

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
SUBDIRECCION DE POSTGRADO



DETECCIÓN DE MICOTOXINAS EN POBLACIONES DE MAÍCES CRIOLLOS  
MEXICANOS

**Tesis**

Que presenta SIMEÓN MARTÍNEZ DE LA CRUZ  
como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRO EN TECNOLOGIA DE GRANOS Y SEMILLAS

Saltillo, Coahuila

Mayo 2018

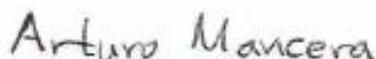
DETECCIÓN DE MICOTOXINAS EN POBLACIONES DE MAÍCES CRIOLLOS  
MEXICANOS

Tesis

Elaborada por SIMEÓN MARTÍNEZ DE LA CRUZ como requisito parcial para  
obtener el grado de Maestro en Tecnología de Granos y Semillas con la  
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



Dra. Leila Miñea Vásquez Siller  
Asesor Principal



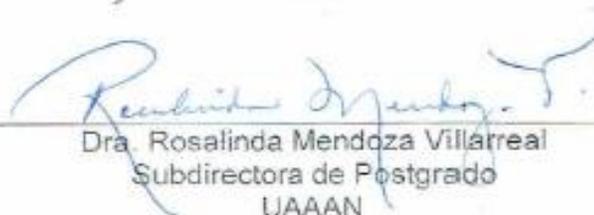
Dr. Arturo Mancera Rico  
Asesor



M.C. Ma Cristina Vega Sánchez  
Asesor



Dr. Jesús Soria Ruiz  
Asesor



Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal  
Subdirectora de Postgrado  
UAAAN

Saltillo, Coahuila

Mayo 2018

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por haberme brindado el apoyo económico en la realización de la maestría.

A la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” por abrirme sus puertas en la formación como profesionista en sus programas de posgrado.

Al Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Granos y Semillas, que contribuyó en la impartición de conocimientos a través de sus profesores para la culminación de mis estudios.

A la Dra. Leila Minea Vásquez Siller por la dirección y realización de este trabajo; por sus conocimientos, aportaciones, la revisión de esta investigación y ser parte de su equipo de trabajo.

A la M. C. María Cristina Vega Sánchez por la contribución de conocimientos a esta investigación, la revisión del documento derivado de la misma y su tiempo brindado en este trabajo.

Al Dr. Jesús Soria Ruiz por el apoyo brindado durante mi estancia en el Laboratorio de Geomática del INIFAP de Toluca y por sus conocimientos que brindaron un enfoque diferente en esta investigación.

Al Dr. Arturo Mancera Rico por ser parte de este equipo de trabajo, por la revisión y sugerencias realizadas a esta investigación.

Al Dr. Armando Muñoz Urbina por todo el tiempo, paciencia y conocimientos aportados en esta investigación que dieron un mayor alcance a las reflexiones sobre los resultados obtenidos.

A todos los profesores, técnicos y personal administrativo de la Maestría Profesional en Tecnología de Granos y semillas.

Un reconocimiento a los productores de maíz de los estados de Mexico y Tlaxcala, quienes conservan las razas de maíz, motivo de estudio en la presente investigación.

## DEDICATORIAS

A mis padres:

Jesús Martínez Cortes y Catalina de la Cruz Hernández, que son parte importante en mi vida, gracias por sus consejos y cariño brindado.

A mis hermanos:

Lázaro, Jesús, Sergio y Rosario, por todo el tiempo vivido, por su apoyo y amistad brindada

A mis sobrinos:

Alejandro, Isabel por los momentos compartidos y la convivencia con cada uno de ellos a lo largo de todo este tiempo.

A mis compañeros:

Enrique Antonio Adame León, Esmeralda Jackelin Silverio Mata, María de los Ángeles Sampayo Hernández por acompañarme en los estudios realizados en la maestría y por los momentos compartidos.

## Índice General

	Página
Agradecimientos.....	iii
Dedicatorias.....	iv
Lista de cuadros.....	viii
Lista de figuras.....	x
Resumen.....	xiii
Abstrac.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivos.....	3
Hipótesis.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Aspectos socioeconómicos.....	4
2.1.1 Usos del maíz: Consumo humano y pecuario.....	4
2.1.2 Descripción del maíz.....	5
2.1.3 Clasificación taxonómica.....	5
2.1.4 Descripción botánica del maíz.....	6
2.1.5 Condiciones para el cultivo del maíz.....	7
2.1.6 Morfología y fisiología de la semilla de maíz.....	8
2.2 Origen y evolución de maíz.....	11
2.2.1 Razas de maíces criollos en México.....	12
2.2.2 Razas antiguas.....	14
2.2.3 Razas exóticas pre-colombinas.....	15
2.2.4 Razas mestizas prehistóricas.....	16
2.2.5 Razas modernas incipientes.....	17
2.2.6 Razas no bien definidas.....	17
2.3 Patosistema del maíz.....	17
2.3.1 Enfermedades causadas por hongos fitopatógenos asociadas al grano de maíz.....	19
2.3.2 Pérdidas causadas por hongos en el grano de maíz.....	22

2.4.	Hongos fitopatógenos potencialmente toxigénicos en el grano de maíz.....	23
2.4.1	Especies del genero <i>Aspergillus</i> .....	23
2.4.2	Especies del genero <i>Fusarium</i> .....	27
2.4.3	Especies del genero <i>Penicillium</i> .....	31
2.4.4	Especies del genero <i>Claviceps</i> .....	34
2.4.5	Ciclos biológicos de los hongos potencialmente toxigénicos del maíz.....	37
2.5	Las micotoxinas en el maíz.....	43
2.5.1	Grupo de micotoxinas asociadas a la microbiota toxigénica del maíz.....	45
2.5.2	Las Aflatoxinas.....	45
2.5.3	Las Fumonisinias.....	48
2.5.4	Las Zearalenonas.....	50
2.5.5	Tricotecenos.....	52
2.5.6	Deoxinivalenol.....	53
2.5.7	Ocratoxinas.....	55
	MATERIALES Y METODOS.....	58
3.1	Etapa de campo.....	58
3.1.1	Muestreo en parcelas.....	60
3.2.	Etapa de laboratorio.....	61
3.2.1	Caracterización morfométrica de poblaciones criollas de maíces mexicanos.....	62
3.2.1.1	Variables cualitativas analizadas.....	62
3.2.1.2	Variables cuantitativas analizadas.....	63
3.2.2.	Análisis de calidad fisiológica.....	64
3.2.3.	Determinación de la biodiversidad de hongos fitopatógenos en la semilla/grano de maíz.....	65
3.2.4.	Determinación de los niveles de contaminación por micotoxinas.....	67
3.3.	Análisis estadístico.....	69

