semana de cuitlacoche fresco durante todo el año, provenientes principalmente de los Estados de Hidalgo, Estado de México, Tlaxcala, Guanajuato, Morelos y Puebla (CEDA-CACM, 2007).

El volumen se incrementa considerablemente a *ca* 3.5 t/día durante la época de lluvias. Adicionalmente, en algunas ciudades de los E.U.A. con importante presencia de mexicanos, existe una fuerte demanda de cuitlacoche fresco, el cual se llega a vender hasta en 40.00 dólares/kg (Pataky y Chandler, 2003).



Figura 6. Venta de agallas de cuitlacoche (*Ustilago maydis*) silvestre en los mercados y tianguis de México.

En la década de los 80's, se estimaba que alrededor de 400 a 500 t/año de cuitlacoche fresco eran vendidas en los mercados durante la época de lluvias y que la compañía Herdez, S. A., procesaba alrededor de 100 t/año de este hongo para enlatarlo (Kealey y Kosikowski, 1981; Arnold, 1992). En el 2012, la producción de cuitlacoche alcanzó aproximadamente las 1,000 t/año, incluyendo tanto el producto cultivado como aquel que se produce de forma silvestre, de este último se enlata alrededor del 40% (**Fig. 7**) [Castañeda de León y Leal Lara, 2012]. Actualmente, el cultivo de cuitlacoche ha logrado un desarrollo biotecnológico importante y en los últimos años su producción controlada y consumo siguen en aumento, inclusive su producción se ha posicionado rápidamente en el tercer lugar dentro de hongos comestibles cultivados en nuestro país, después de los champiñones (*Agaricus* spp.) y las “setas” (*Pleurotus ostreatus/pulmonarius*) cuyos niveles de producción son de alrededor de 59,000 t y 3,000 t anuales, respectivamente (Martínez-Carrera *et al.*, 2012) (**Fig. 8**).

Asimismo, las agallas de cuitlacoche han desplazado en producción a otros hongos cultivados en nuestro país considerados como “exóticos” o de especialidad, tales como el *shiitake* (*Lentinula* spp.) y el *reishi* (*Ganoderma* spp.) (Castañeda de León *et al.*, 2016).



Figura 7. Cuitlacoche (*Ustilago maydis*) en presentación enlatado, para venta fuera de temporada.

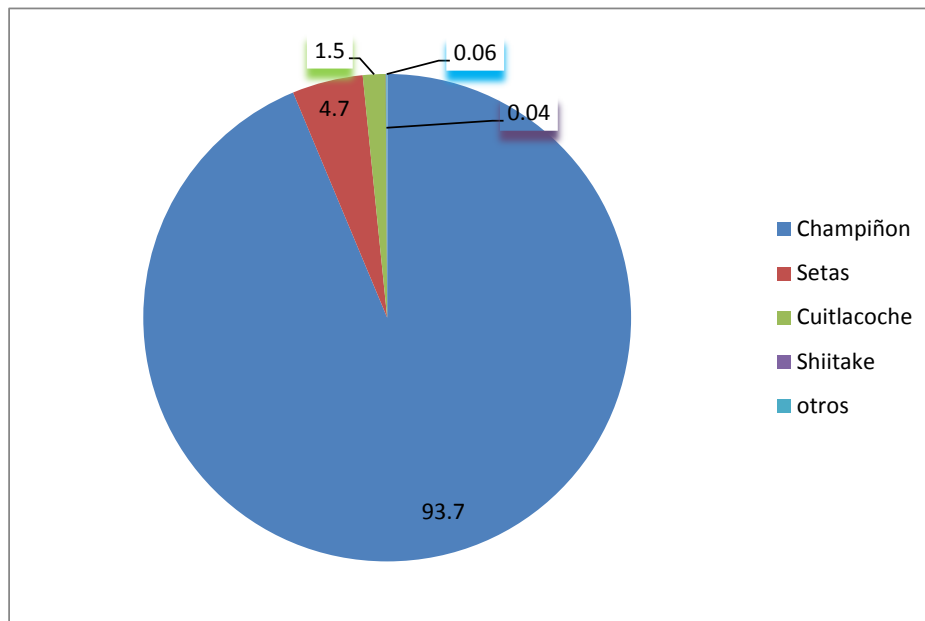


Figura 8. Producción (%) de hongos comestibles en México (2016).

3.3. CULTIVO DE CUITLACOCHÉ

Existen reportes de que los primeros estudios para causar infección con *U. maydis* de manera controlada resultaron de los trabajos desarrollados para conocer la enfermedad en Francia, a mediados del siglo XVIII (Christensen, 1963). A partir de entonces, diversas líneas de investigación se han desarrollado utilizando el hongo *U. maydis* como un modelo biológico recurrente en experimentos relacionados con ADN, en diferentes tópicos de biología molecular y celular, en estudios de la interacción parásito-hospedero, en trabajos de resistencia a pesticidas y en otras aplicaciones biotecnológicas (Ruiz y Martínez, 1998; Banuett, 1995; Kronstad, 2003). Recientemente, su genoma ha sido secuenciado y se encontraron aproximadamente 19.8 millones de bases, número pequeño comparado con el de otros hongos patógenos de plantas (FGI, www.Broadinstitute.org). La investigación sobre los métodos para el estudio de la enfermedad y para obtener agallas de cuitlacoche inició en los Estados Unidos a principios del siglo XX. Subsecuentemente, varios aspectos sobre sistemas de producción se han estudiado paralelamente en México y los Estados Unidos.

Los primeros trabajos para cultivar las agallas de cuitlacoche y utilizarlo como alimento fueron hechos en México por López-Aceves (1988) y Flores del Campo (1991), y en Estados Unidos por Thakur *et al.* (1989) y Pataky (1991). En los últimos años se han desarrollado diversos estudios para producir cuitlacoche de forma comercial en universidades y centros de investigación en México, como el Colegio de Posgraduados (COLPOS), la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), el Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN Irapuato), el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) y la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) (**Cuadro 5**). En la actualidad, únicamente la empresa “Hongos de México” ha implementado un método eficaz de producción masiva de cuitlacoche con buenos resultados. Adicionalmente, existen pequeños productores y cooperativas en los Estados de Morelos, Hidalgo, Puebla, Estado de México, Guanajuato y San Luis Potosí produciendo de manera más o menos regular cuitlacoche fuera de temporada (Castañeda de León *et al.*, 2016).

Cuadro 5. Aportes biotecnológicos en el desarrollo de la producción de agallas de cuitlacoche (Tomado de Castañeda de León *et al.* 2016).

Autor	Contribución	Año
Tillet M.	Espolvoreó granos de maíz con teliosporas antes de la siembra, al observar que no se desarrolló cuitlacoche concluyó que no era una enfermedad contagiosa, sino que era causada por una cantidad excesiva de savia acumulada en ciertas partes de la planta que producía dilatación excesiva del tejido celular. Esta hipótesis fue desechada rápidamente.	1766
Brefeld O.	Demostó la naturaleza infectiva de <i>U. maydis</i> ; no pudo obtener infección por inoculación de semillas, pero logró la infección mediante la aspersión al maíz con una suspensión de esporidios producidas en medio nutritivo. También mencionó que obtuvo buenos resultados espolvoreando teliosporas sobre las plantas. Probó que cualquier órgano meristemático y aéreo de la planta son susceptibles de ser infectados.	1888
Arthur C. & W. Stuart	Inyectaron medios de cultivo con teliosporas en plántulas de maíz mediante tubos de vidrio.	1900
Griffiths M.	Inoculó plántulas con jeringas hipodérmicas utilizando esporidios o bien rociando una suspensión encima de las plantas antes de la aparición de inflorescencias. No encontró diferencias entre variedades “susceptibles y resistentes”.	1928
Stakman C. & Christensen J.	Inocularon plantas maduras usando jeringas hipodérmicas, logrando excelentes resultados.	1929
Wilkinson E. & C. Kent	Encontraron buena respuesta a la infección con el método de vacío parcial en plántulas de maíz. Alrededor del 85% de las plántulas desarrollaron la infección con este método.	1945
Christensen J.	Realizó diversos estudios sobre métodos de inoculación que incluían: rociar plantas con una suspensión de esporidios, la inducción de vacío parcial, la inoculación de verticilos, e inyectar medios de cultivo incubados con <i>U. maydis</i> en plántulas de maíz mediante tubos de vidrio. También implementó el uso de jeringas hipodérmicas como un sistema de inoculación efectivo.	1963
López-Aceves F.	Inyectó una mezcla de esporidios en el cogollo y el tallo de la planta a los 25 o 52 días o antes del jiloteo, así como aspersiones en estigmas para lograr la infección.	1988
Thakur P. <i>et al.</i>	Probaron la inoculación de una suspensión de aislados compatibles de <i>U. maydis</i> mediante la inyección en el nudo apical, de 3-10 días antes de que saliera la espiga, llegando a obtener 100% de plantas infectadas.	1989
Flores del Campo R.	Comparó tres técnicas de inoculación, mezcló teliosporas con semillas, asperjó teliosporas al cogollo en etapa de 6 a 8 hojas o inyectando teliosporas al jilote al presentarse 50% de polinización.	1991
Pataky J.	Probó aspersión de esporidios en vainas y tallo (entre sexto a octavo nudo). Inyectó esporidios en entrenudos sexto a octavo, utilizó la misma técnica, dañando hojas y nudos con arena antes de asperjar esporidios.	1991

...continuación de cuadro		
Pope D. & McCarter M.	Desarrollaron diferentes métodos para producir cuitlacoche, incluyendo: “rociado”, “rociado por chorro”, “espolvoreado”, “untado”, “sumergido”, inducción por vacío y la inyección de soluciones con esporidios o teliosporas para provocar la formación de agallas en diferentes partes de la planta, tales como: raíces, tallos, yemas, nudos, inflorescencias y jilotes. Los autores reportaron que las inyecciones en las zonas aéreas de la planta dan como resultado altas incidencias de severidad de la infección.	1991-1992b
Zimmerman A. & J. Pataky	Evaluaron diferentes métodos de inoculación en distintas etapas de desarrollo del maíz, los mejores resultados fueron de un 50% de incidencia cuando se inyectó el inóculo en una etapa en que los estilos habían emergido completamente.	1992
Pope D. & McCarter M.	Reportaron que inyectando 3 ml de una suspensión de esporidios a través del canal de los estigmas obtenían un 97% de infección, con al menos 60% de los granos infectados de cada una de las mazorcas. La inyección de jilotes y la inyección en la punta de los jotes resultaron en una incidencia y severidad de cuitlacoche similares.	1992a
Valverde M. <i>et al.</i>	Inocularon distintos híbridos, probaron métodos de inoculación, hicieron una medición de la infección, midieron el tiempo de maduración y cosecha de cuitlacoche.	1993
Pataky J. <i>et al.</i>	Reportaron que la inyección de una suspensión de teliosporas por el canal de los estilos era el método más exitoso para llevar a cabo la producción de cuitlacoche.	1995
Vanegas E. <i>et al.</i>	Igualmente reportó que la inyección longitudinal a través del canal de los estilos, y sin causar daño mecánico previo a los tejidos, es adecuada para producir cuitlacoche de manera masiva.	1995
Hidalgo H.	Utilizó teliosporas en una sola aplicación inyectada en la base y la punta del jilote y esporidios en plantas de 28, 48, y 60 días, las teliosporas con una concentración de 5 g/l y los esporidios con 10 ⁶ /ml.	1995
Valverde M. <i>et al.</i> Vanegas E. <i>et al.</i> Villanueva-Verduzco C. <i>et al.</i> Leal Chapa A. du Toit L. & Pataky J. a-b Martínez-Martínez. L. <i>et al.</i>	Realizaron trabajos encaminados a estudiar factores ambientales y estrategias de producción, probaron diferentes métodos de inoculación. Investigaron como incrementar la severidad de la infección, evaluaron la etapa de madurez de los estilos al momento de realizar la inoculación, evaluaron la mejor concentración de esporidios para la elaboración del inóculo, asimismo probaron distintas densidades de plantas para el cultivo de cuitlacoche, evaluaron distintos materiales de maíz, híbridos y criollos.	1995 - 2000

...continuación de cuadro		
Pataky J.& A. Chandler	Reportaron que evitar la polinización del maíz eliminando las espigas, incrementa considerablemente la severidad de la infección por <i>U. maydis</i> . También inocularon entre los 4 y 8 días después de la aparición de los estigmas.	2003
Castañeda de León V. <i>et al.</i>	En el 2006, implementan el primer sistema de cultivo masivo de cuitlacoche en México para la empresa Hongos de México, S.A., utilizando la inoculación a través del canal de los estigmas con cepas haploides compatibles, en diferentes variedades de maíz híbrido diseñados para valles altos y medios.	2008
Valdez-Morales M. <i>et al.</i>	Infectaron 16 variedades de maíz con cepas de <i>U. maydis</i> por inyección en el canal de los estigmas encontrando que la mejor calidad de cuitlacoche se produce en variedades de maíz con mazorcas grandes y totalmente cubiertas por las hojas.	2009
Madrigal-Rodríguez J. <i>et al.</i>	Infectaron híbridos comerciales de maíz, a diferentes densidades de siembra en invernadero con nutrición hidropónica, con cepas de <i>U. maydis</i> aisladas de cada híbrido, logrando infectividades en promedio del 15% y sólo una máxima de 35%	2010

3.4. SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE CUITLACOCHES EN MÉXICO

El consumo de agallas de cuitlacoche en los diferentes estratos sociales y culturales, ha provocado un cambio en la percepción de la gente, al transitar de ser considerado un alimento de “pobres” a volverse un alimento sumamente apreciado en la categoría de producto fúngico “gourmet”. Unido a este cambio de “imagen” del cuitlacoche, surgió el control de precios del maíz, acto que ha convertido a su cultivo en algo poco redituable, pero simultáneamente creó el interés de los campesinos para aprovechar la venta de otros productos del maizal que no están sujetos a control de precios y que la gente busca por ser “alimentos tradicionales”, como por ejemplo, el cuitlacoche. Sí bien los agricultores han tratado de producir cuitlacoche desde hace tiempo utilizando diversas estrategias, no han logrado tener el éxito esperado. El aumento en la demanda de cuitlacoche en el país y en el extranjero ha motivado el desarrollo de tecnologías que conduzcan a la producción masiva de este inusual y apetecible hongo, desarrollando un producto de alto valor agregado y con gran beneficio para los agricultores que lo producen.

En México, actualmente existen tres sistemas de producción de agallas de cuitlacoche:

- 1) **Cosecha estacional de agallas de cuitlacoche infectadas de manera natural:** Las mazorcas infectadas en condiciones naturales por el hongo *U. maydis* en los campos y que producen agallas de cuitlacoche “silvestre”, son recolectadas en parcelas sembradas para la producción de grano de maíz. Este es un arduo procedimiento que implica una gran inversión de horas-hombre para su búsqueda, localización y cosecha, debido a que su aparición en los maizales es fortuita, escasa y no continua.
- 2) **Inducción rudimentaria de la infección:** En algunos casos, los agricultores de maíz toleran e inducen empíricamente la presencia de cuitlacoche en sus cultivos, empleando distintos procedimientos: recolectan y dispersan teliosporas de *U. maydis* en sus parcelas, aplican teliosporas a la tierra o al abono, siembran variedades de maíz “susceptibles” a *U. maydis*, impregnan semillas de maíz con teliosporas, muelen y embarran o asperjan teliosporas en las inflorescencias femeninas. Desafortunadamente, con estos sistemas se logran tasas de infección mínimas.

- 3) **Producción asistida:** Los cultivadores de agallas de cuitlacoche son orientados por especialistas en la aplicación de técnicas de producción e inoculación, para lograr el desarrollo exitoso de la infección en sus mazorcas. Estas incluyen: la detección y selección de variedades de maíz susceptibles, usar diferentes métodos de inoculación e inducción de la enfermedad, probar la virulencia de cepas de *U. maydis*, establecer fechas de siembra y cosecha, entre otros (Villanueva-Verduzco, 1997; Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007; Castañeda de León y Leal Lara, 2012).

3.5. EXPERIENCIAS EN LA PRODUCCIÓN DE CUITLACOCHES EN MÉXICO

El cultivo de agallas de cuitlacoche a nivel nacional no tiene más de 25 años de historia, si bien los primeros esfuerzos fueron de índole meramente académico, durante los años noventa, los estudios se enfocaron a desarrollar métodos eficientes de producción de agallas, preparación de inóculos, técnicas de inoculación y cosecha, adicionalmente se ha experimentado con diferentes variedades de maíz. Fue a partir del año 2000 que se iniciaron los primeros ensayos para producir agallas de cuitlacoche de forma masiva. En el año 2006 la empresa “Hongos de México”, por medio del M. en C. Vladimir Teodoro Castañeda de León junto con el Dr. Hermilo Leal Lara, implementaron el primer sistema de producción masiva de cuitlacoche en México. Las primeras pruebas piloto se realizaron en las instalaciones de la empresa, localizadas en Santa María Rayón, Estado de México, probando diversas variedades de maíz criollo e híbrido en sembradíos de temporal en valles altos. Posteriormente, el proyecto continuó en Tonalico, Estado de México y Pilcaya, Estado de Guerrero; en parcelas con sistemas de riego rodado, con el objetivo de establecer una producción continua de cuitlacoche. Se utilizó la inoculación a través del canal de los estigmas, con una cepa de esporidios haploides compatibles de *U. maydis*, probándose en diferentes variedades de maíz criollo e híbrido diseñados para valles medios y altos; con el híbrido comercial Aspros 910TM se alcanzaron producciones de hasta 1.5 t/semana. La implementación de este sistema fue exitosa y actualmente la empresa mantiene una producción de 3 t/semana de agallas durante todo el año (Castañeda de León *et al.*, 2016). En el año 2007, la empresa familiar “Granja el Edén”, de los hermanos Lugo, en la comunidad de Charcas, San Luis Potosí, realizaban la producción de cuitlacoche mediante la inyección de inóculo en la base de las mazorcas (variedad H-323, Instituto Tecnológico de Aguascalientes), logrando buena severidad (>80%), con agallas pequeñas, y mediana incidencia de infección en el

total de sus plantas (<60%). Para el año 2008, la empresa “Los Aztecas”, se dedicaba a comprar parcelas de maíz en etapa de jilote en el Estado de México y Morelos para ser inoculadas con el hongo, sin que se cuente con mayor información sobre la producción de inóculo, las técnicas de inoculación y cosecha empleadas, o sobre la eficiencia en su proceso de producción. Esta empresa procesaba alrededor de 1 t/semana de agallas de cuitlacoche, que vendía principalmente en tiendas de autoservicio y en la central de abasto de la Ciudad de México (Castañeda de León y Leal Lara, 2012).

Existen experiencias productivas de cuitlacoche recientes, una de ellas en Tlaxcala, México, Meiners Mandujano y Torres-Salcido (2013) mencionan que “dentro del Programa Piloto de Producción de Cuitlacoche (PPPC) impulsado desde la Coordinación del Sistema Estatal de Promoción del Empleo y Desarrollo Comunitario (SEPUEDE), dependencia del gobierno del Estado. Principalmente se trabajó con dos microempresas familiares durante el periodo 2009-2013, dichas microempresas eran “Ecoagricultores del Sur” y “Tecnoagricultores del Sur”. El Gobierno del estado determinó, por medio del SEPUEDE, que la producción de cuitlacoche podría ser un apoyo para la generación de ingresos familiares en zonas de alta marginalidad, por lo cual decidió implementar un programa modesto en localidades de los municipios de Huamantla, Altzayanca y Lázaro Cárdenas. Con este programa se logró producir más de 1,400 kg de cuitlacoche, que eran comercializados en la Central de Abastos de Puebla. Lo interesante de la experiencia mencionada fue el proyecto tecnológico para diseñar e instalar los invernaderos y llevar a cabo el proceso productivo, vinculándose el PPPC con el Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT), responsable de desarrollar el inóculo” (Meiners Mandujano y Torres-Salcido, 2013; Torres-Salcido *et al.*, 2015). Se inocularon variedades de maíz tanto híbridas como criollas. Cuatro maíces híbridos (dos variedades del INIFAP, dos de una casa comercial) y uno de maíz cacahuazintle. El cuarto de cuitlacoche se vendía a 15 pesos. En la ciudad de Puebla el kilo se vendía a granel a 20 ó 25 pesos. No obstante, se presentaron problemas de acción colectiva que afectaron el desarrollo de las unidades empresariales. Uno de estos problemas, fue que se trataba de organizaciones basadas en capital social escaso y cerrado, y hasta enfrentado con la comunidad, pero que quería crecer a partir de competencias tecnológicas, como la construcción de invernaderos, para lo cual establecieron vínculos con instituciones de Ciencia y Tecnología, como el IPICYT, y con la Universidad

Autónoma de Tlaxcala. No obstante, ese capital social cerrado o “bonding”, como se le ha caracterizado, y que está basado en una organización jerárquica, provocó que se abonara la desconfianza (Meiners Mandujano y Torres-Salcido, 2013; Torres-Salcido *et al.*, 2015).

Meiners Mandujano y Torres-Salcido (2013) indican que “a pesar de los esfuerzos de las microempresas para el mejoramiento tecnológico, no desembocaron en innovaciones. El proceso incompleto de innovación estuvo íntimamente vinculado a las fallas institucionales. El PPPC tenía escasos recursos para apoyar la producción de alimentos, lo que le impidió impulsar resultados como el de las empresas mencionadas. Las instancias federales no han sido capaces de reconocer la importancia de apoyar los esfuerzos de estos pequeños empresarios agrícolas. Lo más notable es que los gobiernos municipales están muy lejos de participar activamente, de financiar o apoyar las propuestas y tecnologías que requieren implementar las empresas para concluir procesos de producción, transformación y consumo de los alimentos ligados a la cultura gastronómica nacional. Con las fallas en la acción colectiva y la falta de coordinación institucional se propician procesos de desanclaje de los alimentos que, bajo las demandas del consumo actual tienden entonces a producirse industrialmente, además provoca que se pierda la calidad y territorialidad de los alimentos” (Meiners Mandujano y Torres-Salcido, 2013; Torres-Salcido *et al.*, 2015).

Recientemente, en el año 2015 con el apoyo técnico de la fundación PRODUCE Puebla, y del CINVESTAV del Instituto Politécnico Nacional, *campus* Irapuato, se logró convencer a la gente de una comunidad para infestar más de 30 parcelas demostrativas de maíz con el hongo *U. maydis*, con una alta productividad, en los municipios de Huaquechula, Acatlán de Osorio, así como Atlixco, Puebla. En este estado la mayor parte del cuitlacoche que se comercializa proviene del Valle de Serdán y únicamente se puede encontrar en el mercado durante la época de lluvias. El delegado de la SAGARPA explicó que gracias a este proyecto los productores tendrán una opción económica en la comercialización de cuitlacoche. Para impulsarlo, se acordó desarrollar un Plan Regional de Fomento al cuitlacoche, en donde en conjunción con varias dependencias gubernamentales se podría ayudar a los productores a obtener infraestructura necesaria para lograr el despunte de la producción, industrialización y comercialización de este hongo comestible (El Universal, 2015).

Otro proyecto interesante, es el que llevan a cabo decenas de familias oaxaqueñas que desafiando las condiciones ambientales de la Mixteca Alta, donde han empleado técnicas de inoculación para cultivar cuitlacoche sobre pequeñas parcelas, que después les permitan tener una sustentabilidad alimentaria y económica. Las condiciones sociales y ambientales no han sido impedimento para que desde hace tres años, se utilicen tecnologías, que bajo la supervisión de los especialistas del INAH y del CINVESTAV, se han aplicado para producir agallas de cuitlacoche. Los investigadores del CINVESTAV, destacaron que si bien el cuitlacoche es considerado como una plaga porque afecta al maíz y en algunos países buscan erradicarlo, en México representa importantes ingresos económicos al venderse para la preparación de diversos platillos (Zócalo, 2015).

En entrevista, los especialistas que analizan las estrategias culturales, sociales y políticas de la Mixteca Alta para lograr una autonomía económica, señalaron que estas comunidades indígenas tienen un “enorme interés por la transferencia tecnológica y por promover un desarrollo autosustentable”, muestra de ello, estuvo reflejado en la primera producción de cuitlacoche, la cual fue exitosa en las parcelas experimentales destinadas para tales fines y en la cual al menos 20 familias fueron beneficiadas en 2011. Se destaca que los resultados motivaron a los demás campesinos a compartir el conocimiento tecnológico entre la población y a replicar la técnica de inoculación, que consiste en inyectar una suspensión del hongo sobre el maíz tierno, la cual utilizaron por lo menos en los dos años siguientes (Zócalo, 2015).

IV. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

El hongo parásito del maíz y además comestible *Ustilago maydis*, y el producto de su infección, las agallas de cuitlacoche, han sido recientemente incorporados en la cultura culinaria mexicana en la categoría de “alimento tradicional”, debido entre otras cosas a su exquisito sabor y peculiar consistencia. Su uso se ha extendido tan ampliamente que actualmente se puede consumir tanto en platillos tradicionales, como en la “nueva cocina mexicana”, y en recetas de la alta cocina internacional. El cuitlacoche ha alcanzado una alta demanda tanto en época de lluvias así como el resto del año, en mercados nacionales como internacionales. No obstante, la producción natural es insuficiente para satisfacer la demanda actual. En la época de mayor oferta de cuitlacoche (temporada de lluvias) se calcula que se comercializan *ca.* 600 toneladas de hongo, casi exclusivamente en la zona central de México. Esta cifra contrasta con la menor oferta que se presenta en el resto del año cuando se incrementan la demanda y los precios del cuitlacoche (Castañeda de León *et al.*, 2016).

Esta situación ha estimulado el interés de productores de maíz y centros de investigación, por realizar experimentos orientados a desarrollar técnicas biotecnológicas de producción de agallas de cuitlacoche. Desafortunadamente los procedimientos desarrollados hasta el momento en las diferentes etapas de producción (elaboración de inóculos, origen y tipo de cepas, variedades de maíz, métodos y eficacia de la inoculación, entre otros), no han tenido el éxito esperado y tampoco están estandarizados. Muchos de ellos se han implementado de forma empírica, sin un sustento experimental sólido, limitando su impacto para optimizar el proceso e implementar sistemas masivos, eficientes y continuos de producción controlada de cuitlacoche en México. Las investigaciones previamente discutidas evidencian, principalmente, la ausencia de trabajos encaminados a la selección de cepas altamente productivas y eficientes de *U. maydis* para la producción de agallas, asociado al escaso aprovechamiento de cepas nativas (silvestres). Así mismo, el poco estudio de variedades de maíz que generen cuitlacoche con características productivas y comerciales “adecuadas”.

Para lograr la producción controlada y constante de cuitlacoche de alta calidad se deben entender, enfrentar y resolver aspectos de diversa índole. Dentro de estos, se puede mencionar la naturaleza de la interacción parásito-hospedero y los factores que la influyen, de tipo agronómico, ecológico y biológico. La diferencia en la susceptibilidad del maíz al desarrollo de la infección, en términos de su genotipo y fenotipo; cuál es el efecto del uso de diversas cepas haploides compatibles del hongo, y como es que estas influyen en las características productivas, comerciales y sensoriales del producto final (las agallas de cuitlacoche).

Con base en lo anterior, la pregunta substancial del problema de investigación en el presente trabajo se centró en evaluar si existe interacción entre cepas de *U. maydis* y variedades de maíz, en términos del desarrollo de la infección (incidencia y severidad de la infección, peso de agallas), de calidad (tamaño de agallas y protección de las hojas), en los atributos sensoriales y su intensidad, de agallas cosechadas. Para ello se evaluaron las siguientes cepas de *U. maydis*:

- Esporidios compatibles silvestres producto de la meiosis de una sola teliospora (pares parentales)
- Cepa elaborada a partir de la germinación de varias teliosporas silvestres, multi-teliosporas (esporidios no clasificados sexualmente)
- Cepas “híbrido” diseñadas con cruza entre aislamientos haploides silvestres y sus compatibles de referencia
- Cepas de referencia (esporidios clasificados sexualmente e. g. *a1 b1* y *a2 b2*)

V. HIPÓTESIS

- Es posible obtener cepas haploides compatibles e infectivas de *Ustilago maydis*, a partir de teliosporas silvestres procedentes de los recursos genéticos de México.
- Existen diferencias de virulencia entre los aislamientos haploides compatibles silvestres, híbridos y de referencia de *Ustilago maydis*.
- Las características productivas y comerciales de las agallas cultivadas de cuitlacoche, serán determinadas esencialmente por el resultado en la interacción que se establece entre la cepa de *Ustilago maydis* y la variedad de maíz.

VI. OBJETIVOS

a. Objetivo general:

Determinar la interacción de distintas cepas de *Ustilago maydis* con diversas variedades de maíz y sus efectos sobre la cantidad, calidad, y atributos sensoriales de las agallas de cuitlacoche, y valorar el potencial de utilizar cepas nativas e híbridas de *U. maydis* para la producción de cuitlacoche.

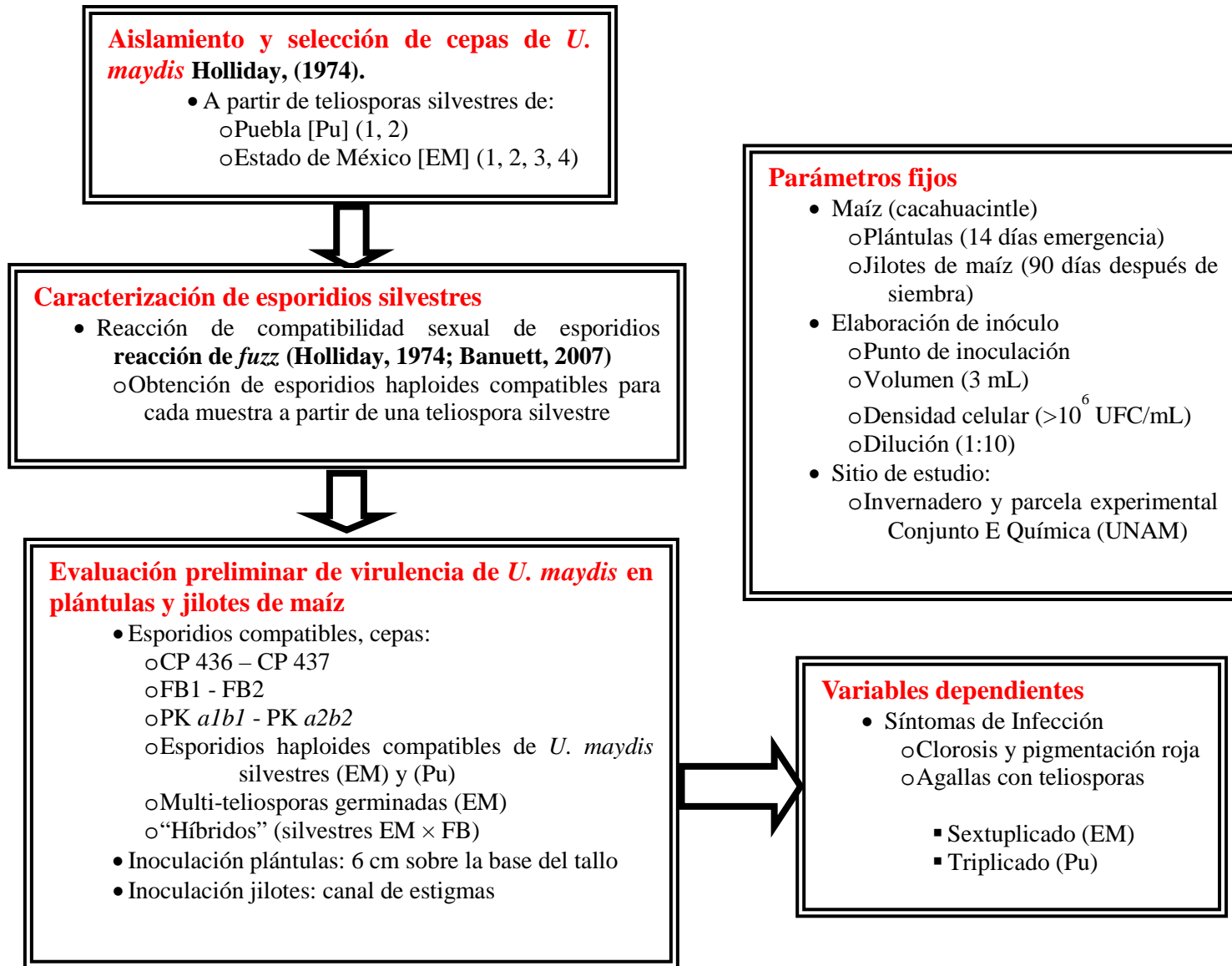
b. Objetivos particulares:

- i.* Aislar cepas haploides de *Ustilago maydis* a partir de teliosporas silvestres y establecer sus patrones de compatibilidad sexual.
- ii.* Seleccionar a partir de las diferencias en patogenicidad, cepas compatibles de *Ustilago maydis* que presenten alta virulencia y mayor productividad.
- iii.* Identificar variedades de maíz que desarrollen agallas de cuitlacoche con características productivas y comerciales adecuadas.
- iv.* Evaluar los atributos productivos, comerciales, y sensoriales de las agallas de cuitlacoche cultivadas, a partir del uso de diferentes cepas de *Ustilago maydis* y su interacción con variedades de maíz.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. PLANTEAMIENTO GLOBAL DE LA ESTRATEGIA DEL TRABAJO

Para lograr los objetivos diseñados en esta investigación, el proceso experimental se planteó en tres etapas, una fase de laboratorio y dos de campo. En la figura 9, se presenta un diagrama que ilustra las tres etapas experimentales para la producción de agallas de cuitlacoche.



