

UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

"CARACTERIZACION DEL HONGO COMESTIBLE HUITLACOCHE (Ustilago maydis Cda.) PRODUCIDO SOBRE MAÍZ QPQ, BENGALA Y TIGRE EN EL VALLE DEL MEZQUITAL, HGO".

TESIS QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: INGENIERO AGROINDUSTRIAL

PRESENTA:

ANGELICA TRAPALA ISLAS

DIRECTORA:

DRA. ALMA DELIA HERNANDEZ FUENTES

ICAP-UAEH

Tulancingo de Bravo Hgo., 2010.



UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Tulancingo de Bravo Hidalgo, a 5 Junio 2010.

M. en C. JULIO CESAR LEINES MEDECIGO DIRECTOR DE CONTROL ESCOLAR

A través de este conducto, los integrantes del comité Revisor de la tesis titulada "CARACTERIZACION DEL HONGO COMESTIBLE HUITLACOCHE (*Ustilago maydis Cda.*) PRODUCIDO SOBRE MAÍZ QPQ, BENGALA Y TIGRE EN EL VALLE DEL MEZQUITAL, HGO". Que presenta el pasante de Ingeniería Agroindustrial Angélica Trapala Islas, hacemos de su conocimiento que hemos revisado el contenido y forma de la mencionada tesis y consideramos que reúne los elementos suficientes para la defensa oral en el examen de licenciatura. Por lo anterior descrito expresamos la aprobación para la impresión de esta tesis.

Atentamente

El comité Revisor

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes	
Dr. José Manuel Pinedo Espinoza	
Dr. Rafael Germán Campos Montiel	
Dra. Diana Jaqueline Pimentel González	
Dra. Norma Güemes Vera	
Dra. Lucila del Carmen Hernández Cortés	

La presente tesis titulada "CARACTERIZACION DEL HONGO COMESTIBLE HUITLACOCHE (Ustilago maydis Cda.) PRODUCIDO SOBRE MAÍZ QPQ, BENGALA Y TIGRE EN EL VALLE DEL MEZQUITAL, HGO", realizada por la alumna Angélica Trapala Islas, bajo la dirección de la Dra. Alma Delia Hernández Fuentes y asesorada por Dr. José Manuel Pinedo Espinoza, Dr. Rafael Germán Campos Montiel, Dra. Norma Güemes Vera, Dra. Diana Jaqueline Pimentel González y Dra. Lucila del Carmen Hernández Cortes, ha sido aprobada y aceptada como requisito parcial para obtener el titulo de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

	Consejo particular
Dra. Alma Delia Hernández Fuentes	
Dr. José Manuel Pinedo Espinoza	
Dr. Rafael Germán Campos Montiel	
Dra. Diana Jaqueline Pimentel González	
Dra. Norma Güemes Vera	
Dra. Lucila del Carmen Hernández Cortés	

La presente tesis fue elaborada gracias al apoyo financiero de **FOMIX** Conacyt-Gobierno del Estado de Hidalgo, en el marco del proyecto "Propuesta de activación de la granja de policultivos (frutashortalizas-cultivos básicos) de Tezontepec de Aldama, Hidalgo, para la activación y transferencia de tecnología sustentable", clave 073875. Que se encuentra en ejecución bajo responsabilidad de la Dra. Alma Delia Hernández Fuentes.

DEDICATORIAS

A mís padres: Alejandro Trapala soto y Arcadía Islas Montiel por el apoyo, caríño y confianza que siempre me han brindado solo me queda por decirles gracías, saben cuanto han sido importantes en mi vida y educación.

A mís hermanos: Aracelí y Ernesto, gracías por compartir momentos especiales en todo este tiempo que hemos compartido juntos y su apoyo cuando lo he necesitado.

A toda la família Islas Montiel: Chucho, Gaude, Irene, Manuel, Lázaro, moy, Benígno, que me han apoyado siempre, son unos tíos súper.

A mís primos: Daniel, Gerardo, José, Erika, Sonia, Lilia, laura, Anayeli T., Araceli, Anayeli I., Karen, José Luis, Erik, Uriel S., Saúl, Leander, Hector Alejandro, son increíbles los momentos que compartimos al paso de los año.

A mís tías: Mà Isabel Trapala Soto y Juana Nerí Soto, Mà de la Luz, Ma Luísa, por su apoyo y confianza y cariño.

A mí abuelito: José Islas González que le doy gracias por estar a nuestro lado siguiendo y compartiendo la vida con nosotros.

A la família Soto Cruz: gracías por los momentos que han compartido conmigo en especial a mí abue Sofia por su cariño y apoyo.

A mís querídos sobrinos: Karen Aídé, Uriel, Ulíses, Rígo, Jesús, Héctor Alondra, Jorge, Sebastián, J. Díego.

A mís padrinos: Eloy, Erminia, Sonia, Ángel, Arturo, por apoyarme en momentos inolvidables e importantes en mi vida.

A mís pequeños motores para seguír adelante: Cínthya Míchel, Axel Jesús, Oscar de Jesús, Renata Marlen espero ser el ejemplo para ustedes mís querídos ahíjados.

En especial a mís Ángeles: Margarito Islas Montiel⁺, Lucrecia Montiel Nerí⁺, M^{a} Guadalupe Islas Gómez⁺, Saúl López Soto⁺, Díonicio Islas Montiel⁺, que a pesar que no están en este momento físicamente a mí lado, están con migo desde el cielo gracias por sus bendiciones para la familia y solo me queda decirles nos encontraremos pronto en la resurrección.

A mís compañeros que al final de todo logramos supéranos y termínar una etapa importante en nuestra vida: Maura, Laura, Santiago, Saúl, Rosy.

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a Dios y a la virgen de Guadalupe que me dieron la vida y me permitió llegar a este momento.

A todos mís profesores que desde el kínder hasta la universidad han contribuído en toda mí educación profesional que no pongo sus nombres ya que no existiría espacio suficiente para escribirlos todos están en estos puntos solo me queda decirles. MUCHAS GRACIAS.

En especial a los que contribuyeron a la realización de esta tesis: Dra. Alma gracias por su apoyo, amistad y confianza para la realización de esta tesis.

A mís asesores de tesís: Dr. Rafael German Campos Montíel, Dra. Díana Jaquelíne Pímentel González, Dra. Norma Güemes Vera y Lucía Del Carmen Hernández Cortés

A mí hermana: Aracelí gracías por tu apoyo y solo me queda decír eres un ejemplo dígno de hermana mayor.

A mí hermano: Ernesto por acompañarme en desvelos para la realización de este trabajo.

A toda mí familia por confiar en mí y apoyarme para llegar a este momento solo me queda decirles GRACIAS, los quiero mucho, son lo más importante en mí vida.

GRACIAS Y QUE DIOS LOS VENDIGA.

RESUMEN

El aumento en el consumo de huitlacoche 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. La popularidad del huitlacoche ha aumentado en los últimos años. Su precio varía de 40 a 50 pesos por kilo dependiendo de su calidad; mientras que cuando escasea el producto su costo aumenta hasta 140 pesos por kilo. El objetivo de la presente investigación fue determinar las características de calidad para huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda,) incubado sobre maíz QPM, Tigre y Bengala, en el Valle del Mezquital, Hidalgo. Para lograr el objetivo planteado se incubo el hongo huitlacoche (Ustilago maydis Cda,) sobre maíz QPM, Tigre y Bengala. El experimento se estableció en el Municipio de Tezontepec de Aldama Hidalgo, el cual se encuentra ubicado en el Valle del Mezquital. Las variables evaluadas fueron; Sólidos solubles totales, acidez titulable, ácido ascórbico, peso, pH, clorofila en brácteas, azúcares totales, color, ángulo de tono °Hue, pureza de color, nitrógeno, proteínas, lisina, triptófano, índice de calidad y metales pesados. Para el análisis de resultados del experimento se utilizo el programa estadístico SAS, el diseño completamente al azar. Se realizo el análisis de varianza y la prueba de comparaciones múltiples de medias de Tukey con una (P ≤ 0.05). No se observaron diferencias estadísticas significativas en las características fisicoquímicas de sólidos solubles totales (°Brix), Acidez titulable, Vitamina "C", pH, clorofila, ángulo de tono (°Hue) y pureza de color, del huitlacoche inoculado en las variedades de maíz QPM. Tigre y Bengala. Sin embargo se observaron diferencias significativas (P< 0.05) en Azucares totales, nitrógeno, encontrando una mejor calidad en el huitlacoche inoculado en maíz QPM. Aunque en el contenido de metales pesados se observaron diferencias significativas, todas las muestras se encuentran dentro de la norma oficial mexicana AA-051-SCRT-2001.

ÍNDICE

RESUMEN	i
ÍNDICE	ii
ÍNDICEDE CUADROS	vi
ÍNDICE DE DE FIGURAS	vi
I. INTRODUCCION	1
Objetivo General	2
Objetivos Específicos	2
II REVISION DE LITERATURA	3
2.1 Los hongos comestibles	3
2.2 Producción de Hongos Comestibles	4
2.3 Huitlacoche (<i>Ustilago maydis Cda.</i>)	6
2.3.1 Generalidades del huitlacoche (<i>Ustilago maydis Cda</i> .)	8
2.3.2 Importancia económica y usos huitlacoche	9
2.3.4 Importancia del huitlacoche	9
2.3.5 Ciclo de vida del <i>Ustilago maidys Cda</i>	10
2.4 Sintomatología <i>Ustilago maydis Cda</i>	12
2.5 Patogenicidad	13
2.6 Control de Enfermedades	15
2.7 Factores ambientales que favorecen a <i>U. maydis Cda</i>	15
2.8 Inoculaciones con fines de producción comercial	17
2.9 Composición química y valor nutricional del huitlacoche	18
2.9.1 Característica nutricional	23
2.10 Rendimiento del huitlacoche	24

2.11 Índice de Cosecha del huitlacoche	25
2.12 El uso de agua residual en el Valle del Mezquital para riego	
agrícola	25
2.12.1 El agua residual y la agricultura	27
2.13 Post cosecha en hongos comestibles	28
2.14 Cambios de color	29
III. MATERIALES Y MÉTODOS	30
3.1 Descripción de la zona de estudio	30
3.1.1 Geografía	30
3.1.2 Clima	31
3.1.3 Sistemas de riego	31
3.2 Localización del experimento	33
3.2 Establecimiento del experimento	34
3.2.1 Experimento en el campo	34
3.3 Descripción de la materia prima	35
3.3.1 Establecimiento del experimento en laboratorio	36
3.4 Diseño de tratamiento	37
3.5 Variables de estudio	37
3.5.1 Sólidos solubles totales (°Brix)	37
3.5.2 Acidez titulable	37
3.5.3 Ácido ascórbico (Vitamina C)	38
3.5.4 Peso	39
3.5.5 pH	39
3.5.6 Clorofila en brácteas	39
3.5.7 Azúcares Totales	39
3.5.8 Color	40
3.5.8.1 Angulo de tono (° Hue)	41
3.5.8.2 Pureza de color	41
3.5.9 % Nitrógeno y proteínas	41

3.5.10 Lisina	42
3.5.11 Triptófano	42
3.5.12 Índice de Calidad (IQ)	43
3.5. 13 Metales pesados	43
3.6 Análisis de resultados	44
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	45
4.1 Sólidos Solubles Totales (°Brix)	45
4.2 Acidez Titulable (%)	45
4.3 Vitamina C (%)	45
4.4 Peso	46
4.5 pH	47
4.6 Clorofila en brácteas	47
4.7 Azucares Totales	47
4.8 Color en hongo de huitlacoche	48
4.8.1 Luminosidad ó Brillantez (L)	49
4.8. 2 Angulo de Tono (°Hue)	49
4.8.3 Pureza de color	50
4.9 Nitrógeno y proteínas	51
4. 10 Lisina	52
4.11Triptófano	53
4. 12 Índice de calidad (QI)	54
4.13 Metales Pesados	55
4.13.1 Contenido de Fe	55
4.13. 2 Contenido de Cu	55
4.13. 3 Contenido de Pb	55
4.13. 4 Contenido de Ni	56
4.13.5 Contenido de Zn	56
IV. CONCLUSIONES	58

TRAP	PALA ISLAS ANGELIC <i>i</i>
VI. BIBLIOGRAFIA	59
VII. APENDICE	67

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Producción de Hongos Comestibles en América Latina	5
Cuadro 2. Comparación de la composición bromatológica del huitlacoche (Ustilago maydis Cda.) y Agaricus campestre	14
Cuadro 3. Composición proximal del Huitlacoche	18
Cuadro 4. Ejemplo de la composición proximal (base seca) de huitlacoche producido por la cruza de diferentes cepas	19
Cuadro 5. Composición proximal de huitlacoche producido sobre híbrido (Base seca)	20
Cuadro 6. Composición proximal de Huitlacoche (mg/g base seca)	21
Cuadro 7. Composición de aminoácidos esenciales de hongos comestibles.	23
Cuadro 8.Concentración de metales pesados en cultivos regados con aguas residuales del Valle del Mezquital	27
Cuadro 9. Valores normales en metales pesados	28
Cuadro 10. Efecto del contenido de Sólidos solubles totales, acidez titulable, vitamina "C" y peso en hongo de Huitlacoche (<i>Ustilgo maydis Cda.</i>) Inoculados en elotes de maíz Tigre, QPM y Bengala	46
Cuadro 11. Efecto de pH, azucares totales y clorofila en hongo de Huitlacoche (<i>Ustilago maidys Cda.</i>) inoculado en elotes de maíz Tigre, Bengala y QPM	48

Cuadro 12.	Color, Luminosidad, Angulo de tono °Hue y pureza de color en hongo de Huitlacoche (<i>Ustilago maydis Cda</i>) inoculados en elotes de maíz Tigre, QPM, Bengala	51
Cuadro 13.	Efecto de contenido de Nitrógeno, Proteínas, Triptofano, Lisina e Índice de calidad en hongo de Huitlacoche (<i>Ustilgo maydis</i>) inoculados en elotes de maíz Tigre, QPM y Bengala	54
Cuadro 14.	Contenido de Fe, Cu, Pb, Ni, y Zn en hongos de huitlacoche (<i>Ustilgo maydis Cda.</i>) inoculados en elotes de maíz Tigre, QPM y Bengala	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de infección de <i>Ustilago maydis Cda</i>	7
Figura 2. Ubicación del Municipio de Tezontepec de Aldama, Hidalgo	32
Figura 3. Localización del Lote Experimental en Tezontepec de Aldama, Hidalgo	33
Figura 4. Inoculación del hongo cuando los estigmas tienen de 1 a 2 cm	35
Figura 5. Inyección del inóculo en la tercera parte del jilote de la parte basal	35
Figura 6. Recolección del hongo huitlacoche con brácteas	36
Figura 7. Corte del punto de inserción del pedúnculo con el tallo	36

TRAPALA ISLAS ANGELICA

I. INTRODUCCION

El aumento en el consumo de huitlacoche 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. La popularidad del huitlacoche ha aumentado en los últimos años. Su precio varía de 40 a 50 pesos por kilo dependiendo de su calidad; mientras que cuando escasea el producto su costo aumenta hasta 140 pesos por kilo.