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	73
4.1. Características cualitativas de las poblaciones de maíces mexicanos.....	73
4.2. Características cuantitativas de las poblaciones de maíces mexicanos.....	74
4.3. Asociación entre características morfométricas del grano de maíz y su calidad fisiológica como semilla.....	87
4.4.. Detección y cuantificación de hongos fitopatógenos con potencial toxigénico en grano en poblaciones de maíz.....	95
4.4.1. Detección de número de géneros de hongos fitopatógenos en semilla de maíz.....	95
4.5. Detección de niveles de contaminación con micotoxinas y su asociación con la incidencia de hongos fitopatógenos potencialmente toxigénicos y variables fisiológicas de la semilla/grano de maíz.....	101
CONCLUSIONES.....	116
LITERATURA CITADA.....	118
ANEXOS.....	130

## Lista de Cuadros

<b>Cuadro</b>		<b>Pagina</b>
Cuadro 1.	Padrón de productores de los Estados de México y Tlaxcala.....	59
Cuadro 2.	Características cuantitativas evaluadas en las 21 poblaciones de maíz.....	63
Cuadro 3.	Características cualitativas de poblaciones de maíz.....	74
Cuadro 4.	Características cuantitativas de la mazorca y grano de las poblaciones de maíz.....	76
Cuadro 5.	Valores de distancia euclidiana y pasos enlace para 21 poblaciones de maíz y 18 variables, método de enlace completo .....	81
Cuadro 6.	Promedios de características cuantitativas de mazorca y grano en los grupos de poblaciones de maíz.....	83
Cuadro 7.	Valor y vectores característicos para los tres primeros componentes principales de 18 variables evaluadas en 21 poblaciones de maíz.....	84
Cuadro 8.	Promedios de las variables utilizadas en la caracterización del grano y pruebas fisiológicas.....	88
Cuadro 9.	Valores de distancia euclidiana y pasos enlace para 21 poblaciones de maíz y 11 variables, método de enlace completo.....	89
Cuadro 10	Promedios de las variables de semilla y fisiológicas de los grupos obtenidos en el análisis de conglomerados...	90
Cuadro 11	Valores y vectores propios para los tres primeros componentes principales de 11 variables evaluadas en 21 poblaciones de maíz.....	92
Cuadro 12.	Géneros de hongos fitopatógenos en poblaciones de maíz.....	97

Cuadro 13.	Promedios de especies de <i>Fusarium</i> potencialmente toxigénicos.....	100
Cuadro 14.	Promedios de las variables de germinación, especies de <i>Fusarium</i> y micotoxinas estimados en 21 poblaciones de maíces mexicanos.....	102
Cuadro 15.	Promedios de los grupos obtenidos en el análisis de conglomerados, los cuales se ordenaron de acuerdo a los niveles de la variable DON.....	109
Cuadro 16.	Valores y vectores propios para los tres primeros componentes principales de 7 variables evaluadas en 21 poblaciones de maíz.....	111

## Lista de Figuras

<b>Figura</b>		<b>Pagina</b>
Figura 1.	Estructuras morfológicas del género <i>Aspergillus</i> , (A-B) Conidióforos (C-D) Cabezas conidiales, tomado de Abarca (2000).....	25
Figura 2.	Estructura morfológica del genero <i>Aspergillus</i> (A) Cuerpos fructíferos, (B, C) Conidióforo con cabeza y conidios, según Barnett and Hunter (1987).....	25
Figura 3.	Estructura morfológica del genero <i>Fusarium</i> , (A) Hifas con conidioforos simples, (B) Hifas con conidióforo variable, (C) Esporodoquio suelto formado por conidioforos ramificados (D) Macroconidios y microconidios, según Barnett and Hunter (1987).....	29
Figura 4.	Estructuras morfológicas del genero <i>Penicillium</i> , (A, B, C), Tipos de conidióforos, (D) Ramificaciones, fiálides y cadenas de conidios, según Barnett and Hunter (1987).....	33
Figura 5.	<i>Claviceps purpurea</i> : Estroma con peritecios incluidos A. Estructura de la pared peritecial, B. Estructura de la cabeza estromática, C. Estructura de la cabeza estromática, tomado de Alexopoulos (1996).....	36
Figura 6.	Ciclo biológico de <i>Aspergillus</i> : Interrelación entre inoculo primario y secundario (Diener y Davis 1987).....	38
Figura 7.	Ciclo biológico de <i>Fusarium graminearum</i> , tomado de Ireta y Gilchrist (1994).....	40
Figura 8.	Ciclo biológico de <i>Fusarium Verticilloides</i> , tomado de Galvao y Miranda (2004).....	41

Figura 9.	Ciclo biológico de <i>Claviceps gigantea</i> , basado en Alexopoulos (1996).....	42
Figura 10.	Estructura química de las principales aflatoxinas (Carvajal, 2013).....	47
Figura 11.	Estructura química de las Fumonisinias del Grupo B (De la Torre <i>et al.</i> , 2014).....	49
Figura 12.	Estructura química de la Zearalenona (Carrillo y Gómez, 2007).....	51
Figura 13.	Estructura química de los Tricotecenos de tipo A y B (Gómez, 2008).....	53
Figura 14.	Estructura química de Deoxinivalenol (Sosa, <i>et al.</i> , 2017).....	54
Figura 15.	Estructura química de la Ocratoxina A (Ravelo <i>et al.</i> , 2011).....	57
Figura 16.	Zona de estudio y localización de las muestras de 21 poblaciones de maíz en el Estado de Mexico y Tlaxcala.....	61
Figura 17.	Morfología de las poblaciones de maíz, de la 1-4 asociadas a la Raza Cacahuacintle, de la 5-6 a la Raza Cónica, IS MEX, IS TL = Colectas realizadas <i>in situ</i> en México y Tlaxcala.....	77
Figura 18.	Morfología de las poblaciones de maíz, de la 7-12 asociadas a la Raza Cónica, IS MEX, IS TL = Colectas realizadas <i>in situ</i> México y Tlaxcala.....	78
Figura 19.	Morfología de las poblaciones de maíz, poblacion 13 asociada a la Raza Cónica,14 mezcla de Conico x chalqueño, 15 mezcla de Conico x pepitilla, de la 16-18 Raza Elotes conicos, IS MEX, IS TL = Colectas realizadas <i>in situ</i> en México y Tlaxcala.....	79
Figura 20.	Morfología de las poblaciones de maíz, 19-20 asociadas a la Raza Palomero, 21 a la Raza Pepitilla, IS	