...continuación de figura

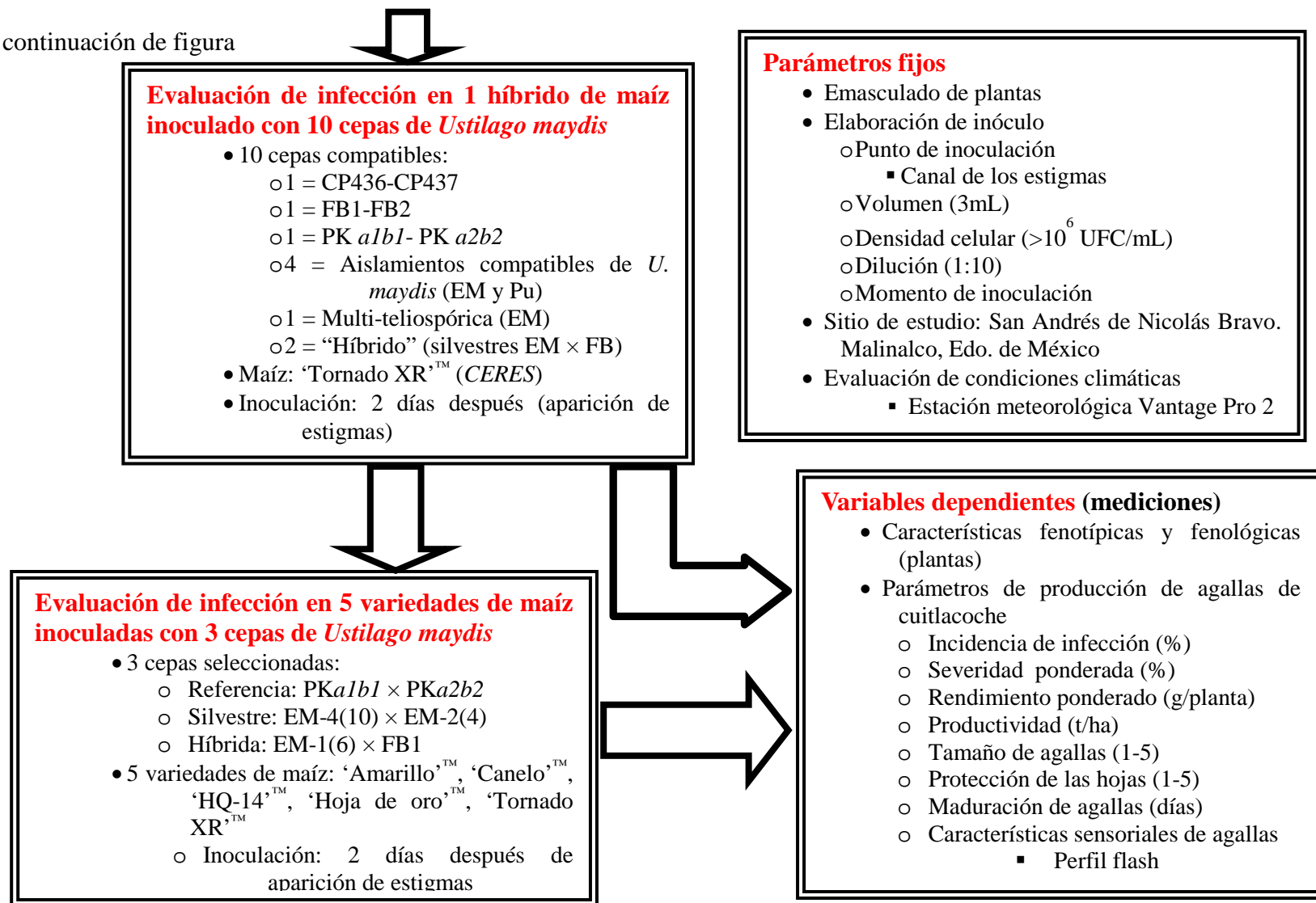


Figura 9. Principales etapas experimentales involucradas durante el desarrollo global del proyecto de investigación

7.2. AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE CEPAS SILVESTRES INFECTIVAS DE *USTILAGO MAYDIS*

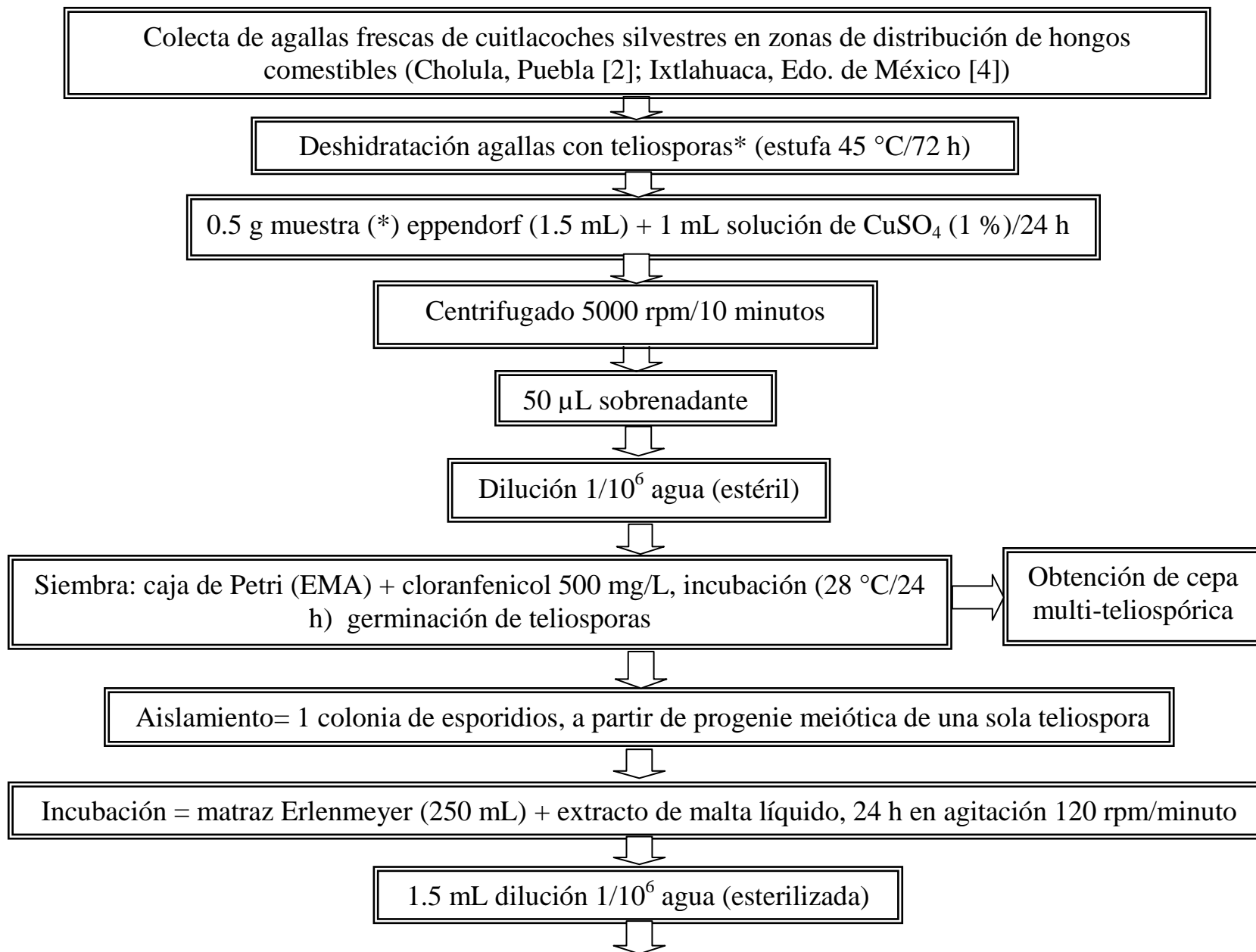
7.2.1. AISLAMIENTO DE ESPORIDIOS SILVESTRES DE *USTILAGO MAYDIS*

En mercados y tianguis de la región central de México se obtuvieron muestras de mazorcas invadidas completamente con agallas de cuitlacoche silvestre, cuatro del Estado de México ([EM] 1, 2, 3, 4), y dos del Estado de Puebla ([Pu] 1, 2). Utilizando la metodología descrita por Holliday (1974) de cada muestra de agallas silvestres de *U. maydis*, se aislaron 24 colonias de esporidios haploides a partir de los productos meióticos de una sola teliospora, y una cepa conformada por la germinación de varias teliosporas (multi-teliospórica) [Fig. 10]. Las muestras consistían esencialmente de teliosporas (que son diploides), posterior a la meiosis se recuperaron los productos meióticos, los esporidios. A partir de los esporidios (aislamientos haploides) se realizarán pruebas de compatibilidad genética (*fuzz*), para identificar los patrones de afinidad sexual que permitían el entrecruzamiento y formación de hifas infectivas dicariontes. Cada aislamiento haploide recuperado se mantuvo por separado, en caja de Petri con 9 mL de agar bacteriológico (18 g/L) más extracto de malta (15 g/L), a temperatura ambiente.

7.2.2. REACCIÓN DE FUZZ (HOLLIDAY, 1974), PARA IDENTIFICAR PATRONES DE COMPATIBILIDAD SEXUAL EN LABORATORIO

Para establecer los factores de compatibilidad sexual de los productos meióticos haploides (esporidios), se llevaron a cabo pruebas de reacción de fuzz en placas de agar con 6 mL de medio completo más carbón activado (Holliday, 1974; Banuett y Herskowitz, 1989) (Fig. 10). Las pruebas consistieron en realizar cruces entre los aislamientos haploides silvestres del EM, entre los aislamientos Pu, y de todos ellos contra la cepa de referencia FB, en todas las combinaciones posibles. Las pruebas de apareamiento se realizaron por triplicado, tomando una muestra de cada uno de los aislamientos silvestres y de referencia por separado, sembrando ambas cepas sobre el agar, con ayuda de asas bacteriológicas estériles. Las cepas de referencia FB1 y/o FB2 se sembraron con una pequeña línea horizontal, y los aislamientos silvestres se inocularon con otra pequeña línea vertical que se cruzaba y sobreponía con la primera (Holliday, 1974; Banuett, 1995; Banuett, 2007) (Fig. 11). Las lecturas de la reacción se realizaron a las 24 h, 48 h y 72 horas. Se estableció el patrón de la reacción mediante su fenotipo, con una evaluación a simple vista y microscópicamente con ayuda de un microscopio óptico ZeissTM (Alemania). Sí la reacción era positiva (Fuz+) se formaban pequeños filamentos miceliales dando un aspecto

“algodonoso”, pero si la reacción era negativa (Fuz-) los esporidios permanecían con un aspecto “cremoso” levaduriforme (Banuett, 1992; 2007) (**Fig. 12**). Las cepas de *U. maydis* de referencia FB1 y FB2 fueron proporcionadas por la Dra. Flora Banuett (Universidad de California, E.U.A.). Las cepas PK-*a1 b1* y PK-*a2 b2* por él Dr. Jerald Pataky (Universidad de Illinois, E.U.A.) y las cepas CP-436 y CP-437 por él Dr. Daniel Martínez-Carrera (Colegio de Posgraduados, Puebla México). Todas las cepas están depositadas en el Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales (CREGEN-HCFM) Colegio de Postgraduados (CP), Campus Puebla.



...continuación de figura

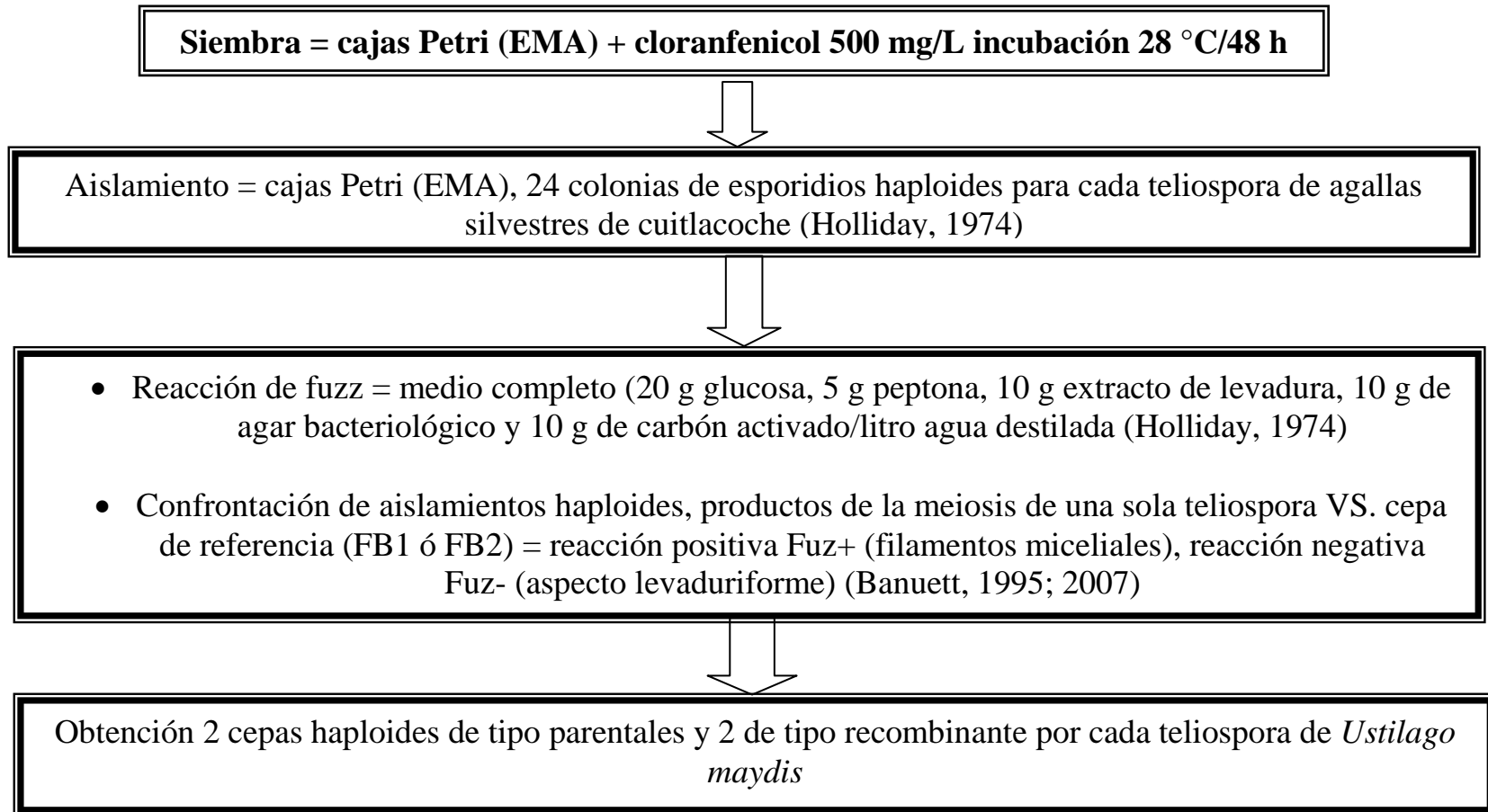


Figura 10. Aislamiento y obtención de cepas haploides a partir de agallas con teliosporas de *U. maydis* silvestres de acuerdo a Holliday (1974).

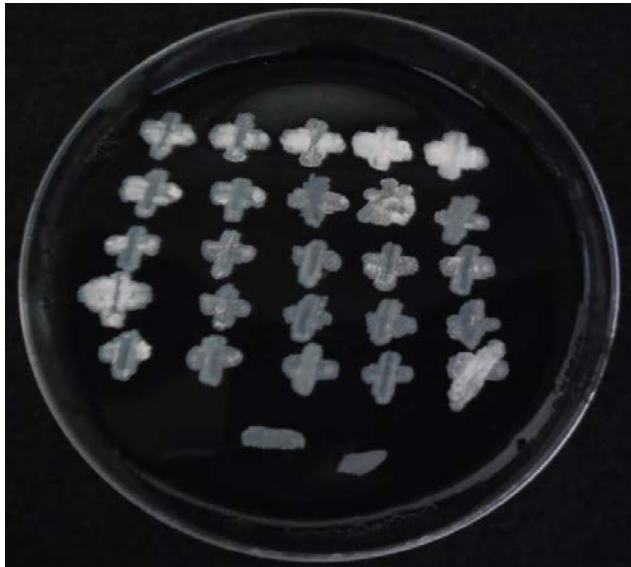


Figura 11. Entrecruzamientos de cepas haploides silvestres (líneas verticales) × cepa de referencia FB1 (líneas horizontales) de *Ustilago maydis*.

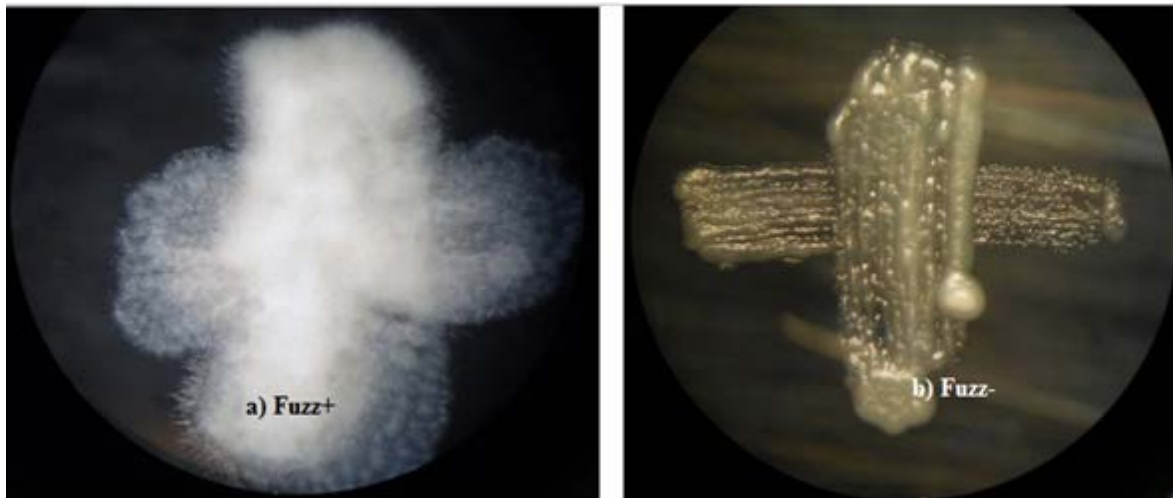


Figura 12. Reacciones de fuzz en medio completo con carbón activado: a) Reacción de Fuz+, b) Reacción de Fuz-.

7.2.3. EVALUACIÓN PRELIMINAR DE COMPATIBILIDAD SEXUAL (VIRULENCIA) DE *USTILAGO MAYDIS* EN PLÁNTULAS DE MAÍZ BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO

Para confirmar la capacidad infectiva de los aislamientos haploides silvestres, se realizó un experimento de inoculación en plántulas de maíz criollo tipo cacahuacintle, desarrolladas bajo condiciones de invernadero, ubicado en el conjunto E de la Facultad de Química (UNAM). Para ello, los inóculos se prepararon de acuerdo a lo descrito por Snetselaar y Mims (1993); Pataky y Chandler (2003). Se prepararon matraces Erlenmeyer de 1 L, se agregaron 500 mL de agua destilada + extracto de malta (15 g/L), esta mezcla fue esterilizada (1.05 kg/cm², 45 minutos). Cada aislamiento haploide de *U. maydis* se incubó en agitación 120 rpm/36 horas a temperatura ambiente. Para inocular las plántulas se mezclaron a iguales volúmenes los medios de cultivo de las dos cepas haploides compatibles, el inóculo resultante se diluyó con agua destilada 1/10 antes de usarse. En cada plántula se inyectaron 3 mL de inóculo (>10⁶ UFC/mL) con una jeringa hipodérmica (10 mL), a 6 cm sobre la base del tallo. Se utilizaron plántulas de maíz tipo cacahuacintle con 14 días de emergencia.

Las cepas del Estado de México (EM), se evaluaron primero mediante cruzas entre las líneas parentales, así como entre recombinantes. Posteriormente, se realizaron cruzas entre aislamientos parentales contra la cepa de referencia FB de *U. maydis*. El desarrollo de síntomas de infección y la posterior producción de agallas a partir de inóculos elaborados con cruzas (EM × FB), dio elementos experimentales sólidos para continuar con este tipo de pruebas en plántulas, y así confirmar la identidad de compatibilidad sexual del resto de los aislamientos silvestres de *U. maydis*. Para las cepas de Puebla sólo se probaron los aislamientos parentales debido a la dificultad para obtener resultados consistentes con los aislamientos recombinantes. Los aislamientos parentales de Puebla también se cruzaron contra la cepa de referencia FB. Las inoculaciones con cepas de Estado de México se realizaron por sextuplicado y las cepas de Puebla por triplicado; ello debido a la disponibilidad de plántulas. La virulencia de las cepas se evaluó mediante la incidencia de la infección (plántulas infectadas/plántulas inoculadas). La infección en plántulas se determinó mediante un examen visual periódico del desarrollo de los síntomas (clorosis y/o pigmentación roja) y por la formación de agallas con teliosporas. Se incluyeron controles positivos (plántulas inoculadas con cepa de referencia) y negativos (plántulas sin inocular).

7.2.4. CONFIRMACIÓN DE COMPATIBILIDAD SEXUAL Y SELECCIÓN DE AISLAMIENTOS HAPLOIDES SILVESTRES DE *USTILAGO MAYDIS* EN “JILOTES” DE MAÍZ EN PARCELA EXPERIMENTAL (UNAM)

Se tomaron como referencia los resultados de la evaluación en cajas de Petri (reacción de fuzz), así como los de inoculación de plántulas en invernadero, para seleccionar los aislamientos haploides compatibles silvestres que presentaron mayor “consistencia” en dichos resultados. Los aislamientos seleccionados incluyeron tanto a las cepas silvestres de EM, como a cuatro cepas “híbrido” (cada una generada a partir de cruces entre una cepa haploide silvestre EM y su compatible haploide de referencia FB), también se incluyó a todas las cepas de referencia [FB1-FB2, CP-436-CP-437, y PK-*alb1*-PK-*a2b2*]. Con estas se realizó otra serie de inoculaciones en jilotes de maíz criollo tipo cacahuacintle en una parcela experimental localizada junto al estacionamiento del conjunto E de la Facultad de Química (UNAM). Es importante aclarar que al momento que surgió la oportunidad de realizar las pruebas en jilotes, no se pudieron incluir las cepas de Puebla, debido a que apenas había iniciado la etapa de inoculación en plántulas en invernadero con estas cepas. Para la elaboración de inóculos se siguió la metodología empleada en el experimento anterior en plántulas (Snetselaar y Mims, 1993; Pataky y Chandler, 2003), una vez elaborados y diluidos para su inoculación, se inyectaron 3 mL de inóculo con una jeringa hipodérmica (10 mL) a través del canal de los estigmas, 2 días después de su aparición. Se inocularon un mínimo de diez jilotes para cada par de cepas compatibles probadas, se evaluó y confirmó el desarrollo de la infección en plantas maduras con una evaluación visual de los síntomas de la infección y la formación de agallas de cuitlacoche. Se estimó la infectividad de las cepas, midiendo la incidencia de infección (plantas infectadas/plantas inoculadas) y la severidad de la infección (5%, 25%, 50%, 75% y 100%, de cubrimiento de la mazorca por agallas).

7.3. EVALUACIÓN EN CAMPO DE LA INFECCIÓN DE *USTILAGO MAYDIS* EN VARIEDADES DE MAÍZ

Se realizaron dos experimentos, en el primero se probaron diez cepas de *U. maydis* seleccionadas, sobre una variedad de maíz. En el segundo, se probaron tres cepas haploides compatibles de *U. maydis* seleccionadas del primer experimento, sobre cinco variedades de maíz. Cabe mencionar, que ambos experimentos se llevaron a cabo en la misma localidad, en la misma parcela, con el mismo diseño experimental, cuidando de realizar cada experimento bajo condiciones similares de siembra y cuidados agronómicos. Sí bien, cada experimento se realizó

en diferente época del año, no obstante, se evaluaron las mismas variables en ambos experimentos.

7.3.1. SITIO DE ESTUDIO (SAN ANDRÉS DE NICOLÁS BRAVO)

Ambos experimentos se llevaron a cabo en la comunidad de San Andrés de Nicolás Bravo, Municipio de Malinalco, Estado de México (18°46'12'' N, 99°27'20'' O; 1,200 msnm). En esta comunidad se presenta un clima cálido, del subtipo subhúmedo con lluvias en verano e invierno A(W), con temperaturas máximas de 34 °C, media de 24 °C y mínimas de 14 °C, la precipitación promedio es de 1,000 mm anuales.

7.3.2. MANEJO E INOCULACIÓN DE MAÍZ

La siembra de las variedades de maíz se realizó en un mismo terreno con el sistema de cero labranza y riego rodado, que se aplicó cada semana durante el desarrollo de las plantas y durante todo el ciclo de producción de cuitlacoche. Se utilizó la fórmula general de fertilización 200-120-60, aplicando la mitad del nitrógeno, todo el fosforo y potasio en la siembra, el resto del nitrógeno se administró 21 días después, con aplicación de insecticidas y herbicidas mínimos para mantener la sanidad de la parcela y la inocuidad de las agallas de cuitlacoche (**Fig. 13**). Todas las plantas se desespigaron previo a la inoculación en todos los tratamientos, tan pronto aparecían las espigas. Se inocularon los jilotes primarios con 3 mL de inóculo (previamente se describió elaboración, secc. 7.2.3) a través del canal de los estigmas, dos días después de la aparición de los mismos, se utilizó una jeringa automática [modelo *HSW Eco-Matic*[™] (5 mL)] (Henke-Sass Wolf, Tuttlingen, Alemania) unida una manguera a un bidón mochila de plástico (2.5 L).

Actividades	Insumos	Semana #														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Siembra	15000 semillas/ha Aplicación de nutrientes Urea 100 DAP 120 KCL 60 Kg/ha															
Riego	Agua	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Fertilización	Fertilizante Aplicado en cogollo y follaje	Agrofos 12-60-00 1 Kg/ha	Energrow Aufer 2 L/ha	Urea 100 kg/ha	Agrofos 12-60-00 1 kg/ha	Energrow Aufer 2 L/ha	Agrofos 12-60-00 1 kg/ha	Energrow Aufer 2 L/ha		Agrofos 12-60-00 1 kg/ha		Energrow Aufer 2 L/ha	Agrofos 12-60-00 1 kg/ha			
Aplicación de insecticidas	Insecticida Aplicado en follaje	Dimetoato 1 L/ha + Lorsban 0.5 L/ha	Furadan 7.5 kg/ha + Lorsban 0.5L/ha Gallina ciega/Trip/ Cogollero		Monocotrofos 1 L/ha + Lorbasan 0.5 L/ha Chicharita		Dimetoato 1 L/ha + Lorsban 0.5 L/ha		Dimetoato 1 L/ha + Lorsban 0.5 L/ha		Monocotrofos 1 L/ha + Lorsban 0.5 L/ha					
Escarda						•										
Aplicación de herbicida	Herbicida	Glifosfato 0.5 L/ha					Laudis 75mL + Atracina 0.250 kg + 2-4 D/ha									
Actividades durante el cultivo de cuitlacoche	Desespigado													•	•	•
	Inoculación													•	•	•
	Fumigación												Cipermetrina 250 mL/ha+ Extracto de ajo 2 L/ha	Extracto de ajo 2 L/ha	Extracto de ajo 2 L/ha	
	Cosecha															•

Figura 13. Aplicaciones de insumos agrícolas para la producción de maíz y cultivo de cuitlacoche.

7.3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones para cada uno de los experimentos (**Cuadro 6**). Cada parcela experimental consistió de 2 surcos contiguos de 5 m de largo y 0.50 m de ancho; cada surco tuvo 18 matas (dos plantas por mata), espaciadas 30 cm entre sí. Una vez que las plantas presentaron espigas se emascularon. Cada parcela de 72 plantas, 12 matas (24 jilotes) centrales representaron el surco útil, por lo que sólo éstas fueron evaluadas individualmente.

Cuadro 6. Tratamientos, fechas de siembra y variedades de maíz utilizados en el primero y segundo experimentos de campo.

1^{er} Experimento de campo	2^o Experimento de campo
10 cepas de <i>U. maydis</i> 1 variedad de maíz	3 cepas de <i>U. maydis</i> 5 variedades de maíz
Fechas de siembra	
30 de enero 2015	13 de junio 2015
Variedades de maíz	
‘Tornado XR’ TM	‘Amarillo’ TM , ‘Canelo’ TM , ‘Hoja de oro’ TM , ‘HQ-14’ TM , TornadoXR’ TM
Cepas de <i>U. maydis</i>	
CP-436 × CP-437, FB1 × FB2, PK- <i>a1 b1</i> × PK- <i>a2 b2</i> , EM1-6 × EM1-10, EM2-4 × EM4-10, EM2 (multi- teliospórica), Pu1-6 × Pu1-16, Pu2-17 × Pu2-23, EM1-6 × FB1, EM3-6 × FB2	PK- <i>a1 b1</i> × PK- <i>a2 b2</i> , EM4-10 × EM2-4, EM1-6 × FB1
En ambos experimentos se incluyeron controles positivos y negativos.	

7.3.4. INFECCIÓN EN HÍBRIDO DE MAÍZ ‘TORNADO XR’™ INOCULADO CON 10 CEPAS DE *USTILAGO MAYDIS* (1^{ER} EXPERIMENTO DE CAMPO)

Se seleccionaron 10 cepas en este experimento: dos aislamientos haploides compatibles de Estado de México (EM), dos de Puebla (Pu) y dos cepas “híbrido” (EM × FB). Adicionalmente, y debido a que en otros trabajos se han utilizado cepas producto de la germinación de varias teliosporas, se planteó la importancia de evaluar en este experimento una cepa multi-teliospórica (EM2) (esporidios no clasificados genéticamente que se obtuvieron a partir de la germinación de varias teliosporas silvestres), para compararla con las cepas haploides compatibles seleccionadas de *U. maydis*. En esta etapa de campo también se evaluaron y compararon las tres cepas de referencia (CP, PK, FB) [Cuadro 6].

7.3.5. INFECCIÓN EN 5 HÍBRIDOS DE MAÍZ INOCULADOS CON 3 CEPAS SELECCIONADAS DE *USTILAGO MAYDIS* (2° EXPERIMENTO DE CAMPO)

Se seleccionó la mejor cepa de *Ustilago maydis* de cada uno de los tres grupos: de referencia (PK-*a1b1* × PK-*a2b2*), silvestre (EM4-10 × EM2-4), e híbrido EM1-6 × FB1). Estas se emplearon para inocular cinco variedades de maíz, en la segunda etapa de experimentos de campo (Cuadro 6).

7.4. VARIABLES EVALUADAS

7.4.1. MEDICIÓN DE FACTORES AMBIENTALES

Durante el desarrollo de ambos experimentos en campo (mayo, y agosto-septiembre, 2015); se utilizó una estación meteorológica Vantage Pro2™ (modelo 6152) (Davis Instruments, E.U.A.) para medir las condiciones climáticas prevalecientes. Se registró la temperatura (°C), humedad relativa (%), evapotranspiración (%) y precipitación pluvial (mm). El registro de los datos se realizó cada 30 minutos, los resultados se presentan como los promedios de todas las lecturas por día.

7.4.2. EVALUACIÓN AGRONÓMICA DEL MAÍZ

Las variables evaluadas en los experimentos 1 y 2 de campo incluyeron los tiempos de inicio y término de la floración masculina y femenina (tomando como referencia, el día de siembra, y hasta el inicio de la floración), la duración de los períodos de desespigue e inoculación, la maduración de agallas (cosecha), registrando el día de inicio y término en cada etapa. La altura de las plantas e inserción del jilote, y tamaño de las mazorcas infectadas, se midieron con un flexómetro (Stanley™ E.U.A.), partiendo de la base del tallo de la planta hasta la altura máxima de las espigas o bien donde se insertaba el jilote, según correspondía. Las mazorcas se midieron partiendo de la base hasta la punta de las mismas.

7.4.3. EVALUACIÓN PRODUCTIVA DE *USTILAGO MAYDIS*

En cada parcela experimental se cuantificó la incidencia (plantas infectadas/plantas inoculadas), en las mazorcas infectadas se midió la severidad (5%, 25%, 50%, 75% y 100%, de cubrimiento de la mazorca por las agallas), y el rendimiento promedio (g de agallas/mazorca cosechada). La severidad ponderada se calculó de acuerdo a la siguiente formula:

Severidad ponderada =

$$\frac{(N^{\circ} \text{ mazorcas}^{100\%}) \times 100 + (N^{\circ} \text{ mazorcas}^{75\%}) \times 75 + (N^{\circ} \text{ mazorcas}^{50\%}) \times 50 + (N^{\circ} \text{ mazorcas}^{25\%}) \times 25 + (N^{\circ} \text{ mazorcas}^{5\%}) \times 5}{\text{Número total de mazorcas inoculadas}}$$

El rendimiento ponderado por planta inoculada, se calculó a partir del rendimiento promedio por planta cosechada, considerando que la producción de agallas (g/planta) se reducía a partir de plantas con 50%, 25% y 5% de severidad. Para la productividad (t/ha), se consideraron 60,000 plantas/ha.

Las características de calidad medidas fueron:

1. Tiempo de maduración de agallas (días)
2. Protección de las hojas (1-5), donde 1= mazorcas sin hojas de protección; 2= 50 % de agallas cubiertas por las hojas; 3= 70 % de agallas cubiertas; 4= 90 % de agallas cubiertas; y 5= 100 % la totalidad de agallas cubiertas por hojas.

3. Tamaño de agallas (1-5), 1= < 1.5 cm de diámetro, inapropiado para su comercialización; 2= ca. 2.5 cm de diámetro, agallas ligeramente más grandes que los granos de maíz, 3= ca. 3.5 cm de diámetro, agallas de tamaño medio; 4= ca. 4.5 cm de diámetro, una mezcla de agallas medianas y grandes; y 5= > 6 cm de diámetro, predominantemente agallas grandes, las más apropiadas para la comercialización (Castañeda de León *et al.*, 2016).

7.4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO (SAS)

Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza simple y pruebas de rango múltiple de Tukey ($p < 0.01$) con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System, 2007).

7.4.5. EVALUACIÓN SENSORIAL (PERFIL FLASH) DE AGALLAS DE CUITLACOCHÉ

Con las agallas de cuitlacoche se realizó un análisis sensorial de perfil flash (Dairou y Sieffermann, 2002; Carmona, 2013). La evaluación se realizó en el laboratorio de Evaluación Sensorial de la Facultad de Química (UNAM) con un grupo de 10 jueces seleccionados. Para la evaluación se utilizó una escala no estructurada de 10 cm (Ayala, 2016). Primero cada juez generó su propia lista de términos para describir sus atributos sensoriales. Posteriormente, cada juez tuvo la oportunidad de intercambiar términos de su lista por otros generados por el resto de jueces, así hasta obtener mediante consenso, una lista final de descriptores, con la que se realizó la cuantificación de los atributos (**Cuadro 7**).

Las muestras evaluadas, fueron agallas producidas por cada una de las diez cepas seleccionadas de *U. maydis*, en una variedad de maíz, y las agallas de tres cepas seleccionadas inoculadas en cuatro variedades de maíz (no se incluyeron las de la variedad HQ-14 por su bajo rendimiento). Las mazorcas se cosecharon en promedio a los 20 días después de la inoculación, se recibieron el mismo día en fresco y en mazorca completa, se desgranaron manualmente seleccionando únicamente las agallas completas, las cuales se colocaron en recipientes etiquetados con los datos de la muestra, número de cepa, variedad de maíz y fecha de recepción. Las agallas se desinfectaron en una solución de 1 L agua + 8 gotas de MicrodynTM durante 15 minutos, se drenaron y enjuagaron con agua limpia. Posteriormente, se colocaron en una sartaneta eléctrica marca Black&DeckerTM (E.U.A.) y se cocinaron a la parrilla a 215 °C por 10 minutos con

movimiento constante para mejor cocción. Se sirvieron seis agallas por muestra a cada juez para la evaluación sensorial en platos con códigos aleatorios de tres dígitos. Después de cada evaluación, el panelista recibió agua simple y galletas neutras. Los resultados del perfil flash generaron atributos de apariencia, de olor, de textura en boca, de textura en mano, y de sabor (**Cuadro 7**). Todos los resultados se analizaron mediante un Análisis Generalizado Procrusteno (AGP) [Gower, 1975].

Cuadro 7. Descriptores generados por los jueces para evaluar las agallas de cuitlacoche.

Apariencia	Olor	Textura en mano	Textura en boca	Sabor
Brilloso	Aceitoso	Blando	Arenoso	Ácido
Color base	Nota amarga	Fracturable	Crujiente	Amargo
Color superior	Notas verdes	Húmedo	Dureza	Astringente
	Tierra mojada	Liso	Fibroso	Dulce
			Jugoso	Maíz
				Tierra
				Umami

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE CEPAS SILVESTRES INFECTIVAS DE *USTILAGO MAYDIS*

8.1.1. AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE ESPORIDIOS SILVESTRES DE *USTILAGO MAYDIS*

Mediante la reacción de fuzz en medio completo con carbón activado se buscó obtener una clasificación preliminar de los patrones de compatibilidad sexual. Con los aislamientos haploides del Estado de México (EM) apareados entre sí mismos, en todas las combinaciones posibles. Sin embargo, con los resultados obtenidos no se logró establecer un patrón claro de entrecruzamiento. Posteriormente, al cruzar los aislamientos haploides del Estado de México (EM) y de Puebla (Pu) contra cepas de referencia FB, se logró identificar los patrones de compatibilidad sexual para cada una de las colonias aisladas a partir de una sola teliospora (**Cuadros 8-13**). En el cuadro 14, se indica el número de colonias obtenidas para los aislamientos haploides correspondientes a cada uno de los cuatro tipos de compatibilidad sexual. Para los aislamientos del EM: 1, 2, 3, y 4 se recuperaron 24, 23, 24 y 18 colonias de clones, y para los aislamientos de Pu: 1 y 2, se recuperaron 17 y 21 clones, respectivamente. Al realizar las pruebas de χ^2 en las progenies recuperadas de las diferentes muestras silvestres, se encontró una recuperación normal (proporción 1:1:1:1) de esporidios con un $\alpha = 0.01$.

8.1.2. REACCIÓN DE FUZZ (HOLLIDAY, 1974) PARA IDENTIFICAR PATRONES DE COMPATIBILIDAD SEXUAL EN LABORATORIO

Los fenotipos para cada una de las reacciones: Fuz+ (con micelio) y Fuz- (sin micelio), no resultaron fáciles de interpretar en cada cruce. Para tener un seguimiento y evaluación más precisa, se llevaron a cabo observaciones en microscopio a las 24 h, 48 h y 72 horas; fue a partir de 24 horas que se observó el desarrollo de micelio escaso que crecía a lo largo de la línea vertical.

Cuadro 8. Apareamientos y caracterización de compatibilidad genética (reacción de fuzz) entre esporidios silvestres de Estado de México (EM1) contra cepa de referencia (FB).

No. de aislamiento haploide	Especificidad en el tipo de apareamiento				
		FBa1	FBa2	a1by	a2bx
3	a1bx	-	+	-	-
10		-	+	-	-
18		-	+	-	-
6	a2by	+	-	-	-
9		+	-	-	-
11		+	-	-	-
19		+	-	-	-
20		+	-	-	-
23		+	-	-	-
7	a1by	-	-	-	+
12		-	-	-	+
13		-	-	-	+
14		-	-	-	+
15		-	-	-	+
16		-	-	-	+
17		-	-	-	+
2	a2bx	-	-	+	-
21		-	-	+	-
22		-	-	+	-
24		-	-	+	-

+ Apareamiento positivo = formación de fenotipo Fuz⁺
 - Apareamiento negativo = fenotipo levaduriforme Fuz⁻
 Resultados por triplicado

Cuadro 9. Apareamientos y caracterización de compatibilidad genética (reacción de fuzz) entre esporidios silvestres de Estado de México (EM2) contra cepa de referencia (FB).

No. de aislamiento haploide	Especificidad en el tipo de apareamiento				
		FBA1	FBA2	a1by	a2bx
1	a1bx	-	+	-	-
6		-	+	-	-
7		-	+	-	-
17		-	+	-	-
18		-	+	-	-
21		-	+	-	-
22		-	+	-	-
4	a2by	+	-	-	-
19		+	-	-	-
10	a1by	-	-	-	+
11		-	-	-	+
12		-	-	-	+
13		-	-	-	+
16		-	-	-	+
14	a2bx	-	-	+	-
15		-	-	+	-
23		-	-	+	-

+ Apareamiento positivo = formación de fenotipo Fuz⁺

- Apareamiento negativo = fenotipo levaduriforme Fuz⁻

Resultados por triplicado

Cuadro 10. Apareamientos y caracterización de compatibilidad genética (reacción de fuzz) entre esporidios silvestres de Estado de México (EM3) contra cepa de referencia (FB).