Se preparan una gran diversidad de platillos y presenta un alto valor nutricional, además de un exquisito sabor, sin embargo; como otros hongos comestibles el huitlacoche es considerado como una alternativa alimenticia no obstante su aporte nutricional principalmente por la calidad de sus proteínas. Se ha encontrado que el crecimiento y valor energético se ve afectado por un gran número de factores físicos, químicos, biológicos y ambientales por ejemplo combinación de cepas, variedad de maíz, condiciones ambientales, desarrollo de la planta, tiempo de cosecha, daños mecánicos en las plantas y lugar de inoculación. Sus proteínas contienen un buen balance de aminoácidos esenciales, destacando la lisina, triptófano, histidina, treonina, ácido aspàrtico, ácido glutámico y serina Castro y Ruiz, (2003). De igual manera la cantidad de proteína, grasa, cenizas, fibra y carbohidratos pueden variar de forma considerable dependiendo de algunos factores como; zona de producción, variedad de maíz y cepas del hongo entre otros. Se considera que la producción de huitlacoche tiene mayor rentabilidad que la del elote ya que es 15 veces mayor y si se compara con el grano, es mayor. Ha surgido esta inquietud por el alto valor agregado y la aceptación de y demanda de otros países que se ha empezado a considerar como una un nuevo hongo comestible. Por ello, es importante determinar las condiciones apropiadas para producir huitlacoche de alta calidad a nivel comercial con diferentes variedades de maíz en cuanto a eficiencia y definir el tiempo óptimo de cosecha así como parámetros de calidad del huitlacoche.

Objetivo General

Determinar las características de calidad para huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) incubado sobre maíz QPM, Tigre y Bengala, en el Valle del Mezquital, Hidalgo.

Objetivos Específicos

Evaluar el contenido azúcares, acidez titulable, sólidos solubles totales, pérdidas de peso y vitamina C, en huitlacoche.

Determinar el porcentaje de triptófano, lisina e índice de calidad (IQ) en el huitlacoche.

Establecer el contenido de metales pesados (Fe, Cu, Pb, Ni y Zn) en el huitlacoche.

I. REVISION DE LITERATURA

2.1 Los hongos comestibles

La recolección de hongos comestibles es una práctica que ha acompañado a la humanidad desde la antigüedad, la cual ha desembocado en su producción inducida, a través de la investigación científica a lo largo de los siglos. Los romanos conocían y utilizaban diversas clases de hongos comestibles como las trufas o la *Amanita caesarea*. El shii-take (*lentinula edades*) es un hongo que inicialmente se recolectaba y actualmente se cultiva en Japón y China; desde hace cientos de años, en Europa, se cultivaba el champiñón (*Agaricus Bisporus*), el cual se difundió posteriormente hacia todo el mundo Laessoe, (1998). En América, los aztecas ya recolectaban y consumían un hongo comestible denominado hiutlacoche (*Ustilago maydis Cda.*) Paredes, (2000).

Chang (1992) define a los hongos comestibles como estructuras carnosas, generadoras de esporas.

Es difícil calcular la cantidad de géneros que son comestibles, y es aun más difícil calcular el número de especies que producen hongos sensorialmente aceptables para ser consumidos, ya que su aceptación sensorial depende de la cultura que los consume. Aunque existe una gran variedad de hongos comestibles alrededor del mundo, sólo para algunas especies se ha desarrollado la tecnología suficiente para su producción, cosecha, empaque, conservación y comercialización. Para poder actualmente cultivar un hongo comestible, se requiere conocer la información concerniente a su ciclo sexual, hospedero, requerimientos fisiológicos, condiciones ambientales, sustratos, periodo de cultivos así como sus métodos de conservación. Actualmente se desarrollan investigaciones que buscan completar estos rubros para el hongo comestible huitlacoche (*Ustilago maydis Cda.*) y cultivarlo en condiciones controladas. Pardo, (2004).

En México, en 1939 se logró establecer, en el Rancho Tonalco, la primera empresa productora de hongos en México.

La industria de los hongos comestibles en México a pesar de ser reciente; su importancia radica en que estos productos son ricos en proteínas, vitaminas y minerales, además de poseer un sabor exquisito. Por otra parte, representan una alternativa como fuente de nutrimentos para los países en desarrollo Paredes, (2000). Además, los hongos comestibles, incluido el huitlacoche, se caracterizan por ser bajos en calorías, grasa, colesterol y sodio Ruiz, (2003).

2.2 Producción de Hongos Comestibles

El cultivo de hongos comestibles es una actividad que se ha desarrollado ampliamente en diversas partes del mundo como Estados Unidos, Europa y el Sudeste de Asia y América Latina. En Latinoamérica, la producción, investigación y consumo de hongos van en ascenso. Países como México, Colombia y Brasil trabajan activamente en proyectos de investigación y desarrollo Raúl, (2004).

La producción anual de hongos en América Latina se incremento 32% de 49,997 a 65,951 ton/año en el periodo de 1995 a 2001, pero a pesar de este incremento, la región solo produce el 1.3 % de la producción comercial de hongos cultivados Martoñez (2006).

Los principales países productores de América Latina son México (58.6%), Chile (17.6%) y Brasil (10.6%), juntos representan el 86.8% del total de la producción de hongos. Se estima que el consumo *per cápita* de hongos es alrededor de 125g por año. El total el valor económico representa 167 millones de dólares por año, y alrededor de 34 mil empleos directo o indirectamente, en esta industria. Se estima que 656,796 ton de sustrato son utilizados al año, Martoñez, (2006). En el cuadro 1 se muestra la producción de hongos comestibles en América Latina.

Cuadro 1. Producción de Hongos Comestibles en América Latina.

	Ton/año (peso fresco)					
País	1970	1972	1974	1975	1995	2001
Argentina	150	300	600	700	1,200	1,450
Bolivia						60
Brasil	150	350	600	700	4,000	7,000
Colombia	100	150	160	180	3,200	3,520
Costa Rica	50	500	700	600	100	110
Chile	80	100	100	100	10,600	11,600
Ecuador	400	460	500	500	320	352
Guatemala	10	20	20	10	40	132
México	1,150	1,700	2,220	2,430	27,825	38,708
Perú	60	70	100	100	300	330
Santo Domingo		200	1,000	900	900	1,089
Venezuela	50	50	100	80	1,400	1,540

Fuente: Martoñez, 2006

En México, la producción de hongos comestibles inicio en 1933 por el sector privado y en 1989 por el sector social. En cada vez más importante social, económica y ecológicamente, puesto que el momento anual de sus operaciones supera los 70 millones de dólares y genera alrededor de 15,000 empleos directos e indirectos Paredes, (2006).

Varias compañías extranjeras en México se dedican a exportar hongos comestibles al Japón, Europa y Estados Unidos, por otra parte, el cultivo de diversas especies de hongos comestibles, sobre todo en residuos agro-industriales, tienen especial auge en México en los últimos años Guzmán, (1997).

En nuestro país el volumen de hongos producidos asciende a cerca de 28,000 toneladas por año. El 93% corresponde a los champiñones (*Agaricus*), 6.97% a las setas (*Pleurotus*), y 0.03% al Shiitake (*Lentinula*), obtenidas a partir de más o menos 280,000 toneladas de diversos subproductos agroindustriales y forestales, acelerando así su biodegradación y reciclaje en la naturaleza. La mayor parte de la producción de México se concentra en los estados de Jalisco, Hidalgo, México, Morelos, Puebla, Querétaro, Tlaxcala y Veracruz Paredes, (2006).

2.3 Huitlacoche (*Ustilago maydis Cda.*)

El huitlacoche (*Ustilago maydis Cda.*) es un hongo parásito perteneciente a la clase de los Basidiomicetes, dentro del orden de los Ustilaginales (hongos del carbón); este hongo es el agente causante del carbón del maíz. Sólo se conocen dos hospederos: el maíz (*Zea mays*), el teosintle (*Zea mexicana*) Guerra, (2005).

Los hongos pertenecientes al género *Ustilago* son comúnmente conocidos como carbones y su masa de esporas negras se presenta en forma de agallas que crecen en las partes aéreas del maíz, tallos, hojas, espigas y mazorcas Malcom, (1973), (Figura 1).

Cuando la infección se produce en las mazorcas, coincidiendo con la formación de los granos es cuando tenemos un producto para el consumo humano Ruiz, (2005). La mayoría de los hongos causantes del carbón tienen un ciclo de vida dimórfico, alternando entre una fase haploide no patógena similar a las levaduras, las cuales se dividen por gemación y una etapa de dicarión patógeno.

La formación de la aleta dicariótica es acompañada por un cambio morfológico a crecimiento filamentoso, mientras que la levadura (esporidio) muestra crecimiento estrictamente saprófito. La propagación de dicarión filamentoso depende del hospedero Guerra, (2005).

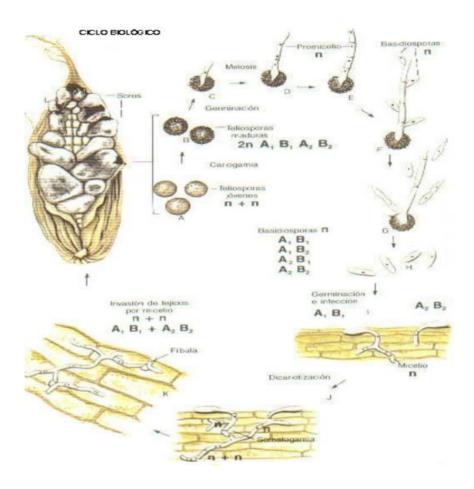


Figura 1. Ciclo de infección de *Ustilago maydis*. (Malecom, 1973).

Muchos de los estudios disponibles orientados a obtener producción artificial de huitlacoche se encuentran a nivel del ensayo de métodos para obtener la mejor técnica de inoculación sobre híbridos comerciales de maíz dulce y variedades de polinización abierta Martínez *et al.*, (2000). De acuerdo con Pataky, (1991), para producir huitlacoche comercialmente, las técnicas deben ser identificadas y deben inducir la formación de agallas en los granos de forma constante.

Actualmente se han utilizado varias técnicas de inoculación de esporas en las plantas de maíz para inducir los síntomas de la enfermedad y buscar variedades de maíz para inducir los síntomas de la enfermedad y buscar variedades de maíz resistentes a este patógeno. Algunas de estas técnicas podrían ser evaluadas en cuanto a su eficiencia para la producción de huitlacoche (Paredes, 2000).

2.3.1 Generalidades del huitlacoche (Ustilago maydis Cda.)

La taxonomía de este hongo de acuerdo con Basse y Steinberng (2004) es la siguiente:

Reino Eucariota

Phylum Fungi

Orden Basidiomycota

Familia Ustilaginomycetes

Genero Ustilago

Nombre Usilago maydis (D. C.) corda (sinónimo como Ustilago zeae Ung.)

Los ustilaginales constituyen un grupo importante de patógenos de plantas las cuales producen una variedad de enfermedades en monocotiledóneas alrededor del mundo. Estos patógenos tienen el potencial de causar severas enfermedades a pesar de los tratamientos a semillas, a las plantas, y a la existencia de variedades parcialmente resistentes y los diferentes métodos de cultivo empleados. Entre los ustilagos patógenos para la avena pueden ser mencionados los siguientes: *Ustilago hordei, Ustilago nuda y Ustilago nigra*. Entre los Ustilagos patógenos que afectan al trigo se puede citar a *Tilletia indica, Tilletia caries* y *Tilletia controversa*. De todos los ustilagos, *Ustilago maydis Cda*. es el miembro más conocido del grupo Ruiz y Martínez, (1998).

La enfermedad del maíz conocida en el mundo como "carbón del maíz", es producida por el hongo *Ustilago maydis Cda.*, y esta virtualmente distribuida alrededor del mundo. Se puede encontrar en cualquier parte donde se cultive maíz Christensen, (1963); Kealey y Kesikowski, (1981). Sin embargo, aparece con mayor frecuencia en áreas cálidas y moderadamente secas, donde ocasiona daños graves en las variedades susceptibles y particularmente en el maíz dulce Agrios, (1998).

U. maydis Cda. es un patógeno específico del maíz (*Zea mays*) y del teozintle (*Zea mexicana*), el cual es considerado como el ancestro del maíz cultivado. Este hongo, bajo algunas condiciones puede causar severas pérdidas en la agricultura Ruiz y Martínez, (1998).

2.3.2 Importancia económica y usos huitlacoche

La importancia de *U. maydis Cda.* radica principalmente en las pérdidas de rendimiento de grano de diversas áreas productoras de maíz de México y del mundo. No obstante en los estados del Centro de México (Tlaxcala, Puebla, Hidalgo, México, Morelos y Oaxaca) tiene importancia alimenticia desde la época prehispánica. Se estima que en los mercados de la ciudad de México se comercializan de 400 a 500 toneladas de huitlacoche fresco anualmente y que algunas compañías procesan mas de 100 toneladas anuales en México, la mayoría durante los meses de julio y agosto Kealey y Kosikowski, (1981). Recientemente, la demanda del huitlacoche se ha incrementado en los Estados Unidos, Europa y Japón, por lo cual existen serios intentos y avances en el desarrollo de metodologías para su producción comercial Pope y McCarter (1992), Pataky, (1991); Valverde et al., (1993). Su importancia trasciende también en la producción de aminoácidos y vitaminas como: lisina, arginina, valina, treonina, ácido glutámico y vitaminas como: riboflavina, niacina, biotina, y ácido fólico mediante mutantes de *U. maydis* cultivados in vitro Kealey y Kosikoski, (1981): Hirschhorn, (1966); en la fabricación de almizcles macrocíclicos de gran valor en la perfumería; en la industria del ácido ustilágico como antibiótico contra bacterias grampositivas y hongos causantes de enfermedades en humanos; y su uso como modelo biológico para estudios básicos de genética molecular de la patogenicidad de hongos Leong et al., (1991).

2.3.4 Importancia del huitlacoche

El huitlacoche (*Ustilago maydis Cda.*) es originario de América, pero se ha extendido por todo el mundo. Este huitlacoche causa anualmente pérdidas de entre 25 y 60% en los campos de producción de granos de maíz. A pesar de esto, en México ese hongo es tolerado e incluso inducido por los productores tradicionales de maíz, quienes esparcen esporas para que crezcan en el siguiente ciclo agrícola Villanueva, (1997). La demanda nacional actualmente ha aumentado, pero además

se ha extendido a los Estados Unidos, en donde es conocido como "Caviar azteca" o "trufa mexicana" Paredes, (2000).

Actualmente, todo el huitlacoche que se consume proviene de la recolección en los campos de producción de grano de maíz. Se comercializa en estado fresco, y no recibe ningún tratamiento post cosecha. Se encuentra en dos presentaciones en los mercados de la Ciudad de México: con algunas hojas que lo cubren, o bien, desgranado.

La incidencia del huitlacoche no sólo reduce el rendimiento final de grano de maíz y también aumenta las dificultades para procesar la parte del maíz no contaminado. Las pérdidas producidas por este hongo son variables y presentan dificultades para ser medidas Kealey y Kisikowski, (1981).

La importancia económica del huitlacoche es mayor en maíz dulce que en maíz dentado. Las agallas del huitlacoche sobre la mazorca son particularmente perjudiciales para maíz dulce porque aun las agallas más pequeñas reducen la calidad de este. También, se tienen costos adicionales cuando el maíz dulce es cosechado y procesado de los campos con carbón Pataky, (2002). Las pérdidas de grano en maíz debidas al huitlacoche del maíz varían ampliamente de una localidad a otra y pueden ir desde un valor insignificante hasta un 10% o más.

Algunos campos de maíz dulce pueden mostrar pérdidas que se aproximan a 100%. En general, en relación a las áreas extensas y al uso de variedades resistentes, las pérdidas en rendimiento de grano tienen un promedio de un 2% Agrios, (1998).