	MEX, IS TL = Colectas realizadas <i>in situ</i> en los estados de México y Tlaxcala.....	80
Figura 21.	Dendograma para la clasificación de 21 poblaciones de maíz en base caracteres de mazorca y grano.....	82
Figura 22.	Distribución de 18 variables con su peso sobre los dos primeros componentes principales.....	86
Figura 23.	Agrupación de poblaciones de maíces mexicanos del Estado de México y Tlaxcala con base en los dos primeros componentes principales.....	87
Figura 24.	Dendograma para la clasificación de 21 poblaciones de maíz en base caracteres de grano y pruebas fisiológicas de la semilla.....	90
Figura 25.	Distribución de 11 variables con su peso sobre los dos primeros componentes principales.....	93
Figura 26.	Agrupación de poblaciones de maíz en base a los dos primeros componentes principales.....	94
Figura 27.	<i>Fusarium verticillioides</i> (A, B, C). A. Largas cadenas de microconidias, B. Macroconidias, C. Colonia en grano. <i>Fusarium graminearum</i> (D, E, F). D. Colonia en grano, E. Macroconidias. F. Macroconidios en conidióforo ramificado.....	99
Figura 28.	Dendograma para la clasificación de 21 poblaciones de maíz en base a pruebas de germinación, especies de <i>Fusarium</i> y contenido de micotoxinas.....	108
Figura 29.	Distribución de 7 variables con su peso sobre los dos primeros componentes principales.....	112
Figura 30.	Agrupación de poblaciones de maíz en base a los dos primeros componentes principales.....	114

## Resumen

# DETECCIÓN DE MICOTOXINAS EN POBLACIONES DE MAÍCES CRIOLLOS MEXICANOS

POR

SIMEÓN MARTÍNEZ DE LA CRUZ  
MAESTRIA EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DRA. LEILA VÁSQUEZ SILLER – ASESOR -

Saltillo, Coahuila

Mayo 2018

La presente investigación tuvo como objetivo explorar el potencial micotoxigénico en el grano de maíz en estado de postcosecha de poblaciones criollas de maíces mexicanos, producidos en la zona central de la república mexicana que incluyó los estados de México y Tlaxcala. Se estudió la variación morfológica en mazorca y grano de 21 poblaciones de maíz cultivadas en el ciclo agrícola P-V de 2016 en los estados de México y Tlaxcala, se realizaron pruebas de calidad fisiológica de la semilla, así como la identificación y cuantificación de hongos fitopatógenos potencialmente toxigénicos y se determinaron los niveles de contaminación de micotoxinas. El trabajo se desarrolló en dos etapas: en la primera etapa denominada de campo, se cosecharon 21 poblaciones nativas de maíz cuyas parcelas fueron georreferenciadas *in situ* procedentes de los estados de México (16) y Tlaxcala (5) en las cuales se registraron 4 variables cualitativas y 18 variables cuantitativas para su caracterización. En la segunda etapa denominada de análisis en laboratorio, se evaluaron seis variables en las pruebas de germinación y vigor, posteriormente se determinó en la micobiota el número de género de hongos presentes en la semilla, así como las especies de hongos fitopatógenos potencialmente toxigénicos y su producción de micotoxinas. Los datos fueron sometidos a los siguientes análisis estadísticos: análisis de varianza y técnicas multivariadas como análisis conglomerados y de componentes principales. Además un análisis de varianza entre los grupos arrojados en el análisis de conglomerados aplicando la prueba de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Las poblaciones nativas de maíz se asociaron con las razas Cacahuacintle (4), Cónico (9), Elotes Cónicos (3), Palomero (2) y Pepitilla (1) y mezclas de razas (2). En la Cacahuacintle sobresale la población 2 por tener mayor Longitud de mazorca (19.3 cm), Ancho de grano (14.26 mm), Grosor de grano (7.10 mm), Peso de 100 granos (79.85 g), Volumen de 100 granos (151.0 cc), en la Palomero la población 19 se diferenció por presentar el mayor Numero de hileras (17.5) y en las características de grano fueron las más bajas para todas las poblaciones. En el análisis multivariado de la caracterización morfológica se presenta una correlación positiva y altamente significativa entre el Peso de mazorca al 10% de humedad y grano al 10% de humedad ( $r = 0.990^{**}$ ), Diámetro de olote y Diámetro

de raquis ( $r= 0.931^{**}$ ), Peso de 100 granos y Volumen de 100 granos, ( $r= 0.966^{**}$ ) y Grosor de grano y Ancho de grano ( $r= 0.984^{**}$ ), las variables que presentan una relación negativa y altamente significativa son Número de hileras y Ancho de grano ( $r=-0.932^{**}$ ), Grosor de grano y Número de hileras ( $r= -0.931^{**}$ ) y Número de hileras y Ancho de grano/Longitud de grano( $r=-0.918^{**}$ ). El análisis multivariado de características de grano y pruebas fisiológicas determinó que existe una relación negativa y altamente significativa entre Germinación de plántulas normales y Germinación de plántulas anormales ( $r= -0.98^{**}$ ), Ancho de grano ( $r= -0.87^{**}$ ), Grosor de grano ( $r= -0.86^{**}$ ), Peso de 100 granos ( $r= -0.80^{**}$ ) y Volumen de 100 granos ( $r= -0.87^{**}$ ), revelando que razas con endospermo posiblemente ricos en amilosa y mayor tamaño de semilla, como la raza Cacahuacintle están asociados con menores índices de germinación y vigor. Se determinó la incidencia de 9 géneros de hongos fitopatógenos, el género *Fusarium* se presentó en un 63.3%, seguido del género *Penicillium* con un 10.0% y el género *Acremonium* con 8.5%. En cuanto a especies de hongos potencialmente toxigénicas la especie *Fusarium verticillioides* registro la mayor incidencia en la población 12 (62.5%) y *Fusarium graminearum* en la población 21 (31%). Las poblaciones 1 de raza Cacahuacintle, 5, 9,10 y 15 de raza Cónica y 19 de la raza Palomero, superaron los niveles de contaminación por micotoxinas para consumo humano de Deoxinivalenol promediando (2.243 ppm). Las poblaciones 1 de raza Cacahuacintle, las poblaciones 5, 9 y 10 de raza Cónico, superaron los límites establecidos para Zearalenona para consumo humano promediando (0.904 ppm); las poblaciones 9 y 10 de la raza Cónica presentan riesgo para consumo animal por altos niveles de contaminación con Zearalenona con promedio de (1.273 ppm). En el análisis multivariado de las variables de germinación con especies de *Fusarium* y micotoxina, se determinó que existe una relación positiva y significativa entre las variables Germinación de plántulas normales y *Fusarium verticillioides* ( $r=0.42^*$ ), destaca la correlación positiva de *Fusarium graminearum*: con Deoxinivalenol ( $r=0.43^*$ ) y con Zearalenona ( $r=0.31$ ), una relación negativa entre *Fusarium verticillioides* y *Fusarium graminearum* ( $r =-0.255$ ). El porcentaje de germinación no se vio

afectado por la alta incidencia de *Fusarium verticillioides*, se mostró la asociación positiva entre *Fusarium graminearum* con Deoxinivalenol y Zearalenona, por lo que poblaciones con alta incidencia de *Fusarium graminearum* generaron niveles de contaminación de estas micotoxinas.