No. de aislamiento haploide	Especificidad en el tipo de apareamiento				
		FBa1	FBa2	a1by	a2bx
1	a1bx	-	+	-	-
2		-	+	-	-
4		-	+	-	-
5		-	+	-	-
6		-	+	-	-
9		-	+	-	-
10		-	+	-	-
11		-	+	-	-
18		-	+	-	-
19		-	+	-	-
20		-	+	-	-
14	a2by	+	-	-	-
13	a1by	-	-	-	+
15		-	-	-	+
21		-	-	-	+
22		-	-	-	+
24		-	-	-	+
3	a2bx	-	-	+	-
21		-	-	+	-
23		-	-	+	-

+ Apareamiento positivo = formación de fenotipo Fuz⁺
 - Apareamiento negativo = fenotipo levaduriforme Fuz⁻
 Resultados por triplicado

Cuadro 11. Apareamientos y caracterización de compatibilidad genética (reacción de fuzz) entre esporidios silvestres de Estado de México (EM4) contra cepa de referencia (FB).

No. de aislamiento haploide	Especificidad en el tipo de apareamiento				
		FBa1	FBa2	a1by	a2bx
10	a1bx	-	+	-	-
11		-	+	-	-
21		-	+	-	-
6	a2by	+	-	-	-
19		+	-	-	-
3	a1by	-	-	-	+
13		-	-	-	+
15		-	-	-	+
22		-	-	-	+
23		-	-	-	+
24		-	-	-	+
2	a2bx	-	-	+	-
4		-	-	+	-

+ Apareamiento positivo = formación de fenotipo Fuz⁺
 - Apareamiento negativo = fenotipo levaduriforme Fuz⁻
 Resultados por triplicado

Cuadro 12. Apareamientos y caracterización de compatibilidad genética (reacción de fuzz) entre esporidios silvestres de Puebla (Pu1) contra cepa de referencia (FB).

No. de aislamiento haploide	Especificidad en el tipo de apareamiento				
		FBa1	FBa2	a1by	a2bx
1	a1bx	-	+	-	-
6		-	+	-	-
13	a2by	+	-	-	-
16		+	-	-	-
20		+	-	-	-
2	a1by	-	-	-	+
11		-	-	-	+
23		-	-	-	+
7	a2bx	-	-	+	-
10		-	-	+	-
15		-	-	+	-
18		-	-	+	-
21		-	-	+	-
24		-	-	+	-

+ Apareamiento positivo = formación de fenotipo Fuz⁺

- Apareamiento negativo = fenotipo levaduriforme Fuz⁻

Resultados por triplicado

Cuadro 13. Apareamientos y caracterización de compatibilidad genética (reacción de fuzz) entre esporidios silvestres de Puebla (Pu2) contra cepa de referencia (FB).

No. de aislamiento haploide	Especificidad en el tipo de apareamiento				
		FBa1	FBa2	a1by	a2bx
4	a1bx	-	+	-	-
5		-	+	-	-
17		-	+	-	-
19		-	+	-	-
3	a2by	+	-	-	-
22		+	-	-	-
23		+	-	-	-
6	a1by	-	-	-	+
7		-	-	-	+
9		-	-	-	+
13		-	-	-	+
15		-	-	-	+
18		-	-	-	+
20		-	-	-	+
2	a2bx	-	-	+	-
8		-	-	+	-
12		-	-	+	-
14		-	-	+	-
16		-	-	+	-

+ Apareamiento positivo = formación de fenotipo Fuz⁺

- Apareamiento negativo = fenotipo levaduriforme Fuz⁻

Resultados por triplicado

Cuadro 14. Aislamientos haploides recuperados a partir de una sola teliospora de agallas silvestres de *Ustilago maydis* del EM (Estado de México) y Pu (Puebla).

Aislamientos (cepas)	Aislamientos haploides				Valores de χ^2 para distribución 1:1:1:1	
	Total	Clasificación preliminar por tipo de compatibilidad				
		P1 (<i>a1 bx</i>)	P2 (<i>a2 by</i>)	R1 (<i>a1 by</i>)		R2 (<i>a2 bx</i>)
EM1	20	3	6	7	4	2.3
EM2	17	7	2	5	3	4.7
EM3	20	11	1	5	3	10.0
EM4	13	3	2	6	2	3.8
Pu1	14	2	3	3	6	2.7
Pu2	19	4	3	7	5	1.7

χ^2 Tablas = 11.34 ($\alpha = 0.01$)

*Valores mayores a χ^2 de tablas, no presentan una distribución 1:1:1:1



Figura 14. Entrecruzamiento entre cepa de referencia FB1 (línea vertical) contra aislamiento silvestre EM (línea horizontal), en reacción de fuzz.

Con 48 horas, se observó crecimiento micelial en los aislamientos, llenando casi completamente ambas líneas de confrontación; a las 72 horas, el desarrollo de micelio algodonoso era evidente y se podía observar tanto microscópicamente como a simple vista (**Fig. 14**).

En los aislamientos de los productos meióticos de 6 muestras de agallas silvestres del altiplano central mexicano, 4 del Estado de México y 2 del Estado de Puebla, se obtuvo, para cada una de las teliosporas, una progenie meiótica con una distribución 1:1:1:1 ($\alpha = 0.01$) igual a la que resulta de cepas heterotáticas con dos loci de segregación independiente (Holliday, 1974; Banuett, 2007). No obstante, fue complicado corroborar su identidad alélica y capacidad de entrecruzamiento. En este sentido, Sleumer (1932) reportó tres tipos de reacciones en pruebas en

cajas de Petri con cruces entre esporidios; (i) formación de micelio aéreo, (ii) una reacción débil, (iii) sin ninguna reacción. La inoculación en plantas con cada una de las cepas que producían dichas reacciones mostró que sólo las cepas que formaban un micelio aéreo eran capaces de producir infección.

Se ha reportado en la bibliografía, que al confrontar dos aislamientos haploides con diferentes alelos en *a* y *b* en placas de agar con carbón activado, se obtiene un dicarion filamentoso Fuz+, esta prueba mide la capacidad para formar filamentos y requiere de la fusión celular y desarrollo del dicarion como filamento. Se ha propuesto que los aislamientos diploides homócigos en *a* y heterócigos en *b* también forman colonias miceliales, pero otros estudios indican lo contrario (Puhalla, 1968; Banuett y Herskowitz, 1989; Bölker *et al.*, 1992; Spellig *et al.*, 1994; Banuett, 2007). A pesar de las dificultades para establecer los patrones de compatibilidad sexual en este trabajo, se seleccionaron las cepas con esporidios silvestres que al cruzarse eran más consistentes en los resultados. Rowell (1955), observó la formación de diferentes tipos de micelio en un medio de agar elaborado con coleóptilos de maíz. Al probar la infectividad de los aislamientos observó que aquellos que al combinarse presentaban micelios con crecimiento “rápido y lineal” resultaban patógenos, y que los micelios con un crecimiento “lento y torcido” no lo eran. Estas líneas no patógenas exhibían en su fase haploide un fenotipo micelial, se menciona que algunos de estos aislamientos eran subcultivos con más de 10 años. Un fenómeno similar se observó en esta investigación en algunos aislamientos haploides de referencia (FB1 y PK-*a2 b2*), los cuales al sembrarse individualmente en cajas de agar con carbón activado y después de 48 horas, exhibían un aspecto algodonoso (Fuz+), este fenómeno de formación de micelio en líneas haploides o “envejecimiento” podría explicar en cierta forma los resultados contrastantes observados en las lecturas en cajas de Petri de las reacciones de fuzz.

8.1.3. EVALUACIÓN PRELIMINAR DE COMPATIBILIDAD SEXUAL (VIRULENCIA) EN PLÁNTULAS DE MAÍZ (INVERNADERO)

Aún y cuando aparentemente se había logrado una pre-clasificación de los componentes alélicos para cada progenie meiótica, tanto parentales como recombinantes, los resultados obtenidos al inocular plántulas con cruza entre aislamientos haploides silvestres EM no fueron los esperados. No se presentaron síntomas de infección, tampoco desarrollo de agallas de cuitlacoche (**Cuadro 15**). Las plántulas inoculadas con cepas de referencia FB y CP (controles positivos) mostraron síntomas de infección (clorosis y pigmentación roja) entre los 6-8 días post-inoculación y desarrollo de agallas con teliosporas 14-16 días después de la inoculación (**Cuadro 15**).

Con base en lo anterior, se realizó una nueva serie de experimentos en plántulas de maíz. Estas involucraron inoculaciones con cruza entre aislamientos haploides EM contra la cepa de referencia FB. En estos experimentos sólo se probaron las líneas parentales del EM, debido a la dificultad para obtener consistencia en los resultados con los aislamientos recombinantes. Se logró la infección, con síntomas de la enfermedad y desarrollo de agallas de cuitlacoche, tanto en las plántulas inoculadas con cruza entre cepas haploides silvestres de EM y sus correspondientes aislamientos compatibles de referencia FB, como con las cepas de referencia (FB, controles) [Fig. 15] (**Cuadro 15**).

Cuadro 15. Infección* en plántulas de maíz cacahuacintle inoculadas con cruza entre aislamientos haploides silvestres EM y cepas de referencia FB y CP de *Ustilago maydis*.

Cepas	Tipos de entrecruzamiento			
	Parentales	Infección*	Recombinantes	Infección *
EM1	EM1-6 × EM1-3	0/6	EM1-12 × EM1-21	0/6
EM2	EM2-4 × EM2-6	0/6	EM2-12 × EM2-15	0/6
EM3	EM3-6 × EM3-14	0/6	EM3-13 × EM3-23	0/6
EM4	EM4-10 × EM4-19	0/6	EM4-13 × EM4-4	0/6
<i>Cepas de referencia</i>		<i>Parental × FB</i>		
FB	FB1 × FB2	6/6	EM1-6 × FB1	3/6
	FB1	0/6	EM2-4 × FB1	6/6
	FB2	0/6	EM3-6 × FB2	3/6
CP	CP-436 × CP-437	6/6	EM4-10 × FB2	6/6
	CP-436	0/6		
	CP-437	0/6		
Plantas sin inocular		0/6		

*Plantas infectadas/plantas inoculadas (inoculando plántulas con 14 días de emergencia, por sextuplicado)

Posteriormente siguiendo la metodología empleada en el experimento anterior, se llevó a cabo una nueva serie de pruebas preliminares, donde se evaluó la infección en plántulas con inóculos producidos a partir de mezclas entre esporidios parentales de Puebla 1 y 2 confrontados con sus correspondientes cepas compatibles de referencia (FB). Esta serie de experimentos involucró la evaluación en plántulas de maíz, utilizando inóculos elaborados únicamente con combinaciones entre cepas parentales de Puebla. En ambas pruebas se obtuvieron resultados positivos, ya que fue posible observar el desarrollo de síntomas de la enfermedad y agallas de cuítlacoche en casi todas las plántulas inoculadas, tanto con las cepas de referencia, como con las cruza entre aislamientos de esporidios silvestres de Puebla 1 y 2, y cepas de referencia (FB); excepto con la cruce Pu2-5 × FB2 (**Cuadro 16**). Al realizar la inoculación en plántulas de maíz con cruza entre aislamientos parentales haploides de Puebla 1 y 2, se observó el desarrollo de agallas de cuítlacoche en todas las plántulas inoculadas, con diferencias en el porcentaje de incidencia para las combinaciones probadas (**Cuadro 16**). Estos resultados aportaron elementos que permitirían realizar una selección de cepas para ser utilizadas en la siguiente etapa de investigación en campo.



Figura 15. Infección en plántulas de maíz, inoculadas con cepas haploides silvestres EM × cepa de referencia (FB) de *Ustilago maydis*, con 5 días (a), 12 días (b) y 16 días (c) post-inoculación.

La prueba de reacción de fuzz, es un método aparentemente fácil de implementar e interpretar, que permite realizar una clasificación preliminar en cajas de Petri, para la selección de aislamientos haploides sexualmente compatibles. Sin embargo, no es concluyente en la identificación de cepas compatibles, debido a la inconsistencia en los resultados que se obtienen de una cruce a otra, a la subjetividad en la interpretación del fenotipo fuzz, y a que esta prueba no aporta elementos contundentes sobre la virulencia de las cepas, sólo sobre la capacidad de

formar filamentos que además tampoco es determinante de que sean infectivos. Por otra parte, las infecciones en plántulas de maíz complementaron y ratificaron los resultados obtenidos con la reacción de fuzz. La inoculación en plántulas de maíz es un método ampliamente probado, efectivo y rápido, para comprobar la capacidad infectiva de los aislamientos haploides compatibles de *U. maydis* (Banuett y Herskowitz, 1989; Thakur *et al.*, 1989; Banuett, 2007). De acuerdo con los resultados de esta investigación, es de suma importancia corroborar la capacidad infectiva de los aislamientos haploides obtenidos a partir de la reacción de fuzz, con inoculaciones en plántulas de maíz, para de esta manera comprobar la estabilidad de la virulencia y fisiología del parasitismo, logrando así una mayor seguridad de éxito en la búsqueda y generación de cepas haploides compatibles infectivas de *U. maydis*.

Cuadro 16. Infección* en plántulas de maíz cacahuacintle inoculadas con cruza entre aislamientos haploides silvestres Pu (1, 2) y cepas de referencia FB de *Ustilago maydis*.

Cepas	Tipos de entrecruzamiento			
	Parentales X FB	Infección *	Parentales	Infección *
Pu1	Pu1-1 × FB2	3/3	Pu1-1 × Pu1-16	1/3
	Pu1-6 × FB2	3/3	Pu1-6 × Pu1-16**	3/3
	Pu1-13 × FB1	1/3	Pu1-1 × Pu1-20	2/3
	Pu1-16 × FB1	3/3	Pu1-6 × Pu1-20	1/3
	Pu1-20 × FB1	2/3		
Pu2	Pu2-4 × FB2	3/3	Pu2-4 × Pu2-3	2/3
	Pu2-5 × FB2	0/3	Pu2-17 × Pu2-3	2/3
	Pu2-17 × FB2	2/3	Pu2-19 × Pu2-3	1/3
	Pu2-19 × FB2	3/3	Pu2-4 × Pu2-22	2/3
			Pu2-17 × Pu2-22	2/3
	Pu2-3 × FB1	3/3	Pu2-19 × Pu2-22	1/3
	Pu2-22 × FB1	3/3	Pu2-4 × Pu2-23	3/3
	Pu2-23 × FB1	2/3	Pu2-17 × Pu2-23**	3/3
		Pu2-19 × Pu2-23	1/3	
<i>Cepas de</i>				
FB	FB1 × FB2	3/3		
	FB1	0/3		
	FB2	0/3		
Plantas sin inoculación		0/3		

*Plantas infectadas/plantas inoculadas (inoculando plántulas con 14 días de emergencia, por triplicado)

** Apareamientos seleccionados para la inoculación en plantas de maíz en experimentos de campo

8.1.4. CONFIRMACIÓN DE COMPATIBILIDAD SEXUAL DE AISLAMIENTOS HAPLOIDES SILVESTRES DE *USTILAGO MAYDIS* EN JILOTES DE MAÍZ, EN PARCELA EXPERIMENTAL (UNAM)

Con la inoculación en jilotes de maíz (**Fig. 16**), se logró tener mayor certeza y elementos experimentales contundentes sobre la capacidad infectiva de las distintas cepas haploides compatibles seleccionadas, de referencia (PK, FB y CP), silvestres del Estado de México (EM) e híbridos (EM × FB), debido a que se logró el desarrollo de los síntomas de la infección, y la generación de agallas de cuitlacoche en las plantas probadas, de esta manera se consiguió cuantificar en cierta medida algunas características productivas de importancia (incidencia y severidad) (**Fig. 17**) [**Cuadro 17**]. Así fue como se consiguió realizar una selección de cepas con probada capacidad infectiva que serían utilizadas en las siguientes etapas experimentales de campo. En esta serie de pruebas en jilotes, sólo el inóculo producido a partir de la cruce entre las cepas haploides silvestres EM 3-6 × EM 1-6, no mostró síntomas de infección en plantas (**Cuadro 17**).



Figura 16. Parcela de maíz criollo (cacahuacintle), con jilotes inoculados con cepas silvestres de EM, cepas híbrido y de referencia de *Ustilago maydis*.



Figura 17. Desarrollo de infección (agallas de cuitlacoche) en mazorcas de maíz inoculadas con aislamientos haploides silvestres EM y cepas de referencia de *Ustilago maydis*.

Cuadro 17. Cuantificación de infección en jilotes, inoculados con apareamientos entre cepas haploides silvestres de EM, de estas contra cepas de referencia (FB), y con cepas de referencia: CP, PK y FB de *Ustilago maydis*.











Apareamientos con:	Incidencia (%)	Severidad (%)	Tamaño de agallas (1-5)*
	Plantas infectadas/Plantas inoculadas X (100)	Cubrimiento de la mazorca por agallas	
Esporidios de referencia			
PK-a1b1 × PK-a2b2 **	33 ± 1	25 ± 42	2 ± 0
FB1 × FB2**	33 ± 1	21 ± 40	2 ± 1
CP-436 × CP-437**	50 ± 1	50 ± 55	2 ± 1
Esporidios silvestres (EM)			
EM1-6 × EM1-10**	50 ± 1	13 ± 14	2 ± 1
EM2-4 × EM2-7	17 ± 0	17 ± 41	1 ± 0
EM3-6 × EM1-6	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
EM4-10 × EM2-4**	50 ± 1	38 ± 49	1 ± 1
Esporidios híbridos			
EM1-6 × FB1**	33 ± 1	21 ± 40	2 ± 1
EM2-4 × FB1	33 ± 1	21 ± 40	1 ± 0
EM3-6 × FB2**	67 ± 1	67 ± 52	2 ± 0
EM4-10 × FB2	50 ± 1	50 ± 55	2 ± 1
Controles			
EM1-6	0 ± 0	0 ± 0	
EM2-4	0 ± 0	0 ± 0	
EM3-6	0 ± 0	0 ± 0	
EM4-10	0 ± 0	0 ± 0	
PK-a1b1	0 ± 0	0 ± 0	
PK-a2b2	0 ± 0	0 ± 0	

*Tamaño de agallas: 1 ca. <1.5 cm, 2 ca. 2.5 cm, 3 ca. 3.5, 4 ca. 4.5 cm, 5 ca. >6 cm,

** Apareamientos seleccionados para la inoculación en plantas de maíz en experimentos de campo

Con base en los resultados obtenidos a partir de la inoculación en plántulas y jilotes de maíz, se realizó una selección de nueve cepas compatibles y una multi-teliospórica que serían utilizadas en campo (**Cuadro 18**). Las claves (color en AGP) con sus respectivas descripciones se muestran en el cuadro 18, y se mantienen en el resto de los resultados para un mejor entendimiento en la sección del análisis sensorial.

Cuadro 18. Cepas seleccionadas para la infección de jilotes de maíz en 1^{er} experimento de campo.

Cepa (No)	Color en AGP	Entrecruzamiento	Genotipo	Origen	Procedencia
1		CP-436 × CP-437	P1 (<i>a1 bx</i>) × P2 (<i>a2 by</i>)	Referencia	Colegio de Posgraduados
2		FB1 × FB2	<i>a1 b1</i> × <i>a2 b2</i>		Universidad de California
3		PK- <i>a1b1</i> × PK- <i>a2b2</i>	<i>a1 b1</i> × <i>a2 b2</i>		Universidad de Illinois
4		EM1-6 × EM1-10	P1 (<i>a1 bx</i>) × P2 (<i>a2 by</i>)	EM (Silvestre)	Estado de México (mercado municipal) Ixtlahuaca
5		EM4-10 × EM2-4	P1 (<i>a1 bx</i>) × P2 (<i>a2 by</i>)		
6		EM2 multi-teliospórica	<i>a1 bn</i> × <i>a2 bn</i>		
7		Pu1-6 × Pu1-16	P1 (<i>a1 bx</i>) × P2 (<i>a2 by</i>)	Pu (Silvestre)	Cholula Puebla (Tianguis)
8		Pu2-17 × Pu2-23	P1 (<i>a1 bx</i>) × P2 (<i>a2 by</i>)		
9		EM1-6 × FB1	P2 (<i>a2 by</i>) × <i>a1 b1</i>	Híbridos (Silvestre × Referencia)	Laboratorio
10		EM3-6 × FB2	P1 (<i>a1 bx</i>) × <i>a2 b2</i>		

8.2. EVALUACIÓN DE INFECCIÓN EN HÍBRIDO DE MAÍZ ‘TORNADO XR’TM INOCULADO CON 10 CEPAS DE *USTILAGO MAYDIS* (1^{ER} EXPERIMENTO DE CAMPO)

8.2.1. CONDICIONES CLIMÁTICAS (1^{ER} EXPERIMENTO)

Las condiciones climáticas prevalecientes durante el primer experimento fueron las siguientes: durante la inoculación (días 1-14), se presentaron temperaturas mínima y máxima de 20 °C - 35 °C en promedio, estas fueron ligeramente mayores comparadas con las de la cosecha, cuando se presentaron temperaturas mínimas y máximas promedio de 18 °C - 32 °C, respectivamente. La precipitación pluvial en este primer experimento fue ínfima, presentándose un valor máximo de 1

mm al día 16, el resto de periodos incluyendo la incubación y cosecha se mantuvo sin precipitación (**Fig. 18**). Pese a este fenómeno, la humedad relativa fue de 26% - 80% mínima y máxima, respectivamente, durante la inoculación. En el período de cosecha (días 15 - 31), la humedad se incrementó a 43% - 95% valores mínimos y máximos, respectivamente, estos porcentajes fueron mayores a los que se registraron durante el período de inoculación (mayo 2015). La evapotranspiración se mantuvo con valores promedio de alrededor de 15 mm, durante los periodos de incubación y cosecha, sin cambios importantes y con un valor casi constante hasta el final de la cosecha (**Fig. 19**).

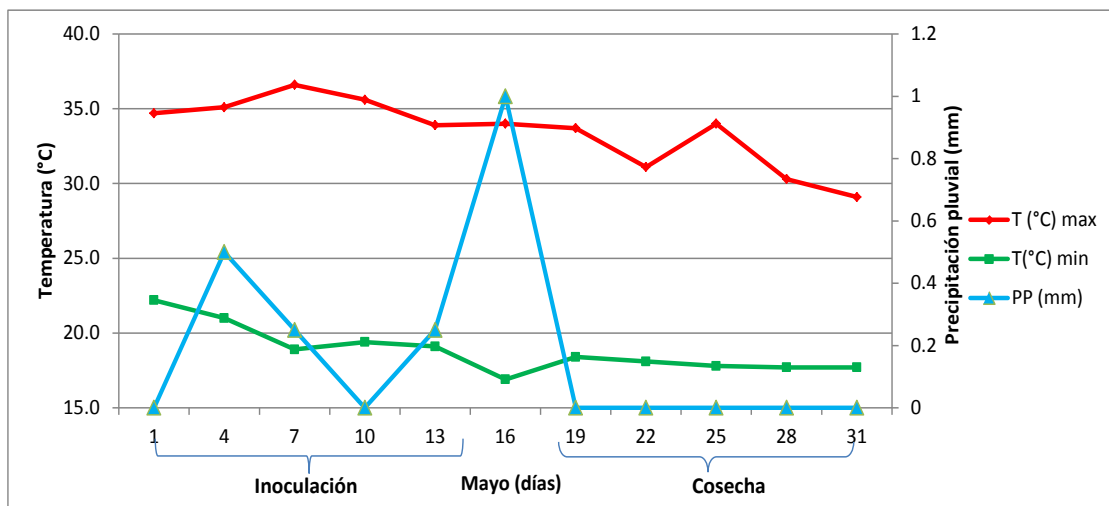


Figura 18. Temperaturas y precipitación pluvial promedio durante la producción de agallas de cuitlacoche (mayo).

Se ha reportado que alta humedad relativa (>70%) y temperaturas de moderadas a altas (18 °C- 35 °C), son condiciones propicias para el desarrollo del patosistema y producción controlada de agallas de cuitlacoche (Castañeda de León *et al.*, 2016). Por consecuencia las condiciones ambientales que se presentaron durante esta etapa del experimento fueron apropiadas para que las cepas de *U. maydis* expresaran su potencial de infección y desarrollo. Con base en los resultados se concluye que la localidad donde se realizó este trabajo (San Andrés de Nicolás Bravo, Estado de México) presentó condiciones climáticas favorables para el cultivo de cuitlacoche.

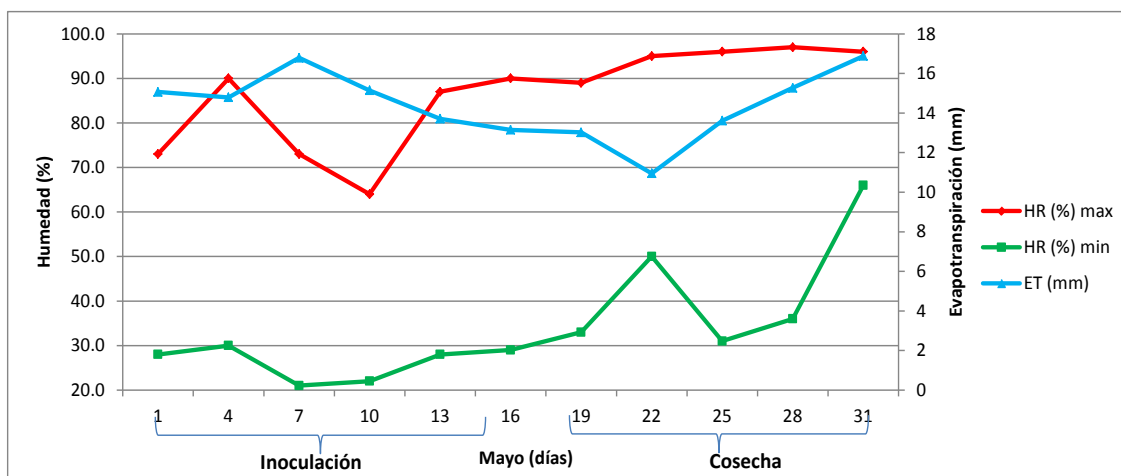


Figura 19. Humedad relativa y evapotranspiración durante la producción de agallas de cuitlacoche (mayo).

8.2.2. CARACTERÍSTICAS FENOLÓGICAS Y FENOTÍPICAS DEL MAÍZ

El análisis estadístico de las características fenológicas y fenotípicas del híbrido de maíz ‘Tornado XR’TM, indicó que no existieron diferencias significativas ($P < 0.01$) en las variables analizadas durante el ciclo de producción. La aparición de espigas y estigmas se presentó entre los 85-104 días, y entre 90-104 días, respectivamente, después de la siembra. La maduración de agallas se presentó entre los 18 y 23 días, con un promedio de 20 días post-inoculación. La altura de la planta e inserción del jilote para la variedad ‘Tornado XR’TM, fueron de 1.98 cm y 0.96 cm, respectivamente (**Cuadro 19**), tamaño de planta e inserción del jilote aceptables para realizar adecuadamente las labores de producción (desespigue, inoculación y cosecha) de cuitlacoche.

Cuadro 19. Características fenológicas y fenotípicas del híbrido de maíz ‘Tornado XR’™, inoculado con 10 cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

Evento fenológico	Días después de plantación	
	Inicio	Final
Aparición de espigas y desespigado	85 ± 0.1	104 ± 0.2
Aparición de estigmas y tiempo de inoculación	90 ± 0.1	104 ± 0.2
Cosecha	107 ± 0.2	122 ± 0.1
	Días después de inoculación	
Tiempo de maduración de agallas	20 ± 0.4	
Características fenotípicas (cm)		
Tamaño de planta	198 ± 31.4	
Inserción del jilote	96 ± 9.1	
Tamaño de mazorca infectada	24 ± 1.3	

8.2.3. PRODUCCIÓN DE AGALLAS (1^{ER} EXPERIMENTO)

En relación con la producción de agallas, se obtuvieron diferencias significativas ($P < 0.01$) entre cepas de *U. maydis* utilizadas para evaluar las diferentes variables. Se encontró una correlación altamente significativa entre incidencia y severidad ponderada ($r=0.904$ $P < 0.0001$) y entre severidad ponderada y rendimiento ponderado ($r=0.956$ $P < 0.0001$) para todas las cepas estudiadas. Las tres cepas de referencia PK, FB y CP, presentaron los mayores valores de incidencia, los cuales tuvieron un promedio de 97 %, 93 % y 91 %, respectivamente. En ellas se registró en promedio un 36 % más incidencia que en los aislamientos silvestres, y 10 % más que en los híbridos (**Cuadro 20**). El promedio de severidad ponderada con las cepas de referencia fue de 82 % (PK), 84 % (FB) y 82 % (CP), los cuales fueron en promedio 51 % y 35 % mayores que aquellos correspondientes a las cepas silvestres e híbridos, respectivamente (**Cuadro 20**). Los rendimientos ponderados de las cepas de referencia fueron de 187 g/planta (PK), 191 g/planta (FB) y 233 g/planta (CP), valores muy superiores al promedio de las cepas silvestres (45

g/planta) e híbridos (77 g/planta). La productividad de las cepas de referencia superó en 9.5 t/ha a la de las cepas silvestres, y por 7.6 t/ha (promedio) a los híbridos (**Cuadro 20**). Del grupo de cepas híbrido y silvestres, los mejores resultados en las variables de producción se obtuvieron con la cepa híbrido EM1-6 × FB1 (incidencia 83 %, severidad ponderada 52 %, rendimiento ponderado 93 g/planta, productividad 5.6 t/ha) y silvestre EM4-10 × EM2-4 (incidencia 68 %, severidad ponderada 44 %, rendimiento ponderado 80 g/planta, productividad 4.8 t/ha) [**Cuadro 20**].

La cepa multi-teliospórica (EM2), no mostró ventajas en las variables de producción con respecto al resto de cepas, por el contrario su productividad fue una de las más bajas comparada con la del resto de aislamientos: incidencia 56.7 %, severidad ponderada 32.5 %, rendimiento ponderado 36.2 g/planta, y productividad 2.2 t/ha. La cepa silvestre 4 (EM1-6 × EM1-10) presentó los resultados más bajos en las diferentes variables, posicionándose como la menos apta y productiva de todas las cepas evaluadas; incidencia 49.2 %, severidad ponderada 21.8 %, rendimiento ponderado 18.1 g/planta, y productividad 1.1 t/ha (**Cuadro 20**).

Los resultados obtenidos en las variables de calidad como protección de las hojas (promedio 3.8) y tamaño de agallas (promedio 2.5), para la mayoría de las cepas no presentaron diferencias estadísticas significativas (**Cuadro 20**). La protección de las hojas se correlacionó positivamente con el tamaño de las agallas ($r=0.4283$ $P < 0.0001$), pero negativamente con el peso de las agallas ($r=-0.4645$ $P < 0.0001$). Sin embargo, la cepa silvestre Pu2-17 × Pu2-23 presentó características de calidad sobresalientes, tales como la mayor protección de las hojas (4.3) y mejor tamaño de agalla (3.7) (**Cuadros 20 y 21**).

Cuadro 20. Producción de agallas en un híbrido comercial de maíz ‘Tornado XR’TM, inoculado con apareamientos entre aislamientos silvestres y cepas de referencia de *Ustilago maydis*.

Cepas	Entrecruzamientos	Incidencia (%)	Severidad Ponderada (%)	Peso (g)		Rendimiento Ponderado	Productividad	Protección de hojas (1-5)	Tamaño de agalla (1-5)
		Plantas infectadas/Plantas inoculadas × (100)	Medida ponderada de grados de severidad en plantas infectadas	Mazorca completa	Agallas	g de agallas/planta inoculada	Ton de agallas / Ha (@60,000 Plantas)		
Entre cepas de referencia									
1	CP-436 × CP-437	91.4 ± 3.3 ^{ab}	81.6 ± 0.2 ^a	514.8 ± 85.2 ^a	280.6 ± 57.9 ^a	233.3 ± 48.3 ^a	14.0 ± 2.9 ^a	3.8 ± 0.2 ^{ab}	2.7 ± 0.4 ^{bc}
2	FB1 × FB2	92.6 ± 6.4 ^{ab}	83.9 ± 5.9 ^a	437.3 ± 18.1 ^{ab}	224.7 ± 24.0 ^{ab}	191.5 ± 31.8 ^a	11.5 ± 1.9 ^a	3.3 ± 0.2 ^b	2.3 ± 0.1 ^{bc}
3	PK- <i>a1b1</i> × PK- <i>a2b2</i>	96.7 ± 5.8 ^a	81.9 ± 3.9 ^a	456.7 ± 10.4 ^a	226.7 ± 9.7 ^{ab}	186.7 ± 10.6 ^a	11.2 ± 0.6 ^a	3.6 ± 0.1 ^{ab}	2.0 ± 0.2 ^{bc}
Entre esporidios silvestres									
4	EM1-6 × EM1-10	49.2 ± 5.4 ^d	21.8 ± 3.0 ^d	239.5 ± 39.4 ^d	72.0 ± 31.1 ^e	18.1 ± 9.8 ^c	1.1 ± 0.6 ^c	4.2 ± 0.4 ^a	2.1 ± 0.4 ^{bc}
5	EM2-4 × EM4-10	68.2 ± 4.6 ^c	44.0 ± 1.3 ^{bc}	347.4 ± 31.7 ^c	180.7 ± 17.9 ^{bc}	80.0 ± 5.9 ^b	4.8 ± 0.3 ^b	3.8 ± 0.4 ^{ab}	2.2 ± 0.3 ^{bc}
6	EM-2 multi-telioesporica	56.7 ± 2.9 ^{cd}	32.5 ± 6.5 ^{cd}	293.4 ± 33.4 ^{cd}	106.2 ± 9.4 ^{de}	36.2 ± 10.4 ^{bc}	2.2 ± 0.6 ^{bc}	3.7 ± 0.2 ^{ab}	2.2 ± 0.4 ^{bc}
7	P1-6 × P1-16	53.3 ± 2.9 ^d	28.8 ± 1.3 ^d	338.1 ± 24.5 ^c	175.4 ± 37.2 ^{bc}	52.6 ± 11.0 ^{bc}	3.2 ± 0.6 ^{bc}	3.6 ± 0.2 ^{ab}	2.1 ± 0.2 ^{bc}
8	P2-17 × P2-23	61.4 ± 3.1 ^{cd}	26.3 ± 3.5 ^d	304.5 ± 24.2 ^{cd}	143.6 ± 9.1 ^{cd}	40.1 ± 4.0 ^{bc}	2.4 ± 0.3 ^{bc}	4.3 ± 0.1 ^a	3.7 ± 0.4 ^a
Entre esporidios silvestres × esporidios de referencia									
9	EM1-6 × FB1	82.6 ± 7.5 ^b	51.8 ± 6.5 ^b	359.4 ± 17.5 ^{bc}	176.7 ± 11.8 ^{bc}	93.3 ± 18.8 ^b	5.6 ± 1.1 ^b	4.1 ± 0.2 ^{ab}	2.9 ± 0.3 ^{ab}
10	EM3-6 × FB2	86.2 ± 0.4 ^{ab}	43.1 ± 2.1 ^{bc}	333.7 ± 22.2 ^c	160.3 ± 20.0 ^{bcd}	60.4 ± 7.2 ^{bc}	3.6 ± 0.4 ^{bc}	3.7 ± 0.5 ^{ab}	2.7 ± 0.2 ^{bc}

^{abcd} Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre los valores de una columna

Las cepas de referencia, silvestres e híbridas de *U. maydis* presentaron diferencias significativas en relación con su grado de virulencia: con las primeras se obtuvieron los mejores resultados de producción. Si bien varios autores (Christensen y Stakman, 1926; Stakman y Christensen, 1927; Griffiths, 1928; Christensen, 1963; Thakur *et al.*, 1989) habían propuesto la posibilidad de diferencias en la virulencia entre aislamientos de *U. maydis*, Pope y McCarter (1992a) fueron los primeros en generar evidencias experimentales al respecto. Estos autores utilizaron 15 cepas de *U. maydis*, encontrando con 9 de ellas incidencias y severidades por arriba del 90%. Posteriormente, du Toit y Pataky (1999a) utilizaron la cepa 521 × 518, obteniendo incidencias máximas de 100%. En el 2003, Pataky y Chandler con la misma cepa, lograron incidencias y severidades >90%. Los resultados antes mencionados coinciden con los obtenidos en la presente investigación con las cepas de referencia, las cuales mostraron un alto grado de incidencia >90%, severidad >80% y productividad >12 t/ha. Estas cepas de referencia podrían ser utilizadas para la producción controlada de cuitlacoche en la región central de México.

Cuadro 21. Cepas de *Ustilago maydis* con los mayores y menores valores de protección de las hojas y calidad de agallas, inoculadas en jilotes de maíz ‘Tornado XR’TM.