2.3.5 Ciclo de vida del Ustilago maidys Cda.

El *Ustilago maydis Cda.* requiere de un hospedante (maíz o teocintle) para completar su ciclo de vida. El hongo por medio de las teliosporas producidas en las agallas son las estructuras de resistencia del hongo Chiristensen, (1963), las cuales germinan al encontrar condiciones favorables de humedad. Durante la germinación se produce un micelio septado (tubo germinal con células haploides uninucleadas de diferente tipo de compatibilidad alternadamente o en otros arreglos y

combinaciones), y el cual tiene un crecimiento limitado, en esta etapa también ocurre la meiosis.

El núcleo haploide da cada célula del promicelio se divide por mitosis y forman una yema lateral que da origen por germinación a una basidiospora o esporidio, mientras que el otro núcleo haploide permanece en las célula del promicelio con capacidad de formar más basidiosporas Herrera y Ulloa, (1990).

El estado parasítico, el dicarión (dos núcleos haploides separados, por célula), es iniciado por la fusión de esporidios o micelio de diferente tipo del mismo promicelio o de otros, usualmente en el hospedante (tejidos meristemáticos). El micelio dicariótico, a su vez, también puede formar en el hospedante cadenas de esporidios haploides (por disociación de núcleos) o diploides aéreos, los cuales son fácilmente diseminadas por el viento y la lluvia funcionando como otra fuente importante de inóculo Christensen, (1963). Al ocurrir y desarrollarse la infección, las células del micelio dicariótico se diferencian para formar las teliosporas dentro de las agallas o soros protegidos por una membrana de color plateado llamada peridio.

El ciclo de vida del hongo ocurren tres fases nucleares distintas: la diplofase, haplofase y la dicariofase, las cuales involucran respectivamente cariogamia (fusión de núcleos haploides en células miceliales del dicarión para formar las teliosporas), meiosis (división reduccional del núcleo durante la germinación de la teliospora) y plasmogamia (fusión de propágulos haploides compatibles para formar el dicarión). La diplofase normalmente se restringe a las teliosporas maduras y termina cuando éstas germinan. La haplofase inicia con la meiosis y la formación del promicelio y termina con la fusión de las estructuras haploides; mientras que la dicariofase empieza con la plasmogamia y persiste hasta la formación de teriosporas maduras, las cuales se originan a partir de células dicarióticas que se alargan, gelatinizan y se separan entre sí y engrosan su pared celular al tiempo que se fusionan los núcleos Christensen, (1963); O'Donnell y Mc Laughlin, (1984).

A excepción del laboratorio e inoculando plántulas de dos a tres semanas de edad, el tiempo requerido desde la inoculación con haploides compatibles (por ejemplo a1b1 + a2b2) hasta recobrar progenie haploide a partir de las teliosporas

formadas, puede ser aproximadamente tres semanas Banuett y Herskowitz, (1988); Holliday, (1974). Las teliosporas germinan en una noche en medio nutritiva (32 ° C), y pueden formar colonias de dos a tres mm de diámetro, a los dos o tres días después. El ciclo de vida puede reducirse aún más usando plántulas más pequeñas. A los dos o tres meses de la siembra de las teliosporas, es el momento óptimo para su transferencia, resiembra y manipulación *in vitro*; ya que cuando son más viejas se vuelven hojuelosas y compactas, dificultándose la disgregación de los esporidios, lo que a su vez complica la preparación del inóculo.

2.4 Sintomatología Ustilago maydis Cda.

Ustilago maydis Cda. inducen varios cambios en el hospedante (maíz o teocintle), alterando el control del crecimiento, el comportamiento de las células vegetales y causando el desarrollo de agallas Banuett y Hersowitz, (1988).

El huitlacoche también ocasiona algunos efectos fisiológicos sobre sus hospedantes, como: aceleración o incremento de la respiración, transpiración y fotosíntesis López, (1988).

La severidad de los síntomas varía con los diferentes aislamientos geográficos Christensen, (1963); Hirschhorn, (1966).

Cuando ocurre la infección, las células del tejido invasor inician una multiplicación y alargamiento a una tasa extraordinaria. Así, las agallas consisten de una cantidad considerable del tejido modificado del córtex, floema, xilema, parénquima y esclerénquima, además de micelio dicariótico teliosporas y los restos de células del hospedante. Se cree que la actividad anormal del tejido infectado se debe a la producción de complejo auxinas acido indol acético (AIA) y citocianinas, las que estimula las deformación del tejido y el desarrollo de las agallas Villanueva, 2002; en virtud de que las agallas jóvenes contienen una concentración veinte veces mayor de acido indol acético (AIA) en comparación los tejidos no infectados Magro et al., (1978); Kealey y Kosikowski; (1981).

En todos los huitlacoches de gramíneas, las teliosporas se desarrollan en las estructuras reproductivas, frecuentemente sustituyendo el contenido de los granos de maíz. Lo mismo ocurre con *U. maydis Cda.* cuando ataca la mazorca, auque a veces las agallas aparecen en los tejidos de las brácteas, olote, tallos, hojas, espigas e incluso raíces adventicias Christensen, (1963).

Cuando jóvenes, las agallas son firmes, de color blanco grisáceo y están cubiertas son una membrana o periodo que se torna plateado semilustroso, cambiando a negro cuando maduran. La textura de la agalla madura es esponjosa, auque a veces una parte de ella o toda puede ser firme, aparentemente debido a la infección por bacterias o ciertos hongos de los géneros *Rhizopus, Mucor, Aspergillus, Penicillium* y otros que son comunes en las agallas Christensen, (1963).

La infección en plántulas se expresa como hipertrofia severa de tallos y hojas, contorsión conspicua y eventualmente muerte de la planta. En campo, los síntomas suelen observarse hasta que las plantas alcanzan de 30 a 100 cm. Se considera que las plántulas son mas susceptibles del carbón cuando se inoculan por inyección Hirschhorn, (1966).

El promicelio haploide proveniente de la germinación de basidiosporas que infecta el tejido del hospedante; situación en la cual los síntomas correspondientes son distorsión en las plantas y otros síntomas similares, pero no hay la formación de agallas con teliosporas; ya que esto solo ocurre en infecciones producidas por hifas dicarióticas o diploides solopatogénicas.

2.5 Patogenicidad

Adicionalmente, el hongo exhibe una fascinación con su hospedero (maíz) que es caracterizada por una asociación obligatoria entre la infección y el desarrollo sexual así como la inducción de grandes tumores sobre cualquier parte de la planta. El crecimiento dimórfico es una parte central en el ciclo de vida y patogenicidad de *U. maydis Cda*. Las cepas haploides crecen como células saprofitas y pueden fácilmente ser cultivadas *in vitro* en el laboratorio. Las células haploides compatibles en su apariamiento se fusionan y forman un filamento dicariótico, el cual es

patogénico y obligatoriamente biotrófico. La fase dicariótica coloniza al tejido de la planta, ramificando localmente, e induciendo las agallas sobre todas las partes de la planta. La formación de teliosporas completa el ciclo de vida Gold *et al.*, (1997).

El huitlacoche (*Ustilago maydis Cda.*) es un producto rico en proteínas, carbohidratos, vitaminas y minerales, pero bajo en grasa, por lo cual se le considera como un producto bajo en calorías. Su contenido de aminoácidos supera los patrones establecidos por la FAO para el consumo de aminoácidos en adultos Paredes, (2000). El contenido nutricional del huitlacoche (*Ustilago maydis Cda.*) es parecido al de otros hongos comestibles, como *Agaricus campestre* (Cuadro 2).

Cuadro 2. Comparación de la composición bromatológica del huitlacoche (Ustilago maydis Cda.) y Agaricus campestre.

Componente	U. maydis	A. campestris
	(%p/p)	(%p/p)
Agua	92.59	88.9
Proteínas	1.15	3.95
Grasa	0.22	0.26
Cenizas	0.64	1.14
Fibra	5.4	5.75

Fuente: Kaeley y Kosikowski, 1981

Se han llevado a cabo investigaciones que buscan determinar las condiciones óptimas para su reproducción en invernadero, sin embargo, no se ha transferido aún esta tecnología a la producción comercial. Actualmente todo el huitlacoche (*Ustilago maydis Cda.*) que se comercializan en los centros de abastecimiento proviene de la recolección en los ampos de cultivo de maíz, pero es un producto adicional, es decir, no es el producto de interés productivo directo.

De acuerdo con Villegas (1997) hay tres formas en que se produce el huitlacoche actualmente: 1) por crecimiento espontáneo en los campos, mediante esporas existentes en el suelo que infectan a las plantas en desarrollo y

posteriormente sólo es cosechado por los trabajadores; 2) producción empírica: los trabajadores dejan secar el huitlacoche *(Ustilago maydis Cda.)* y posteriormente arrojan las esporas al suelo para que algunas logren infectar al maíz en el siguiente ciclo agrícola; 3) producción asistida: los productores buscan asesoría técnica de profesionales, para inducir el crecimiento a través de técnicas de inoculación.

No existen registros actuales de la magnitud de producción en México. Se sabe que la mayor parte del huitlacoche que es consumido proviene de los valles altos del Estado de México, sin embargo; el único registro que existe señala que anualmente se comercializan entre 400 y 500 toneladas en los mercados de la ciudad de México Kealey y Kosikowski, (1981).

2.6 Control de Enfermedades

La utilización de hospedante resistentes es el método más eficiente para controlar el carbón común como enfermedad del maíz. La variación en la incidencia de carbón común entre maíces criollos e híbridos ha sido reportada desde principios de 1900. Se piensa que el maíz dentado probablemente ha sido incorporada por el hecho de que las semillas de líneas infectadas son eliminadas de los programas de semillas. El maíz dulce puede ser menos resistente porque los mejoradores han sido menos severos respecto a eliminar líneas infectadas con agallas de carbón, debido a la poca variación genética del germoplasma de maíz dulce resistente al carbón Pataky, (2002).

2.7 Factores ambientales que favorecen a *U. maydis Cda.*

Aunque existen numerosos informes sobre los factores ambientales que favorecen el desarrollo de epifitias del huitlacoche en maíz Christesen, (1963); Hirschhorn, (1966), todavía existen controversias acerca del nivel de temperatura y humedad relativa de la hoja, que estimula la incidencia del carbón, lo que puede deberse a los diferentes materiales genéticos (hongos y maíz) utilizados por los investigadores. Es indudable que la temperatura, la humedad relativa y hospedantes

susceptibles en presencia del patógeno son los factores que determinan el desarrollo de la enfermedad, aunque en general, se desconozca con precisión la magnitud en que tales factores participan Hirschhorn, (1966).

Diversos trabajos coinciden en considerar que la temperatura óptima para el desarrollo del huitlacoche es de 22 a 28°C y que temperaturas más bajas o más altas retardan el proceso de patogénesis entre 26 y 30°C con cualquier grado de humedad originan una mayor incidencia; mientras que con temperaturas por debajo de 26°C el ataque es más leve y el desarrollo del patógeno más lento Hirschhrn, (1966).

Lloviznas finas, seguidas de neblinas y días nublados favorecen la germinación de las teliosporas y su penetración en el hospedante; mientras que otros informes señalan que tales condiciones lavan el inóculo del aire y de las plantas, reduciendo el número de infecciones (Hirschhorn, 1966). En cambio, Walter (1934) no encontró una importante influencia de la humedad ambiental, ya que los esporidios y teliosporas que germinan en los tejidos meristemáticos germinan sin importarles la humedad ambiental.

Poter y Melchor (1917), en regiones secas y calurosas de los Estados Unidos ocurren ataques de intensos, de donde se derivó la creencia de que en épocas de sequía se incrementaba la incidencia. Posteriormente McMillan (1918) encontró que la falta de humedad era un factor limitante para el ataque.

Al estudiar la incidencia de carbón mediante la inoculación con teliosporas sobre líneas de maíz durante cinco años consecutivos, Imet y Christensen (1928) determinaron que pocos días de lluvias y alta exposición del sol favorece la aparición del carbón.

Nuberg y Allen (1985) estudiaron el efecto del marchitamiento sobre la penetración del inóculo (teliosporas) por el involucro del maíz; encontrándose que el 39.62% de las plantas marchitas incubadas desarrollaron agallas, mientras que de las no marchitas sólo se enfermó el 9.09%. Lo mismo observaron Osvald y Osvald (1992) en el Valle de Vipara, Yugoslavia.

Pope y McCarter (1992) mediante inoculaciones con jeringa hipodérmica (3 mL sobre jilotes, de una superficie de 10⁶ esporidias/mL de agua), encontraron excelente desarrollo de carbón sobre un amplio rango de condiciones ambientales en campo.

López (1988) estudió los factores que determinan el desarrollo de *U. maydis* observando que los periodos en los que se formo mayor cantidad de huitlacoche coincidieron con las condiciones de humedad relativa más alta (72.3 a 80.4%), temperaturas de 17.17 a 18.72°C e incrementos de la precipitación (48 a 53 mm); por lo que se consideró que dichos niveles favorecen el establecimiento y desarrollo de *U. maydis*, Por su parte Cruz y Villanueva 1991 encontraron marcadas diferencias entre la incidencia de dos fechas de siembra bajo riego en Chapingo, México (Marzo 12 y Marzo 24,de 1990).

2.8 Inoculaciones con fines de producción comercial.

A pesar de que en México el huitlacoche es consumido desde épocas prehispánica, la disponibilidad de este producto es escasa debido a que depende de la recolección de mazorcas enfermas en forma espontánea en los cultivos de maíz; misma que Paredes (1994) se del orden de 8% de incidencia.

Debido al valor nutritivo y a la creciente demanda nacional e internacional de huitlacoche, en años recientes se iniciaron los primeros intentos por desarrollar tecnología para la producción comercial del huitlacoche en Estados Unidos (Pope y MaCarter, (1992); Pataky, (19919; Arnold, (1992) y en México Valverde *et al.*, (1993); Paredes, (1994).

Fuera de México, este hongo había sido considerado exclusivamente como fitopatógeno, causante de severas pérdidas en el rendimiento de grano en muchos países del mundo. Por esta razón, se prevé que la tecnología a obtener para la producción comercial debe ser muy rigurosa en el manejo de inóculo, del producto comercial, elección de las localidades de producción y de los residuos de cosecha, en virtud de que este hongo es considerado la más polífera de las especies parasitas. Su dispersión es por el viento y sus estructuras de resistencia (teliosporas) son longevas. Al mismo tiempo, dicha tecnología deberá ser acompañada por programas de mejoramiento genético para la obtención de variedades comerciales resistentes destinadas a la producción de grano en las distintas regiones maiceras,

especialmente aquellas cercanas a las localidades de producción de huitlacoche Paredes, (1994).

2.9 Composición química y valor nutricional del huitlacoche.

El huitlacoche ha adquirido popularidad debido a que presenta un exquisito sabor, como otros hongos comestibles éste hongo puede ser considerándose una alternativa alimenticia por su aporte nutricional.

El contenido de proteínas, carbohidratos y fibra en el huitlacoche es muy alto; contiene poca grasa, por lo que se le considera un alimento bajo en calorías. Contiene gran cantidad de ácidos linoléico, el cual es esencial para la nutrición humana y supera los patrones que ha establecido la FAO para el consumo de aminoácidos en adultos Paredes, (2000).

La composición proximal del huitlacoche, de forma general se presenta en el Cuadro 3. Estos valores pueden variar de forma considerable, dependiendo de algunos factores, como: zona de producción/ recolección, variedad de maíz, cepa del hongo, época del año, cultivo de riego o temporal, etc.