Palabras clave: maíz, razas, germinación, vigor, géneros de hongos fitopatógenos, micotoxinas, análisis multivariado.

**ABSTRACT**

DETECTION OF MYCOTOXINS IN CREOLE POPULATIONS OF  
MEXICAN MAIZE

BY

SIMEÓN MARTÍNEZ DE LA CRUZ  
MASTER IN TECHNOLOGY OF GRAINS AND SEEDS

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DRA. LEILA VÁSQUEZ SILLER -Advisor-

Saltillo, Coahuila

Mayo 2018

The objective of the present investigation was to explore the mycotoxigenic potential in the maize grain in the postharvest state of creole populations of Mexican maize, produced in the high lands of México, including the states of Mexico and Tlaxcala. The morphological variation on ear and grain of 21 maize populations cultivated in spring-summer of agricultural cycle in 2016 were studied on tests of physiological quality of the seed, as well as on tests of detection to identify and counting potentially toxigenic phytopathogenic fungi, in addition, tests were done to evaluate the contamination levels of mycotoxins on such populations maize grain. The work was developed in two stages: in the first stage called field, 21 native maize populations were harvested whose plots were georeferenced *in situ* from the states of Mexico (16) and Tlaxcala (5) in which 4 variables were recorded qualitative and 18 quantitative variables for its characterization. In the second stage called laboratory analysis, six variables were evaluated in the germination and vigor tests, subsequently the number of fungal species present in the seed was determined in the mycobiota, as well as the species of phytopathogenic fungi potentially toxigenic and their production of mycotoxins. The data were subjected to the following statistical analyzes: analysis of variance and multivariate techniques such as conglomerate and principal component analysis. In addition, an analysis of variance between the groups obtained in the analysis of clusters using Tukey's means test ( $p \leq 0.05$ ). The native populations of maize were associated with the races Cacahuacintle (4), Conic (9), Elotes Conic (3), Palomero (2) and Pepitilla (1) and mixtures of races (2). In the Cacahuacintle population 2 stands out for having greater Length of ear (19.3 cm), Width of grain (14.26 mm), Thickness of grain (7.10 mm), Weight of 100 grains (79.85 g), Volume of 100 grains (151.0 cc), in the Palomero the population 19 differed by having the Largest number of rows (17.5) and in the grain characteristics they were the lowest for all the populations. In the multivariate analysis of the morphological characterization, a positive and highly significant correlation was found between weight ear at 10% humidity and Grain at 10% humidity ( $r = 0.990^{**}$ ), Olate diameter and Rachis diameter ( $r = 0.931^{**}$ ), Weight of 100 grains and Volume of 100 grains, ( $r = 0.966^{**}$ ) and Grain thickness and

Grain width ( $r = 0.984^{**}$ ), the variables that have a negative relationship and highly significant are Number of rows and Grain width ( $r = -0.932^{**}$ ), Grain thickness and Number of rows ( $r = -0.931^{**}$ ) and Number of rows and Grain width / Grain length ( $r = -0.918^{**}$ ). The multivariate analysis of grain characteristics and physiological tests determined that there is a negative and highly significant relationship between Germination of normal seedlings and Germination of abnormal seedlings ( $r = -0.98^{**}$ ), Grain width ( $r = -0.87^{**}$ ), Grain thickness ( $r = -0.86^{**}$ ), Weight of 100 grains ( $r = -0.80^{**}$ ) and Volume of 100 grains ( $r = -0.87^{**}$ ), revealing that races with endosperm possibly rich in amylose and larger of seed, as the Cacahuacintle race are associated with lower germination and vigor indexes. The incidence of 9 genera of phytopathogenic fungi was determined, the genus *Fusarium* was presented in 63.3%, followed by the genus *Penicillium* with 10.0% and the genus *Acremonium* with 8.5%. In terms of potentially toxigenic fungal species, *Fusarium verticillioides* recorded the highest incidence in population 12 (62.5%) and *Fusarium graminearum* in population 21 (31%). Populations 1 of the Cacahuacintle race, 5, 9, 10 and 15 of the Cónico race and 19 of the Palomero breed, exceeded the contamination levels by mycotoxins for human consumption of Deoxynivalenol averaging (2,243 ppm). Populations 1 of Cacahuacintle race, populations 5, 9 and 10 of Cónico race, exceeded the limits established for Zearalenone for human consumption averaging (0.904 ppm); populations 9 and 10 of the Cónico breed present risk for animal consumption due to high levels of contamination with Zearalenone with an average of (1,273 ppm). In the multivariate analysis of the germination variables with *Fusarium* and mycotoxin species, it was determined that there is a positive and significant relationship between the variables Germination of normal seedlings and *Fusarium verticillioides* ( $r = 0.42^{*}$ ), highlights the positive correlation of *Fusarium graminearum*: with Deoxynivalenol ( $r = 0.43^{*}$ ) and with Zearalenone ( $r = 0.31$ ), a negative relationship between *Fusarium verticillioides* and *Fusarium graminearum* ( $r = -0.255$ ). The percentage of germination was not affected by the high incidence of *Fusarium verticillioides*, showed the positive association between *Fusarium graminearum* with Deoxynivalenol and Zearalenone, so

populations with high incidence of *Fusarium graminearum* generated levels of contamination of these mycotoxins.

Keywords: corn, landraces, germination, vigor, phytopathogenic fungi, mycotoxins, multivariate analysis

## INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.), es uno de los cultivos más importantes en México, ya que se utiliza como alimento principal en la dieta de los mexicanos, y se consume principalmente de forma procesada cuyo principal producto es la tortilla, siendo el componente más importante en la alimentación de la población. Actualmente se producen alrededor de 28 millones de toneladas al año, en una superficie cultivada de 7.7 millones de hectáreas, es utilizado en forma de grano y como forraje para la alimentación del ganado. Dentro de los principales estados productores se encuentra Sinaloa, Jalisco y Estado de México.