Entrecruzamientos	Protección de las hojas (1-5)	Calidad de las agallas (1-5)
<i>Cepas más apropiadas</i>		
P2-17 × P2-23	4.3 ± 0.1 ^a	3.7 ± 0.4 ^a
EM1-6 × EM1-10	4.2 ± 0.4 ^a	2.1 ± 0.4 ^{bc}
EM1-6 × FB1	4.1 ± 0.2 ^{ab}	2.9 ± 0.3 ^{ab}
<i>Cepas menos apropiadas</i>		
FB1 × FB2	3.3 ± 0.2 ^b	2.3 ± 0.1 ^{bc}
PKa1b1 × PKa2b2	3.6 ± 0.1 ^{ab}	2.0 ± 0.2 ^{bc}

^{abc} Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores de una columna

En experimentos donde se han probado diferentes aislamientos haploides compatibles, evaluando variables como densidad de plantas e inóculo, periodos de fecundación, etapas de desarrollo del maíz y métodos de inoculación (du Toit y Pataky, 1999 a-b; Ruiz, 1999; Ulloa, 2002; Garibaldi,

2003), se han reportado resultados de producción menores a los obtenidos con las cepas de referencia e híbridas de esta investigación. Cota Navarro (2004) probó 8 cepas con 16 aislamientos haploides compatibles y dos cepas solopatógenicas del norte de México, estas fueron inoculadas en el maíz híbrido '7573'TM, logrando la mayor incidencia de 56% con la cepa A₄ × A₁₀, severidad máxima de 70%, y una productividad de 2 t/ha. Estos resultados son parecidos a los obtenidos con los aislamientos de los Estados de México (EM) y Puebla (Pu), que tuvieron un promedio de incidencia de 58% y productividad de 2.7 t/ha. Estas cepas silvestres pueden ser clasificadas como medianamente productivas y podrían ser utilizadas para la producción de cuitlacoche, ya que mostraron aceptables características comerciales y sensoriales. El amplio rango de variación en la infectividad y producción de agallas, observados con diversos aislamientos haploides que se han probado en trabajos anteriores, puede tener diferentes explicaciones, como la susceptibilidad y/o resistencia de las variedades de maíz, el tipo y densidad de inóculo, los métodos y efectividad de la inoculación, el índice de polinización, entre otras. Con base en los resultados obtenidos en esta investigación, se propone que uno de los principales factores involucrados en la patogenicidad del hongo y producción de agallas de cuitlacoche, es el grado de virulencia de las cepas de *Ustilago maydis*, lo que demuestra la importancia de probar y seleccionar cepas con aislamientos haploides compatibles altamente infectivos y productivos.

Dentro del grupo de cepas silvestres evaluadas, se probó el grado de virulencia de una cepa multi-teliospórica. Este tipo de cepas han sido utilizadas en trabajos para evaluar la reacción de la infección en variedades de maíz, desarrollo del patosistema y la producción de agallas, entre otros. Los resultados en esta investigación mostraron que el uso de inóculo elaborado con la cepa multi-teliospórica (EM2), no resultó eficaz y tampoco es recomendable. En las variables de producción como incidencia (57%), rendimiento ponderado (36 g/planta) y productividad (2 t/ha), los valores fueron considerablemente menores en comparación con los obtenidos con las cepas de referencia e híbridas, inclusive comparando con algunos de los aislamientos silvestres. Estos resultados, son similares a los reportados en trabajos donde se han utilizado inóculos elaborados con este tipo de cepas multi-teliospóricas, confirmando así los bajos valores de incidencia, severidad y productividad (Martínez-Martínez *et al.*, 2000; Madrigal-Rodríguez *et al.*, 2010; Zamani *et al.*, 2011; Carrillo Díaz *et al.*, 2011; Hassan *et al.*, 2013). Christensen

(1963) refiere que no existen evidencias sólidas de que la infección con cepas de *U. maydis* se incrementa por la aplicación de inóculos conformados por varios biotipos, inclusive se menciona que puede causar un decremento en la severidad. Este planteamiento coincide con lo observado en este trabajo. Las teliosporas son diploides y cuando ocurre la meiosis durante la germinación, se generan nuevos recombinantes, lo que resulta en un cambio en la población de genotipos para cada nueva generación. La inoculación con cepas multi-teliospóricas da como resultado dicariontes con una constitución genética diversa. Cuando se germinan teliosporas de una o varias agallas, se obtiene un vasto grupo de aislamientos haploides y los diploides que se forman difieren enormemente en su virulencia (Christensen, 1963).

Otro grupo de cepas evaluadas fueron aquellas que involucraron la creación de cepas híbrido, combinaciones entre aislamientos haploides silvestres EM y la cepa de referencia FB (EM1-6 × FB1, EM3-6 × FB2). Thakur *et al.* (1989) probaron la infección en mazorcas con aislamientos de diferentes localidades de E.U.A., reportando buenos resultados al combinar el aislamiento 2 de Raleigh (CN), contra dos aislamientos; el aislamiento 11 de Newfield (NY); y el 36 de Madison (W). Los resultados de producción obtenidos con las cepas híbrido en este trabajo demostraron que el grado de virulencia se incrementó considerablemente en comparación con los aislamientos haploides silvestres con los cuales fueron creadas, en un 27% de incidencia, 17% de severidad ponderada, casi el doble en rendimiento ponderado (77 g/planta) y productividad (4.6 t/ha). Estos resultados proporcionan elementos experimentales para continuar en la búsqueda de aislamientos haploides silvestres, para la generación de cepas híbrido de *U. maydis* mejoradas, que optimicen no sólo los rendimientos, sino que también presenten características de calidad específicas, como protección de las hojas y tamaño de agallas (cepa 8, Pu2-17 × Pu2-23) y otras de importancia comercial como el sabor (mayor dulzor y menor amargor) (cepas silvestres); todas apropiadas para satisfacer un mercado en particular. En este sentido, existen reportes exitosos del desarrollo de cepas híbrido mejoradas para otras especies de hongos comestibles como *Pleurotus* spp. y *Lentinula* spp., en los cuales se han logrado combinar características “deseadas” que presentan distintas cepas para obtener nuevas cepas que expresan estas características; incrementando la eficiencia biológica, mejorando aspectos productivos y comerciales, tolerancia a factores físicos y enfermedades, entre otros (Mancera *et al.*, 1999; Arias *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2005; Leal-Lara *et al.*, 2016).

8.2.4 ANÁLISIS SENSORIAL (PERFIL FLASH) (1^{ER} EXPERIMENTO)

En general se observó variabilidad en los resultados del espacio sensorial generado por los tres atributos de apariencia (brillante, color base que fue de color crema a beige, color superior que fue de color gris a negro). Como se muestra en la figura 20, con los ejes 1-2 del Análisis Generalizado Procrusteno (AGP) se explicó el 86.5 % de variación total de los datos en las cepas estudiadas. Se observó que casi todas las cepas se correlacionaron de forma negativa con el eje uno, con apariencia brillante y color superior gris oscuro, excepto las agallas de las cepas 7 (Pu1-6 × Pu1-16) y cepa 10 (EM3-6 × FB2), que se correlacionaron de forma positiva con el eje uno. Las cepas del Estado de México (EM1-6 × EM1-10, EM4-10 × EM2-4), números 4, y 5, respectivamente, fueron semejantes correlacionándose negativamente al eje dos, y presentando agallas con una apariencia con color gris oscuro, mientras que la cepa 6 (EM2 multi-telioesporica) se correlacionó de forma positiva al eje dos y presentó una apariencia más brillante. Las cepas (Pu1-6 × Pu1-16, Pu2-17 × Pu2-23), números 7 y 8 del Estado de Puebla, presentaron agallas con apariencia más brillante. Por otro lado, las agallas de la cepa híbrido 10 (EM3-6 × FB2) fueron completamente opuestas al resto de las cepas y se correlacionaron positivamente al eje uno, con una marcada apariencia a color beige. Las cepas de referencia (CP-436 × CP-437) número 1, (FB1 × FB2) número 2, y (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*) número 3, sí bien se correlacionaron de forma negativa con ambos ejes, las cepas 1 y 3 presentaron apariencia a color gris oscuro con partes negras, no obstante, la cepa de referencia 2 (FB1 × FB2) se posicionó en el punto más alejado de los atributos de apariencia. Por su parte, la cepa híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, se correlacionó de forma negativa con el eje 1 y registró agallas con características de apariencia intermedia entre el color superior (color gris) y brillante (**Fig. 20**).

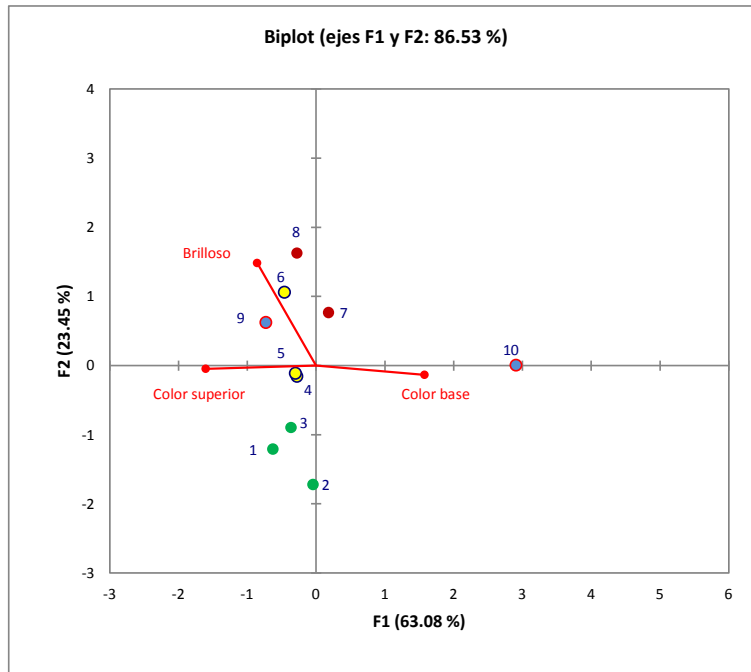


Figura 20. Espacio sensorial para atributos de apariencia en agallas producidas con cruzas entre esporidios silvestres y con cepas de referencia de *Ustilago maydis*.

La revisión del espacio sensorial generado por los cuatro atributos de olor (notas verdes, tierra mojada, nota amarga y aceitoso) reveló variabilidad entre las cepas estudiadas. En la figura 21, los dos principales ejes del AGP concentraron un 87.3 % de la variación total. Se observó que todas las cepas silvestres (EM1-6 × EM1-10, EM4-10 × EM2-4, EM2 multi-telioespórica, Pu1-6 × Pu1-16, Pu2-17 × Pu2-23), correspondientes a los números 4 a 8, respectivamente, correlacionándose de forma positiva con el eje uno y de modo negativo al dos; excepto la cepa 7 (Pu1-6 × Pu1-16). De ellas, las cepas silvestres del Estado de México (EM1-6 × EM1-10, EM4-10 × EM2-4, EM2 multi-telioespórica), números 4, 5 y 6 respectivamente, presentaron agallas con un olor aceitoso, al igual que las agallas de la cepa silvestre 8 (Pu2-17 × Pu2-23) del Estado de Puebla; sólo las agallas de la cepa 7 (Pu1-6 × Pu1-16) se posicionaron de forma positiva al eje 2 y presentaron un olor a notas verdes y amargas. Las agallas de las cepas de referencia 1 (CP-436 × CP-437), 2 (FB1 × FB2) y 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), se correlacionaron negativamente al eje uno, de este conjunto de cepas, las número 1 y 3 presentaron agallas con notas a olor a tierra mojada, al igual que la cepa híbrido número 10 (EM3-6 × FB2). Por otro lado, dentro del grupo de cepas correlacionadas positivamente al eje dos, el híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, presentó agallas con características de olor a notas verdes. Las agallas de la cepa de referencia número 2

(FB1 × FB2), resultaron estar nuevamente más alejadas de todos los términos de olor, comparada con el resto de cepas (**Fig. 21**).

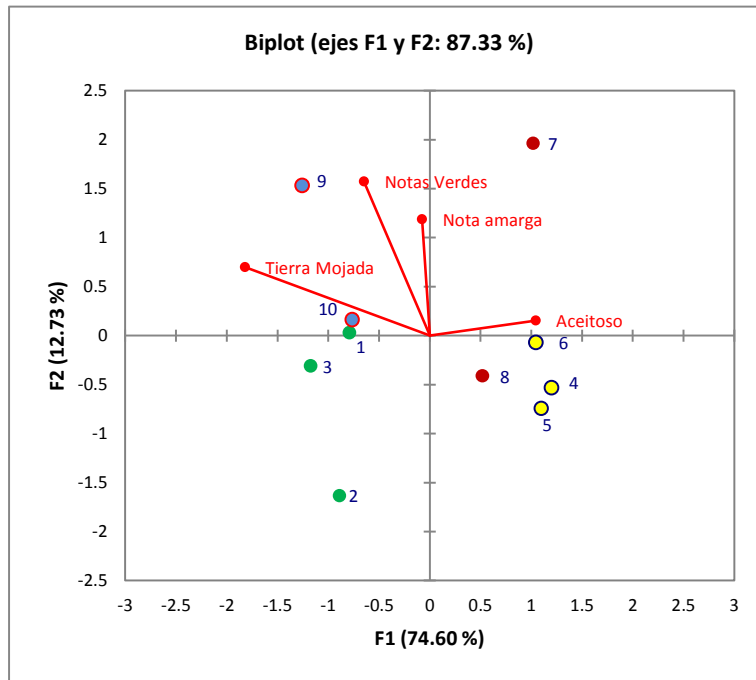


Figura 21. Espacio sensorial para atributos de olor en agallas producidas con cruces entre esporidios silvestres y con cepas de referencia de *Ustilago maydis*.

Como se muestra en la figura 22, para textura en mano, los ejes 1-2 del AGP concentraron el 69.9 % de variación. Se observó que en las agallas de las cepas silvestres (EM1-6 × EM1-10, EM4-10 × EM2-4, EM2 multi-telioespórica, Pu1-6 × Pu1-16, Pu2-17 × Pu2-23), correspondientes a los números 4 a 8, respectivamente, todas se correlacionaron de forma positiva con el eje uno. De ellas, las agallas de las cepas del Estado de México 4 (EM1-6 × EM1-10), 5 (EM4-10 × EM2-4), y 6 (EM2) multi-telioespórica, presentaron una textura en mano, fracturable al igual que las cepas (Pu1-6 × Pu1-16, Pu2-17 × Pu2-23), números 7 y 8 del Estado de Puebla. De todas las cepas silvestres, las número 5, 6 y 8 se correlacionaron positivamente al eje dos, mientras que las agallas producidas con las cepas 7 y 4 se correlacionaron negativamente. Por otro lado, del grupo de cepas correlacionadas negativamente al eje uno, las cepas de referencia número 1 (CP-436 × CP-437), número 2 (FB1 × FB2) y número 3 (PK-a1 b1 × PK-a2 b2), presentaron agallas con características de textura en mano diferentes. La cepa número 1 presentó agallas con una textura lisa, mientras que las cepas 2 y 3, si bien sus agallas se posicionaron más alejadas de los otros atributos de textura, presentaron una textura en mano

entre húmedo y liso. De igual forma, los híbridos (EM1-6 × FB1) número 9, y (EM3-6 × FB2) número 10, registraron agallas con características de textura en mano contrastantes entre sí, ya que por una parte la cepa 9, se posicionó más cerca de la textura lisa, mientras que las agallas de la cepa 10, expresaron más cercanía a textura blanda (Fig. 22).

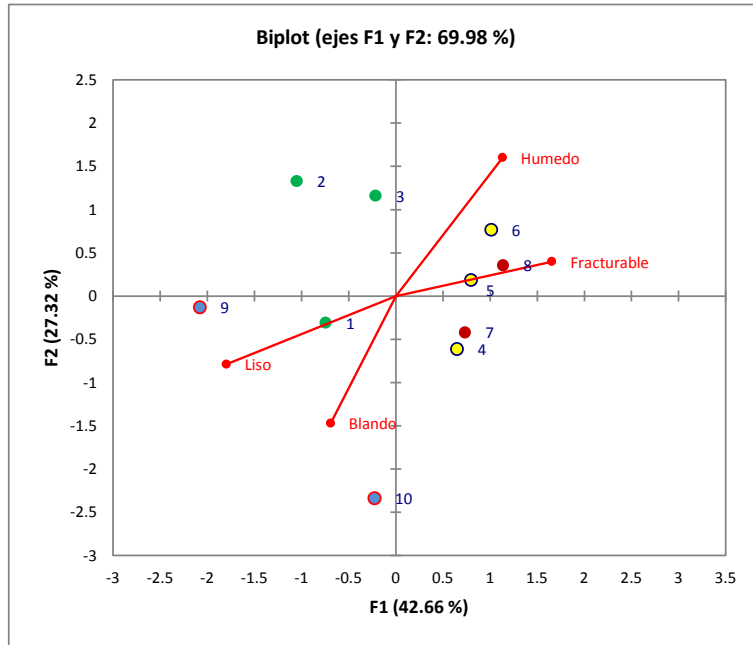


Figura 22. Espacio sensorial para atributos de textura en mano de agallas producidas con cruces entre esporidios silvestres y con cepas de referencia de *Ustilago maydis*.

El espacio sensorial generado por los atributos de textura en boca (dureza, crujiente, jugoso, arenoso, y fibroso) mostró variabilidad. En la figura 23, se muestra que en los ejes 1-2 del AGP se obtuvo el 76.1 % de variación total. Al igual que en la mayoría de los atributos sensoriales descritos, se observó que todas las agallas de las cepas silvestres (EM1-6 × EM1-10, EM4-10 × EM2-4, EM2 multi-telioespórica, Pu1-6 × Pu1-16, Pu2-17 × Pu2-23), correspondientes a los números 4 a 8, aparentemente forman un bloque donde comparten ciertas características sensoriales, las agallas de cuitlacoche producidas por estas cepas se correlacionaron de forma positiva con el eje uno. De ellas, las cepas del Estado de México (EM1-6 × EM1-10, EM4-10 × EM2-4), números 4 y 5, respectivamente, presentaron una textura en boca predominante a jugosa y arenosa, correlacionándose positivamente al eje dos; mientras que las agallas de la cepa 6 (EM2) multi-telioespórica, fueron negativas al eje dos, presentando mayor dureza. Las agallas de las cepas 7 (Pu1-6 × Pu1-16) y 8 (Pu2-17 × Pu2-23) del Estado de Puebla, se correlacionaron

negativamente al eje dos, presentando mayor dureza y crujiente, respectivamente. Por otro lado, dentro del grupo de cepas correlacionadas negativamente al eje uno y dos, las cepas de referencia 1 (CP-436 × CP-437), 2 (FB1 × FB2) y 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), presentaron agallas con texturas en boca predominantes a fibroso. Por su parte, las agallas de las cepas híbrido número 9 (EM1-6 × FB1) y número 10 (EM3-6 × FB2), se correlacionaron de manera positiva al eje dos y negativa al uno, registrando características de textura en boca con fibrosidad y arenosidad de intensidad intermedia (**Fig. 23**).

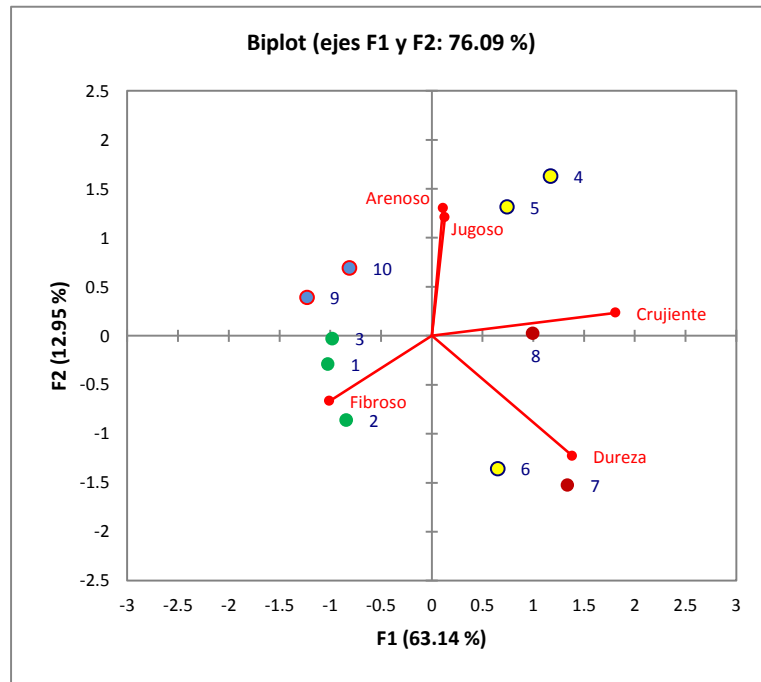


Figura 23. Espacio sensorial para atributos de textura en boca de agallas producidas con cruces entre esporidios silvestres y con cepas de referencia de *Ustilago maydis*.

Como se muestra en la figura 24, con los dos ejes del AGP se explicó el 77.9% de variación total de los datos. Se observó que las agallas de todas las cepas silvestres (EM1-6 × EM1-10, EM4-10 × EM2-4, EM2 multi-telioespórica, Pu1-6 × Pu1-16, Pu2-17 × Pu2-23), correspondientes a los números 4 a 8, respectivamente, se correlacionaron de forma negativa con el eje uno. De estas, las cepas del Estado de México número 4, (EM1-6 × EM1-10), presentó agallas cercanas a sabor amargo, mientras que las cepas 5 y 6 (EM4-10 × EM2-4, EM2 multi-telioespórica) respectivamente, presentaron agallas con un sabor dominante a umami y cercanas a maíz y dulce, y se correlacionaron positivamente al eje dos, mientras que las agallas producidas con las cepas (Pu1-6 × Pu1-16, Pu2-17 × Pu2-23), números 7 y 8 del Estado de Puebla presentaron mayor

dulzor y sabor a maíz correlacionándose negativamente al eje dos. Por otro lado, dentro del grupo de cepas correlacionadas positivamente al eje uno, la cepa de referencia número 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), produjo agallas con sabores predominantes ácido, astringente y amargo. Por su parte, las agallas de los híbridos número 9 (EM1-6 × FB1) y número 10 (EM3-6 × FB2), tuvieron sabor a tierra, siendo semejantes a los de la cepa de referencia (FB1 × FB2) número 2. La cepa de referencia número 1 (CP-436 × CP-437), sus agallas resultaron estar más alejada de todos los términos de sabor, comparada con el resto de cepas (**Fig. 24**).

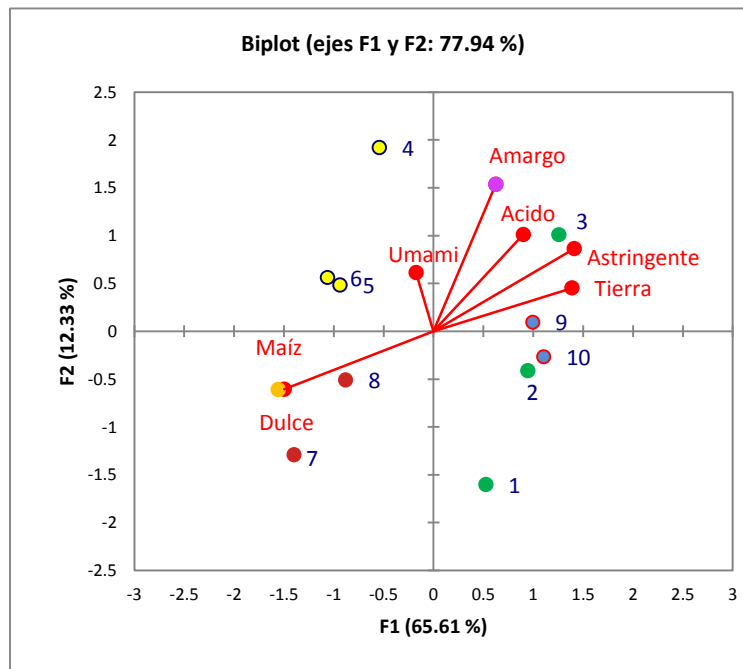












Figura 24. Espacio sensorial para atributos de sabor en agallas producidas con cruizas entre esporidios silvestres y con cepas de referencia de *Ustilago maydis*.

Los resultados obtenidos en este trabajo para los atributos sensoriales permiten proponer que existió gran variabilidad en términos sensoriales entre los diferentes aislamientos de *U. maydis*. En este sentido, se pudo observar que en la mayoría de los atributos sensoriales de apariencia, olor, textura en mano, textura en boca y sabor se presentaron semejanzas muy marcadas dentro de “grupos” de cepas (de referencia, silvestres e híbridos). No obstante, en algunos casos se observó que algunas cepas dentro del mismo grupo presentaron características opuestas (**Cuadro 22**).

De todos los atributos sensoriales, los de sabor (mayor dulzor y menor amargor), son importantes porque son atributos esperados en el cuitlacoche por parte de los consumidores, influyendo en la selección y compra de este producto, por lo que en este estudio presentaremos mayor atención en el análisis de estas características. La cepa de referencia 3 (PK) presentó un sabor predominantemente ácido, astringente y amargo, esta cepa ha sido utilizada en otros experimentos mostrando variabilidad en la intensidad de amargor dependiendo del híbrido de maíz inoculado (Castañeda de León *et al.*, 2016). Las cepas silvestres, no obstante que procedían de sitios geográficos diferentes (Estado de México y Estado de Puebla), presentaron por una parte menor amargor y acidez, y por otra, atributos de sabor predominantes con mayor intensidad dulce, a maíz y umami, que son atributos de sabor preferidos por los consumidores. Estos sabores también destacan en las agallas formadas por la infección natural. Los aislamientos silvestres pueden ser seleccionados para producir cepas híbrido mejoradas que expresen características sensoriales deseables. Al realizar cruces entre cepas silvestres EM y cepas de referencia FB, se encontró que en las agallas de las cepas híbrido 9 y 10 predominó el sabor a tierra, sabor parecido a los obtenidos con la cepa de referencia 2 (FB), adicionalmente se observó que en algunas otras características sensoriales como la apariencia, el olor y la textura en mano, fueron mejoradas al realizar la hibridación, ya que la cepa de referencia 2 (FB) mostró en esos atributos, ser la cepa con agallas más alejadas de todos ellos (**Cuadro 22**). Estos resultados proporcionan elementos para continuar en la búsqueda de aislamientos silvestres de *U. maydis*, o para estudiar nuevas combinaciones entre aislamientos silvestres y cepas de referencia (cepas híbrido mejoradas), que exalten tanto las características productivas y de calidad, así como atributos sensoriales adecuados.

Cuadro 22. Atributos sensoriales en la variedad de maíz Tornado XR inoculada con 10 cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

Cepa (No)	Color en AGP	Entrecruzamiento	CARACTERISTICAS SENSORIALES (atributos sensoriales)				
			Apariencia	Olor	Textura en mano	Textura en boca	Sabor
1		CP-436 × CP-437	color superior (gris a negro)	tierra mojada	humedo y liso	fibroso	**
2		FB1 × FB2	**	**	**	fibroso	tierra
3		PK- <i>a1b1</i> × PK- <i>a2b2</i>	color superior (gris a negro)	tierra mojada	humedo y liso	fibroso	astriigente, ácido, amargo
4		EM1-6 × EM1-10	color superior (gris a negro)	aceitoso	blando y fracturable	jugoso y arenoso	umami, amargo
5		EM4-10 × EM2-4	color superior (gris a negro)	aceitoso	fracturable	jugoso y arenoso	umami, maíz y dulce
6		EM2 multi-teliospórica	brillante	aceitoso	humedo y fracturable	dureza	umami, maíz y dulce
7		Pu1-6 × Pu1-16	brillante	nota verde y amarga	fracturable	dureza	maíz y dulce
8		Pu2-17 × Pu2-23	brillante	aceitoso	fracturable	crujiente	maíz y dulce
9		EM1-6 × FB1	color brillante y color superior (gris a negro)	nota verde	liso	jugoso, arenoso y fibroso	tierra
10		EM3-6 × FB2	color base (crema a beige)	tierra mojada	blando	jugoso, arenoso	tierra

** cepas con características sensoriales muy alejados de cualquier atributo

8.3. EVALUACIÓN DE INFECCIÓN EN CINCO VARIEDADES DE MAÍZ INOCULADAS CON TRES CEPAS SELECCIONADAS DE *USTILAGO MAYDIS* (2° EXPERIMENTO DE CAMPO)

8.3.1. CONDICIONES CLIMÁTICAS (2° EXPERIMENTO)

Las condiciones climáticas prevalecientes durante el segundo experimento de campo en la comunidad de San Andrés de Nicolás Bravo, Estado de México (agosto-septiembre), fueron las siguientes: durante la inoculación, se registraron temperaturas mínima y máxima de 18 °C - 32 °C, (en promedio) respectivamente, estas temperaturas fueron parecidas, sin cambios considerables comparadas con las del periodo de cosecha (días 30 agosto - 14 septiembre), cuando las temperaturas mínimas y máximas promedio que se presentaron oscilaron entre los 18 °C y 29 °C, respectivamente. La precipitación pluvial, durante todo el periodo de producción presentó un valor total de 305 mm, incremento considerable con respecto al primer experimento, donde sólo se presentó un valor máximo de 1 mm al día 16 (**Fig. 25**). Durante la inoculación (días 10-29 agosto), la humedad promedio fue de 37% mínima y máxima de 93%. En el período de cosecha (días 30 agosto-14 septiembre), la humedad se incrementó en promedio entre 51% - 97% valores mínimos y máximos, respectivamente; porcentajes que fueron mayores a los registrados durante el período de inoculación (agosto 2015). La evapotranspiración presentó un comportamiento variable a través de los diferentes días de producción, a diferencia del primer experimento, que se mantuvo con valores promedio de alrededor de 15 mm y sin cambios importantes; en este segundo experimento los valores de evapotranspiración durante la inoculación fueron de entre 10 mm-14 mm, y en la cosecha se presentaron valores de entre 2 mm-12 mm (**Fig. 26**).

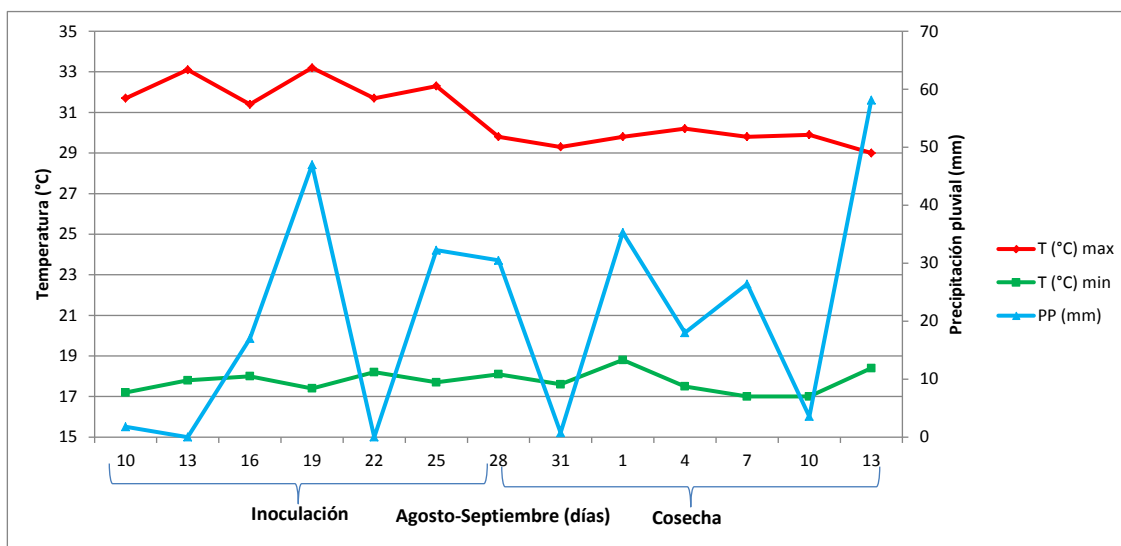


Figura 25. Temperaturas y precipitación pluvial durante la producción de agallas de cuilacoche 2° experimento (agosto-septiembre).

Reportes de trabajos previos, indican que si bien el clima es un factor importante en la evolución natural del patosistema, no obstante bajo condiciones de infección controlada su principal influencia se manifiesta sobre el tiempo de maduración de las agallas (Pataky y Chandler 2003; Castañeda de León *et al.*, 2016). En casos extremos, cuando se han presentado condiciones de bajas temperaturas ($< 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ por más de 10 h/día), tanto la maduración de plantas como la de agallas se ven afectadas considerablemente, prolongándose esta última hasta por más de 45 días, manteniendo un color blanco en las agallas y sin poder concluir el ciclo de infección con la formación de teliosporas (Castañeda de León y Leal Lara, 2012). De acuerdo con ello, la temperatura y humedad que se presentan durante la infección controlada con *U. maydis*, si bien puede tener un efecto sobre el desarrollo de la infección, al parecer no tiene influencia preponderante sobre las características de virulencia, como la incidencia y severidad, tal y como ha sido propuesto por varios autores (Martínez-Martínez *et al.*, 2000; Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007; Madrigal-Rodríguez *et al.*, 2010, Salazar-Torres *et al.*, 2013). Estos autores proponen que los bajos resultados de producción en sus experimentos fueron determinados por pequeñas variaciones en las condiciones climáticas prevalecientes durante y después de la inoculación. Si bien se reconoce, que las condiciones climáticas tienen influencia sobre algunas variables de producción (maduración de agallas), ligeras variaciones ambientales no son las únicas o principales responsables de los bajos resultados de incidencia, severidad y rendimiento de agallas.

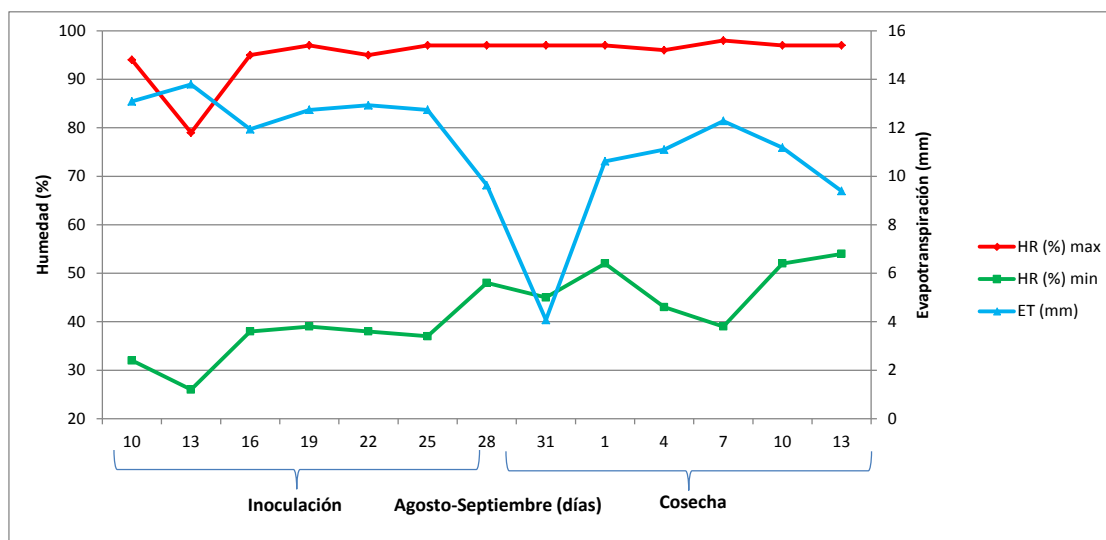


Figura 26. Humedad relativa y evapotranspiración durante la producción de agallas de cuilacoche 2° experimento (agosto-septiembre).

Los valores registrados para las condiciones ambientales (temperatura, humedad relativa, precipitación pluvial y evapotranspiración) en este trabajo (temperaturas de moderadas a altas 19 °C - 35 °C y buena humedad relativa >75%), fueron condiciones suficientes y adecuadas para lograr la infección y el desarrollo del patosistema. Una excelente producción de agallas sobre las mazorcas ocurre en un amplio rango de condiciones ambientales, siempre y cuando se utilicen métodos apropiados de inoculación (Pope y McCarter, 1992a).

8.3.2. CARACTERÍSTICAS FENOLÓGICAS Y FENOTÍPICAS DEL MAÍZ (2° EXPERIMENTO)

Las características fenológicas de las variedades de maíz presentaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0001$). Para el tiempo de aparición de espigas se presentaron dos variedades de maíz precoces, ‘Canelo’TM y ‘Tornado XR’TM (55 días), las variedades ‘Amarillo’TM y ‘Hoja de oro’TM presentaron una floración intermedia (57 días) y la variedad más tardía fue ‘HQ-14’TM (63 días). El desarrollo de estigmas fue variable entre maíces, la variedad ‘Canelo’TM presentó una floración femenina más temprana (58 días), mientras que los híbridos ‘Tornado XR’TM y ‘Amarillo’TM lo hicieron a los 60 días, seguidos por la variedad ‘Hoja de oro’TM (61 días), y finalmente la variedad ‘HQ-14’TM produjo estigmas después de los 67 días. Para las variables fenotípicas como tamaño de mazorca (promedio, 21.5 cm), no existieron diferencias estadísticas significativas entre variedades de maíz. Para el tamaño de planta e inserción de jilote, en la variedad criollo mejorado ‘HQ-14’TM, se presentaron los valores de mayor tamaño de planta

(altura 3 m) e inserción del jilote (2 m), con diferencias estadísticamente significativas comparados con los resultados de los demás híbridos de maíz evaluados (**Cuadro 23**).