Cuadro 3. Composición proximal del Huitlacoche.

Componente	Peso seco (g /100 g)
Proteínas	11.5-16.4
Grasa	1.6-2.3
Cenizas	5.2-7.0
Fibra	16.0-23.0
Carbohidratos	55.1-66.5

Fuente: Castro y Ruiz (2003).

Existe una notable variedad en la composición proximal, y contenidos de aminoácidos y ácidos grasos en huitlacoche Venegas *et al.*, (1995), Paredes (2000), menciona que la composición de huitlacoche proveniente de diferentes orígenes (cepas, materiales de maíz o localidades), tiene una amplia variabilidad en cada uno de sus componentes. Sin embargo, la mayor variabilidad se presenta en el huitlacoche producido por la combinación de diferentes cepas Cuadro 4.

Cuadro 4. Ejemplo de la composición proximal (base seca) de huitlacoche producido por la cruza de diferentes cepas.

Cruza	Proteínas	Grasa	Cenizas	Fibra y Carbohidratos
		(%)	
T2 x I2	15.6	4.7	5.7	74
T3 x I1	17.1	7.3	4.3	71.3
T4 x P1	15.1	3.6	4.5	76.8
T5 x P2	17.5	7.6	4	709
l1 x l4	18.6	11.1	5	65.3
I1 x P2	21	10	6.1	62.6
T6 x P2	12.1	8.6	4.8	74.5
FB1 x				
FB2	16.1	4.5	5.7	73.7

T2, T3, T4, T5, T6, (Cepas silvestres de Toluca, México)

I1, I2, I4 (Cepas silvestres de Irapuato, Gto.)

P1, P2 (Cepas de Pachuca, Hgo.)

Fuente: Paredes, 2000

Al analizar el huitlacoche obtenido de la cruza de diferentes cepas, el rango de proteínas varia de 12.1% a 21.0%; presentándose diferencias estadísticamente significativas entre combinación de cepas, lo que indica la gran influencia de las cepas en cuanto al contenido de proteínas de los diferentes huitlacoches producidos. El contenido de grasa también varia de 3 a 11% (Paredes, 2000).

Venegas *et al.*,(1995) comprobó la variabilidad de la composición de huitlacoche producido por inoculación de 19 híbridos de maíz, sembrados en el campo experimental de la Universidad de Illinois, utilizando dos cepas compatibles de *U. maydis* para registrar la variabilidad entre materiales de maíz, en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Composición proximal de huitlacoche producido sobre híbrido (% Base seca).

Híbrido	Proteínas	Grasa	Cenizas	Fibra y Carbohidratos
Maíz dulce				
HMX 9372	12.3	6.3	3.4	78.0
Serenity	11.5	4.5	4.5	79.5
FMX 292	12.9	6.3	3.8	77.0
Merlin	10.4	6.5	4.3	78.8
WH 3443	12.2	5.7	4.9	77.2
Midship	10.8	3.9	3.5	81.8
Syarbrite	10.6	5.9	5.2	78.3
Paksweet	10.0	3.1	4.2	82.7
WHS 79071	11.9	6.4	4.1	77.6
BSS 4218	11.0	4.0	4.4	80.6
BSS4544	13.7	2.7	3.7	79.9
ACX 92 CN 06	11.7	3.0	5.5	79.8
BSS 4498	13.4	3.4	4.3	78.9
sch 30129	14.3	5.2	4.2	76.3
Maíz palomero				
Exp 0283	11.6	5.0	6.2	77.2
Cr 90135	14.1	2.7	4.8	78.4
Cr 84252	11.9	3.8	5.7	78.6
w. Dynamite	14.5	5.2	4.7	75.6
Maíz Dentado				
B73 X Mo 17	10.5	3.7	5.2	80.6

Fuente: Venegas et al., 1995

La cantidad de proteínas obtenida esta en el rango de 10.0% (base seca) obtenido del hibrido Paksweet, hasta el 14.5% del huitlacoche producido por el híbrido White Dynamite. El huitlacoche producido sobre híbridos de maíz palomero, mostraron un alto nivel de proteína, mientras que el huitlacoche producido sobre el híbrido de maíz dentado presenta un contenido relativamente bajo de proteína Venegas *et al.*, (1995).

La cantidad de proteínas es moderada pero es más alta que las presentes en el grano de maíz y otros cereales. Sus proteínas contienen un buen balance de

aminoácidos esenciales, destacándose altas cantidades de histidina, treonina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico y serina Castro y Ruiz, (2003).

La cantidad de aminoácidos que contiene el huitlacoche, es un aspecto fundamental para considerarlo como un alimento altamente nutritivo y que su aceptación no solo se deba a su exquisito sabor. En el Cuadro 6 se muestran los aminoácidos encontrados en muestras de huitlacoche congelado y huitlacoche liofilizado.

Cuadro 6. Composición proximal de Huitlacoche (mg/g base seca)

Aminoácidos	Congelado	Liofilizado
Alanina	1.05 ± 0.20	1.30 ± 0.06
Glicina	2.44 ± 0.18	2.63 ± 0.05
Treonina	$.062 \pm 0.24$	0.65 ± 0.10
Serina	1.02 ± 0.30	0.98 ± 0.27
Valina	1.46 ± 0.10	1.59 ± 0.05
Leucina	2.24 ± 0.60	2.00 ± 0.06
Isoleucina	1.32 ± 0.09	1.40 ± 0.10
Ácido γ-aminobutírico	1.19 ± 0.30	0.75 ± 0.38
Ácido aspártico	1.80 ± 0.20	1.83 ± 0.12
Prolina	0.75 ± 0.20	0.66 ± 0.04
Ácido glutámico	1.90 ± 0.50	1.79 ± 0.06
Metionina	0.15 ± 0.60	0.06 ± 0.01
Fenilalanina	1.16 ± 0.22	1.06 ± 0.05
Ornitina	0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.05
Lisina	3.21 ± 0.60	2.97 ± 0.20
Tirosina	1.00 ± 0.10	0.80 ± 0.26
Ácido tricolomico	0.23 ± 0.10	0.36 ± 0.32

Fuente: Lizarraga y López, 1996.

Lizarraga y López (1996) al analizar el contenido de aminoácidos libres en huitlacoche, a partir de muestras congeladas a -80°C, y muestras liofilizadas y conservadas a -4°C. Encontraron que los valores totales de aminoácidos libre son 21.62 y 20.91 mg/g para huitlacoche congelado y liofilizado respectivamente (Cuadro 5). Este análisis reveló que el huitlacoche contiene casi todos los aminoácidos esenciales y algunos no esenciales. Los aminoácidos esenciales abarcan 10.24 mg/g de los aminoácidos totales encontrados.

Lisina es el aminoácido más abundante en huitlacoche, con 3.21 mg/g lo que representa el 14.84% del total de aminoácidos. Otros aminoácidos abundantes son glicina, leusina y ácido aspártico, los cuales juntos representan el 29.97% de los aminoácidos totales del huitlacoche Lizarraga y López, (1996).

Martínez *et al.*, (2008) encontraron que el huitlacoche contiene 18 aminoácidos los cuales representan el 37.8%, en los cuales destaca la lisina con el 27.2%.

Por otro lado, en los componentes grasos que se reportan en huitlacoche es ácidos linoléico, el cual es un ácido graso esencial desde el punto de vista nutricional Castro y Ruiz, (2003). Al realizar el análisis de ácidos grasos de huitlacoche producido sobre diferentes híbridos de maíz dulce y uno de maíz palomero. Se determinó que los principales componentes observados fueron ácidos grasos de 16 y 18 carbonos, y los más importantes fueron el acido oleico de 41 a 46.4 % (18:1) y ácido linoléico de 27 a 34.2 % (18:2) y el ácido palmítico (16:0). El contenido varió dependiendo del hibrido sobre el cual fue producido el hibrido huitlacoche Venegas *et al.*, (1995).

Por la composición de este hongo, se le puede considerar como un alimento con grandes propiedades nutritivas, lo que se transforma en sus consumidores por su exquisito sabor.

Bano *et al.*, (1962), Crisan y Sands (1978) realizan una comparación de diferentes hongos comestibles que se muestra en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Composición de aminoácidos esenciales de hongos comestibles.

Aminoácidos	Huitlacoche fresco d	Huitlacoche almacenado 11 días a 10°C	Pleurotus ^a	Agaricus Bisporus ^b	Agaricus bisporus ^c
		g/100 gramos	de proteína		
		g, roo gramoo	ao protonia		
Valina	4.09	6.04	4.65	4.20	3.04
Isoleucina	2.63	4.33	5.80	3.66	2.14
Treonina	3.70	5.12	4.20	3.66	2.50
Triptófano	0.50	0.50	0.90	1.43	0.91
Fenilalanina	6.67	9.19	2.00	3.40	2.77
Leucina	5.06	7.82	4.40	5.80	3.48
Lisina	8.92	11.75	5.00	5.27	3.57
Metionina	1.01	0.78	1.26	1.26	0.71

Fuente: a Bano et al., (1962), b,c Crisan y Sands (1978), d Martínez (2006)

2.9.1 Característica nutricional

Las opiniones de aporte nutritivo de los hongos comestibles generalmente coincidieron que el factor principal que los hace importante en la dieta, es la calidad de proteínas que contiene Crisan y Sands, (1978).

Los hongos comestibles, desde el punto de vista nutricional, se caracterizan por ser bajos en calorías, sodio, grasa y colesterol. Pueden ser entonces visualizados como una fuente de alimento suplementario y útiles en la dietas vegetarianas Castro y Ruíz, (2003). Además, son una excelente fuente de aminoácidos (triptofano, treonina, lisisna, cistina, y metionina); de algunas vitaminas (provitamina, A, C, D, Tiamina, Niacina, Riboflavina, ácido pantoténico y ácido fólico); minerales (P, Na, K, Mg, Ca, Fe), y carbohidratos. Colegio de Posgraduados y Fundación Produce Tlaxcala, (2003).

Los hongos generalmente contienen entre 85 y 95% de humedad mientras se comercializan. La cantidad de proteínas se encuentra en orden del 0.4 al 4.3 g/100g

de materia fresca. El aporte energético de los hongos comestibles es de 330 a 390 Kcal Crisan y Sands, (1978).

2.10 Rendimiento del huitlacoche

Un sistema de producción de huitlacoche es posible, partiendo del hecho de que se puedan utilizar variedades de maíz susceptibles, utilizando un genotipo genéticamente uniforme de *U. maydis*, seleccionado por su virulencia Villanueva, (1997).

Las investigaciones que se realizan con el fin de inducir las agallas de huitlacoche sobre la mazorca del maíz, han comenzado a mostrar resultados favorables. Pérez (1999) evaluó la reacción de familias de maíz a la infección con *U. maydis*, para producir huitlacoche. Los mejores resultados los obtuvo cuando encontró rendimientos por planta de 12.365 g y 123.48 g de huitlacoche, al trasvolar estos resultados a rendimiento por hectárea el resultado es 6.18 y 6.17 ton/Ha respectivamente (con 50, 000 plantas/Ha).

Martínez *et al.*, (2000) evaluaron y seleccionaron 100 aislamientos de *U. maydis*, inoculados sobre plantas de maíz; seleccionaron a 12 aislamientos los cuales fueron los más virulentos y que mostraron un 9.54% de plantas con mazorca totalmente cubierta por agallas de huitlacoche y plantaban un índice de severidad de 36.82 y rendimiento de hongos por planta inoculada e infectada de 135.24 g y 190 g respectivamente; dando lugar a un rendimiento estimado de hongo de 8.11 ton/Ha. Dentro de estos 12 aislamientos más virulentos, se encontró que fueron significativamente superior en índice de severidad (50.6), rendimiento del hongo por planta infectada (279.7 g) e inoculada (215.2g) lo que representa un rendimiento extrapolado de 12.91 t/ha (60,000 plantas/ha).

Ruiz y Castro (2001), realizaron pruebas para determinar el efecto del sitio de inoculación de una cruza de dos sepas de *U. maydis* en dos híbridos regionales en el Valle del Yaqui, Sonora, México. Lograron producir huitlacoche con el hibrido H-431. Concluyeron que en general la técnica de inoculación en el jilote resulto significativamente superior en porcentaje de infección, índice de severidad y

rendimiento de huitlacoche; comparada con la técnica de inoculación en tallo, y que el centro del jilote fue el mejor sitio en la producción de huitlacoche.

2.11 Índice de Cosecha del huitlacoche

El huitlacoche es un hongo que casi en su totalidad es comercializado fresco y en mercados locales. Bajo esta condición no es posible establecer y medir parámetros que determinen su calidad o aptitud para ser consumido, la única base para establecerla es conocer la apariencia visual. Generalmente en lo que se concentran los consumidores de este hongo es en su coloración, y en turgencia de las agallas. Villanueva (2002) menciona que las agallas son globosas, y cuando jóvenes son firmes, de color blanco ligero y están cubiertas con una membrana (periodo) que torna plateada semilustrosa, cambiando a negro cuando maduran, la textura de las agallas maduras es esponjosa.

2.12 El uso de agua residual en el Valle del Mezquital para riego agrícola

El principal problema del uso de aguas residuales para riego agrícola, son las elevadas cantidades de elementos contaminantes que contiene y que son depositadas en los terrenos de cultivo incrementando su concentración natural de tres a seis veces con respecto a lo que ocurre en suelos donde no se emplean aguas residuales para el riego Siebe, (1994),

Esta contaminación se debe, a que la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM), donde se generan esta aguas, se presenta un crecimiento demográfico e industrial acelerado, donde uno de los productos finales son los altos e incontrolados volúmenes de agua residual que son dirigidos a las zonas agrícolas del Valle del Mezquital como opción sanitaria de drenaje Ibáñez-Huerta, (1997).

El uso de efluentes provenientes de zonas urbanas para fines de riego en la agrícola, es una practica que se incrementa cada día en particular en países subdesarrollados, en zonas áridas y semiáridas, así como en zonas con crecimiento

demográfico constante en donde se presenta mayor explotación de recursos y generación de residuos Hernández *et al.*, (1994).

De las 350,000 ha de suelo agrícolas que emplean aguas residuales para su riego en México, mas de 280 mil ha son regadas utilizan aguas residuales sin previos tratamiento, por lo que México ocupa el primer lugar en Latinoamérica en el uso de agua residual CNA, (2003).

La ZMCM genera alrededor de 1,350 millones de m³ de agua residual, en esta zona existe el 55% de actividad industrial nacional, por lo que esta agua es drenada al Valle del Mezquital.

El Valle del Mezquital recibe 43 m³/seg. de agua residual (57% urbana y 43% industrial), la cual es distribuida a los distritos de riego como: 03-Tula y 100-Alfajayucan. Al pasar por el Valle el agua corre al Golfo de México por los ríos Tula Moctezuma y Panuco.

En la ZMCM, se tiene registro de 36 plantas tratadoras de agua residual de las cuales no es seguro su funcionamiento, dos de estas plantas están localizadas en el Valle del Mezquital, la termoeléctrica de Zimapan y la refinería de petróleo de la zona industrial de Tula.

Estas aguas traen fuente de patógenos y sustancias químicas como metales pesados y residuos orgánicos con baja tasa de degradación que constituyen un riesgo para la salud de los agricultores y consumidores de los productos agrícolas del Valle del Mezquital Cifuentes *et al.*, (1993).