México es centro de origen, domesticación y diversificación del maíz, existen 64 razas de acuerdo con la clasificación basada en características morfológicas y genéticas; el maíz es la forma domesticada de la gramínea silvestre mexicana conocida como teocintle. El cultivo de maíz se originó mediante el proceso de domesticación que llevaron a cabo los antiguos habitantes de Mesoamérica, a partir de los teocintle, gramíneas muy similares al maíz que crecen de manera natural en México y parte de Centroamérica, esta evolución del maíz se desarrolló a partir de que los indígenas mexicanos realizaron cruces para obtener poblaciones nativas o criollas del cultivo de maíz y éstos han sido los guardianes de la biodiversidad del maíz preservando la semilla para siembra en cada ciclo agrícola y realizando mejoramiento empírico de dichos genotipos nativos.

Los maíces nativos, también llamados en algunas regiones como “maíces criollos” tienen características diferentes, esto permite que el cultivo se adapte a diferentes ambientes, estos maíces tienen cualidades propias que las distinguimos por el color, tipo de grano, tamaño y forma de la mazorca entre otras características. Las poblaciones de maíces criollos son de suma importancia para el país debido a que representan la fuente de diversidad genética, son la base de la alimentación, además el maíz es utilizado para uso artesanal e industrial. Considerando su importancia como parte de la dieta, es necesario cuidar aspectos de inocuidad alimentaria cuando se piensa en producir grano de maíz. Sin embargo existen limitantes para su producción debido a que se ve afectado

por problemas que limitan su calidad fisiológica; como la presencia de plagas y enfermedades, destacando la pudrición de la mazorca la cual es ocasionada por diversos tipos de hongos que reducen su peso y rendimiento. Entre los principales hongos fitopatógenos que se encuentran en el grano de maíz se pueden mencionar los géneros como *Fusarium spp*, *Aspergillus spp* y *Penicillium spp*, estos causan daño al grano de maíz desde que se encuentra en campo, así también durante el periodo de almacenamiento, siendo estos los géneros de hongos fitopatógenos más importantes que producen micotoxinas que dañan la calidad del grano/semilla afectando potencialmente la salud humana y de los animales pecuarios que lo consumen, por lo que la realización de estudios tendientes a la detección de micotoxinas es muy importante, para determinar los niveles de contaminación de aquellas que pueden prevalecer en las cosechas de maíz, así como su efecto potencial en el uso, ya sea como grano o semilla de los maíces criollos.

Los objetivos y la hipótesis planteada en el presente trabajo de investigación son los siguientes:

## **OBJETIVO GENERAL**

Explorar el potencial micotoxigénico en el grano de maíz en estado de postcosecha de poblaciones criollas de maíces mexicanos producidos en la zona central de la república mexicana (Estado de México y Tlaxcala).

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Realizar la caracterización morfológica de las diferentes poblaciones criollas de maíces mexicanos y realizar análisis de calidad fisiológica.
- Detectar y cuantificar hongos fitopatógenos que tengan potencial toxigénico en grano, de las poblaciones criollas de maíces mexicanos.
- Determinar los niveles de contaminación de micotoxinas en grano de maíz en las poblaciones criollas de maíces mexicanos.
- Determinar el grado de asociación entre los niveles de contaminación de micotoxinas y las diferentes poblaciones de maíces mexicanos.

## **HIPÓTESIS**

Las poblaciones criollas de maíces mexicanos contienen micotoxinas en el grano que pueden causar daño a la salud humana y pecuaria, así como potencialmente dañar su calidad fisiológica cuando se usa a dicho grano para propagación vegetal o semilla.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Aspectos socioeconómicos.

Desde el punto de vista económico y social, el maíz es el cultivo más importante en México, a nivel nacional el grano que más se produce es el maíz, esto debido a que constituye la principal fuente de energía para la dieta alimenticia de la población. Además, se utiliza como grano y forraje para el consumo del ganado vacuno, porcino y avícola. En el año agrícola 2016 en los ciclos Primavera-Verano y Otoño-Invierno, se obtuvo una producción de grano de maíz de 28.25 millones de toneladas (ton) en una superficie sembrada de 7.76 millones de hectáreas (ha), con un rendimiento promedio de 3.72 ton/ha. Dentro de los principales estados productores se encuentra Sinaloa con una producción de 6.43 millones de toneladas, seguido de Jalisco con 3.64 millones de toneladas y Estado de México con 2.33 millones de toneladas (SAGARPA-SIAP, 2016).

#### 2.1.1. Usos del maíz: Consumo humano y pecuario.

Para el consumo humano y de forma procesada, el principal producto del maíz es la tortilla, que es el componente más importante de la alimentación en México. Anualmente el consumo *per cápita* de tortilla es de 56.7 kilogramos (kg) en zonas urbanas, y en el medio rural es de 79.5 kg., por lo que el maíz es la principal fuente calórica y de otros nutrientes esenciales en la dieta de la población (CEDRSSA, 2014).

El maíz se utiliza para tres principales finalidades: como alimento diario de la población humana, como pienso y/o forraje para el ganado y como materia prima para muchos productos industriales. En muchas partes del mundo el maíz es el alimento principal para los seres humanos y en particular suministra el alimento cotidiano para las poblaciones indígenas de las zonas rurales más pobres. Cada país tiene su platillo especial de maíz como en el caso de México son “las tortillas”. Los principales productos de la industria molinera de grano seco que se utiliza en la fabricación de alimentos para el consumo humano son: harina gruesa y harinas finas, sémola y hojuelas que en muchos países se preparan para el

desayuno (Berger, 1967). El maíz sirve para producir una gran variedad de productos, por eso es el tercer alimento más cultivado en el mundo, si bien la mayor parte de la producción mundial se destina para alimentación animal, existen otros usos de este cereal ya sea en alimentación humana como: harina de maíz, bebidas alcohólicas, golosinas, endulzantes, entre otros (Izquierdo y Cirilo, 2013).