Cuadro 23. Características fenológicas y fenotípicas en cinco híbridos de maíz inoculados con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

Híbrido de maíz	Cepa de <i>U. maydis</i>	Tiempo después de siembra (días)		Tamaño de planta (m)	Inserción del jilote (m)	Tamaño de mazorca (cm)
		espigas	estigmas			
'Amarillo' TM	PK-a1 b1 × PK-a2 b2	57 ± 0.0 ^b	60 ± 0.0 ^c	2.2 ± 0.10 ^b	1.1 ± 0.27 ^b	20.0 ± 0.8 ^a
	EM4-10 × EM2-4					
	EM1-6 × FB1					
'Canelo' TM	PK-a1 b1 × PK-a2 b2	55 ± 0.0 ^c	58 ± 0.0 ^d	2.2 ± 0.15 ^b	1.2 ± 0.09 ^b	20.6 ± 1.1 ^a
	EM4-10 × EM2-4					
	EM1-6 × FB1					
'HQ-14' TM	PK-a1 b1 × PK-a2 b2	63 ± 0.0 ^a	67 ± 0.0 ^a	3.0 ± 0.13 ^a	2.0 ± 0.11 ^a	22.7 ± 1.8 ^a
	EM4-10 × EM2-4					
	EM1-6 × FB1					
'Hoja de Oro' TM	PK-a1 b1 × PK-a2 b2	57 ± 0.0 ^b	61 ± 0.0 ^b	2.4 ± 0.18 ^b	1.2 ± 0.12 ^b	22.4 ± 1.0 ^a
	EM4-10 × EM2-4					
	EM1-6 × FB1					
'Tornado XR' TM	PK-a1 b1 × PK-a2 b2	55 ± 0.0 ^c	60 ± 0.0 ^c	2.2 ± 0.18 ^b	1.1 ± 0.12 ^b	22.0 ± 0.4 ^a
	EM4-10 × EM2-4					
	EM1-6 × FB1					

^{abcd} Diferente letra indica diferencias estadísticas significativas entre los valores de una columna

Se ha propuesto que las características fenológicas y fenotípicas de las distintas variedades de maíz tienen una marcada influencia sobre el desarrollo del patosistema y producción de agallas. Por otra parte, se ha señalado que los síntomas de la infección por el hongo *U. maydis* ocurren en los órganos meristemáticos de la planta, por lo que el estadio fenológico de los tejidos, así como el vigor de la planta, son condiciones determinantes para el buen desarrollo del hongo en su hospedero (Castañeda de León *et al*, 2016). Se ha planteado también que las variedades de maíz con grano dulce y de grano con endospermo harinoso (cacahuacintle) son más susceptibles al ataque del hongo (Banuett y Herskowitz, 1988; Pataky, 1991; Villanueva-Verduzco, 1995). Asimismo, se menciona en la bibliografía que las variedades de maíz que presentan

características fenotípicas tales como mazorcas grandes, agallas largas y buena protección de las hojas, son materiales vegetales que pueden ser buenos candidatos para ser utilizados en el cultivo controlado de agallas de cuitlacoche (Valverde *et al.*, 1993; Valdez-Morales *et al.*, 2009).

El uso de variedades de maíz criollo para el cultivo de cuitlacoche puede representar desventajas operativas, que debido a su amplia diversidad genética y fenotípica se producen resultados inconsistentes y un alto coeficiente de variación en los experimentos, aunque podría haber excepciones. Adicionalmente, algunos materiales criollos son de un porte alto (> 3 m) y la inserción del jilote puede alcanzar alturas superiores a los dos metros. Estas características fenotípicas dificultan una adecuada producción de cuitlacoche, pues complica el manejo de las plantas durante las etapas de desespigue e inoculación, así como en la cosecha. En este tipo de variedades de maíz criollo, por la altura que alcanzan, generalmente es necesario jalar las plantas para realizar dichos procedimientos, durante estas maniobras las plantas generalmente se rompen o acaman, resultando en una menor eficiencia en la inoculación, infección y cosecha (Castañeda de León y Leal Lara, 2012; Castañeda de León *et al.*, 2016). Fenómeno que se observó en esta serie de experimentos al utilizar la variedad criollo ‘HQ-14’TM, este material vegetal presentó una mayor altura de planta (3 m) y de inserción de jilote (2 m), así como los tiempos más largos de floración masculina (63 días) y femenina (67 días), y maduración de las agallas (23 días). Las características fenológicas y fenotípicas de esta variedad de maíz, afectaron negativamente el buen desarrollo la producción de cuitlacoche, con plantas acamadas y rotas, tiempos fenológicos más largos y menor producción de agallas (**Cuadro 23**).

Los maíces híbridos son genéticamente más uniformes, por lo que es factible obtener mejores resultados de producción (Castañeda de León y Leal Lara, 2012; Castañeda de León *et al.*, 2016). Este planteamiento coincide con los resultados de esta investigación: los híbridos comerciales de maíz, ‘Amarillo’TM, ‘Canelo’TM, ‘Hoja de oro’TM y ‘Tornado XR’TM, presentaron mayor similitud en el tamaño de planta e inserción del jilote. Estas características fenotípicas facilitaron las labores de producción controlada de cuitlacoche y podrían influir en mejorar la susceptibilidad y rendimientos (**Cuadro 24**). Por otra parte, presentan uniformidad en las variables fenológicas tales como período de floración masculina y femenina, y en el tiempo de maduración de agallas (**Cuadro 23**). Es importante explorar el uso de variedades de maíz

criollos y mejoradas, con características fenológicas y fenotípicas adecuadas para su fácil manejo durante la producción de cuitlacoche, igualmente, aprovechar la experiencia de agricultores locales en la identificación de variedades de maíz que presenten alta susceptibilidad a la infección natural a *U. maydis* en sus regiones (Castañeda de León y Leal Lara, 2012).

8.3.3. PRODUCCIÓN DE AGALLAS (2° EXPERIMENTO)

En relación con la producción de agallas, se obtuvieron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0001$) entre variedades de maíz, para las diferentes variables evaluadas. Se encontró una correlación altamente significativa entre incidencia y severidad ponderada ($r=0.984$, $P < 0.0001$) y entre severidad ponderada y rendimiento ponderado ($r=0.965$, $P < 0.0001$) en todas las variedades de maíz y cepas de *U. maydis* estudiadas. En la variable incidencia de infección, las cepas de referencia 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*) e híbrido 9 (EM1-6 × FB1) presentaron un mismo patrón de virulencia al inocular las distintas variedades de maíz, pero con diferente susceptibilidad, dependiendo de la variedad de maíz, la cepa silvestre 5 (EM4-10 × EM2-4) en todos los casos presentó una incidencia de infección significativamente menor, comparada con las otras dos cepas.

En el híbrido de maíz ‘Amarillo’TM, la cepa de referencia 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*) presentó la mayor incidencia, con 72.2% seguido de la cepa híbrido 9 (EM1-6 × FB1) que presentó 68.0%, y de la cepa silvestre (EM4-10 × EM2-4) que presentó la menor incidencia con 34.7%. En la variedad ‘Canelo’TM, se obtuvieron algunos de los valores más altos de incidencia de infección, registrándose el mejor valor entre variedades de maíz y cepas de *U. maydis*, con un 100% de incidencia con la cepa de referencia número 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), en segundo lugar, la cepa híbrido número 5 (EM1-6 × FB1) con un 93.0%; el valor significativamente más bajo, con un 43.1 % de incidencia, se obtuvo con la cepa silvestre número 5 (EM4-10 × EM2-4) [**Cuadro 24**]. En las variedades de maíz ‘Hoja de oro’TM y ‘Tornado XR’TM, también se obtuvieron excelentes resultados de incidencia, presentándose valores más uniformes al inocular con la cepa de referencia (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), con 97.2% y 94.5%, respectivamente, seguida de la cepa híbrido (EM1-6 × FB1), con un 88.9% y 86.1% de incidencia, y con la cepa silvestre (EM2-4 × EM4-10) se presentaron menores proporciones de incidencia con un 61.1% y 70.9%, respectivamente. Finalmente, en la variedad de maíz criollo ‘HQ-14’TM, se obtuvieron los valores

significativamente menores de incidencia con un 30.6 %, 26.4 % y 23.6 %, al utilizar las cepas, de referencia (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), híbrido (EM1-6 × FB1), y silvestre (EM4-10 × EM2-4), respectivamente (**Cuadro 24**).

Cuadro 24. Producción de agallas en cinco híbridos de maíz inoculados con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

Híbrido de maíz	Cepa de <i>U. maydis</i>	Incidencia (%)	Severidad Ponderada (%)	Peso (g)		Rendimiento Ponderado	Productividad	Protección de hojas (1-5)	Tamaño de agalla (1-5)	Tiempo de maduración de agallas (días)
		Plantas infectadas/Plantas inoculadas X (100)	Medida ponderada de grados de severidad en plantas	Mazorca con hojas	Agallas	g de agallas/ planta inoculada	Toneladas de agallas / ha @60,000 plantas			
Amarillo	PK-a1 b1 × PK-a2 b2	72.2 ± 4.8 ^{abcd}	68.8 ± 5.8 ^{ab}	341.8 ± 21.3 ^{abcd}	178.3 ± 11.1 ^{abc}	124.7 ± 8.5 ^{abc}	7.5 ± 0.5 ^{abc}	3.7 ± 0.2 ^a	2.0 ± 0.2 ^{abc}	17.7 ± 1.2 ^{bc}
	EM2-4 × EM4-10	34.7 ± 4.8 ^{ef}	24.6 ± 1.5 ^{de}	263.9 ± 34.1 ^d	98.0 ± 11.7 ^d	25.4 ± 2.3 ^e	1.5 ± 0.2 ^e	3.9 ± 0.1 ^a	2.3 ± 0.1 ^{abc}	16.0 ± 1.7 ^c
	EM1-6 × FB1	68.0 ± 8.6 ^{abcd}	53.8 ± 4.3 ^{abcd}	324.9 ± 11.3 ^{abcd}	141.5 ± 14.7 ^{abcd}	78.0 ± 1.4 ^{cde}	4.7 ± 0.1 ^{cde}	3.5 ± 0.1 ^a	2.6 ± 0.2 ^{ab}	18.3 ± 1.2 ^{bc}
Canelo	PK-a1 b1 × PK-a2 b2	100.0 ± 0.0 ^a	93.1 ± 5.4 ^a	371.9 ± 38.1 ^{abc}	169.6 ± 23.6 ^{abc}	159.4 ± 21.1 ^{ab}	9.6 ± 1.3 ^{ab}	3.8 ± 0.2 ^a	1.9 ± 0.2 ^{bc}	16.7 ± 0.6 ^{bc}
	EM2-4 × EM4-10	43.1 ± 15.8 ^{def}	34.0 ± 15.0 ^{cde}	310.3 ± 8.2 ^{abcd}	138.8 ± 5.7 ^{abcd}	51.2 ± 25.3 ^{de}	3.1 ± 1.5 ^{de}	3.9 ± 0.4 ^a	2.8 ± 0.1 ^a	16.7 ± 3.1 ^{bc}
	EM1-6 × FB1	93.0 ± 4.8 ^{ab}	83.3 ± 6.3 ^{ab}	336.0 ± 31.6 ^{abcd}	168.9 ± 27.2 ^{abcd}	144.1 ± 33.3 ^{abc}	8.6 ± 2.0 ^{abc}	3.8 ± 0.2 ^a	2.5 ± 0.2 ^{abc}	16.0 ± 0.0 ^c
HQ-14	PK-a1 b1 × PK-a2 b2	30.6 ± 19.3 ^{ef}	28.8 ± 19.6 ^{cde}	381.5 ± 26.3 ^{abc}	131.8 ± 42.2 ^{abcd}	41.6 ± 32.2 ^{de}	2.5 ± 1.9 ^{de}	3.9 ± 0.1 ^a	1.9 ± 0.5 ^{bc}	23.0 ± 0.0 ^a
	EM2-4 × EM4-10	23.6 ± 8.6 ^f	21.2 ± 8.1 ^e	314.4 ± 33.5 ^{abcd}	118.7 ± 9.6 ^{cd}	25.5 ± 11.6 ^e	1.5 ± 0.7 ^e	3.7 ± 0.1 ^a	2.1 ± 0.6 ^{abc}	23.0 ± 0.0 ^a
	EM1-6 × FB1	26.4 ± 13.4 ^f	19.5 ± 11.2 ^e	338.0 ± 50.1 ^{abcd}	131.7 ± 23.3 ^{abcd}	27.2 ± 20.2 ^e	1.6 ± 1.2 ^e	3.6 ± 0.2 ^a	2.0 ± 0.4 ^{abc}	23.0 ± 0.0 ^a
Hoja de Oro	PK-a1 b1 × PK-a2 b2	97.2 ± 4.8 ^{ab}	90.7 ± 3.8 ^a	424.0 ± 27.9 ^a	200.1 ± 16.7 ^a	181.0 ± 8.4 ^a	10.9 ± 0.5 ^a	3.5 ± 0.1 ^a	2.0 ± 0.2 ^{abc}	19.3 ± 3.1 ^{abc}
	EM2-4 × EM4-10	61.1 ± 19.2 ^{cde}	53.8 ± 17.6 ^{abcd}	382.9 ± 67.4 ^{abc}	189.0 ± 30.4 ^{ab}	105.0 ± 47.2 ^{abcd}	6.3 ± 2.8 ^{abcd}	3.7 ± 0.2 ^a	2.2 ± 0.2 ^{abc}	18.0 ± 1.7 ^{bc}
	EM1-6 × FB1	88.9 ± 2.4 ^{abc}	79.9 ± 5.2 ^{ab}	391.7 ± 42.6 ^{ab}	183.9 ± 34.4 ^{abc}	149.4 ± 34.4 ^{ab}	9.0 ± 2.1 ^{ab}	3.6 ± 0.2 ^a	2.3 ± 0.1 ^{abc}	20.7 ± 1.2 ^{ab}
Tornado	PK-a1 b1 × PK-a2 b2	94.5 ± 4.8 ^{ab}	92.7 ± 3.8 ^a	393.9 ± 35.6 ^{ab}	197.7 ± 18.9 ^{ab}	183.7 ± 16.1 ^a	11.0 ± 0.9 ^a	3.4 ± 0.2 ^a	1.7 ± 0.2 ^c	19.0 ± 2.0 ^{abc}
	EM2-4 × EM4-10	70.9 ± 14.4 ^{abcd}	54.8 ± 12.9 ^{bc}	289.8 ± 4.1 ^{cd}	132.3 ± 4.4 ^{abcd}	75.2 ± 15.9 ^{cde}	4.5 ± 0.9 ^{cde}	3.8 ± 0.3 ^a	2.2 ± 0.3 ^{abc}	20.3 ± 1.2 ^{bc}
	EM1-6 × FB1	86.1 ± 4.8 ^{abc}	78.1 ± 4.1 ^{ab}	338.9 ± 11.0 ^{abcd}	172.1 ± 19.0 ^{abc}	136.4 ± 18.2 ^{abc}	8.2 ± 1.1 ^{abc}	3.6 ± 0.1 ^a	1.9 ± 0.1 ^{bc}	19.7 ± 1.2 ^{abc}

^{abcd} Diferente letra indica diferencias estadísticas significativas entre los valores de una columna

Al evaluar la severidad ponderada, nuevamente se presentó un comportamiento similar al de incidencia, sólo que en este caso existieron diferencias significativas entre cepas: con la cepa de referencia (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*) se obtuvo el mejor valor, seguido de la cepa híbrido (EM1-6 × FB1) y finalmente la cepa silvestre (EM4-10 × EM2-4), la cual presentó los valores estadísticamente más bajos de severidad, para todas las variedades.

En el híbrido de maíz ‘Amarillo’TM, la cepa de referencia (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*) presentó la mayor severidad ponderada con un 68.8 %, seguida de la cepa híbrido (EM1-6 × FB1) con un 53.8%, mientras que la cepa silvestre (EM4-10 × EM2-4), presentó el valor más bajo de severidad con un 24.6%. En la variedad ‘Canelo’TM, se obtuvieron algunos de los valores más altos de severidad ponderada, obteniendo el mayor valor de 93.1 % con la cepa de referencia 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), seguida por la cepa híbrido 9 (EM1-6 × FB1) con un 83.3%; el valor significativamente menor de severidad se obtuvo con la cepa silvestre 5 (EM4-10 × EM2-4), con 34.0 %. Los híbridos de maíz ‘Hoja de oro’TM y ‘Tornado XR’TM, presentaron resultados adecuados de severidad ponderada; no existieron diferencias estadísticas significativas comparadas con la variedad ‘Canelo’TM. Con las variedades de maíz ‘Hoja de oro’TM y ‘Tornado XR’TM se obtuvieron los valores más altos de severidad ponderada con la cepa de referencia 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), con un 90.7% y 92.7%, en segundo lugar con la cepa híbrido 9 (EM1-6 × FB1), con un 79.9% y 78.1%; la cepa silvestre 5 (EM4-10 × EM2-4) presentó menor severidad, con 53.8% y 54.8%, en ambos híbridos, respectivamente. En la variedad de maíz criollo ‘HQ-14’TM, se presentaron los valores significativamente menores de severidad con un 28.8%, 21.2%, y 19.5% para las tres cepas, de referencia, silvestre e híbrido (**Cuadro 24**).

En las variables rendimiento ponderado y productividad, se repitió el mismo comportamiento que en la severidad, entre cepas y variedades de maíz. El híbrido de maíz ‘Amarillo’TM, con la cepa de referencia número 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*) obtuvo un rendimiento ponderado de 124.7 g/planta, seguido de la cepa híbrido número 9 (EM1-6 × FB1) que produjo 78 g/planta, mientras que la cepa silvestre número 5 (EM4-10 × EM2-4), presentó el valor más bajo con 25.4 g/planta de rendimiento de agallas; consecuentemente, con estas cepas se obtuvieron productividades de 7.5 t/ha, 4.7 t/ha y 1.5 t/ha, para las cepas de referencia, híbrido y silvestre (**Cuadro 24**). En la variedad ‘Canelo’TM, con las cepas de referencia 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*) e híbrido 9 (EM1-6 ×

FB1), se obtuvieron valores de rendimiento ponderado de 159.4 g/planta y 144.1 g/planta, respectivamente, mientras que la cepa silvestre 5 (EM4-10 × EM2-4), produjo agallas de cuitlacoche con un peso significativamente menor de 51.2 g/planta, por lo tanto las productividades en la variedad ‘Canelo’TM, fueron de 9.6 t/ha, 8.6 t/ha y 3.1 t/ha, para las cepas de referencia, híbrido y silvestre, respectivamente (**Cuadro 24**).

En las variedades de maíz ‘Tornado XR’TM y ‘Hoja de oro’TM, se obtuvieron los valores más altos de rendimiento ponderado y productividad con la cepa de referencia (PK-a1 b1 × PK-a2 b2), para ambas variedades de maíz se logró obtener 183.7 g/planta y 181.0 g/planta, respectivamente, seguida por la cepa híbrido (EM1-6 × FB1), con 136.4 g/planta y 149.4 g/planta de rendimiento. La cepa silvestre (EM4-10 × EM2-4), presentó un rendimiento significativamente menor de agallas con 105 g/planta en la variedad ‘Hoja de oro’TM, y 75.2 g/planta para la variedad ‘Tornado XR’TM. La máxima productividad de agallas, generó entre 10.9 t/ha y 11 t/ha con la cepa de referencia 3 (PK-a1 b1 × PK-a2 b2), y 9.0 t/ha, y 8.2 t/ha de agallas de cuitlacoche con la cepa híbrido 9 (EM1-6 × FB1), con la cepa silvestre 5 (EM4-10 × EM2-4) se produjeron 6.3 t/ha y 4.5 t/ha, en las variedades de maíz ‘Hoja de oro’TM y ‘Tornado XR’TM. En la variedad criollo ‘HQ-14’TM, se presentaron los valores significativamente menores de rendimiento y productividad, con un rendimiento estimado de 41.6 g/planta, 27.2 g/planta y 25.5 g/planta; y con productividades de 2.5 t/ha, 1.6 t/ha y 1.5 t/ha, para las tres cepas, de referencia (PK-a1 b1 × PK-a2 b2), híbrido (EM1-6 × FB1), y silvestre (EM4-10 × EM2-4), respectivamente (**Cuadro 24**).

En relación a los resultados obtenidos en características de calidad como la protección de las hojas (promedio 3.7), para la interacción entre las cinco variedades de maíz y las tres cepas seleccionadas, no se presentaron diferencias significativas; tampoco las hubo para tamaño de agallas (promedio 2.2) [**Cuadro 24**]. La protección de las hojas se correlacionó positivamente con el tamaño de las agallas ($r=0.1281$ $P < 0.0001$), pero negativamente con el peso de agallas ($r=-0.3793$ $P < 0.0001$). La maduración de agallas, presentó diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0001$) entre variedades de maíz y cepas de *U. maydis* en esta etapa del experimento. Cabe mencionar que los maíces ‘Canelo’TM y ‘HQ-14’TM, presentaron el menor tiempo (16 días) y mayor tiempo (23 días) en la maduración de agallas, respectivamente (**Cuadro 24**).

Las cinco variedades de maíz, inoculadas con las tres cepas seleccionadas del primer experimento, presentaron diferencias estadísticas significativas relacionadas con su grado de susceptibilidad y virulencia. Es importante recalcar, que existen pocos trabajos donde se reporte la susceptibilidad y resistencia en diferentes variedades de maíz inoculadas con diversos aislamientos de *U. maydis*. Paredes *et al.* (2000) evaluaron cuatro cepas de *U. maydis* sobre 19 híbridos de maíz, 14 maíces dulces, 4 de maíz palomero y uno de maíz dentado de E.U.A. Tanto para el porcentaje de incidencia, como para el grado de severidad, se reporta la misma tendencia; es decir, se presentó variabilidad entre las localidades, pero no entre variedades de maíz. En el Batán, Estado de México, los grados de severidad fueron en promedio de entre 32% a 36%, en Celaya Gto. se obtuvieron grados de severidad de 64% y 65 % en los híbridos C200F y 7525, respectivamente, y 71% con el material CBT, con esta misma variedad se reportó un rendimiento de 2.3 t/ha. En el trabajo antes citado, no se mencionan los valores de incidencia, ni otro dato sobre parasitismo y/o productividad; por otra parte, no se hace mención sobre los resultados con las diferentes cepas evaluadas. Los pocos resultados reportados, no coinciden con los obtenidos en esta investigación, ya que aquí sí existieron diferencias significativas relacionadas con el grado de virulencia (incidencia y severidad), tanto entre cepas de *U. maydis*, como en la susceptibilidad a la infección y producción de agallas obtenidas para cada una de las cinco variedades de maíz. En relación con la severidad máxima (71%) alcanzada en el trabajo de Paredes *et al.* (2000), al compararla con las máximas severidades de este trabajo, estas últimas fueron superiores al 90%; encontrándose variabilidad estadística significativa entre las diferentes variedades de maíz analizadas. En este sentido, el rendimiento máximo reportado por Paredes *et al.* (2.3 t/ha) sólo es equiparable al rendimiento promedio encontrado con la variedad 'HQ-14'TM que fue la variedad de maíz, donde se presentaron valores mínimos de productividad en esta etapa experimental.

En los resultados de productividad en esta investigación, se obtuvieron diferencias estadísticas para cada variedad de maíz inoculada y entre las diferentes cepas de *U. maydis* seleccionadas. En todas las variedades de maíz existió un comportamiento similar con respecto a la susceptibilidad de la infección en relación con las cepas de *U. maydis*. Es decir, las tres cepas presentaron el mismo patrón de virulencia en todas las variedades estudiadas, posicionándose en todos los casos como la más productiva la cepa de referencia número 3 (PK-a1 b1 × PK-a2 b2), en segundo

lugar la cepa híbrido número 9 (EM1-6 × FB1), y la cepa silvestre número 5 (EM4-10 × EM2-4) se posicionó como la menos productiva. Este mismo patrón de virulencia se presentó entre los grupos de cepas de *U. maydis*, en el primer experimento de campo (**Cuadro 20**), confirmando el planteamiento relacionado con la existencia de diferencias en la capacidad infectiva y de virulencia entre las cepas de *U. maydis*.

Con base en los resultados obtenidos, existen elementos experimentales que sugieren que el desarrollo de la infección está determinado por una combinación entre las cepas de *U. maydis* y la variedad de maíz. En este sentido, el planteamiento de Martínez-Martínez *et al.*, (2000) relacionado con su hipótesis de que cada aislamiento de *U. maydis* muestra una virulencia jilote-específica concuerda con lo observado en este trabajo; y si bien existen variedades de maíz más susceptibles que otras al ataque del hongo, todo indica que la productividad de las gallas de cuitlacoche (incidencia, severidad y rendimiento), depende principalmente de la interacción que se establece entre variedades de maíz y cepas de *U. maydis*.

Las variedades de maíz híbrido ‘Hoja de oro’TM, ‘Tornado XR’TM y ‘Canelo’TM, se posicionaron como las variedades de maíz, en las cuales se presentaron los mejores resultados de productividad, y se postulan como las variedades de maíz más aptas para la producción de cuitlacoche en esta investigación. La variedad ‘Canelo’TM presentó valores de incidencia entre 43% - 100% (promedio 79%), una severidad de entre 34% - 93% (promedio 70%), un rendimiento ponderado de 51 g/planta - 159 g/planta (promedio 118 g/planta), y una productividad entre 3.1 t/ha - 10 t/ha (promedio 7 t/ha). Las variedades de maíz ‘Hoja de oro’TM y ‘Tornado XR’TM, presentaron los mejores resultados de productividad, con valores de incidencia entre 61% - 97% (promedio 82%), 71% - 95% (promedio 84%); severidades de entre 54% - 91%, 55% - 93% (75% promedio en ambas), rendimiento ponderado de 105 g/planta - 181 g/planta (promedio 145 g/planta), 75 g/planta - 184 g/planta (promedio 132 g/planta); y una productividad entre 6 t/ha - 11 t/ha (promedio 8.7 t/ha), 4.5 t/ha - 11 t/ha (promedio 7.9 t/ha), respectivamente, para cada variedad de maíz. Los resultados de incidencia y productividad son parecidos a los reportados por Martínez-Martínez *et al.* (2000), donde se evaluaron 300 familias de medios hermanos maternos en el año 1998, de éstas la número 79 presentó el mayor peso promedio de hongo/planta inoculada (151.8 g/planta). De igual forma las familias 75 y 38

obtuvieron la incidencia del hongo más alta (92.8%). De las 300 familias se seleccionaron 16, con un promedio en rendimiento de 155 g de hongo/planta infectada, 113 g/planta inoculada; 77% de incidencia y 35% de severidad.

En una investigación realizada por Madrigal-Rodríguez *et al.* (2010) en la que se infectaron híbridos comerciales de maíz, con aislamientos de *U. maydis* obtenidos de cada variedad de maíz, se evaluaron diferentes densidades de siembra en invernadero con nutrición hidropónica. El mejor híbrido de maíz fue 30G40 que presentó una severidad promedio de 35%, las otras variedades mostraron severidades promedio de 15%. Con todos los híbridos alrededor del 60% de las plantas no resultaron infectadas, índice de severidad 0%. El rendimiento de cuitlacoche fue mayor en 166,666 plantas/ha (3.6 t/ha), comparada con 62,500 plantas/ha (0.96 t/ha), aunque el rendimiento de hongo por planta inoculada fue igual de bajo en ambas densidades (0.02 g/planta) con todos los híbridos de maíz. Estos resultados son menores a los obtenidos en esta investigación, porque si bien, se reportan rendimientos máximos de 3.6 t/ha para la máxima densidad de plantas (166,666); la densidad de 62,000 plantas/ha, fue más parecida a la que se manejó en este trabajo, los rendimientos que obtuvieron fueron aún menores a los observados con la variedad 'HQ-14'TM (1.9 t/ha) inoculada con la cepa silvestre (EM4-10 × EM2-4), esta fue la combinación entre variedad de maíz y cepa de *U. maydis*, donde se obtuvieron los promedio más bajos de productividad.

Existen factores productivos que deben ser tomados en cuenta al momento de seleccionar los maíces para la producción de agallas de cuitlacoche: la incidencia y severidad de la infección y el rendimiento de agallas (Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007; Castañeda de León y Leal Lara, 2012). Las características de calidad, como protección de las hojas y el tamaño de agallas, resultan importantes al momento de seleccionar una variedad de maíz y su correspondiente cepa de *U. maydis*. Ello debido a la importancia que estas características fenotípicas tienen en el mercado, ya que generalmente las agallas grandes son más cotizadas, por la similitud que presentan al compararse con las agallas que se producen de manera natural (Castañeda de León *et al.*, 2016). Lo anterior debe conjuntarse con el hecho de que, desde un punto de vista comercial, las agallas con peridios de colores oscuros (gris plata a casi negro), intactos, con una textura esponjosa y aspecto fresco, son más demandadas por los consumidores. Después de

cierto tiempo (> 26 días) las agallas de cuitlacoche son usualmente muy maduras para presentar una calidad aceptable, se rompen y aguadan, e inclusive, pueden aparecer algunos microorganismos contaminantes (hongos y bacterias) (Christensen, 1963; Banuett y Herskowitz, 1988; Pope y McCarter, 1992b; Valverde *et al.*, 1993; Pataky *et al.*, 1995; Villanueva-Verduzco *et al.*, 2007). Pataky (2002) observó que después del intervalo óptimo de cosecha, la calidad de las agallas se deteriora rápidamente, aun cuando las agallas continúan creciendo ligeramente. Este deterioro es evidente por una pérdida en la integridad de las agallas (forma, frescura, textura); en el tejido de las agallas se forman más teliosporas y el peridio termina por romperse. Se ha observado que las agallas que no están bien cubiertas es decir poco protegidas por las hojas, son frecuentemente más dañadas y contaminadas, antes y después de la cosecha (Valverde *et al.*, 1993).

En una serie de experimentos realizados por Castañeda de León *et al.* (2008) en la Universidad de Illinois durante el año 2005, se evaluaron 15 híbridos de maíz androestériles. Se reporta que el peso promedio de hongo/planta inoculada y el rendimiento de hongo/planta infectada, no fueron significativamente diferentes entre variedades. Los pesos fluctuaron entre 470 a 735 g/mazorca, sin embargo, la calidad de las agallas y la protección de las hojas fueron estadísticamente diferentes entre híbridos: 5 híbridos de maíz (3153RR, 3356BT, 2730, 3977 y 2656) presentaron la mejor protección de las hojas (promedio 4.3), 3 híbridos (3153RR, 3356BT y 3977) mostraron el mayor tamaño de agallas (promedio 3.4), y se consideraron como los mejores híbridos de maíz para la producción de agallas. La protección de las hojas se correlacionó positivamente con la calidad de las agallas, pero negativamente con el peso de las agallas.

No obstante, que algunas características productivas y de correlación en los resultados obtenidos por Castañeda de León *et al.* (2008) son parecidos a los reportados en este trabajo, en las variables de calidad como protección de las hojas y el tamaño de agallas, los resultados obtenidos por Castañeda de León *et al.*, con las mejores variedades de maíz, fueron superiores a los resultados de esta investigación. No obstante, estos autores reportaron que con algunas variedades de maíz evaluadas, para la protección de las hojas y el tamaño de agallas obtuvieron valores promedio de 3.4 y 2.5, respectivamente, estos no son malos resultados y son semejantes a los encontrados en esta investigación. Recientemente, Valdez-Morales *et al.* (2009) evaluaron 15

genotipos de maíz criollo con floración intermedia, encontraron diferencias significativas entre los maíces, y sugieren que la calidad del cuitlacoche mejora cuando las variedades de maíz utilizadas presentan mazorcas grandes y buena protección de las hojas. En este sentido, todas las variedades de maíz evaluadas en este trabajo presentaron buenas características de calidad, en la protección de las hojas (3.7) y tamaño de agallas (2.2), aceptables para producción controlada de agallas de cuitlacoche en México. Los resultados antes mencionados ponen de manifiesto la importancia de seleccionar variedades de maíz y cepas de *U. maydis*, que combinadas presenten características sobresalientes desde un punto de vista comercial, tales como mejor protección de las hojas y mayor tamaño de agallas.

Las variedades de maíz responden de manera diferente a la infección de acuerdo a la virulencia de la cepa de *U. maydis*, la localidad, el clima antes y después de la inoculación, y la densidad de inóculo, entre otros (Castañeda de León *et al.*, 2016). En el caso de la producción de agallas de cuitlacoche Castañeda de León y Leal Lara (2012) mencionan que, “es importante descartar el concepto de “variedades susceptibles” y más bien definir puntualmente qué características deben presentar los maíces seleccionados para la producción de este alimento fúngico. Una opción interesante en este sentido es “diseñar” variedades de maíz idóneas para la infección, localmente adaptadas, que presenten características apropiadas para un sitio geográfico, ambiente y época del año en particular. Hoy en día existe una amplia gama de variedades de maíz híbrido en las cuales se puede inducir la infección artificial mediante la inoculación directa con cepas de *Ustilago maydis*. En este tipo de materiales, para lograr una eficiente producción de agallas de cuitlacoche, además de considerar las características “productivas”, otra condición fundamental es seleccionar variedades de maíz con porte bajo, precoces, tamaño grande de mazorca, buena protección de las hojas, agallas de medianas a grandes, y con tiempos de maduración cortos. Adicionalmente, se deben considerar las características sensoriales como el sabor, y la vida de anaquel, entre otras. Todos estos atributos deberán ser orientados a satisfacer un mercado en particular” (Castañeda de León y Leal Lara, 2012).

8.3.4. ANÁLISIS SENSORIAL (PERFIL FLASH) (2° EXPERIMENTO)

En esta etapa, debido a que la variedad de maíz criollo ‘HQ-14’TM presentó periodos fenológicos demasiado largos, se dificultó tener las muestras a tiempo, complicando la posibilidad de realizar su análisis sensorial. Adicionalmente, los resultados de productividad de agallas fueron los más bajos en comparación con el resto de los híbridos de maíz. Por ello se tomó la decisión de omitir el análisis sensorial con dicho material. En esta serie de análisis sensoriales llevados a cabo con las agallas colectadas en cuatro variedades de maíz, e inoculadas con tres cepas seleccionadas de *U. maydis*, se generaron nuevamente 23 atributos, tres de apariencia, cuatro de olor, cuatro de textura en mano, cinco de textura en boca y siete atributos de sabor.

En los Análisis Generalizados Procrusteno realizados para todas las características sensoriales en las diferentes combinaciones híbrido de maíz-cepas de *U. maydis*, con los dos ejes principales se concentró el 100% de la variación total de los datos.

8.3.4.1. ATRIBUTOS DE APARIENCIA

En la figura 27 se muestra para la variedad híbrido ‘Amarillo’TM, que las cepas 3 y 5 se correlacionaron de forma positiva con el eje uno, en el caso de la cepa (PK-a1 b1 × PK-a2 b2) número 3, se correlacionó de forma negativa al eje dos y sus agallas presentaron una coloración gris oscura, no obstante resultaron ser las más alejadas de todos los atributos de apariencia. La cepa del Estado de México (EM4-10 × EM2-4) número 5, presentó un color claro, y se correlacionó de forma positiva con el eje dos, mientras que las agallas producidas con la cepa híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, se correlacionaron negativamente al eje uno y positivamente al eje dos, presentando una apariencia brillante.

Como se muestra en la figura 28, para la variedad de maíz híbrido ‘Canelo’TM, se observó que las cepas números 3 (PK-a1 b1 × PK-a2 b2) y 5 (EM2-4 × EM4-10) se correlacionaron de forma positiva con el eje uno. Las agallas de ambas cepas fueron opuestas entre sí, y además alejadas de cualquier atributo de color, no obstante resultaron poco cercanas al atributo de color de la base (color crema). En el caso de la cepa híbrido EM1-6 × FB1 número 9, se correlacionó negativamente al eje uno y positivamente al eje dos, presentando agallas con color gris oscuro-negro y brillante.