Las aguas residuales reciben un tratamiento de infiltración y lixiviación natural, almacenadas en la presa Endho y Requena antes de ser empleados por los agricultores de casi 130,000 ha del DDR-63 (Distrito de Riego 03-Tula y 100-Alfajayucan), Cifuentes *et al.*, (1993).

El suelo, al ser un depurador biológico, se convierte en un factor importante para el tratamiento de aguas residuales para uso agrícola y se constituye como una planta tratadora natural eficiente.

2.12.1 El agua residual y la agricultura.

La agricultura moderna depende de la aplicación de cuatro tecnologías para la producción agrícola que deben emplearse de manera adecuada: la mecanización, la irrigación, la fertilización y el control de plagas, por lo que en México no se cumplen con estas técnicas de control.

La generación de aguas residuales en nuestro país por diversas actividades como lo es la domestica, industriales y agrícolas, han generado un impacto negativo sobre el medio ambiente ya que estas aguas van incluidas sustancias toxicas que afectan a la flora y fauna de la región donde son utilizadas Mendoza, (1981).

Las aguas residuales, pluviales y de los ríos son utilizadas para irriga el Valle del Mezquital y se controlan por las presas Taxymay y Requena, consideradas las mas importantes durante las estaciones lluviosas, la presa Endho, Rojo Gómez y Vicente Aguirre interconectadas entre si, donde se almacena el agua residual para un tratamiento primario Siebe, (1995).

Acosta (2007) reporta análisis realizados a diversos cultivos del Valle del Mezquital para determinar metales pesados que son los siguientes Cuadro 8 y menciona en sus conclusiones como parámetros normales de algunos metales pesados que se muestran en el Cuadro 9.

Cuadro 8. Concentración de metales pesados en cultivos regados con aguas residuales del Valle del Mezquital.

agaa	o roolaaaloo ao	T Valle del Met	quituii	
	Cr	Cu	Ni	Zn
Muestra		(mg	kg ⁻¹)	
Maíz	0.0407	0.479	0.0297	0.0638

Fuente: Acosta 2007.

Cuadro 9. Valores normales en metales pesados.

Metal	Cantidad (mg/kg ⁻¹)	
Cromo	65	
Niquel	20	
Cobre	20	
Zinc	20-200	
Plomo	10-150	

Fuente: Acosta, 2007.

2.13 Post cosecha en hongos comestibles

Para los hongos comestibles, González (2000) define la calidad de los hongos como la combinación de parámetros como: el color, la textura, etapa de desarrollo y cuenta microbiana.

El cultivo de hongos comestibles tiene éxito sólo si es combinado con técnicas para su preservación en post cosecha, sobre todo en países de clima cálido Kreb y Lelley, (1991). Es por ello que todos los sistemas de producción de hongos comestibles, como para todos los productos hortofrutícolas, han sido acompañados de investigaciones sobre su comportamiento post cosecha, las cuales han permitido conocer la naturaleza de las pérdidas y los cambios que son indeseables para el consumidor al momento de la comercialización. Actualmente existe información publicada en relación con las técnicas de conservación post cosecha para los hongos como el champiñón (*Agaricus bisporus*), las setas (*Pleutorus ostreatus*), o el shii-take (*Lentinus edades*), pero no existe información para el huitlacoche (*Ustilago maydis Cda.*).

Dentro de los métodos de conservación en post cosecha se encuentran el uso de atmósferas modificadas para el champiñón (Anantheswaran, 1996); el uso de inhibidores del oscurecimiento enzimático, como el peróxido de hidrógeno y el eritorbato de sodio Sapers, (2001), así como el cloruro de calcio Bartley, (1991) para el mismo fin. Otras técnicas de conservación están relacionadas al momento de la cosecha, se ha encontrado que para el caso del champiñón (Agaricus bisporus) si son cosechados cuando la base del hongo mide aproximadadmente 35 mm, la vida de anaquel se extiende Said, (1992). También se han reportado investigaciones sobre la utilización de empaques especiales para generar atmósferas modificads, combinadas con condiciones de refrigeración, que han tenido buenos resultados en el aumento de la vida de anaquel de hongos como el champiñón (Agaricus bisporus). Sin embargo, no existe información reportada para el huitlacoche (Ustilago maydis Cda.), por lo cual es necesario comenzar por caracterizar su comportamiento bajo condiciones ambientales.

2.14 Cambios de color

En el caso particular de los hongos, los cambios que se presentan en su coloración no están relacionados con la degradación de la clorofila, dado que estos no la contienen. Sin embargo, su mal manejo puede producir cambios en su coloración, por lo cual deben manipularse con externo cuidado, pues con cualquier maltrato se dañan fácilmente y esto produce una respuesta enzimática, que se traduce en una coloración café o la formación de una magulladura Eastwood y Burton, (2002).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Descripción de la zona de estudio.

El experimento se estableció en el Municipio de Tezontepec de Aldama Hidalgo, el cual se encuentra ubicado en el Valle del Mezquital. El Valle del Mezquital, está conformado por 27 de los 84 municipios del estado de Hidalgo, es considerado una zona de gran importancia social, política, económica y religiosa del centro de México y es la zona agrícola más grande irrigada con aguas residuales; constituido el 21 de julio de 1988, con una superficie de 461,000 ha, de las cuales 136,722 ha, son de agricultura (6,000 de producción temporal y 95,000 a 130,000 de riego) 18,500 ha, de uso forestal y 204,500 ha, de aprovechamiento pecuario Peña,(1997).

De los 750,000 habitantes, el 70% viven en áreas urbanas y semiurbanas y se dedican a la agricultura y ganadería; donde producen principalmente maíz, frijol, trigo, tomate, jitomate, cebolla, avena, alfalfa y chile verde Peña,(1997).

3.1.1 Geografía

Se encuentra ubicado en los altos de la meseta Mexicana y ocupa la parte occidental y central del Estado de Hidalgo dentro de los paralelos 19° 53 ' y 20° 02' latitud norte y 98° 57' y 99° 15' longitud oeste a 109 km de la cuidad de México con una altitud que va de 1,700 y 2,100 msnm (CNA, 1995).

Pertenece a la región hidrológica del Rio Panuco (RH-26) que corresponde a la vertiente del Golfo de México, esta zona hidrológica se subdivide en el alto y bajo Panuco, donde el rio Tula que nace en el Estado de México inicia su recorrido hasta Ixmiquilpan y el Rio San Juan, en donde cambia su nombre a Rio Moctezuma siendo este, junto con el Rio Tamuin los principales afluentes de la región CNA, (1995).

3.1.2 Clima

El clima es semiseco templado, con lluvias en verano, con una temperatura media anual de 14.8°C (17.3°C máxima y 9.4°C mínima); la precipitación máxima se presenta en septiembre (117.4 mm) y mínima en enero (8.8 mm) con un promedio anual de 543.4 mm, por lo cual se hace indispensable el riego de los cultivos; por lo que este clima favorece la vegetación natural de diferentes especies de matorral de tipo xerofito donde predomina los pastizales, cactus, agaves, palmeras y mezquites, es el clima más húmedo de los áridos Hernández *et al.*, (1994).

3.1.3 Sistemas de riego

El suelo que predomina en el Distrito de Riego (DR03-tula), cuenta con buena infiltración, permeabilidad variedad y buen drenaje interno; tiene gran capacidad para retener elementos necesarios para las plantas como N, P y macronutrimentos como Zn, Cu y Mn. El DR03-Tula, se localiza al sureste del estado y abastece los ríos San

Luis, Tepeji, El Salto y Tula, donde destacan las presas Taxhimay, Requena y Endho que almacenan aguas residuales INEGI,(1994).

Las aguas residuales utilizadas en el Valle del mezquital solo reciben un tratamiento natural, no convencional y debido a la superficie de cultivo de riego, la región es el ejemplo más importante del sistema de riego con aguas residuales a nivel nacional Mendoza, (1981).

El Municipio de Tezontepec de Aldama, Estado de Hidalgo, ubicado a 20° 11' 58" latitud Norte y 99° 16' 55" longitud oeste, a una altura de 2100 msnm (Figura 2 y 3).



Figura 2. Ubicación del Municipio de Tezontepec de Aldama, Hidalgo.

El municipio colinda al noroeste con el municipio de Chapantongo; al norte con el municipio de Chilcuautla; al este con los municipios de Mixquiahuala y Tlahuelilpan; al sur con los municipios de Tlaxcoapan y Tula de Allende; y al oeste con Tepetitlán.



Figura 3. Localización del Lote Experimental en Tezontepec de Aldama, Hidalgo.

3.2 Localización del experimento

La fase uno del experimento se llevo a cabo en campo y se establecieron las variedades de maíz QPM, Bengala y Tigre con un productor cooperante (Ing. Francisco Reyes Reyes) en Tezontepec de Aldama, Hidalgo y la fase dos del experimento, se llevo a cabo en los laboratorios del Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de los Alimentos del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo en donde se realizaron los análisis poscosecha para determinar la calidad del hongo huitlacoche incubado en maíz QPM, Tigre y Bengala.

3.2 Establecimiento del experimento

3.2.1 Experimento en el campo

Se sembraron tres maíces comerciales QPM (Quality Protein Maize), Tigre y Bengala.

El maíz QPM (Quality Protein Maize) por sus siglas en inglés, tiene el doble de aminoácidos esenciales, lisina y triptófano que el maíz común. Este maíz es el resultado de investigadores mexicanos. No es transgénico. Tigre es una variedad con excelente estabilidad a diferentes condiciones climáticas y rusticidad se adapta a suelos delgados y con laderas y presenta buenos rendimientos al igual que el maíz variedad bengala con un promedio de 16 a 17 toneladas por hectárea.

Por las características encontradas anteriormente se sembraron estas tres variedades de maíz en la comunidad de el Tinaco, municipio de Tezontepec de Aldama, Hidalgo. El cultivo de las variedades de maíces fue el mismo para las tres variedades según lo recomendado por las casas comerciales y la experiencia del lng. Francisco Reyes Reyes. El riego se realizo con agua rodada y las aguas residuales procedentes del canal requena.

El inóculo del hongo se obtuvo de una casa comercial en San Luis Potosí y los maíces se inocularon cuando los estigmas tenían de 1 a 2 cm (Figura 4). Se inyectaron 6 cm con una jeringa para inyectar cerdos en la tercera parte del jilote de la parte basal (Figura 5). La inoculación se realizó antes de las 10:00 am.



Figura 4. Inoculación del hongo cuando los estigmas tienen de 1 a 2 cm.



Figura 5. Inyección del inóculo en la tercera parte del jilote de la parte basal.

3.3 Descripción de la materia prima

La recolección del hongo huitlacoche (*Ustilago maydis Cda*.) inuculado en maíz QPM, Tigre y Bengala, se realizó con brácteas (Figura 6) y se cortó en el punto de inserción del pedúnculo con el tallo para evitar lesiones mecánicas que indujeran mayor respiración (Figura 7).



Figura 6. Recolección del hongo huitlacoche con brácteas.



Figura 7. Corte del punto de inserción del pedúnculo con el tallo.

3.3.1 Establecimiento del experimento en laboratorio

Una vez cosechado el hongo de huitlacoche incubado en maíz QPM, Tigre y Bengala (Figura 6). Se llevaron al laboratorio del Centro de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de los Alimentos del Instituto de Ciencias Agropecuarias la

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, en donde se seleccionaron con base a su índice de madurez que fuera homogéneo y que estuviera libre de daños mecánicos y patológicos (Figura 7).

3.4 Diseño de tratamiento

Se tuvieron tres tratamientos de la inoculación de las tres variedades de maíz (QPM, Tigre y Bengala) con el hongo huitlacoche, la unidad experimental fue de un elote inoculado con el hongo y se tuvieron tres repeticiones por tratamiento.

T1 = Maíz Variedad QPM

T2 = Maíz Variedad Tigre

T3 = Maíz Variedad Bengala

3.5 Variables de estudio

3.5.1 Sólidos solubles totales (°Brix)

Para la determinación de grados Brix se utilizó el refractómetro digital PR-101ATAGO PALETTE. Se tomó una gota de jugo previamente extraído del fruto, esta gota se colocó en el sensor óptico del refractómetro para obtener la lectura correspondiente, la cual se expresó como porcentaje de sólidos solubles totales.

3.5.2 Acidez titulable

Esta determinación se realizó de acuerdo a la metodología de la AOAC (1990), 942.15 expresando los datos como % de ácido cítrico.

Se determinó acidez pesando 10g de muestra añadiendo 50 ml de agua destilada y se homogenizó, se midió el volumen y se filtro, posteriormente se tomo una alícuota de 5 ml agregándole de 1 a 3 gotas de fenoftaleina y se titulo con una solución de hidróxido de sodio al 0.1 N.

Cálculos:

% de ácido =
$$\frac{mL\ NaOH\ \times N\ NaOH\ \times Meq\ ácido\ \times Volumen\ total}{Peso\ de\ la\ muestra\ \times alícuota\ del\ jugo\ en\ mL} imes 100$$

3.5.3 Ácido ascórbico (Vitamina C)

Se empleo el método de titulación visual del 2-6 diclorofenol indofenol.

La técnica consistió en moler 10g de muestra con 50 mL de la solución de acido metafosfórico al 3%. Se paso la muestra a una probeta de 100 mL (se midió el volumen) y se llevo a un volumen de 100 mL con agua destilada. Se agito perfectamente bien. Se tomaron 10 mL de la capa superior y se coloco en un matraz erlenmeryer y se titulo con la solución de 2-6 diclorofenol indofenol hasta que viro el color azul a rosa. Tan pronto como se pone en contacto con el acido e inmediatamente se decolora por la vitamina C y se toma la lectura hasta que se presente el color rosa y persista por lo menos 10 segundos.

Se preparo una solución estándar de acido ascórbico; 10 mg por 10mL de ácido metafosfórico 3%, después se tomo 1 mL y se agregan 9 mL de acido metafosfórico 3% y se titulo para calcular el factor de Dye (blanco).

Se calculo el factor Dye por medio de la siguiente fórmula:

$$Factor \ Dye = \frac{0.5}{gasto \ en \ la \ titulación}$$

El ácido ascórbico fue calculado por medio de la siguiente fórmula:

Ácido metafosfórico al 30%; para 1L se pesaron 30g del ácido metafosfórico (MERCK)

2-6 diclorofenol indofenol; Se pesaron 25 mg de 2-6 diclorofenol indofenol marca (merk) y 21 mg de bifosfato de sodio (J. becker), y se disolvieron en un vaso con agitación y se aforo en un matraz de 500 mL con agua destilada.

3.5.4 Peso

Se determinó esta variable tomando una mazorca con huitlacoche, colocándola sobre una báscula digital marca Ohaus Pro modelo Scout Pro SP2001.

3.5.5 pH

Se determino esta variable pesando 10 g de muestra diluida en 50 ml de agua destilada, se licuo y se separo, con la ayuda de un cedazo pequeño y se introdujo el potenciómetro Termo orion model 420 para la lectura de pH.

3.5.6 Clorofila en brácteas

Se determino esta variable con un medidor de clorofila (modelo SPAD. 502 Minolta Camera Co. Ltd.). El medidor de clorofila mide entre la transmisión de luz roja e infrarroja de la bráctea (hoja), lo cual corresponde al contenido de clorofila y da un valor numérica, en unidades arbitrarias.