Todas las partes de la planta de maíz se utilizan: el grano en la alimentación humana (tortillas, tostadas, atole, tamales, totopos, pinole, pozole, arepas, bollos), los tallos para el jugo azucarado, tallos secos para cercas y como combustible los olotes y las raíces, los hongos de la mazorca del maíz (*Ustilago maydis*) en alimentación, las hojas de la mazorca para envolver tamales, entre los usos más comunes. El maíz en la actualidad se consume en todo el mundo de diversas formas, como verdura, como elote, el grano seco en diferentes modalidades; sin embargo, en los países desarrollados el maíz es un componente importante de muchos alimentos, bebidas y productos industriales, se ha calculado que en los supermercados modernos, cerca de 2,500 productos contienen maíz en alguna forma (Perales, 2009).

Hellin y Keleman, (2013) mencionan que los maíces nativos, cuando son utilizados para elaborar algún producto en específico son llamados también maíces para especialidades, incluyen los de colores (azul, negro, rojo, morado), el pozolero (Cacahuacintle) y el Palomero, entre otros, los consumidores aprecian estos tipos de maíz por sus características culinarias, como el color, la textura, el sabor y porque se usan en la preparación de varios platillos típicos, los maíces nativos son parte del patrimonio biocultural en México, ya que incluye la diversidad biológica y cultural de los pueblos indígenas y comunidades campesinas, son el sustento de miles de familias en zonas rurales por lo que su protección y conservación resulta fundamental.

### 2.1.2. Descripción del maíz.

El maíz (*Zea mays* L.) es la forma domesticada proveniente de la gramínea silvestre mexicana conocida como teocintle. Es una planta dotada de una amplia

capacidad de respuesta a las oportunidades que ofrece el medio ambiente y tiene alto nivel de respuesta a los efectos de la luz. Actualmente existe una diversidad de variedades útiles para su cultivo bajo condiciones naturales muy distintas de las propias de su hábitat original.

### 2.1.3. Clasificación taxonómica.

Clasificación taxonómica (Valladares, 2010).

Reino-----*Plantae*  
 Sub Reino-----*Tracheobionta*  
 División-----*Megnoliophyta*  
 Clase-----*Liliopsida*,  
 Subclase-----*Commelinidae*  
 Orden-----*Poales*  
 Familia-----*Poaceae*  
 Sub Familia-----*Panicoideae*  
 Tribu-----*Maydeae*  
 Género-----*Zea*  
 Especie----- *Zea mays* L.

### 2.1.4. Descripción botánica del maíz

El maíz es una planta de porte robusto y de hábito anual, el tallo es simple, erecto, de elevada longitud alcanzando alturas de 2 a 6 m, con pocos macollos o ramificaciones, su aspecto recuerda al de una caña por la presencia de nudos y entrenudos. Las hojas nacen en los nudos de manera alterna a lo largo del tallo, se encuentran abrazadas al tallo mediante la vaina que envuelve el entrenudo y cubre la yema floral, de tamaño y ancho variable. Las raíces primarias son fibrosas presentando además raíces adventicias, que nacen en los primeros nudos por encima de la superficie del suelo, ambas tienen la misión de mantener a la planta erecta (Jugenheimer, 1988).

Es una planta monoica de flores unisexuales, que presenta flores masculinas y femeninas bien diferenciadas en la misma planta: la inflorescencia masculina es

terminal, se conoce como panícula (o espiga) consta de un eje central o raquis y ramas laterales, a lo largo del eje central se distribuyen los pares de espiguillas de forma polística y en las ramas con arreglo dístico y cada espiguilla está protegida por dos brácteas o glumas, que a su vez contienen en forma apareada las flores estaminadas, en cada florecilla componente de la panícula hay 3 estambres donde se desarrollan los granos de polen. La coloración de la panícula está en función de la tonalidad de las glumas y anteras, que pueden ser de coloración verde, amarilla, rojiza o morada (Jugenheimer, 1988).

Las inflorescencias femeninas (mazorcas) se localizan en las yemas axilares de las hojas, son espigas de forma cilíndrica que consisten de un raquis central u olote donde se insertan las espiguillas por pares, cada espiguilla con dos flores pistiladas una fértil y otra abortiva, estas flores se arreglan en hileras paralelas, las flores pistiladas tienen un ovario único con un pedicelo unido al raquis, un estilo muy largo con propiedades estigmáticas donde germina el polen. La inflorescencia femenina (mazorca) puede formar alrededor de 400 a 1000 granos arreglados en promedio de 8 a 24 hileras por mazorca; todo esto encerrado en numerosas brácteas o vainas de las hojas (totomoxtle), los estilos largos saliendo de la punta del raquis como una masa de hilo sedoso se conocen como pelo de elote; el jilote es el elote tierno. Por las características mencionadas el maíz es una planta de polinización abierta (anemófila) propensa al cruzamiento, la gran mayoría de los granos de polen viajan de 100 a 1000 m (Jugenheimer, 1988).

#### 2.1.5. Condiciones para el cultivo del maíz.

El maíz tiene un papel central en la agricultura de México, debido a su amplia adaptación a distintos ambientes, a su tolerancia y resistencia a enfermedades, plagas y cambios en las condiciones climáticas y edáficas; a sus múltiples usos como alimento o forraje y gran variedad de productos que se obtienen de esta especie (Herrera *et al.*, 2004).

La gran diversidad de razas de maíz que existen actualmente en México, permiten que haya maíces adaptados prácticamente a todas las condiciones que puedan presentarse en el país. Derivado de esta amplia diversidad, traducida en

una dinámica amplia de cultivos, podemos encontrar maíz cultivado hasta más de 3000 metros sobre el nivel del mar, con temperaturas medias mensuales durante su ciclo vegetativo de 28 °C en las zonas más cálidas, hasta 12 °C o menos de promedio mensual en las más frías. Los requerimientos óptimos de humedad son diferentes, si se consideran variedades precoces o variedades tardías. Bajo condiciones de “temporal” y con variedades adaptadas, se pueden tener buenos rendimientos con más o menos 500 mm de precipitación pluvial distribuidos durante todo el ciclo vegetativo. El maíz prospera en diferentes tipos de suelo, respecto a textura y a estructura. Se siembra en suelos arcillosos, arcillo – arenosos, francos, franco – arenosos. Sin embargo, son mejores los suelos con textura más o menos franca que permitan un buen desarrollo del sistema radicular y por consecuencia, mayor eficiencia en la absorción de la humedad y de los nutrientes del suelo (Arroyo, 2003).

El maíz es un cultivo exigente en agua donde las necesidades hídricas van variando a lo largo del cultivo, en la fase del crecimiento vegetativo es cuando se requiere una mayor cantidad de agua, siendo la fase de floración el periodo más crítico porque de ella depende el desarrollo, la polinización y el llenado de los granos, influyendo así en el rendimiento de granos de las plantas (Reyes, 1990).