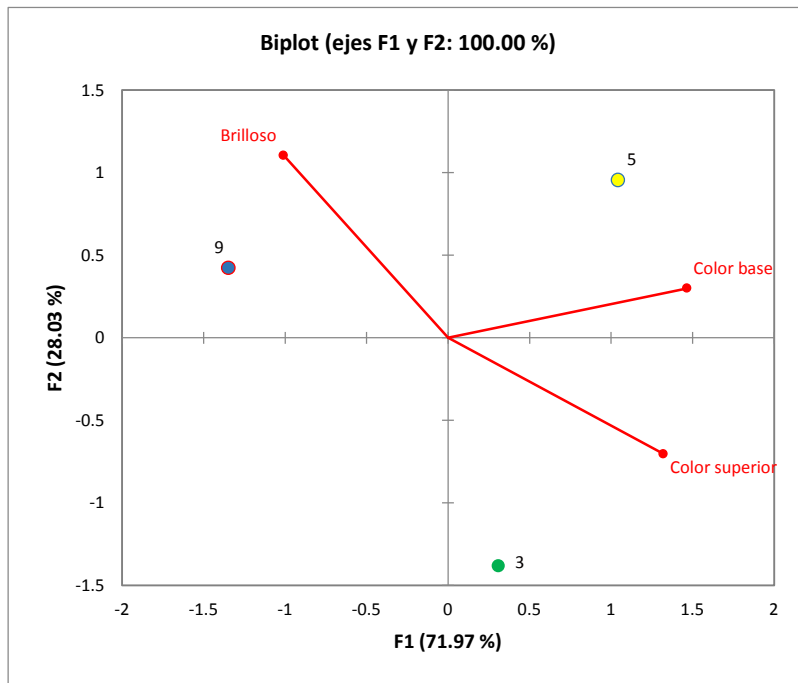


Figura 27. Espacio sensorial para atributos de apariencia de agallas producidas en la variedad ‘Amarillo’TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

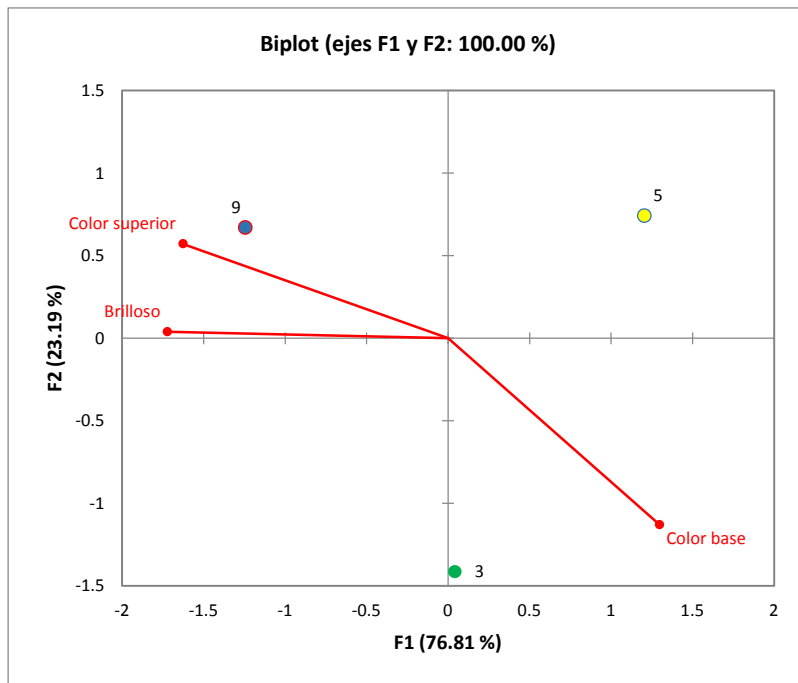


Figura 28. Espacio sensorial para atributos de apariencia de agallas producidas en la variedad ‘Canelo’TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

En la figura 29, se muestran los resultados para la variedad ‘Hoja de oro’TM, para la cepa (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*) número 3, y para la cepa híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, se encontró una correlación negativa con el eje uno; las agallas de estas cepas se posicionaron de manera opuesta entre sí, con respecto al eje dos; quedando alejadas entre sí y de todos los atributos de apariencia. Por el contrario, en el caso de la cepa silvestre del Estado de México (EM4-10 × EM2-4) número 5, sus agallas fueron cercanas a los atributos color base y superior, y se correlacionaron de forma positiva con los ejes uno y dos.

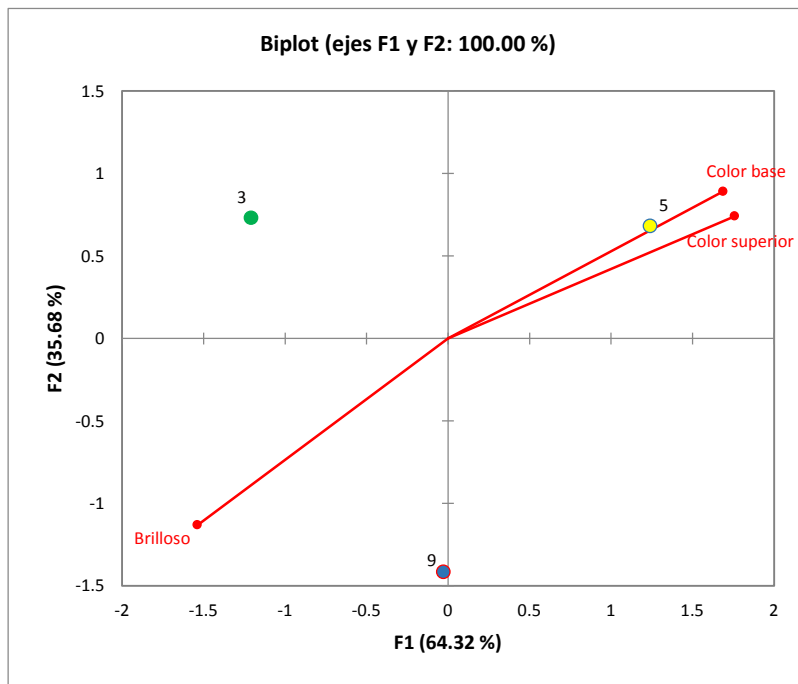


Figura 29. Espacio sensorial para atributos de apariencia de agallas producidas en la variedad ‘Hoja de oro’TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

Para la variedad de maíz ‘Tornado XR’TM, se observó para la cepa 5 del Estado de México (EM4-10 × EM2-4) que se correlacionó de forma negativa con el eje uno y de manera positiva con el eje dos, las agallas de esta cepa se posicionaron alejadas de todos los atributos de apariencia. La cepa híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, se correlacionó positivamente con el eje uno, y negativamente al eje dos, presentando de igual forma agallas con atributos de apariencia más alejados del resto de los demás. Las agallas de la cepa de referencia (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*) número 3, se correlacionaron de forma positiva en ambos ejes y presentaron una apariencia brillante y color beige claro (**Fig. 30**).

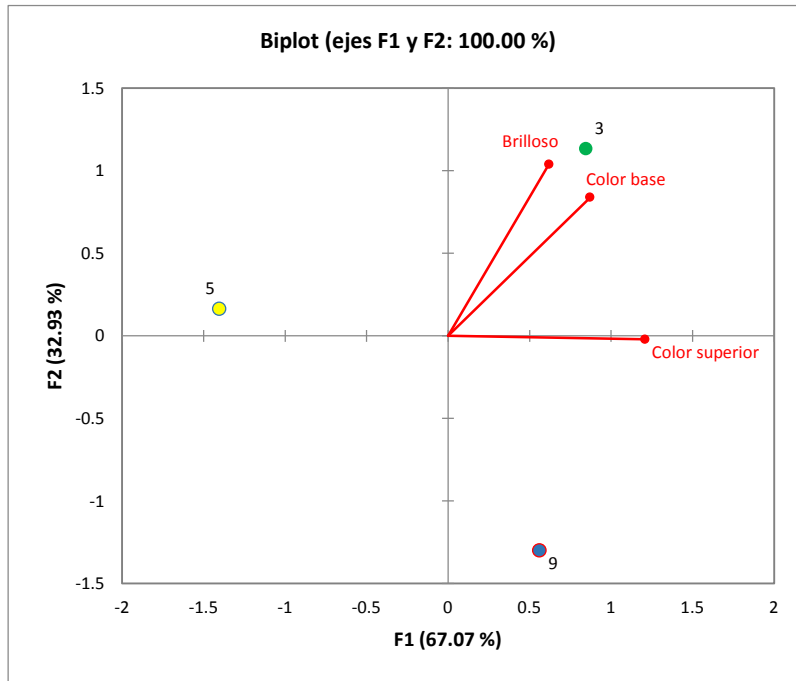


Figura 30. Espacio sensorial para atributos de apariencia de agallas producidas en la variedad ‘Tornado XR’TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

8.3.4.2. ATRIBUTOS DE OLOR

Se registró variabilidad entre las cepas estudiadas en los resultados del espacio sensorial generado por los cuatro atributos de olor (notas verdes, tierra mojada, nota amarga y aceitoso). Como se muestra en la figura 31, en la variedad de maíz híbrido ‘Amarillo’TM, para las agallas de la cepa de referencia 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), se obtuvo una correlación positiva con ambos ejes, presentando un predominio de olor a tierra mojada. En el caso de la cepa silvestre del Estado de México (EM4-10 × EM2-4) número 5, sus agallas presentaron una nota amarga, y se correlacionaron de forma negativa con ambos ejes. Las agallas producidas con la cepa híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, presentaron una correlación negativa al eje uno y positiva al dos, con un olor a notas verdes.

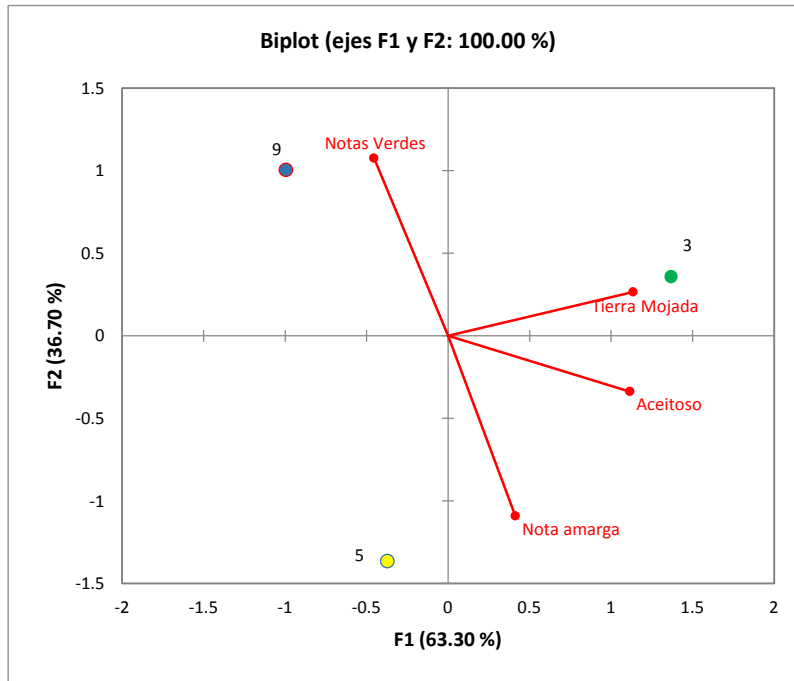


Figura 31. Espacio sensorial para atributos de olor de agallas producidas en la variedad ‘Amarillo’™, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

En la figura 32 se muestra el AGP para el ‘Canelo’™, en este híbrido de maíz con las agallas de la cepa número 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), se obtuvo una correlación negativa en ambos ejes, con un olor aceitoso. En el caso de la cepa del Estado de México (EM4-10 × EM2-4) número 5, sus agallas presentaron una nota amarga, y se correlacionaron de forma positiva con los ejes uno y dos. La cepa híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, se correlacionó negativamente al eje uno y positivamente al dos, presentando agallas con el olor más alejado del resto de los atributos.

Para el híbrido de maíz ‘Hoja de oro’™, las agallas producidas con la cepa número 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), se correlacionaron de forma positiva con ambos ejes y presentaron un olor preponderante aceitoso. Las cepas 5 y 9 se ordenaron de forma negativa con el eje uno. En el caso de la cepa 5 del Estado de México (EM4-10 × EM2-4), sus agallas presentaron un olor sobresaliente a tierra mojada. La cepa híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, se correlacionó negativamente al eje dos, y resultó ser la cepa con las agallas más alejadas del resto de atributos de olor (**Fig. 33**).

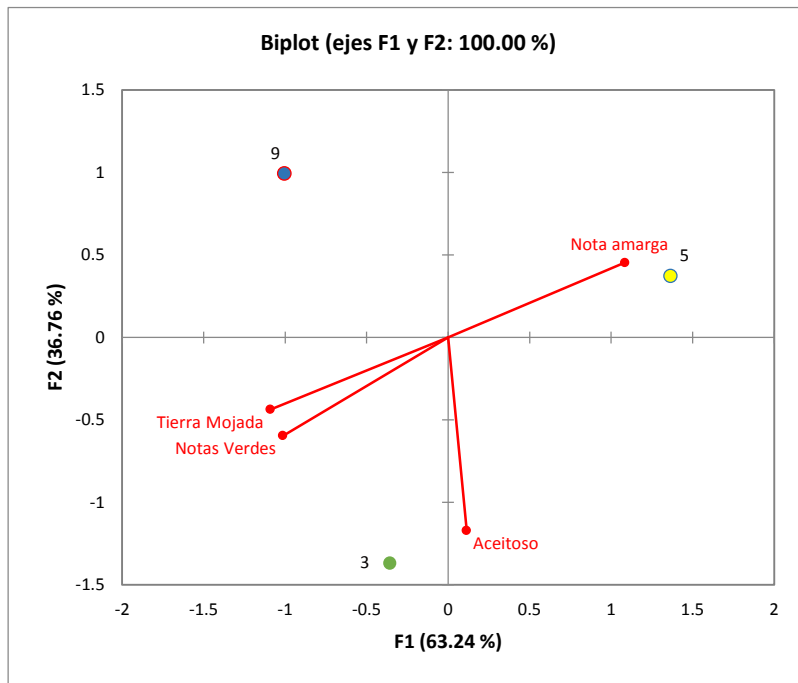


Figura 32. Espacio sensorial para atributos de olor de agallas producidas en la variedad 'Canelo'™, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

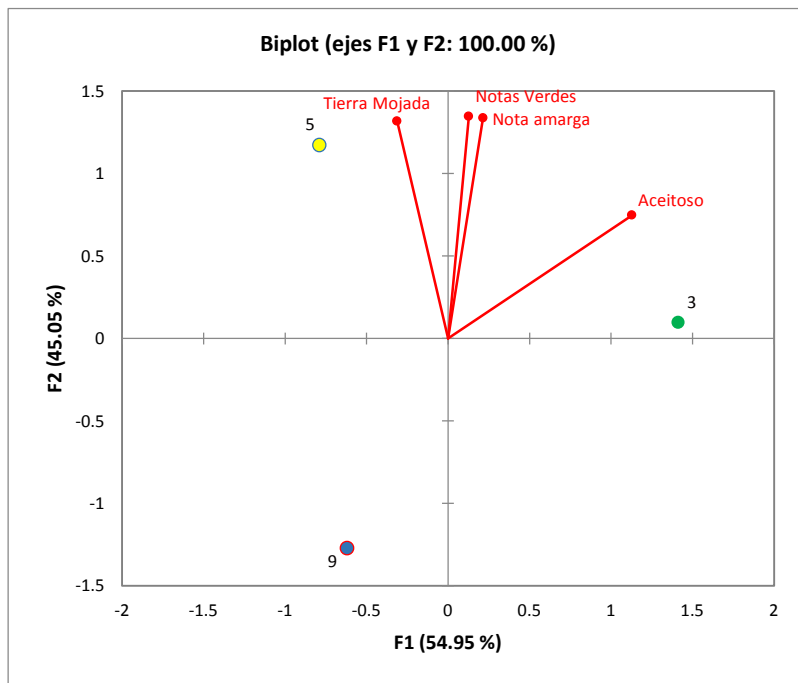


Figura 33. Espacio sensorial para atributos de olor de agallas producidas en la variedad 'Hoja de oro'™, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

En la variedad híbrido 'Tornado XR'™ como se muestra en la figura 34, se obtuvo para las cepas 5 y 9 una correlación positiva con el eje dos; en el caso de la cepa del Estado de México (EM4-

10 × EM2-4) número 5, el olor de sus agallas fue preponderantemente aceitoso, y se correlacionó de forma positiva con el eje uno. La cepa híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, se correlacionó negativamente al eje uno y positivamente al dos, presentando agallas con un olor a nota amarga y tierra mojada. Por otra parte, la cepa número 3 (PK-a1 b1 × PK-a2 b2), se relacionó de forma negativa al eje dos y presentó un olor entre tierra mojada y notas verdes, no obstante, resultaron ser las agallas con notas de olor más alejadas entre los distintos atributos.

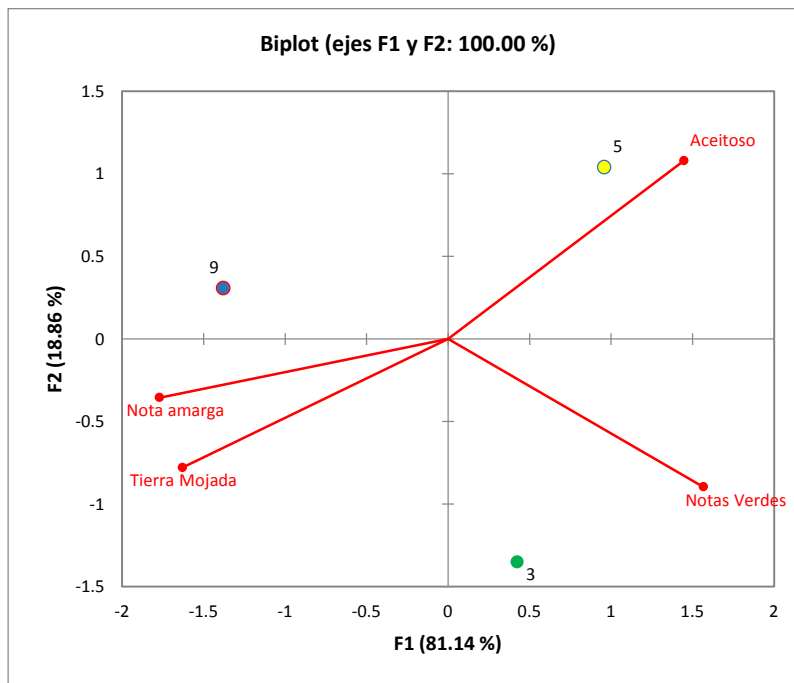


Figura 34. Espacio sensorial para atributos de olor de agallas producidas en la variedad ‘Tornado XR’TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

8.3.4.3. ATRIBUTOS DE TEXTURA EN MANO

Como se muestra en la figura 35, para la variedad híbrido ‘Amarillo’TM se observó para las cepas 5 y 9 una correspondencia positiva con el eje uno. Las agallas producidas con la cepa del Estado de México (EM4-10 × EM2-4) número 5, no obstante que se posicionaron alejadas de los atributos de textura en mano, se colocaron entre blando y fracturable, correlacionándose positivamente con el eje dos. La cepa híbrido 9 (EM1-6 × FB1), se relacionó positivamente al eje uno y negativamente al dos, resultando ser la cepa que produjo agallas con características de textura en mano más alejadas de todos los atributos. La cepa (PK-a1 b1 × PK-a2 b2) número 3, se correlacionó de forma positiva al eje dos y presentó una textura preponderantemente húmeda.

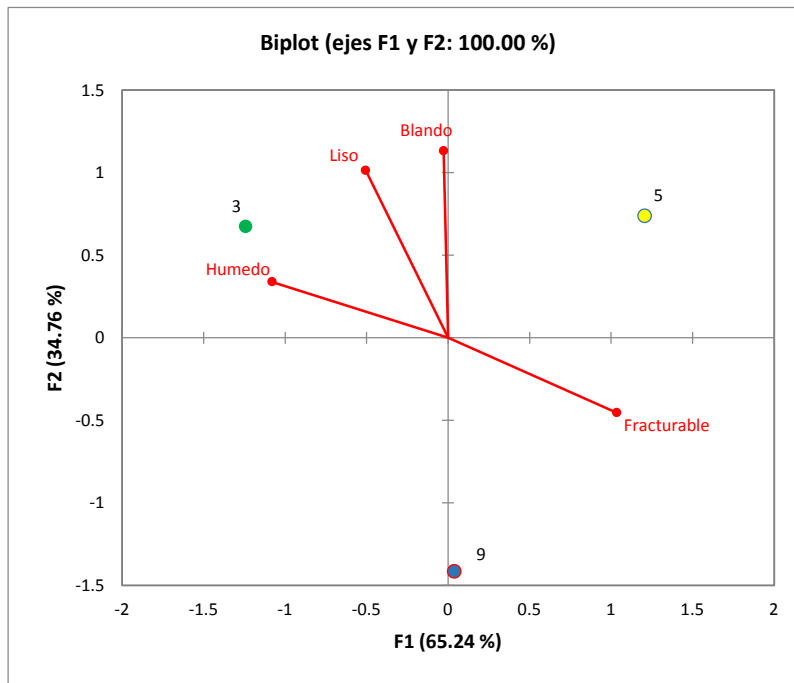


Figura 35. Espacio sensorial para atributos de textura en mano de agallas producidas en la variedad ‘Amarillo’TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

En la figura 36, se muestra el AGP para la variedad de maíz ‘Canelo’TM. Se observa para la cepa 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*) una correlación positiva con el eje uno y negativa al dos, adicionalmente sus agallas presentaron una textura en mano entre blando y húmedo. La cepa número 5 del Estado de México (EM4-10 × EM2-4), presentó una textura en mano fracturable, correlacionándose positivamente en ambos ejes. De forma contraria, la cepa híbrido número 9 (EM1-6 × FB1) produjo agallas de cuitlacoche que se acomodaron negativamente en ambos ejes, y se posicionaron en el lugar más alejado de todos los atributos textura en mano.

Para la variedad híbrido ‘Hoja de oro’TM (**Fig. 37**), en las agallas producidas por la cepa número 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), se observó una correlación positiva al eje dos y negativa al uno, presentando una textura en mano blanda. En este sentido, la cepa del Estado de México (EM4-10 × EM2-4) número 5, generó agallas que se ordenaron de forma positiva con el eje uno y negativa al dos, colocándose cercana a la textura en mano fracturable. La cepa híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, se correlacionó negativamente en ambos ejes, con agallas que presentaron una textura lisa en mano.

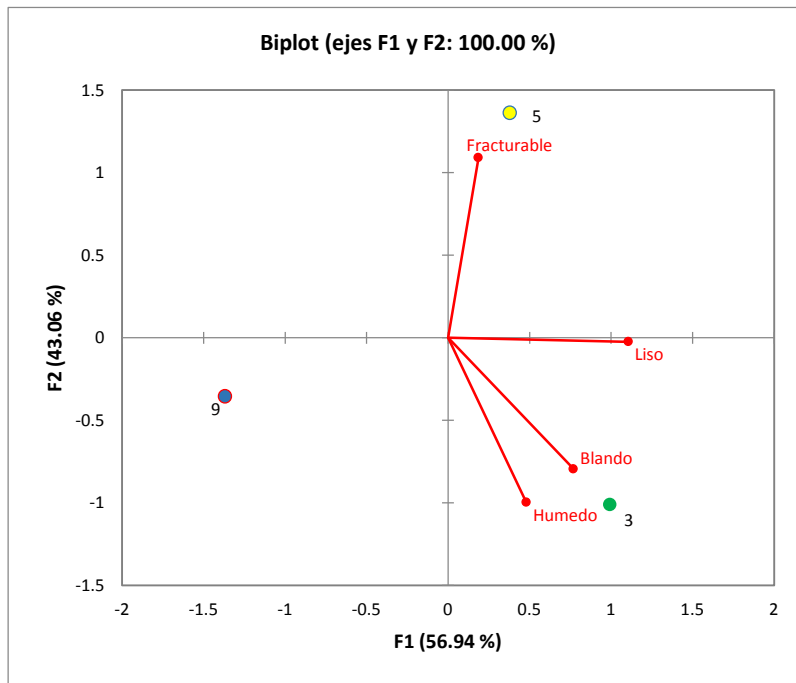


Figura 36. Espacio sensorial para atributos de textura en mano de agallas producidas en la variedad 'Canelo'TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

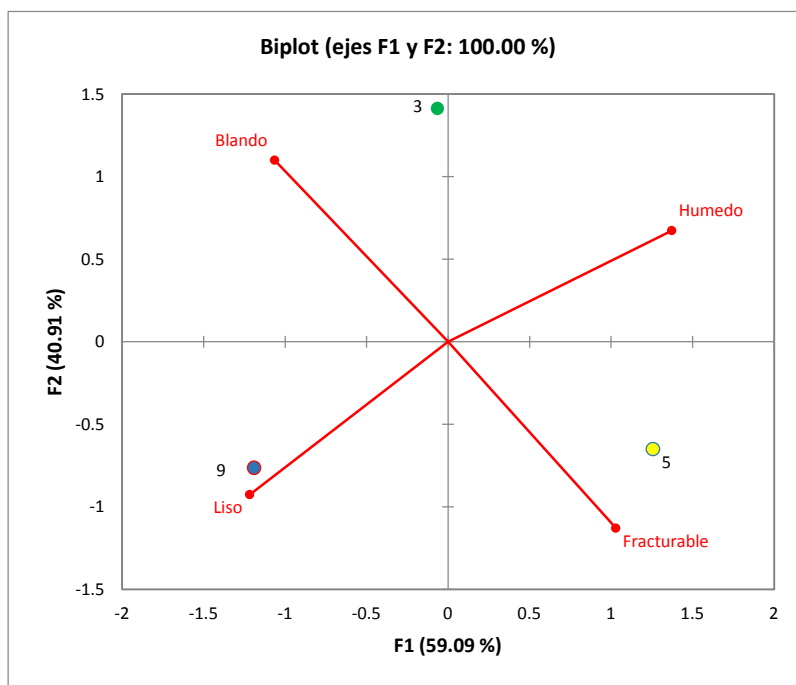


Figura 37. Espacio sensorial para atributos de textura en mano de agallas producidas en la variedad 'Hoja de oro'TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

En la figura 38, se muestra el AGP para el maíz ‘Tornado XR’TM, las agallas producidas con la cepa número 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), se correlacionaron de manera negativa al eje dos y presentaron una textura en mano fracturable y húmeda. La cepa silvestre del Estado de México (EM4-10 × EM2-4) número 5, produjo agallas blandas, posicionándose de forma positiva en ambos ejes. La cepa híbrido 9 (EM1-6 × FB1), se relacionó negativamente al eje uno y positivamente al dos, presentando agallas con una textura en mano más alejada de todos los atributos.

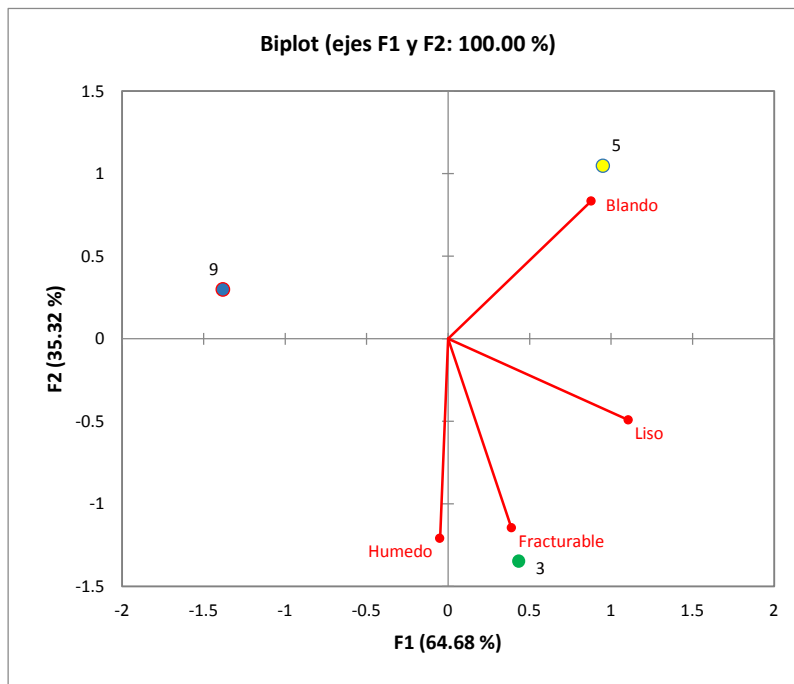


Figura 38. Espacio sensorial para atributos de textura en mano de agallas producidas en la variedad ‘Tornado XR’TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

8.3.4.4. ATRIBUTOS DE TEXTURA EN BOCA

Con respecto a los atributos de textura en boca (dureza, crujiente, jugoso, arenoso y fibroso), en la variedad de maíz ‘Amarillo’TM, la cepa de referencia 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*) se correlacionó de forma negativa al eje dos y presentó agallas con una textura en boca arenosa. Las cepas del Estado de México número 5 (EM4-10 × EM2-4) y la cepa híbrido número 9 (EM1-6 × FB1), se ubicaron en valores negativos del eje uno. En el caso de la cepa silvestre número 5, sus agallas fueron jugosas y fibrosas al evaluar la textura en boca. La cepa híbrido 9, se posicionó negativamente al eje uno y positivamente al eje dos, resultando ser la cepa que produjo agallas de cuitlacoche más alejadas en todos los atributos de textura en boca (**Fig. 39**).

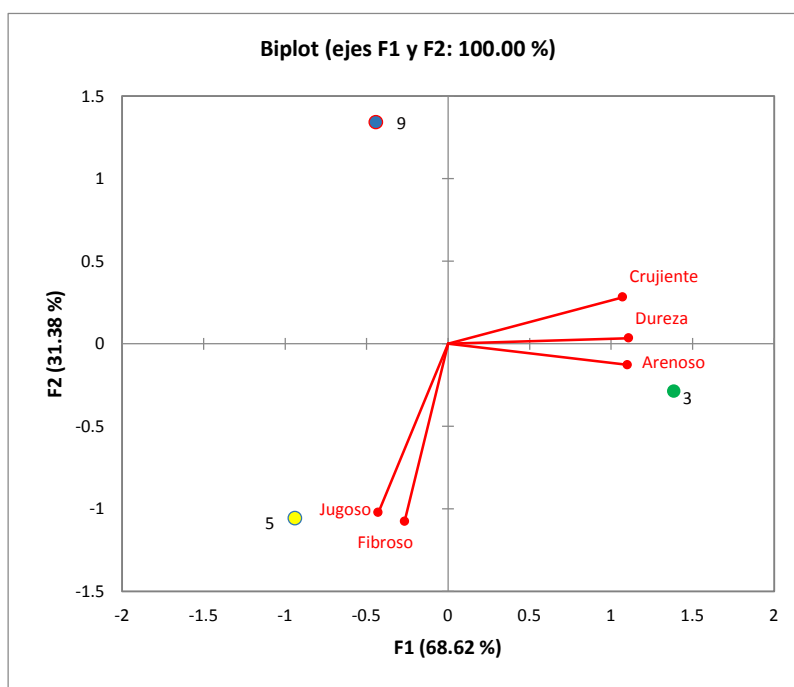


Figura 39. Espacio sensorial para atributos de textura en boca de agallas producidas en la variedad ‘Amarillo’TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

Para el híbrido de maíz comercial ‘Canelo’TM, en la figura 40 se observa para la cepa de referencia 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), una correlación negativa con el eje dos, presentando agallas con una textura en boca preponderante dura. En el caso de la cepa silvestre número 5 del Estado de México (EM4-10 × EM2-4), aún y cuando sus agallas se colocaron entre los atributos arenoso y jugoso, fueron más cercanas al primero, relacionándose negativamente con ambos ejes. La cepa híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, se correlacionó de forma positiva con el eje dos y nuevamente se posicionó con una textura en boca de agallas más alejada de todos los atributos.

En el maíz ‘Hoja de oro’TM, se observó para las cepas 3 y 9 una correlación opuesta entre sí y negativa con el eje dos, la cepa (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*) número 3 generó agallas con atributos de textura en mano preponderante a crujiente y fibroso, se correlacionó positivamente con el eje uno. En el caso de la cepa silvestre del Estado de México (EM4-10 × EM2-4) número 5, sus agallas fueron arenosas, y se ordenó negativamente con el eje uno. Las agallas de la cepa híbrido número 9 (EM1-6 × FB1), se correlacionaron de forma negativa con ambos ejes, y fueron jugosas al evaluar la textura en mano (**Fig. 41**).

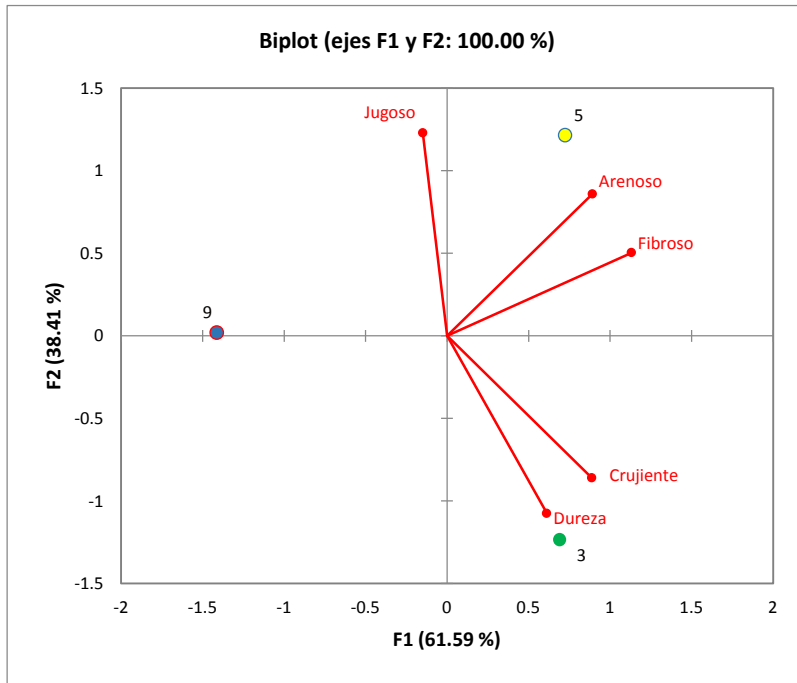


Figura 40. Espacio sensorial para atributos de textura en boca de agallas producidas en la variedad 'Canelo'TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

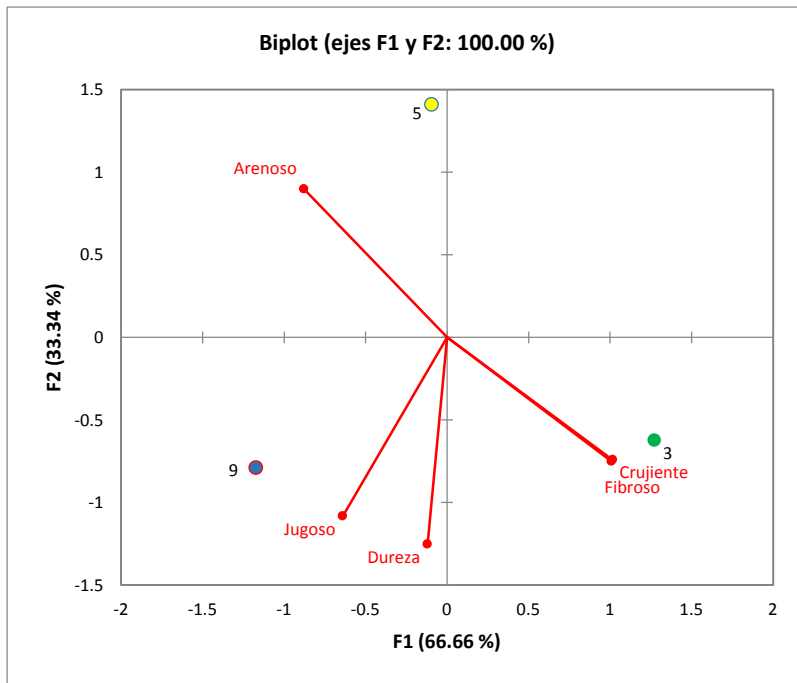


Figura 41. Espacio sensorial para atributos de textura en boca de agallas producidas en la variedad 'Hoja de oro'TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

En la figura 42, se muestra para la variedad de maíz híbrido 'Tornado XR'TM, que las agallas de la cepa de referencia 3 (PK-a1 b1 × PK-a2 b2) se correlacionaron negativamente al eje dos y

presentaron una textura en boca jugosa. Para la cepa silvestre del Estado de México (EM4-10 × EM2-4) número 5, sus agallas fueron fibrosas y duras, correlacionándose positivamente con ambos ejes. La cepa híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, se aglutinó negativamente al eje uno y positivamente al dos, presentando en sus agallas una textura en boca arenosa, no obstante resultó ser la cepa más alejada del resto de los atributos.