3.5.7 Azúcares Totales

Por el método de antrona, Whittam et al., (1971)

Este método consistió en los siguientes pasos:

Se pesó 1g de pulpa se cortó en trozos pequeños, se colocaron en matraces erlenmeyer de 125 mL se les agregó 40 mL de etanol al 80%, posteriormente se pusieron a hervir 20 min, se filtraron; después se evaporó el sobrenadante en baño

maría cuidadosamente que no se caramelice, se dejo enfriar y se le agrego 50 mL de agua destilada, se colocaron en refrigeración; siguiéndose se determinaron los azucares totales como se describe a continuación:

Se tomaron 1mL colocándolo en un tubo, después se completo a 3 mL con agua destilada, se le agregó 6 mL de antrona- ácido sulfúrico esto con los tubos en un baño de hielo, hasta que se enfriaron, después se pusieron a un baño maría por 3 min, se sacaron y se colocaron en el baño de hielo, posteriormente que se enfriaron se leyeron a una absorbancia de 600 nm en un espectrofotómetro (marca JENWAY, modelo G715).

Para sus cálculos se realiza una curva de calibración con glucosa (15mg en 100 mL de agua destilada), con el mismo procedimiento que las muestras.

La solución de antrona-acido sulfúrico se preparo con .4mg en 100 mL de ácido sulfúrico.

3.5.8 Color

Esta determinación se realizó mediante un colorímetro por reflexión "Hunter Lab", el cual se basó en el empleo de funciones trigonometricas. Una rueda de color dividida en 360 °; con rojo púrpura situado en el extremo derecho en el ángulo 0); el amarillo en 90 °; el verde – azul en 180 ° y el azul en 270 °, el Hunter Lab, indicó el cambio de coloración en el fruto en 3 direcciones; L*, a* y b*, las cuales marcan los cambios de brillantez. L* mide la oscuridad a luminosidad, a* representa el rojo si es positivo y el verde si es negativo; b* corresponde al amarillo si es positivo y al azul en caso de ser negativo. La medición se realizó en un pequeño círculo que se marcó en la parte ecuatorial del cáliz, con la finalidad de que la medición siempre fuera en el mismo lado.

Se determino la luminosidad L, el ángulo de tono (° Hue) y la pureza del color. Lo anterior mediante a las siguientes ecuaciones (Huutchings, 1999):

3.5.8.1 Angulo de tono (° Hue)

$$Angulo de tono = Arc tan \frac{b}{a}$$

3.5.8.2 Pureza de color

Pureza de color =
$$\sqrt{a^2 + b^2}$$

3.5.9 Nitrógeno y proteínas

El nitrógeno se determinó por el método de Microkjeldahl, de acuerdo a Alcalder et al., (s/f) y que consiste en pesar 0.1 g de materia seca que se deposita en un matraz de digestión de 300 mL, agregándole 1.5 mL de una mezcla de ácido sulfúrico más ácido salicílico. Se sometió a digestión a 30°C, alrededor de tres horas, hasta obtener un extracto de color verde claro. Al termino de la digestión se le agregó 14 mL de NaOH al 50%, el cual se somete a destilación, se recibe en un matraz con seis gotas de indicador (verde bromocresol más rojo de metilo) y 20 mL de ácido bórico al 4% hasta lograr 50 mL del destilado que dio una coloración azul pálido. La titulación de la solución extraída fue realizada con ácido sulfúrico 0.4 N, que al mezclarse con el destilado varío a un color rosado, cuantificándose el gasto del ácido para realizar los cálculos con la siguiente ecuación:

% N = Volumen gastado del ácido ×Normalidad del H₂SO₄×14

La concentración obtenida en por cien se transformó a miligramos de N por gramo de materia seca.

Después de obtener el porcentaje de Nitrógeno este resultado es multiplicado por un factor de cereales que es 6.25.

Proteina = $6.25 \times \%N$

Los análisis de lisina y triptófano se realizaron en el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), en Texcoco Estado de México.

3.5.10 Lisina

La lisina se evaluó por el método de Tsai et al., (1975) modificado por Villegas et al. (1984), para muestras de huitlacoche. Para ello se utilizó papaína comercial con una concentración de 0.12 mcu (1:350), una solución reguladora de carbonatos a 0.05M con pH de 9.0, una solución de boratos a 0.05M con el mismo pH, una suspensión de fosfato de cobre, una solución de HCl a 1.2N, y una solución de 2cloro-3,5 DINITROPIRIDINA con la mezcla de aminoácidos y por cada 100 mg de los mismos se debe disolverlos en 10 mL de solución reguladora de carbonatos. El método consistió en preparar un hidrolizado de harina de la muestra con papaína a 65 ± 2 °C durante 16 h, una vez fría la muestra, se tomó con una pipeta 1 mL de la solución y se colocó en una solución de carbonatos y fosfato de cobre, se agitó por 5 min y se centrifugó a 2000 rpm por 5 min. Se tomó 1 mL del sobrenadante y se mezcló con 0.1 mL de solución de 2 cloro-3,5 dinitropiridina, se agitó vigorosamente, se dejo reposar por 2 horas, agitando cada 30 min, se agregó ácido clorhídrico y se agitó para homogenizar, se agregó solución extractora de acetato de etilo y se mezcló por inversión 10 veces, posteriormente se extrajo la fase superior, repitiendo el procedimiento por tres veces, se leyó a 390 nm contra un blanco. El contenido de lisina se calculó con base a una curva estándar y se reporta de acuerdo a la proteína estimada.

3.5.11 Triptófano

El triptófano se determinó mediante el método Opienska-Blauth modificado por Hernández y Bates (1969), la muestra evaluada fue de 100 mg de huitlacoche, pasada en la malla 80 previamente desgrasada y pulverizada, enseguida se mezcló

con una solución de 3 mL de papaína, se incubó por 16 h a $63 \pm 2^{\circ}$ C, se enfrío y se centrifugó a 2500 rpm por 5 min. Posteriormente se transfirió 1 mL de hidrolizado en una solución de cloruro férrico y ácido sulfúrico, el hidrolizado se incubó a la temperatura $63 \pm 2^{\circ}$ C, se dejó enfriar y se realizó la lectura a 560 nm, la cantidad de triptófano se calculó mediante una curva patrón a 100 mg mL⁻¹ y se reportó respecto a la proteína.

En resumen: el reactivo A, se disuelven 270 mg de FeCl³³.6H²O en 0.5 mL de agua destilada. El reactivo B fue ácido sulfúrico a 30N; el reactivo C, fue mezclar A y B volumen a volumen; para la solución de papaína se disuelve la enzima grado comercial 0.12 mcu (1:350) en solución reguladora de acetato de sodio 0.1N (16 mg mL⁻¹) a pH 7.0.

3.5.12 Índice de Calidad (IQ)

Esta variable se obtuvo mediante la siguiente formula:

$$IQ = \frac{100 \times \% Tript \acute{o} fano}{\% Proteínas}$$

Los análisis de metales pesados se realizaron en el laboratorio de química de los alimentos de la UAEH en Pachuca Hidalgo, por el Ing. Raúl Castillo Téllez.

3.5. 13 Metales pesados

Para la determinación de metales pesados, se empleo el equipo de Absorción Atómica (Marca GBC, MODELO 932AA). El análisis se realizo de acuerdo al método descrito en (NMX-AA-051-SCFI-2001), y la cuantificación mediante el programa de computo denominado "GBC AVANTA,VER. 1.31". La cantidad de metales pesados se comparó con la Norma Oficial Mexicana (NMX-AA-051-SCFI-2001).

Se realizaron los análisis por aspiración directa de acuerdo a la NMX-AA-051-SCFI-2001. (Apéndice F), la cual consiste en lo siguiente:

- a) Calibrar el espectrofotómetro de absorción atómica de acuerdo manual del fabricante.
- b) Obtener una gráfica con los valores de la curva de calibración y realizar los cálculos cuantitativos. Analizar el lote de muestras.
- c) Análisis de metales a nivel de trazas por aspiración directa puede hacerse por extracción con solvente (MIBK).

Se estableció en campo un diseño de bloques completamente al azar.

Para los análisis poscosecha se utilizo un diseño completamente al azar.

3.6 Análisis de resultados

Para el análisis de resultados del experimento se utilizo el programa estadístico SAS, el diseño completamente al azar. Se realizo el análisis de varianza y la prueba de comparaciones múltiples de medias de Tukey con una $(P \le 0.05)$

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Sólidos Solubles Totales (°Brix)

No se observaron diferencias estadísticamente significativas (P > 0.05) en el contenido de sólidos solubles totales en el hongo inoculado en maíz QPM, Tigre y Bengala, el hongo de huitlacoche inoculado en QPM presento 3.76 %, seguido del hongo huitlacoche inoculado en maíz Tigre 3.50 % y huitlacoche inoculado en la variedad de maíz Bengala con 2.13 % respectivamente (Cuadro 10).

Estos sólidos hacen que el huitlacoche tenga un sabor agradable

4.2 Acidez Titulable (%)

No se observaron diferencias estadísticas significativas (P > 0.05) en el hongo de huitlacoche inoculado en las variedades de maíz QPM, Tigre y Bengala con valores de 0.20, 0.13 y 0.16 % respectivamente (Cuadro 10).

4.3 Vitamina C (%)

Se observaron diferencias estadísticas significativas (P < 0.05) en el contenido de vitamina "C" en el hongo de huitlacoche inoculado en la variedad de maíz Tigre, mientras que para en el hongo de huitlacoche inoculado en maíz QPM y Bengala no se observaron diferencias estadísticas significativas (P< 0.05) (Cuadro 10).

El mayor contenido en vitamina "C" se observo en el hongo de huitlacoche inoculado en maíz Tigre, con un valor de 4.43 mg de ácido Ascórbico·100g, mientras que para el hongo de huitlacoche inoculado en maíz QPM y Bengala se encontraron valores de 1.36 y 1.30 mg de ácido Ascórbico / 100g respectivamente.

4.4 Peso

En peso de la mazorca de huitlacoche se observaron diferencias estadísticas significativas (P< 0.05) con respecto 529.60 g en el hongo de huitlacoche inoculado en maíz QPM, pero es igual al tigre con un valor de 430.0 g, y el tigre a su ves es igual al QPM 321.5 g, no se observaron diferencias estadísticas significativas (P > 0.05), (Cuadro 10).

Esto nos sirve para establecer los rendimientos que al inocularlo sobre el maíz QPM ya que presento un peso de 529.60 g por una planta de maíz ya que Pérez en 1999 reporta un rendimiento por planta de 123.48 g, por lo que con la variedad de maíz aumentaría.

Cuadro 10. Efecto del contenido de Sólidos solubles totales, acidez titulable, vitamina "C" y peso en hongo de Huitlacoche (*Ustilgo maydis Cda*.) Inoculados en elotes de maíz Tigre. QPM y Bengala.

Variedades de maíz	Sólidos solubles totales (° Brix) (%)	Acidez titulable (%)	Vitamina C (mg de ácido Ascórbico 100g ó ml)	Peso (%)
-	0.50	2.22		4000
Tigre	3.50 a	0.20 a	4.43 b	430.0 ab
QPM	3.76 a	0.13 a	1.36 a	529.60 a
Bengala	2.13 a	0.16 a	1.30 a	321.50 b
DMS	3.74	0.18	3.22	115.64
C V (%)	47.68	44.72	54.42	16.05

^Z Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una P≤0.05.

DMS: Diferencia mínima significativa; CV: Coeficiente de variación.

4.5 pH

Aunque no se encontraron diferencias estadísticas significativas (P> 0.05), en pH en el hongo de huitlacoche inoculado en maíz QPM, Tigre y Bengala, se observo un valor mayor de pH en el hongo de huitlacoche inoculado en maíz variedad Bengala seguido de QPM y Tigre con valores de 4.44, 4.35 y 4.26 respectivamente (Cuadro 11).

4.6 Clorofila en brácteas

No se observaron diferencias estadísticas significativas (P< 0.05) en el contenido de clorofila en brácteas del elote de maíz Tigre, QPM y Bengala inoculados con el hongo de huitlacoche. Sin embargo aunque no se observaron diferencias estadísticas significativas, el mayor contenido de clorofila se observo en brácteas del elote de maíz Bengala inoculado con el hongo de huitlacoche, seguido por QPM y Tigre con valores de 7.60, 4.53 y 4.03 respectivamente (Cuadro 11).

4.7 Azucares Totales

Se observaron diferencias estadísticas significativas (P<0.05), en el contenido de azucares totales en el hongo de huitlacoche inoculado en maíz Tigre 3.10 % obteniendo el mayor valor, seguido por Bengala y QPM (Cuadro 11).

El mayor contenido de azucares totales se observo en el hongo de huitlacoche inoculado en maíz Tigre, seguido por el hongo inoculado en maíz Bengala y QPM con valores de 3.10, 2.10 y 1.63 % respectivamente, (Cuadro 11).

Los principales azúcares libres encontrados en huitlacoche son arabinosa, galactosa, glucosa, xilosa y manosa. El contenido total de azúcares reportado oscila entre los 4.92 y 1.400.2 g en materia seca, sin embargo Martínez (2009) reporta valores que van de 3.0 a 7.0 %, valores superiores a los reportados en otros hongos.

El azúcar que se encontró en mayor concentración fue la glucosa (11.51.7 g de m.s.) y la galactosa, fue el azúcar libre que se ha encontrado en menor concentración Valdez, (2008).

En granos de maíz QPM se han encontrado valores entre 3.0 y 7.0 % de azúcares totales Sansano, (2008); Mendoza, (2006); Mendez-Montealvo, 205; ILSI, (2006).

Cuadro 11. Efecto de pH, azucares totales y clorofila en hongo de Huitlacoche (*Ustilago maidys Cda.*) inoculado en elotes de maíz Tigre, Bengala y QPM.

Q.	I IVI.			
Variedad de maíz		рН	Clorofila en Brácteas	Azucares totales (%) g·100 g de muestra
Tigre		4.26 a	4.03 a	3.10 a
QPM		4.35 a	4.53 a	1.63 b
Bengala		4.44 a	7.60 a	2.10 ab
DMS		0.37	5.56	1.32
C V (%)		3.42	41.25	23.13

^z Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey una P≤0.05.

DMS: Diferencia mínima significativa; CV: Coeficiente de variación.

4.8 Color en hongo de huitlacoche

El hongo de huitlacoche presenta una coloración blanca ligera con ciertas áreas grises, al respecto algunos consumidores suelen mencionar que tiene una tonalidad plateada, que es la apropiada para su comercialización. La tonalidad gris se puede atribuir al hecho de que en su interior de la agalla contiene micelio y esporas de coloración negra y dado que el tegumento (peridio) que le da estructura

es de coloración blanca, se presenta la tonalidad gris, conforme madura la agalla hasta un color negro Paredes,(2006).

Los valores obtenidos L se reportó como Luminosidad y los valores de a y b se ocuparon para la determinación de °Hue y pureza de color por lo que no se reportan directamente, García, (2007).

4.8.1 Luminosidad ó Brillantez (L)

El Cuadro 15 muestra valores de luminosidad o brillantez (L), ángulo de tono (°hue) y pureza de color (Chroma) calculados a partir de valores proporcionados por el colorímetro.

Los valores iniciales no muestran diferencias significativas (P> 0.05) en los parámetros de luminosidad (L), ángulo de tono (°hue) y pureza de color (Chroma) (Cuadro 12).

En luminosidad o brillantez no se encontraron diferencias significativas estadísticamente en el huitlacoche inoculado en las tres variedades de maíz, QPM, Tigre y Bengala, sin embargo aunque no se observaron diferencias estadísticas significativas se observó una mayor luminosidad o brillantez en el hongo de huitlacoche inoculado en la variedad de maíz QPM con un valor de 70.12 (Cuadro 12).