#### 2.1.6. Morfología y fisiología de la semilla de maíz.

La semilla de maíz es un cariósipide, la pared del ovario o pericarpio está fundida con la testa y ambas están combinadas conjuntamente para conformar la pared de la semilla y está formada de tres partes principales: la pared, el embrión diploide y el endospermo triploide (Paliwal *et al.*, 2001).

El fruto de la planta de maíz se denomina mazorca se llena de granos aplanados y grandes, colocados en ejes paralelos alrededor de su eje vertical, las semillas de maíz son cariósipides desnudas, cuyas partes fundamentales son el pericarpio, el endospermo, el embrión y el funículo (Martínez y Jiménez, 2013).

La semilla de maíz está recubierta por una capa externa que se llama pericarpio, la función de esta capa es proteger a la semilla, limitando o impidiendo la entrada de hongos o bacterias, si el pericarpio resulta dañado, probablemente la

germinación se torne más lenta, pues los patógenos pueden utilizar reservas de las semillas (Rojas y Casas, 1987). La capa externa o pericarpio, deriva de la pared del ovario que encierra al endospermo y el embrión, es una cubierta dura y fibrosa, que consiste mayormente de carbohidratos no almidonados (celulosa y hemicelulosa), pudiendo ser incolora, roja, marrón o naranja. La punta del grano o pedicelo, es la parte remanente del tejido que conecta el grano al olote o marlo y permite una rápida absorción de humedad. Dentro del grano se encuentran el endospermo y el embrión o germen (Fassio *et al.*, 2000).

Benítez y Pfeiffer (2006), mencionan que el pericarpio constituye la parte externa del grano, siendo el 5-6% del total del peso del grano, es resistente al agua y al vapor, está dividido en cuatro capas delgadas: el epicarpio, es la capa externa que cubre el grano conformado por células de paredes gruesas; el mesocarpio capas constituidas por pocas células, siendo la capa externa la más gruesa similar a la del epicarpio; las células cruzadas son capas de células de paredes delgadas con muchos espacios intercelulares y las células tubulares son capas de células largas paralelas, sin ramificaciones. El endospermo, representa aproximadamente 80-82% del total del peso del grano seco y es la fuente de almidón y proteína para la semilla que va a germinar, está compuesto por tres tipos de células: la capa de aleurona de una sola célula, contiene proteína, aceite, minerales y vitaminas; el endospermo córneo, formado por células de forma irregular y alargadas; el endospermo harinoso, se localiza en la parte central del grano: está constituido por células grandes en relación a las otras células que componen el endospermo. El embrión representa entre el 8 y el 12% del peso del grano, está conformado por: el escutelo, órgano encargado de la alimentación del embrión en el momento de su germinación; el eje embrionario, conformado por una plúmula que posee de cinco a seis hojas y una radícula.

El endospermo contiene aproximadamente 98% del almidón, 75% de la proteína, 28% del azúcar, 15% del aceite y 16% de la ceniza en base seca. El almidón es un polisacárido formado por dos polímeros de glucosa de alto peso molecular: amilosa y amilopectina (Fassio *et al.*, 2000). En el endospermo de maíz, los gránulos de almidón córneo adquieren estructura poligonal y están fuertemente

empaquetados por una matriz de proteínas sin espacios de aire entre los gránulos, mientras que en el harinoso están débilmente empaquetados, son casi redondos y están asociados con capas delgadas de proteínas y muchos espacios de aire entre los gránulos. Los maíces de grano duro presentan mayor contenido de amilopectina que los de grano intermedio o suave y viceversa, ya que estos polímeros son complementarios en la composición del almidón (Salinas y Aguilar, 2010).

La calidad de la semilla de maíz es importante para los agricultores y la industria semillera, para el agricultor porque la ocupa como semilla y de ello depende el número de plantas existentes en su parcela de cultivo, es decir prefiere aquellas que muestran alto vigor para mejorar su rendimiento. Para la industria es trascendente la calidad de la semilla por la gran variación en tipo de grano que exhiben los genotipos de maíz (Delouche y Cadwell, 1962). Es de gran importancia los trabajos encaminados a evaluar la calidad fisiológica de las semillas para conocer su germinación y vigor, para poder elevar la productividad del cultivo de maíz (Doria, 2010).

Para que la semilla de maíz cumpla con su propósito, es necesario que el embrión se transforme en una plántula que sea capaz de valerse por sí misma, mediante mecanismos metabólicos y morfogenéticos, conocidos como proceso de germinación. El proceso de germinación está constituido por varias fases: i) Absorción de agua por la semilla o imbibición; ii) Activación del metabolismo y proceso de respiración, síntesis de proteínas y movilización de sustancias de reserva; iii) Elongación del embrión y ruptura de la testa a través de la cual se observa salida de la radícula (Suárez y Melgarejo, 2010).

Cuando la semilla de maíz se siembra en sustrato húmedo, absorbe agua y comienza a hincharse, es un proceso que procede más rápidamente a temperaturas altas como las que prevalecen en muchos ambientes tropicales en la estación húmeda, bajo estas condiciones la semilla empieza a germinar en dos o tres días. Cuando se inicia la germinación, la coleoriza se elonga y sale a través del pericarpio; después aparece la radícula a través de la coleoriza, después de la emergencia de la radícula también emergen tres o cuatro raíces

seminales. Al mismo tiempo o muy pronto después, la plúmula cubierta por el coleoptilo emerge en el otro extremo de la semilla; el coleoptilo es empujado hacia arriba por la rápida elongación del mesocotilo, el cual empuja al naciente coleoptilo hacia la superficie de la tierra. El mesocotilo juega un papel importante en la emergencia de la plántula del maíz por encima de la superficie de la tierra y tiene una gran plasticidad sobre la tasa de crecimiento (Paliwal *et al.*, 2001).

El proceso de germinación está influenciado tanto por factores internos como externos. Dentro de los factores internos están la viabilidad del embrión, la cantidad y calidad del tejido de reserva y los diferentes tipos de dormancia. Algunos de los factores externos que regulan el proceso son el grosor de la testa, disponibilidad de agua, temperatura y tipos de luz (Russo *et al.*, 2010).

## 2.2. Origen y evolución del maíz.

México es considerado como el centro de origen y domesticación del maíz y uno de los países más importantes en diversidad genética (Ortega, 2003; Boege, 2009). El centro de origen para *Zea mays*, comprende la región de Mesoamérica, localizada entre el centro y sur de México; la gran diversidad de maíz existente en México supera a cualquier otro país, específicamente la Cuenca del Balsas es la región con mayor consenso y evidencias para considerarse el principal centro de origen en México y ha tenido un importante papel en el desarrollo de las razas modernas y altamente productivas de América (Hernández, 1971; Kato *et al.*, 2009).