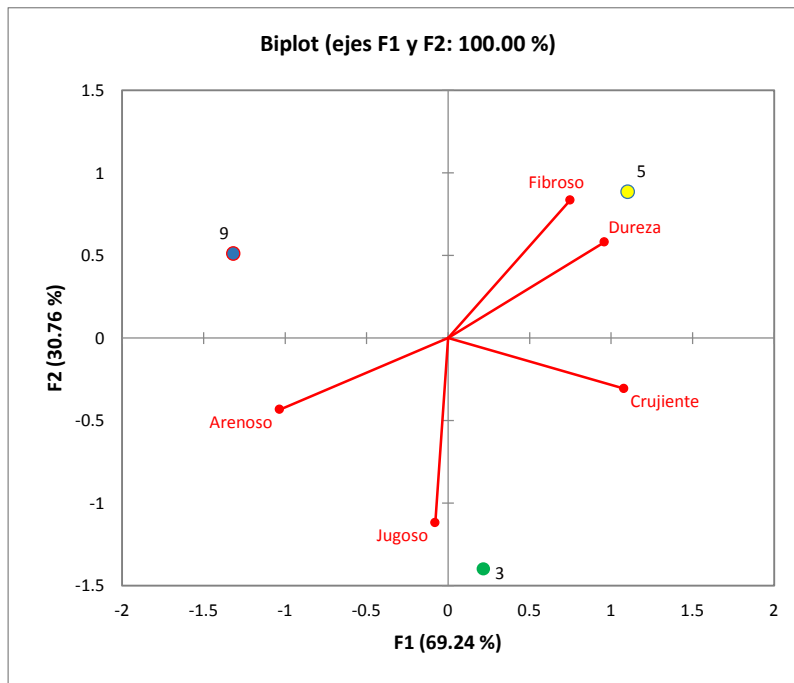


Figura 42. Espacio sensorial para atributos de textura en boca de agallas producidas en la variedad ‘Tornado XR’TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

8.3.4.5. ATRIBUTOS DE SABOR

Para los atributos de sabor (dulce, maíz, amargo, tierra, ácido, umami y astringente), en la figura 43 se muestra que para la variedad de maíz ‘Amarillo’TM, las agallas de la cepa de referencia 3 (PK-a1 b1 × PK-a2 b2) se correlacionaron de forma positiva en ambos ejes, presentando un sabor preponderante a maíz. En el caso de la cepa silvestre del Estado de México (EM4-10 × EM2-4) número 5, sus agallas fueron dulces, ordenándose de forma negativa y positiva con los ejes uno y dos, respectivamente. La cepa híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, se correlacionó negativamente en ambos ejes, y nuevamente resultó ser la cepa que produjo agallas más alejadas de todos los atributos de sabor.

En la figura 44, se presenta los atributos de sabor para la variedad de maíz ‘Canelo’TM. En la cepa silvestre número 3 (PK-a1 b1 × PK-a2 b2), se observó en sus agallas una correlación negativa con los ejes uno y dos, presentando un sabor amargo y umami. Para el caso de la cepa del Estado de México (EM4-10 × EM2-4) número 5, sus agallas se posicionaron preferentemente en el sabor astringente, y cercanas a los atributos de sabor a maíz y dulce, correlacionando de forma positiva con ambos ejes. La cepa híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, se correlacionó positivamente con el eje dos, y se posicionó cercana a los atributos de sabor a tierra y ácido.

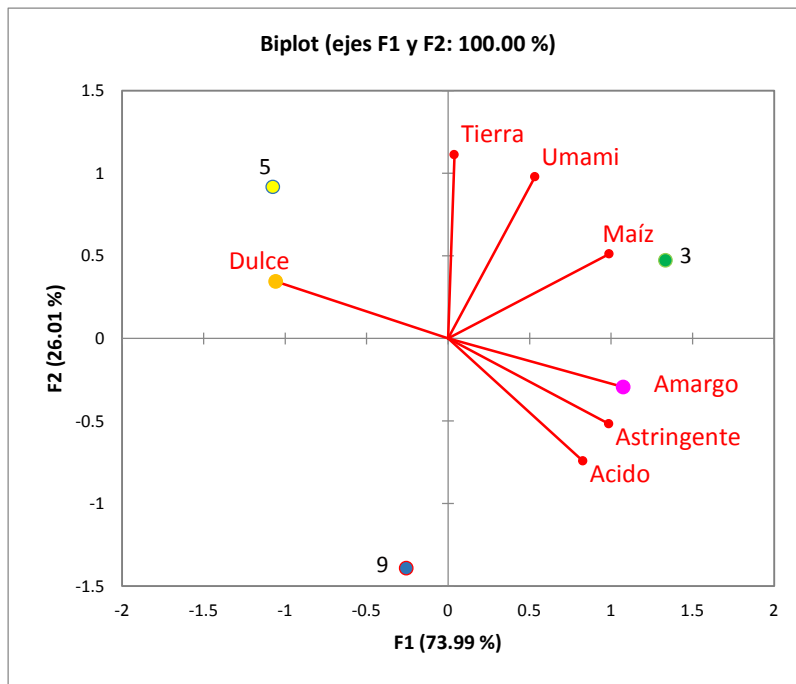


Figura 43. Espacio sensorial para atributos de sabor de agallas producidas en la variedad ‘Amarillo’TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

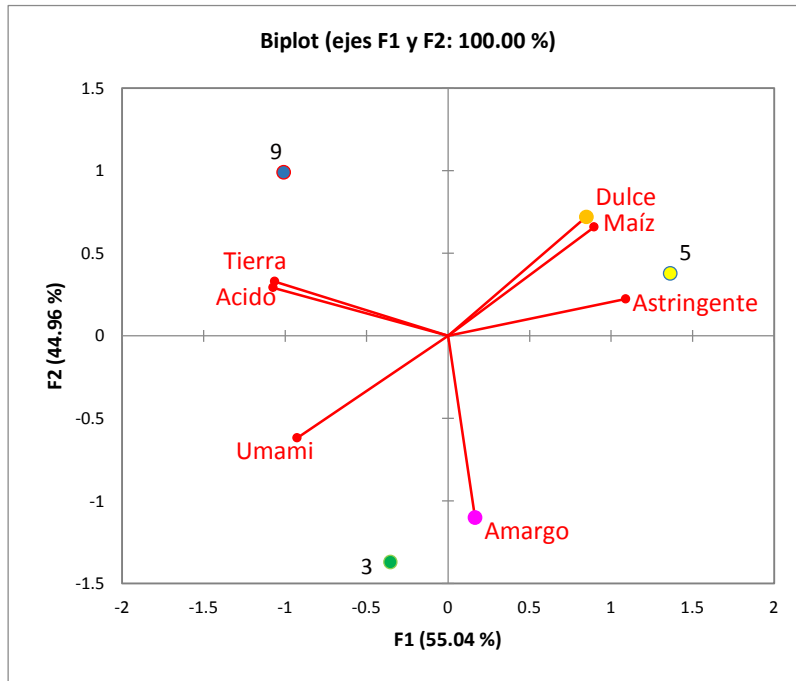


Figura 44. Espacio sensorial para atributos de sabor de agallas producidas en la variedad ‘Canelo’TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

En la figura 45 del AGP, se muestra que en la variedad de maíz ‘Hoja de oro’TM, para la cepa de referencia (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*) número 3, se correlacionó negativamente y positivamente en los ejes uno y dos, respectivamente, presentando agallas con un sabor dominante amargo. En el caso de la cepa silvestre número 5 (EM4-10 × EM2-4), sus agallas fueron más cercanas al atributo de sabor a tierra y umami, correlacionándose de forma positiva con los ejes uno y dos. Las agallas de la cepa híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, se correlacionaron negativamente en ambos ejes, con sabor dulce y maíz.

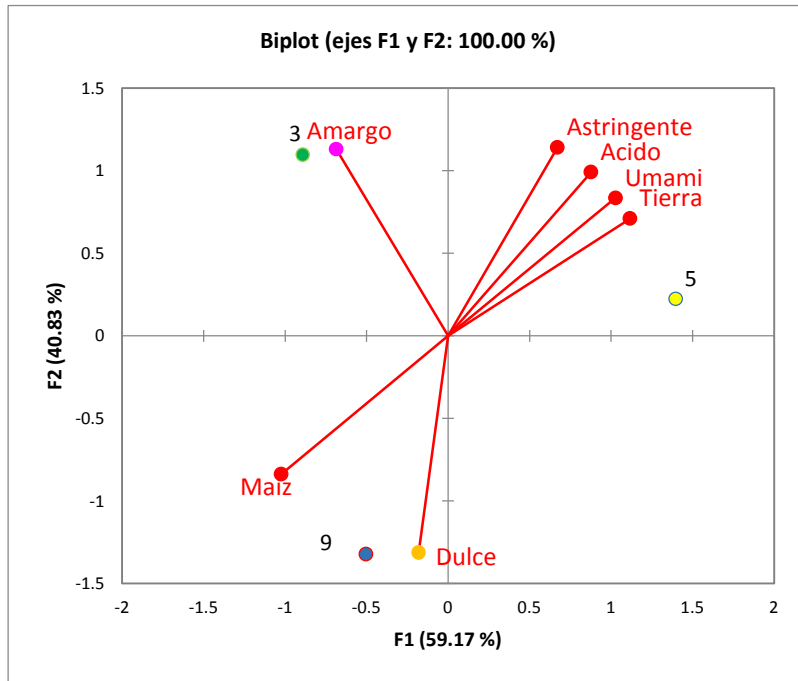


Figura 45. Espacio sensorial para atributos de sabor de agallas producidas en la variedad ‘Hoja de oro’TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

Como se muestra en la figura 46, para la variedad de maíz ‘Tornado XR’TM, se obtuvo para la cepa de referencia 3 (PK-a1 b1 × PK-a2 b2), un sabor de agallas que se posicionó de forma negativa y positiva en los ejes uno y dos, respectivamente, presentando sabor a umami. La cepa silvestre (EM4-10 × EM2-4) número 5, tuvo sabor a maíz y dulce, presentando una correlación de forma negativa y positiva con los ejes uno y dos, respectivamente. La cepa híbrido número 9 (EM1-6 × FB1), se relacionó negativamente al eje dos y positivamente al uno, con un sabor predominante a astringente y cercano a ácido y tierra.

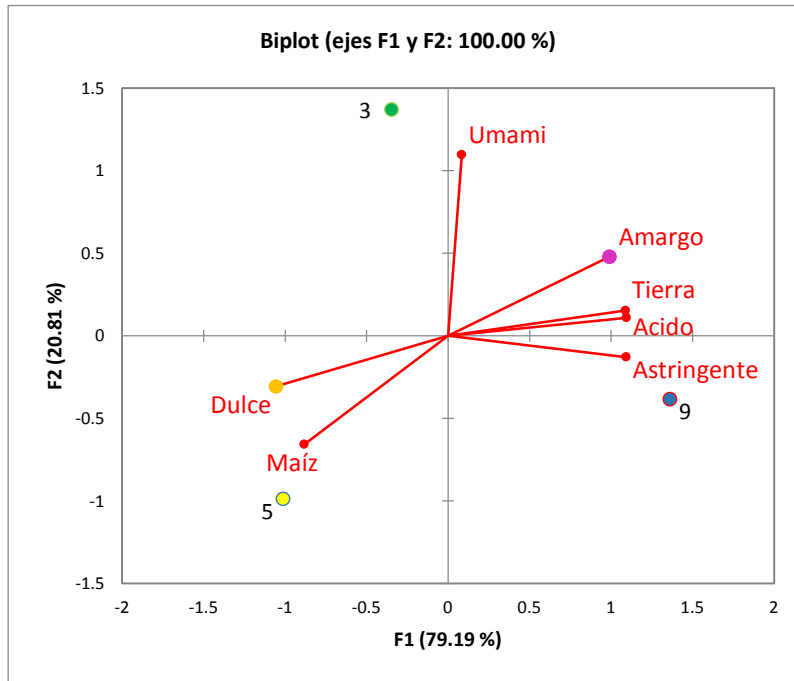


Figura 46. Espacio sensorial para atributos de sabor de agallas producidas en la variedad ‘Tornado XR’TM, con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

8.3.4.6. DISCUSIÓN / ANÁLISIS CONJUNTO

Poco se ha estudiado sobre las características sensoriales de las agallas de cuitlacoche. Pataky y Chandler (2003), proporcionaron a un chef agallas para “evaluar el sabor”, estas se obtuvieron con dos híbridos, uno de maíz dulce y otro androestéril, con dos tiempos de cosecha, 12 y 17 días post-inoculación. Las agallas fueron evaluadas subjetivamente con base en color, textura y sabor. Los autores refieren que el sabor de las agallas producidas en maíz androestéril fue ligeramente diferente a las del maíz dulce, aún y cuando ambos sabores eran “aceptables”. Los atributos sensoriales se han vuelto importantes en la aceptación comercial de las agallas cultivadas de cuitlacoche (Castañeda de León *et al.*, 2016).

Los resultados obtenidos en esta etapa del trabajo experimental, muestran las diferencias en los espacios sensoriales para la segunda prueba sensorial. Se puede observar que los valores obtenidos en los dos ejes del AGP (F1 y F2) para todos los mapas sensoriales fueron de 100%, estos resultados son superiores a los obtenidos en el primer experimento (diez cepas de *U. maydis* VS. una variedad de maíz), y a los resultados descritos por Dairou y Sieffermann (2002), Lassoued *et al.* (2008) y Ramírez-Rivera *et al.* (2009) quienes obtuvieron valores de 69%, 76% y 82% aplicando la misma técnica de descripción. Los resultados obtenidos muestran una













excelente correspondencia entre las configuraciones de consenso (Delarue y Sieffermann, 2004; Nestrud y Lawless, 2008). Adicionalmente permiten proponer que existe gran variabilidad en términos sensoriales entre los diferentes aislamientos de *U. maydis* y su interacción con las variedades de maíz. En este sentido, se pudo observar que en la mayoría de los atributos sensoriales, de apariencia, de olor, de textura en mano, de textura en boca y sabor, las agallas producidas con los diferentes grupos de cepas (de referencia, silvestres e híbridos) y variedades de maíz ('Amarillo'TM, 'Canelo'TM, 'Hoja de oro'TM y 'Tornado XR'TM) presentaron diferencias muy marcadas.

No obstante lo antes dicho, en el cuadro 25, pueden observarse algunas excepciones al comportamiento mencionado. En la característica de olor, la cepa cinco en las variedades de maíz 'Amarillo'TM y 'Canelo'TM, presentó semejanzas en el atributo nota amarga. En el atributo textura en mano la cepa de referencia (PK-a1 b1 × PK-a2 b2) número 3, presentó similitud en los atributos blando y húmedo, y con la cepa silvestre número 5 (EM4-10 × EM2-4), en los atributos blando y fracturable, en las variedades 'Amarillo'TM, 'Canelo'TM y 'Hoja de oro'TM. En la característica sensorial de sabor, la cepa 3 presentó semejanza en el atributo Amargo, con la variedad 'Canelo'TM y 'Hoja de oro'TM. La cepa silvestre número 5 (EM4-10 × EM2-4), presentó sabores predominantes a tierra y maíz en las variedades 'Hoja de oro'TM y 'Tornado XR'TM, respectivamente. En la cepa híbrido número 9 (EM1-6 × FB1), el sabor de las agallas en la variedad 'Hoja de oro'TM fue excelente desde un punto de vista sensorial de sabor, ya que predominaron los sabores dulce y maíz.

Es importante recalcar que en esta serie de evaluaciones, la cepa híbrido 9 (EM1-6 × FB1) fue la que produjo agallas de cuitlacoche que en los mapas obtenidos se posicionaron más alejada en varios de los atributos sensoriales (**Cuadro 25**). No obstante, como ya se ha discutido con anterioridad dentro de los diferentes atributos sensoriales, los de sabor son unos de los de mayor importancia desde un punto de vista de aceptación comercial (Castañeda de León *et al.*, 2016). En este sentido, se observó que en el sabor existieron combinaciones entre cepas de *U. maydis* y variedades de maíz, que produjeron agallas de cuitlacoche con buenas notas, sobre todo en las variedades de maíz Canelo'TM 'Hoja de oro'TM y 'Tornado XR'TM, las cuales también fueron las variedades que produjeron mayor cantidad de agallas. Ello indica que se pueden seleccionar

combinaciones específicas entre cepas del hongo y variedades de maíz, para producir agallas de cuitlacoche que satisfagan un mercado en particular. Las variedades de maíz Canelo[™] ‘Hoja de oro’[™] y ‘Tornado XR’[™] y las tres cepas seleccionadas, de referencia número 3 (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), silvestre número 5 (EM4-10 × EM2-4), e híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, resultaron en combinaciones que presentaron buenas características fenotípicas, fenológicas, de producción y sensoriales de agallas de cuitlacoche.

Cuadro 25. Comparación de atributos sensoriales en diferentes variedades de maíz inoculadas con tres cepas seleccionadas de *Ustilago maydis*.

Híbrido de maíz	Cepa (No)	Color en AGP	Entrecruzamiento	CARACTERÍSTICAS SENSORIALES (atributos sensoriales)				
				Apariencia	Olor	Textura en mano	Textura en boca	Sabor
Amarillo	3		PK-a1b1 × PK-a2b2	**	tierra mojada	humedo	arenoso	maíz
	5		EM4-10 × EM2-4	brillante y color base (crema a beige)	nota amarga	blando y fracturable	jugoso y fibroso	dulce y tierra
	9		EM3-6 × FB2	brillante	nota verde	**	**	**
Canelo	3		PK-a1b1 × PK-a2b2	**	aceitoso	blando y humedo	dureza	amargo
	5		EM4-10 × EM2-4	**	nota amarga	fracturable	jugoso y arenoso	astringente
	9		EM3-6 × FB2	color superior (negro a gris)	**	**	**	tierra y ácido
Hoja de oro	3		PK-a1b1 × PK-a2b2	**	aceitoso	blando y humedo	crujiente y fibroso	amargo
	5		EM4-10 × EM2-4	color base (crema a beige) color superior (negro a gris)	tierra mojada	fracturable	arenoso	tierra
	9		EM3-6 × FB2	**	**	liso	jugoso	maíz y dulce
Tornado XR	3		PK-a1b1 × PK-a2b2	brillante y color base (crema a beige)	tierra mojada y nota verde	fracturable	jugoso	umami
	5		EM4-10 × EM2-4	**	aceitoso	blando	dureza y fibroso	maíz
	9		EM3-6 × FB2	**	nota amarga	**	arenoso	astringente

** cepas con características sensoriales muy alejados de cualquier atributo

IX. CONCLUSIONES

Con respecto a la primera hipótesis “Es posible obtener cepas haploides compatibles e infectivas de *Ustilago maydis*, a partir de teliosporas silvestres procedentes de los recursos genéticos de México” se concluye que:

1. Se logró aislar cepas haploides parentales de *U. maydis* a partir de teliosporas de los recursos genéticos nativos de la región central de México.
2. A partir de la selección de aislamientos haploides silvestres parentales del Estado de México y Puebla, de cepas de referencia e híbrido de *Ustilago maydis*, se integró un conjunto de aislamientos compatibles con probada capacidad infectiva, los cuales pueden utilizarse en futuros experimentos o bien para la producción de cuitlacoche.

Por lo tanto, la hipótesis no se rechaza.

3. La prueba reacción de fuzz es un método fácil de implementar e interpretar, pero no es concluyente en la identificación de cepas infectivas de *Ustilago maydis*. Por ello es mejor comprobar la capacidad infectiva de los aislamientos compatibles silvestres de *Ustilago maydis* mediante la inoculación en plántulas de maíz.

En relación con la segunda hipótesis “Existen diferencias de virulencia entre los aislamientos haploides compatibles silvestres, híbridos y de referencia de *Ustilago maydis*” se concluye que:

4. Las cepas de *Ustilago maydis* de referencia, silvestres e híbrido, presentaron diferencias relacionadas con su grado de virulencia. Las cepas de referencia: J. Pataky (PK-*a1 b1* × PK-*a2 b2*), COLPOS (CP-436 × CP-437), Flora Banuett (FB1 × FB2), la cepa silvestre número 5 del Estado de México (EM4-10 × EM2-4), y la cepa híbrido (EM1-6 × FB1) número 9, se posicionaron como las mejores cepas de esta investigación. En este sentido es importante continuar en la búsqueda y creación de aislamientos haploides para la generación de cepas híbrido de *Ustilago maydis*

mejoradas, que optimicen los rendimientos y presenten características de calidad específicas (protección de las hojas, tamaño de agallas y de sabor).

5. Los resultados obtenidos, sobre el uso de inóculo elaborado a partir de la cepa multi-teliospórica (EM2), no resultó eficaz y tampoco es recomendable, debido a la gran diversidad genética en su constitución que afectan la virulencia.

Por lo tanto, la hipótesis no se rechaza.

6. Se ha propuesto a México como centro de origen y diversificación del maíz y por lo tanto a *Ustilago maydis* como su parásito, este hecho incrementa el potencial de uso de los recursos genéticos nativos de origen microbiano como *U. maydis* debido a su diversidad. En este sentido, la hibridación de estos recursos genéticos, permitirá generar cepas del hongo que incrementen los rendimientos y mejoren las características comerciales y sensoriales del cuitlacoche.

Finalmente, la hipótesis “Las características productivas y comerciales de las agallas cultivadas de cuitlacoche, serán determinadas esencialmente por el resultado de la interacción que se establece entre la cepa de *Ustilago maydis* y la variedad de maíz”, se concluye que:

7. Las variedades de maíz evaluadas presentaron diferencias relacionadas con la susceptibilidad, dependiendo de la capacidad infectiva y virulencia de las cepas de *Ustilago maydis*. Las variedades de maíz híbrido empleadas en este trabajo presentaron características fenotípicas, productivas y comerciales que las hacen adecuadas para la producción de cuitlacoche. La variedad de maíz criollo empleada en el estudio presentó características fenotípicas (mayor altura de planta, menor uniformidad) y fenológicas (periodos de floración extensos) poco adecuadas para la producción de agallas. Es importante continuar en la búsqueda y selección de variedades de maíz, que presenten características fenotípicas y fenológicas adecuadas, y que en sinergia con cepas seleccionadas de *U. maydis*, desarrollen agallas de cuitlacoche con alto valor productivo y comercial, para satisfacer las necesidades del mercado.

8. Existió gran variabilidad en atributos sensoriales entre las combinaciones de aislamientos de *Ustilago maydis* y variedades de maíz. En la mayoría de los atributos sensoriales medidos en las agallas, se presentaron semejanzas muy marcadas entre grupos de cepas (de referencia, silvestres e híbridos). Resaltó el hecho de que las cepas silvestres del Estado de México (4, 5 y 6) y de Puebla (7 y 8), mostraron atributos de sabor predominantes con mayor intensidad dulce, maíz y umami; y un menor amargor y acidez.
9. Los resultados obtenidos indican la existencia de una interacción entre la cepa de *Ustilago maydis* y la variedades de maíz, que influye no sólo en las características productivas y comerciales de las agallas, adicionalmente tiene influencia sobre los atributos sensoriales, dado que, en cada combinación entre cepas y maíz existió una expresión diferencial para cada atributo, resaltando la importancia de seleccionar variedades de maíz y cepas de *U. maydis* que presenten características sensoriales adecuadas para satisfacer las necesidades de un mercado en particular.

Por lo tanto, la hipótesis no se rechaza.

10. Es importante realizar una caracterización sensorial de agallas para los atributos preferidos por los consumidores, estos resultan de suma importancia en la selección de cepas y variedades de maíz destinadas para la producción masiva de cuitlacoche.

X. ESTRATEGIA PARA MEJORAR LAS CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS Y COMERCIALES DEL CUITLACOQUE (*USTILAGO MAYDIS*), EN LAS COMUNIDADES RURALES DE MEXICO

10.1. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con Martínez-Carrera *et al.* (2010) “a diferencia de las actividades agrícolas, ganaderas y forestales que llevan siglos de practicarse en México, el Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles (SPC-HC) tiene alrededor de 70 años de desarrollo relativamente consistente. Sin embargo, la desarticulación de la política pública en apoyo al sector primario, es una de las causas principales de su débil crecimiento, así como de la incapacidad nacional para promover sistemas emergentes de producción-consumo con gran potencial en las nuevas condiciones socioeconómicas internacionales. Es paradójico que, si bien existen experiencias en el ámbito nacional e internacional, se carece de financiamiento estratégico para lograr un mayor desarrollo interno” (Martínez-Carrera *et al.*, 2010).

Es indispensable incorporar los sistemas de producción-consumo dentro de los programas de apoyo que consideran las políticas públicas, pues ello permitiría financiar un mayor grado de investigación, de transferencia de innovaciones tecnológicas, y de vinculación académica-sector social (comunidades rurales) con un enfoque interdisciplinario que podría contribuir a que en México existieran condiciones que permitieran alcanzar la seguridad alimentaria y el desarrollo de las comunidades rurales. En este contexto sería importante impulsar la producción y consumo de hongos comestibles. Martínez-Carrera *et al.* (2005) mencionan que “el consumo de alimentos naturales no sólo de buen sabor, sino también inocuos, nutritivos y con propiedades benéficas para la salud, representa la gran tendencia mundial en la alimentación humana en el siglo XXI. Tan sólo en E.U.A., la demanda de productos orgánicos, suplementos alimenticios y medicinales se ha incrementado de tres a catorce billones de dólares durante el periodo 1990-2000. Lo anterior nace de la confirmación de un principio fundamental y universal: la dieta humana debe ser completa, suficiente, equilibrada y que garantice una completa satisfacción biológica, psicológica y social. La mayoría de nosotros consume hongos comestibles por su excelente sabor, aroma, y textura. Sin embargo, es poco conocido su gran potencial como alimento funcional con propiedades nutricionales y medicinales que promueven la salud y otros procesos

biotecnológicos”. Estas características son únicas y diferentes a las aportadas por otros alimentos ampliamente consumidos, ya que los hongos constituyen un reino de la naturaleza independiente de las plantas y los animales (Martínez-Carrera *et al.*, 2005). La importancia ecológica de esta actividad radica además en la utilización y reciclaje acelerado de millones de toneladas de subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales utilizados como substrato de cultivo (Kues y Liu, 2000; Chang y Miles, 2004).

¿Qué es la estrategia? Si bien no existe una definición generalmente aceptada, podemos decir que se trata de acciones que realiza una persona u organización para aprovechar las oportunidades y lidiar con las adversidades que se le presentan con el fin de colocarse en una situación ventajosa o de liderazgo, que le permita ofrecer un valor único o superior a los actores interesados en su actividad de manera eficaz y sustentable, Velasco (2012). “La idea de estrategia como una forma de pensamiento que busca establecer una direccionalidad, como decisión de incidencia sobre un contexto, es una idea que habla del complejo camino de los grupos y las organizaciones para llevar a cabo proyectos en mundos plurales y conflictivos” (Arellano, 2004).

En el caso del Desarrollo Agrícola Regional, el término estrategia ha sido definido por varios autores entre ellos Matus (1972) quien la define como un análisis y propósito de futuro que integra lo económico y lo político social, dirigiéndose a objetivos determinados. Éstas se basan en un modelo abstracto del proceso material de desarrollo, el cual ante situaciones y disturbios simulados, tiene una respuesta igual a la que tendría ante un hecho real. Sin embargo, la estrategia puede modificarse cuando se realiza, con el fin de lograr los objetivos (Matus 1980). La formulación de una estrategia parte de la síntesis entre la realidad y el proyecto, logrando una imagen preliminar (diagnóstico) del proceso; se necesita, además capacidad técnica, y principalmente, un análisis riguroso de la variabilidad. Con estos elementos y los generados en la presente investigación a continuación se propone.

10.2. ESTRATEGIA PARA EL ESTABLECIMIENTO DE CENTROS RURALES DE ESTUDIO Y CULTIVO DE CUITLACOCHES PARA CONTRIBUIR AL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

Desde una perspectiva tecnológica, la presente investigación se orientó a establecer las bases biotecnológicas para implementar un método eficiente y estandarizado de producción controlada de agallas de cuitlacoche con alto valor productivo y comercial. Con base en ello, se propone la estrategia para establecer centros rurales de estudio y cultivo de cuitlacoche (**Fig. 47**).

10.2.1. OBJETIVO GENERAL DE LA ESTRATEGIA

Contribuir al desarrollo de las comunidades rurales de los valles altos en la región central de México, estableciendo centros rurales de estudio y cultivo de cuitlacoche para contribuir al desarrollo agrícola regional.

10.2.2. OBJETIVOS PARTICULARES DE LA ESTRATEGIA

A corto plazo

- I. Implementar el uso de las mejores cepas de *U. maydis* aisladas y variedades de maíz, identificadas en la presente investigación.
- II. Preparar inóculos periódicamente a partir de las cepas de *U. maydis* seleccionadas, para abastecer las necesidades de productores de cuitlacoche.
- III. Establecer cursos de capacitación para productores de maíz, con el objetivo de que se apropien de los conocimientos en los diferentes procesos de cultivo de cuitlacoche.
- IV. Dar asesoría continua a productores sobre los sistemas de producción de maíz para el cultivo de cuitlacoche.
- V. Dar asesoría continua a productores sobre los sistemas de producción de cuitlacoche.
- VI. Diseñar unidades de investigación regionales para el desarrollo de investigaciones relacionadas con el aislamiento de cepas de *U. maydis* a partir de los recursos nativos de México y de identificación de variedades de maíz adecuadas para cada región, así como con los procesos del cultivo, desarrollo del maíz, inoculación, cosecha y post cosecha de cuitlacoche.
- VII. Establecer centros de acopio y comercialización del producto cosechado.

A mediano plazo y largo plazo

- I. Determinar variedades de maíz y cepas de *U. maydis* que produzcan agallas de alta calidad para cada región específica.
- II. Evaluar cepas de *Ustilago maydis* y variedades de maíz, para incrementar la cantidad de cuitlacoche en términos productivos, la calidad y las características sensoriales.
- III. Mantener un proceso continuo de producción de cuitlacoche, y de investigación sobre aspectos relacionados con las problemáticas derivadas de su cultivo. Así mismo atender la formación de investigadores, estudiantes de licenciatura, maestría y doctorado, la capacitación continua y asesoría a productores y organizaciones.
- IV. Posicionar a la región central de México como una zona altamente eficiente de producción de cuitlacoche.

10.2.3. ACCIONES A CORTO PLAZO

Debido al notorio incremento en los requerimientos de cuitlacoche fresco durante todo el año, tanto para satisfacer las demandas del mercado interno, así como las del externo, todos los actores y sectores involucrados en la estrategia deberán encontrarse interesados y convencidos de los beneficios que se obtendrán al llevar a cabo el presente proyecto. Esto marca una gran diferencia con muchos otros planes de desarrollo agrícola, donde frecuentemente es necesario convencer a cada uno de los actores involucrados, principalmente a los productores. Al contrario, se deberá tener cuidado de no excluir a ningún miembro del sector agrícola, principalmente al pequeño y mediano productor, e incluir a aquellos no afiliados u organizados.

No obstante, se debe de evaluar la operación de cada productor de manera individual o grupal como organización, y en su caso, capacitar a los interesados con el fin de participar en los programas de desarrollo agrícola, y de esta forma, lograr que se beneficien de los apoyos y gestiones institucionales. Para este fin, los investigadores y estudiantes del Colegio de Posgraduados-Puebla y expertos en el sector agrario, capacitarán al productor u organizaciones de productores, utilizando la técnica de campesino a campesino, para lograr los objetivos planteados, de tal manera que se puedan hacer acreedores a los beneficios de apoyos económicos gubernamentales.

Los integrantes de cada centro regional, campesinos, cuerpo académico o similar de las instituciones participantes, en conjunto con el sector gobierno, representado por diferentes instituciones gubernamentales y estatales correspondientes (SAGARPA, CONACYT, etc.), deberán formar comités, estableciendo los lineamientos para las estrategias del desarrollo agrícola regional en cada interés, capacitación a investigadores, capacitación a productores, elaboración de inóculos, optimización de los procesos de producción, investigación de cadenas de comercialización y precios convenidos, entre otros.

Por otra parte, a partir de los resultados obtenidos en esta investigación, relacionados con las cepas de *U. maydis* y variedades de maíz, otros grupos de investigadores y estudiantes del área de hongos comestibles del Colegio de Posgraduados-Puebla y de otras instituciones académicas interesadas, continuarán con el proceso de selección de cepas de *U. maydis* y variedades de maíz que presenten características productivas y comerciales adecuadas para cada región o estado en particular. Los resultados de estos estudios permitirán desarrollar planes de producción masiva de cuitlacoche a mediano y largo plazo, tanto a nivel regional como nacional.

Los centros rurales de estudio y cultivo de cuitlacoche, adicionalmente funcionarán como centros de acopio y comercialización de cuitlacoche. Los encargados de los centros de acopio y de distribución deberán registrar los datos del productor, la cantidad de producto cosechado, también otras características para determinar su calidad y precio, así como determinar el tipo de embalaje de acuerdo a la calidad y vida de anaquel, finalmente, también llevarán un registro de la salida del producto. De igual forma, supervisará los procesos y acatarán los manuales de buenas prácticas de procedimientos y normas de calidad establecidas.

10.2.4. ACCIONES A MEDIANO Y LARGO PLAZO

Una vez que cada productor u organización de productores se apropió del conocimiento y habilidades requeridas, el grupo de investigadores y estudiantes, capacitará al productor u organizaciones de productores sobre los métodos para cultivar el maíz y para producir cuitlacoche de forma sistemática y eficiente. Para ello, por cada productor y/o en cada organización, se seleccionará de uno a tres voluntarios quienes dispondrán de sus parcelas para

producir agallas de cuitlacoche de alta calidad a partir de las cepas de *U. maydis* y variedades de maíz seleccionadas, así mismo se dispondrá de una parte de sus parcelas para evaluar otras cepas del hongo y variedades de maíz de interés.

En esta etapa se incluirá un paquete tecnológico que se deberá de implementar al pie de la letra, para establecer las condiciones propicias en que habrá de sembrarse cada unidad de producción y de investigación (parcela sembrada con una variedad de maíz y cepas de *U. maydis* determinadas) de manera que se obtenga información relevante sobre las características de las mismas que ayuden a mejorar los procesos de producción y la calidad del producto final, el cuitlacoche. Una vez que se alcance el desarrollo adecuado de las plantas y los jilotes se procederá a inocular estos con las diferentes cepas del hongo, de tal manera que siempre existan unidades de producción y de experimentación al mismo tiempo. Se establecerán cursos de capacitación para productores de cuitlacoche, y en todo momento se darán asesorías a los productores, para resolver problemas y dudas que surjan sobre los procesos de producción de tal forma que se obtenga cuitlacoche de la mejor calidad, con base en un manejo adecuado de cosecha y postcosecha.

Lo anterior no tendrá éxito sin la participación de los diferentes actores involucrados. instituciones de gobierno, académicas y organizaciones sociales, quienes deberán brindar apoyos técnicos, financieros, y administrativos, al pequeño y mediano productor u organización de productores, con el objetivo de iniciar y desarrollar la producción de cuitlacoche, junto con la constante capacitación para optimizar los procesos de organización, así como en la asesoría en las diferentes etapas de producción de cuitlacoche. En este sentido una vez que se establezcan las unidades de producción y los centros regionales de estudio de cuitlacoche para cada región específica en la zona centro del país, se obtendrán cantidades suficientes de cuitlacoche para mantener una producción continua y un mercado establecido. Es decir, se logrará establecer un Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles para el cuitlacoche, y de esta manera se podrá satisfacer las demandas del producto a escala nacional e internacional. Se tendrá que recurrir entonces a las instancias gubernamentales y privadas pertinentes para solicitar apoyo relacionado con la mercadotecnia, de igual forma para establecer los precios al consumidor y demás apoyos de logística y administrativos, entre otros.

10.3. BENEFICIOS ESPERADOS DE LA ESTRATEGIA IMPLEMENTADA PARA EL ESTABLECIMIENTO DE CENTROS RURALES DE ESTUDIO Y CULTIVO DE CUITLACOCHES PARA CONTRIBUIR AL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

La estrategia propuesta en esta investigación tiene un gran potencial, ya que los requerimientos de cuitlacoche fresco en el mercado han superado a la oferta actual del producto, la cual es inconsistente, tanto en cantidad como en calidad. De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación, y a la estrategia propuesta, se podrá innovar en la tecnología para la producción sistemática de cuitlacoche, permitiendo una mayor cantidad y calidad de este producto fúngico durante todo el año. En un primer momento en la región central y resto de México, y posteriormente para la exportación.

Conforme exista una mayor organización de los productores de maíz, se logrará que se constituyan como una colectividad que sea sujeta no tan sólo de obtener apoyos económicos, sino también de financiamiento, el cual, de manera particular, resulta muy complicado obtener. Posteriormente, una vez que los productores estén empoderados con el conocimiento, y por lo tanto trabajen independientemente, se estará en condiciones de promover esta biotecnología intermedia de campesino a campesino, y alcanzar una mayor producción de cuitlacoche con la calidad suficiente para el mercado interno e internacional, contribuyendo así al desarrollo regional. Se espera que tanto los productores, los centros de distribución, vendedores minoristas y mayoristas, y los consumidores finales se beneficien con los resultados de las primeras etapas de la estrategia.

En el caso del sector académico y de investigación, se esperaría que también existiera un fondo común, con el cual se pueda disponer de los recursos necesarios para la investigación básica y aplicada. Una vez que los productores manejen de manera óptima esta biotecnología, se esperaría poder satisfacer las diferentes necesidades de los productores en las diferentes etapas del proceso de producción (inóculos idóneos para cada región, métodos de inoculación y cosecha mejorados, cepas de *U. maydis* y variedades de maíz con características adecuadas para satisfacer las necesidades de un mercado en particular), lo que generará recursos económicos adicionales que sean destinados tanto para el mejoramiento de los procesos de cultivo y del producto final mediante investigaciones dirigidas, como para el desarrollo de nuevos productos procesados a

partir de las agallas de cuitlacoche, los cuales en un futuro inmediato se puedan comercializar en México y el resto del mundo.