En luminosidad "L" el hongo de huitlacoche inoculado en maíz variedad QPM mostro una mayor brillantez lo que indica que fue el menos oscuro, ya que a mayor brillantez, menor tono oscuro del hongo.

4.8. 2 Angulo de Tono (°Hue)

En el cuadro 12 se muestra que no se observaron diferencias estadísticas significativas (P> 0.05). con valores de la variedad Bengala con 86.32 ° H, Tigre con 85.37°H y QPM 83.66 °H .El ángulo de tono se conservó alrededor de los 90°, con este valor en el diagrama de color de la escala CIELAB indica la dirección de los

colores amarillos, sin embargo el valor de pureza de color (Chroma) es muy pequeño, por lo cual el color de huitlacohe nunca sale de tonos oscuros. Con base en o anterior, el valor de la luminosidad (brillantez) que expresa el grado de claridad, se convierte en el valor que describe los cambios de color en el huitlacoche.

En relación con lo anterior, se sabe que el oscurecimiento de hongos comestibles es un proceso rápido y que origina una disminución en el valor comercial. Este proceso puede ser iniciado por la oxidación enzimática de fenoles tales como tirosina para formar pigmentos cafés, o por la oxidación no enzimática de los fenoles inducido por otros factores, Nerya et al., (2005). La enzima que origina los cambios de color es la tirosina, que pertenece a la familia de las plifenoloxidasas (PPO) que se sabe es una familia crucial en la síntesis de la melanina Nerya et al., (2006).

Vargas (1997) reporta cambios de color en champiñón (*Agaricus bisporus*) en un rango de 9.2 a 13.3 y valores de luminosidad en un rango de 67.49 a 74.1 % y atribuye el menor valor numérico de brillantez "L" (mayor oscurecimiento) a daños mecánicos y acción de la polifenol-oxidasa que provoca un oscurecimiento que abate el porcentaje de luminosidad.

Villaescusa y Gil (2003) reportaron cambios en la luminosidad del hongo comestible Pleurotus, y encontraron un decremento significativo entre el valor inicial de "L" y los valores de 85.8 %, 86.35% y 87.0 % a 0°, 4° y 7° respectivamente para 7 días de almacenamiento y valores de 61.9 %, 63.3% y 61.7% a los 11 días de almacenamiento.

4.8.3 Pureza de color

No se observaron diferencias estadísticas significativas (P> 0.05).en pureza de color en el hongo de huitlacoche inoculado en las variedades de maíz Tigre, PM y Bengala (Cuadro 12).

Los valores de pureza de color se observó en el hongo de huitlacoche inoculado en la variedad de maíz Tigre 7.73, seguido de QPM 6.23 y Bengala con 4.38.

Los valores de pureza de color son muy bajos, es decir si se toma en cuenta que la pureza de color en una escala de 0 a 60, para los valores que presenta el huitlacoche (*Ustilago maydis Cda.*) no se logra diferenciar ningún color a simple vista. Esto explica porqué al huitlacoche solamente se le asigna un color grisáceo (escala CIELAB). Los valores promedio reportados son cercanos a los reportados por Martínez (2006) bajo condiciones de refrigeración, los cuales fueron 8.25 para huitlacoche (*Ustilago maydis Cda.*) intacto y 7.81 para el huitlacoche desgranado.

Cuadro 12. Color, Luminosidad, Angulo de tono °Hue y pureza de color en hongo de Huitlacoche (*Ustilago maydis Cda*) inoculados en elotes de maíz Tigre, QPM y Bengala.

Variedad de maíz	L (%)	Angulo de Tono (Hue°)	Pureza de color (Chroma)
Tigre	64.80 a	85.37 a	7.73 a
QPM	70.72 a	83.66 a	6.24 a
Bengala	56.16 a	86.32 a	4.38 a
DMS	16.82	9.6	7.37
C V (%)	10.51	4.5	48.1

Z Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una P≤ 0.05.
DMS: Diferencia mínima significativa; CV: Coeficiente de variación.

4.9 Nitrógeno y proteínas

En cuanto al contenido de nitrógeno se encontraron diferencias estadísticas significativas (P< 0.05), en el hongo de huitlacoche inoculado en las variedades de maíz Tigre, QPM y Bengala (Cuadro, 13).

El mayor porcentaje de nitrógeno se observó en el hongo de huitlacoche inoculado en la variedad de maíz Bengala, seguido de la var Tigre y QPM con valores de 2.15, 1.88 y 1.79 % respectivamente.

Con respecto al contenido de proteínas no se observaron diferencias estadísticas significativas (P>0.05) en el hongo de huitlacoche inoculado en las variedades de maíz Tigre, QPM y Bengala (Cuadro 13).

Aunque no se observaron diferencias estadísticas significativas el hongo de huitlacoche inoculado en la variedad de maíz Bengala presento el mayor porcentaje de proteína con 13.46 %, siguiendo Tigre con 11.76 % y QPM con 7.89 %. Al respecto Castro y Ruiz (2003) encontraron valores de 11.5 a 16.4 g·100 g en peso seco. En otros trabajos el porcentaje de proteína cruda vario de 6.3 hasta 15.5 % y en la Línea criollo de Cañada de Flores se ha encontrado el mayor porcentaje de proteína cruda con 15.5 y 12.0 % (Valdez, 2008).

Futa (2003) reporto en granos de maíz QPM valores de 7.0 a 11.8 % entre híbridos de altos rendimientos normales y QPM.

4. 10 Lisina

No se observaron diferencias estadísticas significativas (P>0.05),men el contenido de lisina en el hongo de huitlacoche inoculado en las variedades de maíz QPM, Tigre y Bengala (Cuadro 13).

Los resultados encontrados en el hongo de huitlacoche inoculado con la variedad de maíz QPM 0.637 g/ 100 g, siguiendo Tigre con 0.650 g/ 100 g y Bengala con 0.485 g/ 100g.

Al respecto Lizarraga y López (1996), determinaron la cantidad de aminoácidos libres en huitlacoche detectando 17 aminoácidos, de los cuales lisina fue el aminoácido más abundante con 3.21 mg/g de materia seca.

Los valores encontrados en el hongo de huitlacoche inoculado en las tres variedades de maíz fueron más altos en relación a lo reportado por Lizarraga y López (1996).

Por otra parte, se encontró que la lisina disponible entre granos de maíces QPM varió de 0.42 a 0.57 g por cada 100 g de muestra, Cuevas-Rodríguez, (2004), Por lo que en el hongo de huitlacoche en la variedad de QPM se encontró.637 g por 100 g de muestra.

4.11Triptófano

No se encontraron diferencias estadísticas significativas (P>0.05) en el contenido de triptófano en el hongo de huitlacoche inoculado en las variedades de maíz QPM, Bengala y Tigre (Cuadro 13).

Los datos obtenidos en el hongo de huitlacoche inoculado en variedad de maíz QPM con 0.074 % o g por 100 g de muestra, siguiendo Tigre 0.059% o g por 100 g de muestra y Bengala con 0.054% o g por 100 g de muestra.

Al respecto Banoto *et al.*, (1992) y Crison y Sands (1978) reportaron valores en el contenido de triptófano de 0.050 %, valores que están por abajo de lo encontrado en el hongo de huitlacoche inoculado en maíz QPM, Bengala y Tigre.

Poey (1978) encontró en granos de maíz QPM 0.085 g de triptófano por casa 100 g de muestra de maíz.

Se ha reportado que el porcentaje de triptófano influye directamente en la calidad de la proteína del grano de maíz. Siguiendo algunos criterios, es el triptófano, no la lisina, el principal aminoácido limitante de las proteínas del maíz, lo cual puede ser cierto en el caso de algunas variedades con una concentración elevada de lisina o para productos de maíz que hayan sido sometidos a algún tipo de elaboración.

4. 12 Índice de calidad (QI)

No se observaron diferencias estadísticas significativas (P> 0.05), en índices de calidad en el hongo de huitlacoche inoculado en QPM, Tigre y Bengala (Cuadro 13).

Se abstuvieron datos el hongo de huitlacoche inoculado en la variedad de maíz QPM con 0.660 %, seguido por el hongo de huitlacoche inoculado en maíz variedad de Tigre 0.462 y Bengala con 0.434. Los valores relativamente altos de índice de calidad se deben principalmente al alto contenido de triptófano.

Cuadro 13. Efecto de contenido de Nitrógeno, Proteínas, Triptofano, Lisina e Índice de calidad en hongo de Huitlacoche (*Ustilgo maydis Cda*) inoculados en elotes de maíz Tigre. QPM y Bengala.

Variedad	Nitrógeno	Proteína	Triptófano	Lisina	Índice de
de maíz	(%)	(%)	(%)	(%)	calidad
		g·100 g de	g·100 g de	g·100 g de	(QI)
		muestra	muestra	muestra	(%)
Tigre	1.88ab	11.76 a	0.054 a	0.650 a	0.462 a
QPM	1.79 b	7.89 a	0.074 a	0.637 a	0.462 a
Bengala	2.15 a	13.46 a	0.059 a	0.485 a	0.434 a
DMS	0.34	8.26	0.05	0.48	0.48
C V (%)	7.08	29.86	36.59	32.48	37.47

^z Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una P≤ 0.05.

DMS: Diferencia mínima significativa; CV: Coeficiente de variación.

4.13 Metales Pesados

4.13.1 Contenido de Fe

Se encontraron diferencias estadísticas significativas (P< 0.05), en el contenido de Hierro (Fe) en el hongo de huitlacoche inoculado en las variedades de maíz QPM, Bengala y Tigre (Cuadro 14).

El mayor contenido de Fe se observó en el hongo de huitlacoche inoculado en la variedad de maíz QPM con 0.031, seguido de Bengala y Tigre con valores de 0.021 y 0.002 respectivamente.

Al respecto el CODEX Alimentario reporta como máximo permitido en alimentos un valor de 15 mg/kg.

4.13. 2 Contenido de Cu

Con respecto al contenido de cobre (Cu) se encontraron diferencias estadísticas significativas (P< 0.05), en el hongo de huitlacoche inoculado en las variedades de maíz Bengala, QPM y Tigre (Cuadro 14).

El mayor contenido de Cu se encontró en el hongo de huitlacoche inoculado en la variedad Bengala con 0.004 mg·kg, seguido de QPM y Tigre con valores de 0.003 y 0.001 mg·kg.

En este sentido el Codex Alimentario reporta como máximo permitido valores de 5.0 mg·kg.

4.13. 3 Contenido de Pb

Se observaron diferencias estadísticamente significativas (P< 0.05), en el contenido de plomo (Pb) en el hongo de huitlacoche inoculado en las variedades de maíz Tigre, Bengala y QPM (Cuadro 14).

El mayor contenido de plomo se observo en el hongo de huitlacoche inoculado en la variedad de maíz Tigre, seguido de QPM y Bengala con valores de 0.005, 0.002 y 0.002 respectivamente.

En relación a esto el Codex Alimentario reporta como máximo permitido valores de 0.3 mg·kg.

4.13. 4 Contenido de Ni

En el contenido de níquel (Ni) se observaron diferencias estadísticas significativas (P< 0.05), en el hongo de huitlacoche inoculado en las variedades de maíz QPM, Tigre y Bengala (Cuadro 14).

El mayor contenido significativo de níquel se observó en el hongo de huitlacoche inoculado en la variedad de maíz QPM con 0.004 mg·kg, seguido del hongo de huitlacoche inoculado en Tigre y Bengala con un valor de 0.03 mg·kg.

4.13.5 Contenido de Zn

En relación al contenido de Zn se observaron diferencias estadísticas significativas (P< 0.05), en el hongo de huitlacoche inoculado en maíz Tigre, QPM y Bengala (Cuadro 14).

El mayor contenido de Zn se observó en el hongo de huitlacoche inoculado en maíz variedad Tigre, seguido de QPM y Bengala con valores de 0.023, 0.06 y 0.005 respectivamente.

En relación a esto el Codex Alimentario reporta como máximo permitido valores de 5.0 mg·kg.

Cuadro 14. Contenido de Fe, Cu, Pb, Ni y Zn en hongo de Huitlacoche (*Ustilgo maydis Cda.*) inoculados en elotes de maíz Tigre, QPM y Bengala.

Variedad	Fe	Cu	Pb	Ni	Zn
de maíz	(mg·Kg)	(mg·Kg)	(mg·Kg)	(mg·Kg)	(mg·Kg)
Tigre	0.002 c	0.001 c	0.005 a	0.003 b	0.023 a
QPM	0.031 a	0.003 b	0.002 b	0.004 a	0.006 b
Bengala	0.021 b	0.004 a	0.002 b	0.003 b	0.005 c
DMS	0.0002	0.0003	0.0003	0.0002	0.0002
C V (%)	0.33	4.06	3.10	2.18	0.62

^z Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una P≤ 0.05.

DMS: Diferencia mínima significativa; CV: Coeficiente de variación.

Por lo general, las cantidades mayores de metales pesados se acumulan en las hojas, mientras que los contenidos más bajos se encuentran en las semillas. Melones, tomates y pimientos muestran cifras de absorción muy bajas. La absorción de metales pesados en las plantas (especialmente cadmio y plomo) también varía según el pH del suelo Iretskaya y Chien, (1999).

IV. CONCLUSIONES

- 1.- No se observaron diferencias estadísticas significativas en las características fisicoquímicas de sólidos solubles totales (°Brix), Acidez titulable, Vitamina "C", pH, clorofila, ángulo de tono (°Hue) y pureza de color, del huitlacoche inoculado en las variedades de maíz QPM, Tigre y Bengala.
- 2.- Se observaron diferencias significativas (P< 0.05) en Azucares totales, nitrógeno, encontrando una mejor calidad en el huitlacoche inoculado en maíz QPM.
- 3.- Aunque en el contenido de metales pesados se observaron diferencias significativas. Todas las muestras se encuentran dentro de la norma oficial mexicana AA-051-SCRT-2001.

VI. BIBLIOGRAFIA

Acosta, A., M.,M. 2007. Determinación de metales pesados en suelos agrícolas del Valle del Mezquital. Hgo. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo. Pp 30-89.

Agrios, G. N. 1998. Fitopatologia. Ed. Limusa S. A. de C. V. Mexico, p 838.

Alcalde B, S., G. Alcantar G. y J.L. Tirado T. (s/f). Análisis vegetal: Una herramienta de diagnóstico. Documento interno. Colegio de Posgraduados. Montecillo, México, México. P 194.

Arnold, C. 1992. Postharvest and marketing of cuitlacoche, maize mushroom (Ustilago maydis-corn smut). Acta- Horticulturae 318: 321-324.

Bano, Z., K.S. Srinivasan and H.C. Srivastava, 1962. Amino Acid Composition of the protein from a Mushroom (*Pleurotus sp.*). APPL MICROBIOL. 11: 184-187.

Banuett, F. and Herskowitz . I. 1988 Ustilago maydis, smut of maize.. In: Genetics of phytopathogenic Fungi: Advances in Plant Phathology Series. Vol. 6. Ed. G. S. Sidhu. Academic Press, London. pp 427-445.

Bartley, C. E. 1991. Factors affecting colour of cultivated mushrooms (Agaricus bisporus) prior to harvest and during postharvest storage. Science and cultivation of Edible Fungi.Maher, ed. Rotterdam. pp. 689-694.