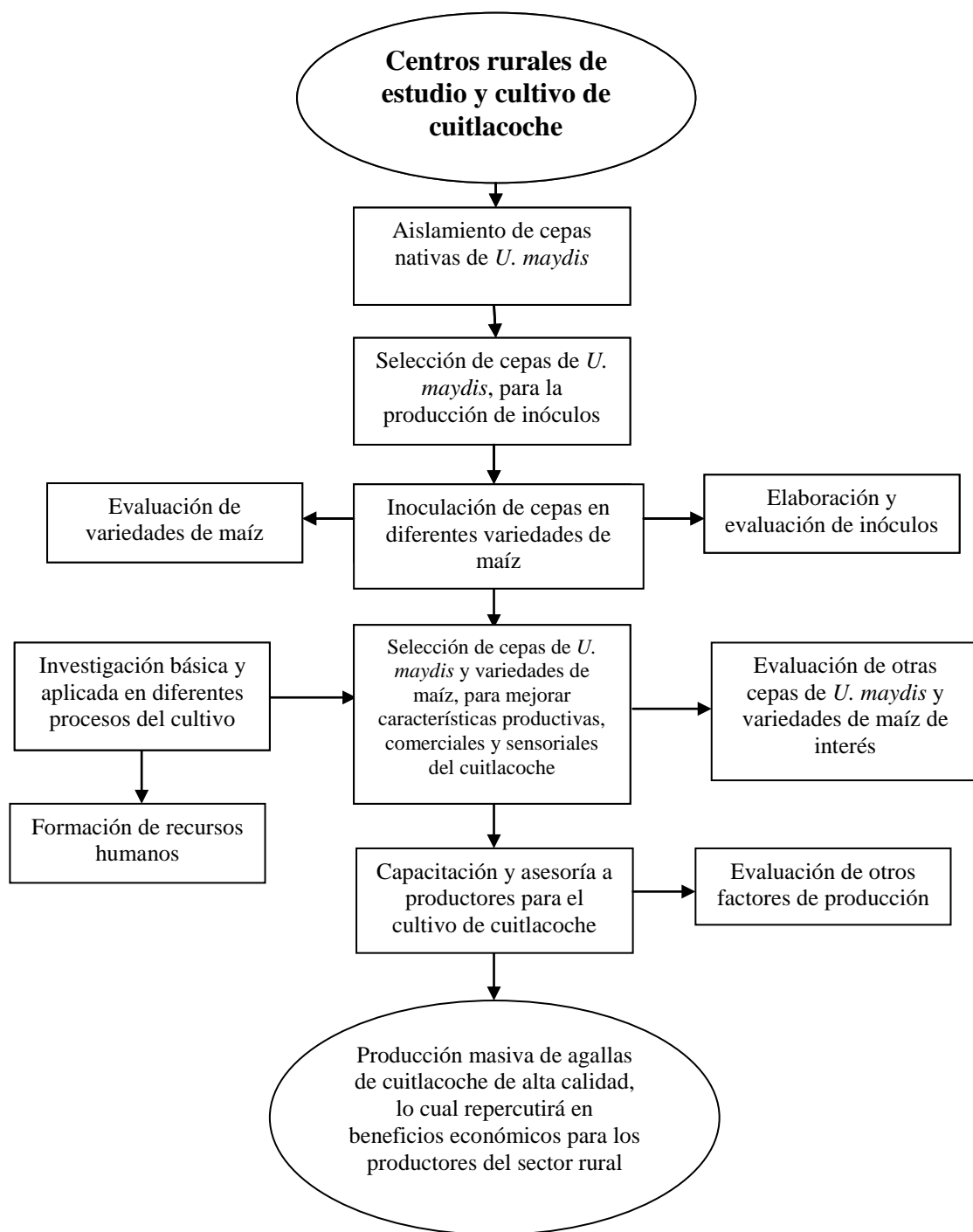


Figura 47. Estrategia planteada para el establecimiento de centros regionales de estudio y producción de cuitlacoche para las comunidades rurales.

XI. LITERATURA CITADA

- Álvarez, D. 1999. Aislamiento y evaluación de la patogenicidad de cepas del hongo *Ustilago maydis* (Huitlacoche) del valle del yaqui en plantas de maíz. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Sonora. Cd. Obregón, Sonora, México.
- Amaro Rosales, M., Villavicencio Carbajal, D. H. 2011. Incentivos a la innovación en biotecnología agrícola alimentaria en México: entre políticas y dinámicas del mercado. Memorias XIV Congreso Iberoamericano de Gestión Tecnológica ALTEC.
- Andrade Gallegos, R. H., G. Mata y J. E. Sánchez. 2012. La producción iberoamericana de hongos comestibles en el contexto internacional. En: *Hongos comestibles en Iberoamérica*. Sánchez J.E., Mata G. (Eds.) El Colegio de la Frontera Sur, México.
- Anzaldúa, M. A. 1994. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. *Acribia*. Zaragoza. 1-37, 45-62, 78-80.
- Arellano, V. J. L. 1984. Problemática de la producción de maíz y logros en su mejoramiento genético en la mesa central de México. *Revista Chapingo*. 43 - 44: 19-30.
- Arellano, D. 2004. Gestión estratégica para el sector público: del pensamiento estratégico al cambio organizacional, México FCE.
- Ares, G., D. Rosires., C. Barreiro., A. Giménez y A. Gámbaro. 2010. Comparison of two sensory profiling techniques based on consumer perception. *Food Quality and Preference*. 21(4): 417-426.
- Arias, A., R. Ramírez y H. Leal. 2000. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* hybrids resistant to 2DG obtained by pairings of neohaplontes from selected dikaryons proceeding of the 15th International Congress on the Science and Cultivation of edible Fungi, Van Griensven (Ed.), *I*: 305-309.
- Arnold, C. 1992. Post-harvest and marketing of huitlacoche maize mushroom (*Ustilago maydis* – corn smut). *Acta Horticulturae*. 318: 321-324.
- Arthur, J. C. y W. Stuart. 1990. Corn smut. *Indiana Agricultural Experiment Station Annual Report* 12: 84-135.
- Ayala, A. F. I. 2016. Perfil sensorial de especies tradicionales subvaloradas y subutilizadas de México: Quelites. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM.
- Aydogdu, M. y N. Boyraz. 2011. Effects of nitrogen and organic fertilization on corn smut (*Ustilago maydis* (DC) Corda.). *African Journal of Agricultural Research*. 6(19): 4539-4543.
- Banuett, F. 1992. *Ustilago maydis*, the delightful blight. *Trends in Genetics*. 8: 174-180.
- Banuett, F. 1995. Genetics of *Ustilago maydis*, a fungal pathogen that induces tumors in maize. *Annual Review of Genetics*. 29: 179-208.
- Banuett, F. 2007. History of the mating types in *Ustilago maydis*. *Sex in Fungi: Molecular Determination and Evolutionary Implications*. Edited by Joseph Heitman *et al.* ASM Press, Washington, D. C.
- Banuett, F. y I. Herskowitz. 1988. *Ustilago maydis*, smut of maize, En: G. Sidhu (ed.), *Genetics of Plant Pathogenic Fungi*. *Advances in Plant Pathology*. Academic Press. London. United Kingdom. 6: 427- 455.
- Banuett, F. y I. Herskowitz. 1989. Different *a* alleles of *Ustilago maydis* are necessary for maintenance of filamentous growth but no for meiosis. *Proceeding of the National Academy of Sciences. U S A*. 86: 5878-5882.

- Banuett, F. y I. Herskowitz. 1996. Discrete developmental stages during teliospore formation in the corn smut fungus *Ustilago maydis*. *Development*. 122: 2965-2976.
- Bassetti, F. y M. E. Westgate. 1993a. Emergence, elongation, and senescence of maize silks. *Crop Science*. 3: 271-275.
- Bassetti, F. y M. E. Westgate. 1993b. Senescence and receptivity of maize silks. *Crop Science*. 33: 275-278.
- Blanch, A. R. 2010. Biotecnología ambiental. Aplicaciones biotecnológicas en la mejora del medio ambiente. *Nota d' economia* 97-98: 183-198.
- Blancher, G.; S. Chollet., R. Kesteloot., D. Nguyen-Hoang., Cuvelier, G. y J. M. Sieffermann. 2007. French and vietnamese: how do they describe texture characteristics of the same food? A case study with jellies. *Food Quality and Preference*. 18(3): 560-575.
- Boa, E. 2004. Los hongos silvestres comestibles. Perspectiva global de su uso e importancia para la población. FAO.
- Bolívar Zapata, F. G. 2003. Recomendaciones para el desarrollo y consolidación de la Biotecnología en México. CONACYT, AMC y UNAM, México D. F.
- Bojanowski, J. 1969. Studies of inheritance of reaction to common smut in corn. *Theoretical and Applied Genetics*. 39: 32-42.
- Bölker, M., M. Urban y R. Kahmann. 1992. The a mating type locus of *Ustilago maydis* specifies cell signaling components. *Cell*. 68: 441-450.
- Brefeld, O. 1888. Recent investigations of smut fungi and smut diseases *Neue Untersuchungen über die Brandpilze und die Brandkrankheiten*. II. *Nachr. aus d. Klub d. Landw. Berlin* 1888: 1557-1584, 1588-1594, 1597-1601. (E. F. Smith. English transl. *Journal of Mycology*. 6: 1-8, 59-71, 153-164. 1890-91.
- Brefeld, O. 1895. Die brandkrankheiten des getreides. *Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie*. XI. *Die Brandpilze*. 2 Münster.
- Calderón Fernández, L. 2010. Caracterización clásica y molecular del huitlacoche [*Ustilago maydis* (DC.) Corda], hongo de importancia social y económica en la región central de México. Tesis de Doctorado en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Programa en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional, Campus Puebla, Puebla.
- Carmona, E. R. P. 2013. Evaluación comparativa de dos metodologías sensoriales para generar perfiles descriptivos en alimentos. Tesis de Maestría en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.
- Carrillo Díaz, M. I., G. Tirado Estrada, F. Guevara Lara, H. Silos Espino, D. N. Tirado González y L. A. Miranda Romero. 2011. Potencial productivo y caracterización nutrimental de dos inóculos de huitlacoche (*Ustilago maydis*) en variedades de maíz. XXXIX Reunión Anual de la Asociación Mexicana de Producción Animal y Seguridad Alimentaria, A. C. Universidad Autónoma Chapingo México.
- Castañeda de León, V. T., J. K. Pataky y H. Leal Lara. 2008. Susceptibility to infection of different varieties of corn hybrids with *Ustilago maydis* under conditions of commercial production of huitlacoche for food purposes in México. 4th International *Ustilago* Conference. Exposición oral. Agosto 20-24 Rauhsholzhausen Schools Germany.
- Castañeda de León, V. T. y H. Leal Lara. 2012. Logros y desafíos de la producción masiva de huitlacoche *Ustilago maydis* en México. *En: Hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica*. Sánchez J.E., Mata G. (Eds.) El Colegio de la Frontera Sur, México.

- Castañeda de León V. T., D. Martínez Carrera, P. Morales Almora, M. Sobal Cruz, A. Gil Muñoz y H. Leal Lara. 2016. El huitlacoche, fruto de la interacción *Ustilago maydis* - maíz, una aportación de México al mundo, en el sistema agroalimentario microbiano. En: *Ciencia, Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México*. Eds. D. Martínez Carrera y J. Ramírez Juárez. Biblioteca Básica de Agricultura, IICA, Academia Mexicana de Ciencias, México D.F. (ISBN: 978-607-715-314-6).
- Castro Espinosa, L. y I. Ruiz Hernández. 2003. Huitlacoche: una delicadeza alimenticia que se puede producir en el Valle del Yaqui. *Perspectiva Universitaria*. 2: 27-28.
- Central de Abasto de la Ciudad de México Dirección y Administración General Coordinación de Planeación y Desarrollo 2007. Temporada de huitlacoche en la CEDA. Boletín N° 92 30/07/07 Subgerencia de Promoción y Difusión Comercial.
- Chang, S. T. y P. G. Miles. 2004. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, environmental impact. CRC Press, Boca Raton.
- Christensen, J. J. y E. C. Stakman. 1926. Physiologic specialization and mutation in *Ustilago zaeae*. *Phytopathology* 16: 979-999.
- Christensen, J. J. 1963. Corn smut caused by *Ustilago maydis*. Monograph 2. American Phytopathological Society APS. U.S.A.
- Cota Navarro, C. B. 2004. Evaluación de cepas locales de *Ustilago maydis* en maíz para la producción de huitlacoche en el Valle del yaqui. Otoño 2003. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Sonora. Cd. Obregón Sonora.
- Cruz, S. D. 2006. Incidencia inducida de huitlacoche (*Ustilago maydis* (D.C.) Cda.) en maíz. Tesis de Ingeniero Agrónomo especialista en Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- Dairou, V. y J. M. Sieffermann. 2002. A comparison of 14 jams characterized by conventional profile and a quick original method, the flash profile. *Journal of Food Science*. 67(2): 826-834.
- Delarue, J. y J. M. Sieffermann. 2004. Sensory mapping using flash profile. Comparison with a conventional descriptive method for the evaluation of the flavor of fruit dairy products. *Food Quality and Preference*. 15: 383-392.
- Duncan, H. E., K. Leonard y G. Payne. 1995. Major corn disease in North Carolina. http://ipmwww.ncsu.edu/corn/diseases/corn_diseases.html 16 de Febrero 2011.
- Durán, L. y E. Costell. 1999. Revisión: percepción del gusto. Aspectos Físicoquímicos y Psicofísicos, *Food Science and Technology International*. 5 (4): 299-309.
- du Toit, L. J. 1998. Smut rules. Pacific Northwest Vegetable Association Annual Convention and Trade Show. Pasco WA. 34-44.
- du Toit, L. J. y J. K. Pataky. 1999a. Effects of silk maturity and pollination on infection of maize ears by *Ustilago maydis*. *Plant Disease*. 83: 621-626.
- du Toit, L. J. y J. K. Pataky. 1999b. Variation associated with silk channel inoculation for common smut of sweet corn. *Plant Disease*. 83: 727-732.
- El Universal. 2015. Convierten maizales en parcelas de huitlacoche. El universal (estados) 10/08/2015. <http://www.eluniversal.com.mx/articulo/estados/2015/08/10/convierten-maizales-en-parcelas-de-huitlacoche>.
- Flores del Campo, R. J. 1991. Producción de huitlacoche [*Ustilago maydis* (DC. Cda.)] probando tres métodos de inoculación en tres variedades de maíz. Tesis de Licenciatura. ITESM Monterrey México. 40.

- García Pedrajas, M.D., Nadal, M., Bölker, M., Gold, S.E. y M.H. Perlin. 2008. Sending mixed signals: redundancy vs. uniqueness of signaling components in the plant pathogen, *Ustilago maydis*. *Fungal Genetics and Biology*. 45: S22-S30.
- Garibaldi, C. J. M. 2003. Fertilización nitrogenada y densidad de plantas de maíz (*Zea mays*) L. con fertigación y acolchado plástico en la producción de huitlacoche *Ustilago maydis* (D. C.) Corda, en el valle del Yaqui. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Sonora. Cd. Obregón Sonora.
- Giménez, A., G. Ares y A. Gámbaro. 2008. Consumer perception of sandiness in dulce de leche. *Journal of Sensory Studies*. 23(2): 171-185.
- Gonzaga Gutiérrez, L. 2006. Perspectivas de la biotecnología en las ecotecnologías. *Scientia et Technica*. Diciembre UTP Colombia. XII (32): 451-456.
- Gómez Alvarado T., Hernández Cervantes M., López Velázquez J., Cabrera R. S., Ramón Canul L. G., Juárez Barrientos J. M., Ramírez Rivera E.J. 2010. Caracterización sensorial del queso fresco “cuajada” en tres localidades de Oaxaca, México: diferencias en la percepción sensorial. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 1 (2): 127-140.
- Gotlieb, A. 1999. Corn smut-garden disease control leaflet 3. <http://ctr.uvm.edu/logos/extlogo1.gif> 16 de febrero 2011.
- Gower, C. J. 1975. Generalized procrustes analysis. *Psychometrika* 40(1): 33-51.
- Griffiths, M. 1928. Smut susceptibility of naturally resistant corn when artificially inoculated. *Journal Agricultural Research*. 36: 77-89.
- Hassan, W. A., A. Yousif y K. Saïdo. 2013. Productivity and susceptibility of corn hybrids accompanied with artificial inoculum of common smut *Ustilago maydis*. *International Journal of Pure and Applied Sciences and Technology*. 18(2): 52-58.
- Heslop Harrison, Y., J. Helsop Harrison y B. Reger. 1985. The pollen-stigma interaction in the grasses: VII. Pollen-tube guidance and the regulation of tube number in *Zea mays* L. *Acta Botanica Neerlandica*. 65: 2581-2591.
- Hidalgo, C. H. 1995. Desarrollo de una metodología para la producción comercial de huitlacoche de alta calidad. Tesis de Doctor en Ciencias. ITESM Monterrey México.102.
- Hirschhorn, E. 1986. Formas fisiológicas de *Ustilago zae* de diversas localidades de Argentina. *Phycis*. 18: 181-222, 1939.
- Holliday, R. 1974. *Ustilago maydis*, Handbook of Genetics. En: R. C. King (ed.) Vol. 1. Plenum, New York, N.Y.
- Husson, F. y J. Pagés. 2003. Comparison of sensory profiles done by trained and untrained juries: methodology and results. *Journal of Sensory Studies*. 18(6): 453-464.
- Ibáñez, F. C. 2001. Análisis sensorial de alimentos. Métodos y Aplicaciones, Springer, Barcelona. 62 -85, 117-118.
- Immer, F. R. y J. J. Christensen. 1928. Influence of environmental factors on the seasonal prevalence of corn smut. *Phytopathology*. 18: 599-602.
- Institute’s of fungal genome initiative (FGI) (2006) Disponible en: <http://www.broad.mit.edu/annotation/fungi/fgi/candidates.html>.
- Jiménez Becerril, M. F. 2010. Estudio de la diversidad genética y análisis molecular del locus *b* de *Ustilago maydis*. Tesis de Maestría en ciencias en Biotecnología Genómica. Instituto politécnico Nacional IPN-CBG. Reynosa Tamaulipas México.
- Kealey, K. S. y F. V. Kosikowski. 1981. Corn smut as a food source-perspectives on biology, composition and nutrition. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 15: 321-351.

- Klose, J., M. M. de Sá y W. Kronstad. 2004. Lipid-induced filamentous growth in *Ustilago maydis*. *Molecular Microbiology* 52: 823-835.
- Konstandi, S. F. y G. Geisler. 1989. Maize smut induced by *Ustilago maydis* (D.C.) Corda. Reaction of maize hybrids and lines to smut disease. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 163: 149-156.
- Kronstad, J. W. 2003. Castles and cuitlacoche: the first international *Ustilago* conference. *Fungal Genetics and Biology*. 38: 265-271.
- Krüger, J., Loubradou, G., Regenfelder, E., Hartmann, A. y R. Kahmann. 1998. Crosstalk between cAMP and Pheromone Signalling Pathways in *Ustilago maydis*. *Molecular and General Genetics*. 260: 193-198.
- Kues, U., Y. Liu. 2000. Fruiting body production in basidiomycetes. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 54: 141-152.
- Kyle, C. H. 1930. Relation between the vigor of the corn plant and its susceptibility to smut (*Ustilago zaeae*). *Journal of Agricultural Research*. 41: 221-231.
- Lassoued, N., J. Delarue., B. Launay y C. Michon. 2008. Baked product texture: correlations between instrumental and sensory characterization using flash profile. *Journal of Cereal Science*. 48(1): 133-143.
- Lawless, H. y H. Haymann. 1998. Sensory evaluation of food. Principles and Practices. Chapman y Hall, Food Science Texts Series, New York.
- Leal Chapa, M. A. 1996. Evaluación de metodologías para la inoculación artificial de huitlacoche. Tesis de Maestría UANL Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Leal Lara, H., J. Adaya González, L. Curiel Pérez., C. Marroquín Corona., C. Morales Olivares., A. Sánchez Hernández., E. Sánchez Marín., S. Segura Moctezuma., V. Castañeda de León y G. Valencia Del Toro. 2016. Aportaciones de investigaciones básicas y aplicadas para impulsar la producción de hongos comestibles en México. *En: Ciencia, Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México*. Eds. D. Martínez Carrera y J. Ramírez Juárez. Biblioteca Básica de Agricultura, IICA, Academia Mexicana de Ciencias, México D. F.
- León Ramírez, C., J. Sánchez Arreguín y J. Ruiz Herrera. 2014. *Ustilago maydis*, a delicacy of the Aztec cuisine and a model for research. *Natural Resources*, 5, 256-267. Published On line April 2014 in Scientific Research.
- Lizárraga Guerra, R. 1995. Extracción y caracterización de los saborizantes en huitlacoche (*Ustilago maydis*). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Sinaloa.
- Lizárraga Guerra, R. y M. G. López. 1996. Content of free amino acids in huitlacoche (*Ustilago maydis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 2556-2559.
- López Aceves, G. F. 1988. Factores que determinan el desarrollo de *Ustilago maydis* (DC.) Cda.; agente causal del huitlacoche del maíz. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Programa de Fitopatología, Montecillo.
- Madrigal Rodríguez, J., C. Villanueva Verduzco, J. Sahagún Castellanos, M. Acosta, L. Martínez y T. Espinosa. 2010. Ensayos de producción de huitlacoche (*Ustilago maydis* cda.) hidropónico en invernadero. *Revista Chapingo Serie Horticultura*: 16 (3): 177-182 Universidad Autónoma Chapingo.
- Mancera, A. E., R. Ramírez y H. Leal. 1999. Selección de híbridos acelulolíticos de *Pleurotus ostreatus* de alto potencial para cultivo comercial. Memoria del VIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería.

- Martínez Carrera, D., A. Aguilar, W. Martínez., M. Bonilla., P. Morales y M. Sobal, 2000. Commercial production and marketing of edible mushrooms cultivated on coffee pulp in Mexico. Chapter 45. Coffee biotechnology and quality. D. Kluwer Academic Publ., Holanda. 1: 18.
- Martínez Carrera, D., A. Larqué, M. Aliphath, A. Aguilar, M. Bonilla y W. Martínez. 2000 a. La biotecnología de hongos comestibles en la seguridad y soberanía alimentaria de México. II Foro Nacional sobre Seguridad y Soberanía Alimentaria. Academia Mexicana de Ciencias-CONACYT, México, D. F.
- Martínez Carrera, D. 2002. Current development of mushroom biotechnology in Latin America. *Micología Aplicada Internacional* 14(2): 61-74.
- Martínez Carrera, D., D. Nava, M. Sobal, M. Bonilla y Y. Mayett. 2005. Marketing channels for wild and cultivated edible mushrooms in developing countries: the case of Mexico. *Micología Aplicada Internacional* 17: 9-20.
- Martínez Carrera, D., N. Curvetto, M. Sobal, P. Morales y V. Mora (Eds.). 2010. Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNSCONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla.
- Martínez Carrera, D., P. Morales., M. Sobal., M. Bonilla., W. Martínez y Y. Mayett. 2012. Los hongos comestibles, funcionales y medicinales: su contribución al desarrollo de las cadenas agroalimentarias y la seguridad alimentaria en México. Memorias de la reunión "Ciencia y Humanismo" Academia Mexicana de Ciencias.
- Martínez Carrera, D., A. Larqué Saavedra., A. Tovar Palacio., N. Torres., M. E. Meneses., M. Sobal Cruz., P. Morales Almora., M. Bonilla Quintero., H. Escudero Uribe., I. Tello Salgado., T. Bernabé González., W. Martínez Sánchez y Y. Mayett. 2016. Contribución de los hongos comestibles, funcionales y medicinales a la construcción de un paradigma sobre la producción, la dieta, la salud y la cultura en el sistema agroalimentario de México. (Eds.). En: Ciencia, Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México. Eds. D. Martínez Carrera & J. Ramírez Juárez. Biblioteca Básica de Agricultura, IICA, Academia Mexicana de Ciencias, México D.F. CP-AMC-CONACYT-UPAEP-IMINAP.
- Martínez Martínez, L., V. Villanueva Verduzco y C. Sahagún. 2000. Susceptibilidad y resistencia del maíz al hongo comestible huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) mejorando su resistencia. *Revista Chapingo serie Horticultura* 6(2): 241-255.
- Matus C. 1972. Estrategia y plan. 11^a Edición. Fondo de Cultura Económica. México.
- Matus C. 1980. Planificación de situaciones. 1^a Edición. Fondo de Cultura Económica. México.
- Mayett, Y., D. Martínez-Carrera., M. Sobal., P. Morales y M. Bonilla. 2012. Mushroom prices and their effect on consumption: the case of Mexico. *Micología Aplicada Internacional*, 24(1): 11-26.
- McMeekin, D. 1999. Different perceptions of the corn smut fungus. *Mycologist*. 13(4): 180-183.
- Mendoza Mendoza, A., P. Berndt, A. Djamei, C. Weise, U. Linne, M. Marahiel, M. Vranes, J. Kämper y R. Kahmann. 2009. Physical-chemical plant-derived signals induce differentiation in *Ustilago maydis*. *Molecular Microbiology*. 71: 895-911.
- Meiners Mandujano, R. y G. Torres Salcido. 2013. Medio ambiente y territorialización campesina: El cultivo de huitlacoche en la localidad de San Miguel Xochitecatitla, Tlaxcala, México. Reencuentro de Saberes Territoriales Latinoamericanos. Encuentro de Geógrafos de América Latina. Perú.

- Mills, L. J., J. M. Kotzé y P. C. Nel. 1982. The effects of fertilizers on boil smut of maize. *Phytophylactica* 14: 95-97.
- Nadal, M., García Pedrajas, M.D. y S.E. Gold. 2008. Dimorphism in fungal plant pathogens. *FEMS Microbiology Letters*. 284: 127-134.
- Namayandeh, A., R. Choukan., S. Abolghasem Mohahhadi., M. Mojtaba Kamelmanesh., S. Ghasemi y E. Majidi Hervan. 2011. Genetic analysis of resistance to common smut in maize (*Zea mays* L.) using triple test cross. *African Journal of Agricultural Research*. 6(3): 630-635.
- Nestrud, M. A. y H. T. Lawless. 2008. Perceptual mapping of citrus juices using projective mapping and profiling data from culinary professional and consumers. *Food Quality and Preference*. 19(4): 431-438.
- Ohga, S. y Y. Kitamoto. 1997. XVI Future of mushroom production and biotechnology. *Food Reviews International* 13(3): 461-469.
- Paredes, L. O., M. E. Valverde., L. F. Guevara y E. P. Vanegas. 2000. Tecnologías para la producción masiva de huitlacoche. Cuaderno de trabajo, Área de alimentos Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Sistema de Investigación Miguel Hidalgo.
- Pataky, J. K. 1991. Production of huitlacoche [*Ustilago maydis* (DS) Corda] on sweet corn. *Horticultural Science*. 26(11): 1374-1377.
- Pataky, J. K., C. Nankam y M. Kerns. 1995. Evaluation of a silk-inoculation technique to differentiate reactions of sweet corn hybrids to common smut. *Phytopathology*. 35: 1323-1328.
- Pataky, J. K. y M. A. Chandler. 2003. Production of huitlacoche, *Ustilago maydis*: timing inoculation and controlling pollination. *Mycologia*. 95: 1261-1270.
- Pataky, J. K. y K. M. Snetselaar. 2006. Common smut of corn. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2006-0927-01.
- Pataky, J. K. y P. M. Richter. 2007. Silk abscission in two sweet corn (*Zea mays* L.) hybrids that differ in susceptibility to common smut infection of ears. *Hortscience*. 42(6): 1409-1412.
- Platz, G. A. 1929. Some factors influencing the pathogenicity of *Ustilago zae* (Beckm.) Unger. *Iowa State College Journal of Science*. 3: 177-214.
- Pope, D. D. y S. M. McCarter. 1991. The effect of inoculation method on disease incidence and severity of the corn smut caused by *U. maydis*, *Phytopathology*. 81: 814.
- Pope, D. D. y S. M. McCarter. 1992a. Evaluation of inoculation methods for inducing common smut of corns ears. *Phytopathology*. 82: 950.
- Pope, D. D. y S. M. McCarter. 1992b. Smut incidence and severity after inoculating developing corn ears with *U. maydis* using different methods. *Phytopathology*. 82: 500.
- Puhalla, J. E. 1968. Compatibility reactions on solid medium and interstrain inhibition in *Ustilago maydis*. *Genetics*. 60: 461-474.
- Qannari, M. E., P. H. Courcoux, M. Lejeune y Maystre O. 1997. Comparaison de trois de détermination d'un compromis en évaluation sensorielle. *Annual Review of Statistics and its Application*. 45(1): 61-74.
- Ramírez Rivera, E. J.; L. G. Ramón Canul., Y. Huante González., A. J. Shaín Mercado., H. R. Bravo Delgado y C. Martínez Liébana. 2009. Caracterización sensorial del camarón ahumado (*Litopenaeus vannamei*) mediante la técnica perfil flash. *Ciencia y Mar*. XIII (38): 27-34.

- Rason, J., L. Laurent., E. Dufour y A. Lebecque. 2006. Relations between the know-how of small-scale facilities and the sensory diversity of traditional dry sausages from the Massif central in France. *European Food Research and Technology*. 222 (5-6): 580-589.
- Rowell, J. B. 1955. Functional role of compatibility factors: an in vitro test for sexual compatibility with haploid lines of *Ustilago zaeae*. *Phytopathology*. 45: 370-374.
- Rowell, J. B. y J. E. DeVay. 1953. Factors affecting the partial vacuum inoculation of seedling corn with *Ustilago zaeae*. *Phytopathology*. 43: 654-658.
- Ruiz Herrera, J., G. C. León, L. O. Guevara y A. T. Cárabez. 1995. Yeast-mycelial dimorphism of haploid and diploid strains of *Ustilago maydis*. *Microbiology*. 141: 695-703.
- Ruiz Herrera, J. y A. D. Martínez Espinosa. 1998. The fungus *Ustilago maydis*, from the Aztec cuisine to the research laboratory. *International Microbiology*. 1: 149-158.
- Ruiz, I. 1999. Producción de huitlacoche por inoculación artificial de cepas locales de *Ustilago maydis* (D. C.) Corda, en híbridos regionales de maíz (*Zea mays* L.) en el valle del Yaqui. Tesis de maestría. Instituto Tecnológico de Sonora. Cd. Obregón Sonora, México.
- Salazar Torres J. C.; E. Martínez Trejo; R. Álvarez Hernández; A. Méndez López. 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 1^{er}*. Congreso Internacional de Ciencias Aplicadas (Editores: S. R. Márquez Berber, C. I. Mamani Oño, F. Pérez Soto) Universidad Autónoma Chapingo. México. 84-93.
- S. A. S. 2007. Statistical Analysis System Institute, Cary, North Carolina.
- SECRETARÍA DE ECONOMÍA, FUNTEC, CIBA-Tlaxcala Situación de la Biotecnología en el Mundo. 2010 Disponible En <http://www.economia.gob.mx/swb/es/economia/>
- Silva, E. M., A. Machuca y M. Milagres. 2005. Evaluating the growth and enzyme production from *Lentinula edodes* strains. *Process Biochemistry*. 40: 161-164.
- Sleumer, H. O. 1932. Uber sexualität und zytologie von *Ustilago zaeae* (Beckm.) Zeit. Bot. 25: 209-263.
- Snetselaar K. M., A. M. Carfioli y K. M. Cordisco. 2001. Pollination can protect maize ovaries from infection by *Ustilago maydis*, the corn smut fungus. *Canadian Journal of Botany*. 79(12): 1390-1399.
- Snetselaar, K. M. y C. W. Mims. 1993. Infection of maize stigmas by *Ustilago maydis*: Light and electron microscopy. *Phytopathology*. 83: 843-850.
- Spellig, T., M. Bölker., F. Lottspeich., R. W. Frank y R. Kahmann. 1994. Pheromones trigger filamentous growth in *Ustilago maydis*. *EMBO Journal*. 13: 1620-1627.
- Stakman, E. C. y J. J. Christensen. 1927. Heterothallism in *Ustilago zaeae*. *Phytopathology*. 17: 827-834.
- Stakman, E. C. y J. J. Christensen. 1929. Physiologic specialization of *Ustilago zaeae* and *Puccinia sorghi* and their relation to corn improvement. *Phytopathology*. 16: 84.
- Stamets, P. 2000. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Ten Speed Press.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei y S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA). *Molecular Biology and Evolution*. 24: 1596-1599.
- Tarea, S., G. Cuvelier y J. M. Sieffermann. 2007. Sensory evaluation of the texture of 49 commercial apple and pear purees. *Journal of Food Quality*. 30 (6): 1121-1131.
- Texas Plant Disease Handbook. 1996. *Common smut symptoms on corn*. <http://Cygnum.tamu.edu/Textlab/Grains/corn/es.html>.

- Thakur, R. P., K. J. Leonard y J. K. Pataky. 1989. Smut gall development in adult corn plants inoculated with *Ustilago maydis*. *Plant Disease*. 73 (11) : 921-925.
- Tillet, M. 1766. Observation sur la maladie du maïs ou ble de Turquie. *Mémoires Académie des Sciences Paris 1760* : 254-261.
- Torres-Salcido, G., R. Meiners Mandujano., D. A. Morales Córdova., V. Marina Carral y G. Alonso Torres. 2015. Agricultura familiar y sistema agroalimentario localizado. Políticas locales para la producción de huitlacoche (*Ustilago maydis* sp.). *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*.12 (2): 199-218.
- Tracy, W. F., C. Vargas., L. Zepeda., J. K. Pataky y M. A. Chandler. 2007. Production and marketing of huitlacoche. En: *Issues in new crops and new uses*. Janick J. y Whipkey (Eds.). ASHS Press. Alexandria, VA. 233-236.
- Ulloa, R. 2002. Efecto del periodo de fecundación del maíz (*Zea mays* L) en la infección artificial de *Ustilago maydis* para la producción de huitlacoche en el Valle del Yaqui. III Encuentro Internacional de Biotecnología UPIBI 2002. Querétaro, México.
- Valadez Azua, R., A. Moreno y G. Gómez. 2011. Cujtlacocho. El huitlacoche. Instituto de Investigaciones Antropológicas. UNAM.
- Valadez Azua, R. 2012. “El huitlacoche, un recurso alimentario mexicano no tan milenario” *Antropológicas Boletín Instituto de Investigaciones Antropológicas*. 1 (5): 1-9.
- Valdez Morales, M., M. E. Valverde y O. Paredes López. 2009. Procedimiento tecnológico para la producción masiva de huitlacoche. <http://octi.gunajuato.gob.mx/sinnco/formulario/MT/MT2009/MT1/SESION2/MT1> 27 de febrero 2011.
- Valverde, M. E., P. F. Moghaddam, M. S. Zavala Gallardo., J. K. Pataky., O. Paredes López y W. L. Pedersen. 1993. Yield and quality of huitlacoche on sweet corn inoculated with *Ustilago maydis*. *Horticultural Science*. 28 (8): 782-785.
- Valverde, M. E., O. Paredes-López., J. K. Pataky y F. Guevara Lara. 1995. Huitlacoche (*Ustilago maydis*) as a food source biology, composition and production. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 35 (3): 191-229.
- Vanegas, P. E., M. E. Valverde., O. Paredes López y J. K. Pataky. 1995. Production of the edible fungus huitlacoche (*Ustilago maydis*): Effect of maize genotype on chemical composition. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 80 (1): 104-106.
- Velasco S., E. 2012. Gestión estratégica. BBAP (Biblioteca Básica de Administración Pública). Velasco Ernesto Compilador. Siglo veintiuno editores.
- Villanueva Verduzco, C. 1995. Estudios de la reacción del maíz al huitlacoche (*Ustilago maydis*). Tesis de Doctorado en Ciencias, Colegio de Posgraduados, Programa de Genética. México.
- Villanueva Verduzco, C. 1997. Huitlacoche (*Ustilago maydis*) as a food in Mexico. *Micología. Neotropical Aplicada*. 10: 73-81.
- Villanueva Verduzco, C., E. Sánchez y E. Villanueva. 2007. *El huitlacoche y su cultivo*. Mundi Prensa México, S.A. de C.V.
- Walter, J. E. 1935. Factors affecting the development of corn smut, *Ustilago zae* (Beckm.) Unger. *Minnesota Agricultural Experiment Station Technical Bulletin*. 111.
- Wilkinson, R. E. y G. C. Kent. 1945. Some factors determining the infection of corn by *Ustilago zae* (Beckm.) Unger. *Iowa State College Journal of Science*. 19: 401-413.
- Wilson, G. L. 1987. Buffalo Bird Woman’s garden: Agriculture of the Hidatsa Indians. *Borealis Press*, Nepean, Ontario, Canadá.

- Zamani, M., V. Rahjoo y M. Parchamian. 2011. Evaluation of the reaction of early maturing maize genotypes to common smut using artificial inoculation. *Proceedings for Natural Sciences, Matica Srpska Novi Sad*. 121: 71-77.
- Zannoni, M. 1997. Approaches to translation problems of sensory descriptors. *Journal of Sensory Studies*. 12(3): 239-253.
- Zimmerman, S. A. y J. K. Pataky. 1992. Inoculation techniques to produce galls of common smut on ears of sweet corn. *Phytopathology*. 82: 995.
- Zócalo. 2015. Buscan impulsar cultivo de huitlacoche para beneficiar a indígenas (Notimex). <http://www.zocalo.com.mx/seccion/articulo/buscan-impulsar-cultivo-de-huitlacoche-para-beneficiar-a-indigenas-14288060>.