Basse, W. S., G. Steinberg. 2004. Ustilago maydis, model system for analysis of the molecular basis of fungal phatogenicity. Molecular Plant Pathology 5 (2): 83-92.

Bernas, E., G. Jaworska and Lissiewska, Z. 2006. Edible mushrooms as a source of valuable nutritive constituents. Acta Sci. Pol., Thenologia Alimentaria. 5 (1): 5-20.

Castro, E. L., I. Ruiz. 2003. Huitlacoche: una delicadeza alimenticia que se puede producir en el valle del Yanqui. Instituto Tecnológico de Sonora. Prespectiva Universitaria 2:27-28.

Chang, A. C., Granato, T. C., Page, A. L. 1992. A methodology for establishing phytotoxicity. Criteria for chromium, copper, nickel, and zinc in agricultural land application of municipal sewage sludges. J. Environ. Qual.21. pp 521-536.

Christensen, J. J. 1963. Corn smut caused by Ustilago maydis. Monograph No. 2. American Phypathological society. p. 41.

Cifuentes, E, H. Blumenthal, G. Ruiz, Palacios, S. Bennett, M. Quigley, A. /peasey y H. Romero Alvares. 1993. Problemas de salud asociados al riego agrícola con aguas residuales en Mexico. SSA. Mexico: 35(6). pp 614-619.

CNA, 1995. Comisión Nacional del Agua. Información proporcionada por la Jefatura de los Distritos de riego del Valle del Mezquital. Comisión Nacional del Agua, Mixquiahuala, Hidalgo, México.

CNA, 2003. Comisión Nacional del Agua. El uso de aguas residuales en la Agricultura de Riego. Subgerencia de Ingeniería, Riego y drenaje. México. pp. 3-17. Colegio de posgraduados en ciencias agricolas y fundación produce Tlaxcala. 2003. Programa estrategico para el desarrollo de la producción, transformación y comercialización de hongos comestibles en el estado de Tlaxcala.

Crisan, E. V., A., Sands. 1978. Nutricional Value. In: Chang S.T. and Hayes W. A. (eds.), The biology and cultivation of edible mushrooms Academic Press. London. pp.137-166.

Cruz, S., Villanueva, P. 1991. La proliferación de jitomate en la mazorca (manitas) y el rendimiento de maíz (*Zea mays* L.) Tesis profesional. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo México.

Cuevas-Rodríguez OE, Milan Carrillo J. Mora-Escobedo R, Cardenas-ValenzuelaOG, Reyes-Moreno C. 2004. Quality protein maize (Zea mays L) tempeh flour though solid state fermentation process. Lebensmittel-Wissrnchaftund-Technologie .37(1): 59-67

Eastwood.D., K. Burton. 2002. Mushrooms-a matter of choice and spoiling oneself. Microbiology today 29:18-19.

Futa, H. Akalu, G. Wondium A., Taffeses S.,Gebre T. Scholosser, K.Noetzold H. Henle T., (2003). Asseessment of protein nutricional quality and effects of traditional processes: a comparison between Ethiopian quality protein maize and five Ethiopian adapted normal maize cultivars. Ethiopian Health and Nutrition Research institute 47 (4): pp 269-273.

García, G. P. G., 2007.Comportamiento en postcosecha del hongo comestible huitlacoche (*Ustilago maydis Cda*) Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco Estado de México. pp 3-10.

Gold, E., M.S. Bragdon, E. M. Mayorga and W.J. Kronstad. 1997. *The Ustilago maydis* regulatory suburnit of a cCAMP-dependent protein kinase is required for gall formation in maize. The plant cell 9: pp 1485-1594.

González, J., Moreno, A. M., Pérez, L., Larrea, M. T. Prieto, P., de la Rosa, C. Angeles, M., 2000. Nivel de contaminación en suelos por elementos traza. Impacto sobre las comunidades microbianas. Edafol.V.7-3. Septiembre 2000. pp 47-54.

Guerra, S. G. 2005. Caracterización bioquímica de la H+ATPPasa de membrana plasmática de *Ustilago maydis* en la forma micelial en condiciones de estrés nutricional. Memorias del XIV Congreso de Bioenergética A. C. Oaxaca México. p.1.

Guzman, G. 1997. Los hongos y el hombre. Biodiversidad e impacto ecológico, social y económico. Ponencia presentada durante el 1er CICIAQB-UDLAP. Febrero 1995.

Hernández, G., Flores, F., Maples, Solorino, J., y Alcántara, J., 1994. Riesgo de acumulación de Cd, Pb, Cr, y Co en tres series de suelos del DR03, Estado de Hidalgo, México. Revista Mexicana de Ciencias Geológicas, V. 111.1 Pp 53-61.

Herrera, T y Ulloa, m. 1990. El reino de los hongos. Micología básica y aplicada. UNAM. Fondo de Cultura Económica.

Hirschhorn, E. 1966. Las ustilaginales de la flora Argentina. Publicación Especial. Comisión de Investigaciones Científicas. La plata. Argentina. p 530.

ILSI Argentina. Maiz y nutricion. Informe sobre los usos y las propiedades nutrionales del maíz para la alimentación humana y animal. Recopilacion del ILSI Argentina, 2006. Serie de informes especiales, vol. II.

Imet, F. R. and J. J. Christensen. 1928. Determination of losses duo to smut infections in selfed lines of corn. Phytopathology 18: Pp 599-602.

INEGI. 1994. Sistemas de Cuencas Nacionales de México. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, México.

Iretskaya, S.N. and Chien, S.H. 1999. Comparison of cadmium uptake by five different food grain crops grown on three soils of varying pH. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 30 (1998), pp 441 – 448.

Kearley, S., V. F. Kosidowski. 1981. Corn Smut as a food source. Perspectives on biology, composition and nutrition. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 15: pp321-351.

Kreb, S. Lelley. K. 1991. Preservation of oyster mushrooms by lactic fermentation. Science and cultivation of Edible Fungi. Maher, ed. Rotterdam. Pp 659-664.

Laessoe, T. 1998. Manual de identificación de hongos. Ed. Omega, S. A. Barcelona, España. p 7.

Leong, S. A.: Wang, J.; Kronstad, J.; Holden, D.; Bude.; a; Froeliger, E.; Kinscherf, T.; Xu, p.; Russin, A. W; Samae, D.; Smith, T.; Covert, S.; Mei, B. and Voisard, C, 1991. Molecular analysis of pathogenesis in Ustilago maydis. In molecular strategies of pathogens and Host plants. Ed. Patil, S.S.; Ouchi, S.; Mills, D. And Vance, C. Springer Verlag, U. S. A.

Lizarraga-Guerra, R. y López., M.G. 1996. Content of free amino acids in Huitlacoche (*ustilago maydis*). Jornal agric. Food chem. 44: pp 25556-3559.

López, A. G. F. 1988. Factores que determinan el desarrollo de U. maydis (DC) Cda. Agente causal del huitlacoche del maíz. Tesis M.C. Colegio de Posgraduados, Centro de Fitopatologia. Montecillo, México.

Martínez, M. L. 2006. Mejoramiento de la virulencia del hongo y la resistencia del maíz al Huitlacoche (Ustilago maydis Cda.). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Fitotecnia. pp 85.

Martínez, M. L., C. Villanueva y J. Sahagun, 2000. Susceptibilidad y resistencia del maíz al hongo comestible Huitlacoche (Ustilago maydis Cda.) mejorando su virulencia. Revista Chapingo Serie Horticultura 6 (2): pp241-255.

Martínez, C. M. Ortiz, C. R. Palacios, N.2008. Caracterización nuticional del grano de 50 accesiones de maíz cubano. Cultivos Tropicales ISSN 0258-5936. Vol. 3. La Habana Cuba. pp 1-11.

Martoñez, C.D. 2006. Current development of mushroom biotechnology in Latin América. Extract from ISMS Newsletter 103, presented at a World Society for Mushroom Biology and Mushnroom Products Symposium in México.

Mac Millan, H. G. 1918. An epidemic of corn smut following hail. Phytopathology 8:584-585.

Mèndez-Montalvo, G., Solorza-Feria, J., Velázquez del Valle, m., Gómez-Montiel, N., Paredes-López, O. y Bello-Pérez LA. Composición química y caracterización calorimétricas de híbridos y variedades de maíz cultivadas en México . Agrociencia, 2005, vol. 39, p 267-274.

Mendoza, H. 1981. An evaluation of the use of Mexico city Wasterwater on the Irrigation of Crops. Water Reuse Symposium II. Washington D.C. August 23-28.

Mendoza, E. M., 2006. El contenido de lisina y triptófano en genotipos de maíz de alta calidd potencialy normal. Universidad y ciencia. Vol. 22 N° 2, p 153-161.

Nerya, O. R. Ben-aries, Luzzatto, R. Musa, S. Khativ and Vaya, J. 2006. Prevention of Agaricus bisporus postharvest browning whit tyrosinase inhibitors. Postharvest Biology and Technology. 39 (3): 272-277.

Nuberg, I. K, and Allen, R. N. 1985. Effects of temorary wilting on incidence of boil smut of maize. Australian plant Pathology 14: 3, Pp 56-57. Maize Abstracts. 1986, 2-27, 82.

O" Donnell, K. L. And Mc Lauhlin, D. J. 1984. Mycologia. 76: Pp468-485.

Osvald, J. And M. Osvald. 1992. Consecuenses duo to water stress for development and yield of maize, sorghum, Cabbage and tomate plants. Bioloski-Vestnik, 1991 39: Pp 1-12, 129-135. Herbage Abstracts 1992, 062-630.

Pardo, J. P. 2004. The mithochondrial respiratory Cain of *Ustilago maydis*. Biochimica et Biophysica Acta. 1658: 224-251.

Paredes, L. O. 1994. Entrevista con el Doc. Octavio Paredes López, del CINVESTAV- Irapuato. La jornada, 11 de Octubre, 1994. Sección Desarrollo, P. 3. Paredes, L. O. 2000. Tecnologías para la producción masiva de huitlacoche. SEP-CONACYT. pp 11,15-16 y 35.

Paredes, L. O., Guevara L. F. y Bello P. L.A. 2006. Los Alimentos Mágicos de las Culturas Indigenas Mesoamericanas. Fondo de Cultura Económica- Serie Ciencia para Todos. México, D.F. 205 pp ISBN 968-16-7567-3.

Pataky, J. K. 1991. Producción of cuitlacoche [Ustilago maydis (DS) Corda] on sweet corn. Hort Sciece 26: 1374-1377.

Pataky, J. K: 2002.Production of Huitlacoche Ustilago maydis using inoculation techniques developed to screen reactions of sweet corn to common smut. The 4th ICMBMP.

Peña de P., F. J. 1997. Mezquital: la Importancia del Riego con Aguas Negras. México, D.F., pp 105-127.

Pérez, M. A., 1999. Evaluación de la relación de 300 familias de maíz (Zea mays) al huitlacoche (Ustilago maydis (DC) Cda.) Tesis de Licenciatura Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitologia Agrícola. p 98.

Poey DFR. 1978. Mejoramiento Integral del Maíz: Rendimiento y Valor Nutritivo; Hipótesis y Métodos. Tesis Doctoral, Colegio de Posggraduados, Chapingo, México. pp 206.

Pope, D. D. and Mc Carter, S. M. 1992. Evaluation of inoculation methods for inducing common smut of corn ears. Phylopathology 82: 950-955.

Potter, A. A. and Melcher, L.E. 1917. Ecologial observations on uustilago Zeae. Phytopathology 7: 73-74.

Raúl, C. N. 2004. Biotecnologiaen hongos superiores. Parte 1 AgroUNS 2: pp12-15.

Ruiz, H. I., E. L. Castro . 2001. Efecto del sitio de inoculación artificial de Ustilago maydis (D.C.) Corda em la producción de huitlacoche em híbridos de maíz (Zea mays L.) em el Valle del Yaqui. ITSON_DIEP 3 (10): 127-127.

Ruiz, H. J., A.D. Martínez, 1998. The fungus UStilago maydis, from the Aztec cuisine to the research laboratory. Internatl Microbiol. 1: 149-158.

Ruiz, H. I. 2003. Huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.): una delicadeza alimenticia que se puede producir en el Valle del Yanqui. Perspectiva Universitaria. ITSON: Sonora, Mexico. p. 27.

Said, O. 1992. Stipe trimming at harvest increases shelf life of fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*). Journal of Food Science 57 (6). pp. 1361-1363.

Sansano C. A. 2008 Cereales: estructura y composición nutricional. Universidad de Alicante.

Sapers, G. M. 2001. Shelf-life extensión of fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*) by application of hydrogen peroxide and browning inhibitors. Journal of Food Science. 66 (2), 332-366.

Sierra, P. E. 1997. Cauterización tecnológica de la industria productora de hongos comestibles en México. Tesis de Licenciatura Departamento de Ingeniería Agroindustrial. UACh. México. pp 5,6.

Valdez, M. M. Valverde, M. E. Paredes, L.O. 2008. Producción Comercial de Huitlacoche de alta Calidad. CINVESTAV-IPN. Irapuato, Guanajuato. México. pp 8-12.

Valverde, M. E.; Moghaddam, P. F; ZavalaGsllardo, M. S; Pataky, J. K; Paredes-López, O. and Pederson, W. L. 1993. Yield and quality of huitlacoche on sweet corn inoculated with Ustilago maydis. Hortscience 28: 782-785.

Vargas, A. D. 1997. Evaluación de diferentes condiciones de frigoconservación de champiñón (Agraricus Bisporus (Langue) sing) bajo atmósferas modificadas. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. pp 68-72.

Venegas, P.E.,M.E. Valverde, O. Paredez-Lopez, and J.K. Patraky. 1995. Production of the Edible Fungus Huitlacoche (Ustilago maydis): Effect of Maize Genotype on Chemical Composition. Journal of fermentation and bioengineering 80: 104-106.

Villaescusa, R. I. M. Gil.2003. Quality improvement of pleurotus mushroooms by modiied otmosphere packaging and moisture absorbers. Postharvest Biology and Technology. 28: 169-179.

Villanueva, C. 1997. Huitlacoche (Ustilago maydis) as a food in México. Micología Neotropical Aplicada. 10: 73-81.

Villanueva, V. C., 2002. El huitlacoche, mexicanismo hongo del maíz. In: Kurczyn V. S. C. (ed). EL festín de los hongos, México.

Villegas, C. 1997. Huitlocoche (Ustilago maydis Cda.) as food in Mexico. Micologia Neotropical Alicada. 10: 73-83.

Walter, J. M. 1934. The mode of entrance of Ustilago zeae intro corn. Phytopathology 24: 1012-1020.

VII. APENDICE

Apéndice normativo F - Determinación de metales en trazas por extracción con metil isobutil cetona (MIBK)

Determinación cuantitativa de trazas de metales en aguas por espectroscopia de absorción atómica en flama.

Este método cubre la determinación de Al, Ag, Cd, Co, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb, V y Zn entre otros.

A una cantidad representativa de la muestra homogeneizada hacer una quelación y extracción con solvente orgánico. Este método está basado en la quelación del metal con ligan dos orgánicos y su subsecuente extracción con solvente orgánico metil isobutil cetona (MIBK).

Se utilizan como agentes quelantes: ditiocarbamato pirrolidin de amonio (APDC); dietil ditiocarbamato de sodio (NaDDC) y sal de amonio de nitrosofenilhidroxilamina (KUPFERRON).

Para evitar problemas asociados con la inestabilidad de los complejos de metal extraídos determine los metales inmediatamente después de la extracción.