Hallazgos como cerámica y lítica principalmente, así como el estudio de sedimentos y depósitos de restos vegetales en contextos arqueológicos, se calcula que el maíz tiene una antigüedad de 8000 años, su evolución es producto de la interacción de los procesos biológicos, factores ecológicos, dinámica cultural y los intereses del hombre (Benz, 1997).

Es aceptado en la actualidad que el maíz se domesticó en México a partir de una especie de teocintle (*Zea mays ssp. parviglumis*) y se difundió a través del continente Americano (Sánchez, 2011).

Los indígenas de México quienes a través del teocintle comenzaron a seleccionar plantas que ofrecían algunas características de su grano para ser aprovechadas en la alimentación, hicieron evolucionar al maíz, sembraron las variedades nativas o variedades criollas, con la formación de las razas obtenidas y con los cruzamientos interraciales se dio origen a las razas modernas, de las cuales se han obtenido los híbridos actuales de muy altos rendimientos, es claro que los cultivadores de las variedades criollas fueron los indígenas y sus sucesores los campesinos (Márquez, 2008).

### 2.2.1. Razas de maíces criollos en México.

En Mexico el maíz mantiene una gran diversidad genética y ha tenido un importante papel en el desarrollo de las razas modernas y altamente productivas, las comunidades rurales e indígenas mexicanas han sido los guardianes de los nichos ecológicos brindando múltiples razas de este cereal. Este hecho es trascendental en la historia y la cultura de los mexicanos y un legado para la humanidad (Hernández, 2010).

Anderson y Cutler (1942) realizaron un estudio de la diversidad racial del maíz y efectuaron una clasificación natural de la misma, para ello introducen el concepto de raza como un conjunto de individuos con un número suficiente de caracteres en común que permita su reconocimiento como grupo. Uno de los puntos importantes se relaciona con los caracteres que pueden ser utilizados como criterios para el reconocimiento, la descripción y clasificación de las razas de maíz.

Por otra parte Benson (1962) señala que una raza es una subdivisión natural dentro de una especie, la cual se distingue genética, geográfica y ecológicamente, las poblaciones nativas de maíz, comúnmente denominadas criollas, han sido preservadas por los productores a través de numerosas generaciones.

La primera clasificación del maíz, de acuerdo con la variación dentro del grano, la hizo Sturtevant (1899), basado en la textura o estructura del endospermo y consideró siete grupos: 1. Maíz tunicado: Se considera uno de los tipos más

primitivos de los maíces cultivados, se caracteriza por presentar cada grano envuelto en su propia bráctea, 2. Maíz reventón: Se caracteriza por presentar granos pequeños con endospermo cristalino, constituido por almidón córneo, capaz de explotar cuando es sometido a temperaturas elevadas, 3. Maíz cristalino: Se caracteriza por presentar granos con endospermo vítreo duro, cristalino y translúcido, con almidón en su mayoría córneo, 4. Maíz amiláceo: Caracterizado por presentar granos con endospermo blando, suave y amiláceo, 5. Maíz dentado: Se caracteriza por presentar granos con endospermo formado con almidón córneo y cristalino, tanto en su exterior como interior, están coronados en la parte superior con almidón blando suave, que a la madurez origina una depresión central superior, 6. Maíz dulce: Se caracteriza por presentar maíces dulces y un grano completamente arrugado cuando están maduros, 7. Maíz ceroso: Se caracteriza por presentar aspecto ceroso en el endospermo.

El investigador Wellhausen *et al.* (1951) realizaron una descripción de las razas agronómicas de maíces criollos en México basándose en las características morfológicas de la mazorca y el grano, características vegetativas de la planta, de la espiga, así como caracteres fisiológicos, genéticos y citológicos. Reportando 25 razas más 7 como no definidas. Actualmente existen 64 razas de acuerdo con la clasificación basada en características morfológicas y genéticas (Sánchez *et al.*, 2000).

Wellhausen *et al.* (1951) clasificaron las razas de maíces criollos como: 1. Las Razas Indígenas Antiguas, se cree se originaron en México del maíz primitivo tunicado, las diversas razas de este grupo difieren una de otra como consecuencia de su desarrollo independiente en diferentes localidades ambientales, actualmente se conocen cuatro de éstas razas: Palomero Toluqueño, Arrocillo Amarillo, Chapalote y Nal-Tel 2. Razas Exóticas Pre-Colombianas, fueron introducidas a México de Centro y Sur América durante épocas prehistóricas, se reconocen cuatro de estas: Cacahuacintle, Harinoso de Ocho, Olotón y Maíz Dulce. 3. Las Razas Mestizas Prehistóricas, se cree se originaron por medio de hibridaciones entre las Razas Indígenas Antiguas y las

Razas Exóticas Pre-Colombianas y se puede mencionar al Cónico, Reventador, Tabloncillo, Tehua, Tepecintle, Comiteco, Jala, Zapalote Chico, Zapalote Grande, Pepitilla, Olotillo, Tuxpeño, Vandeño. 4. Las razas Modernas Incipientes, se desarrollaron en la época de la conquista y aun no alcanzan condiciones de uniformidad racial, Chalqueño, Celaya, Cónico Norteño, Bolita. 5. Las razas no bien definidas que son Conejo, Mushito, Complejo Serrano de Jalisco, Zamorano Amarillo, Maíz Blando de Sonora, Onaveño, Dulcillo del Noroeste.

### 2.2.2. Razas antiguas.

Actualmente se conocen cuatro de estas razas: Palomero Toluqueño, Arrocillo Amarillo, Chapalote y Nal-Tel, son formas del maíz tunicado, todas tienen mazorcas pequeñas, son relativamente precoces cuando menos en las regiones que aún se cultivan. El Palomero Toluqueño y el Arrocillo han sido encontrados únicamente en lugares muy altos más de 2000 msnm, mientras que los otros dos han sido encontrados en las regiones tropicales a altitudes aproximadas de 100 msnm (Wellhausen *et al.*, 1951).

Un ejemplo de las razas antiguas es el Palomero Toluqueño el cual está presente en el altiplano de Mexico en el valle de Toluca, esta raza de maíz en Mexico es poco usada para elaborar palomitas y debido al bajo uso del genotipo se encuentra en peligro de extinción (Gómez *et al.*, 2014).

#### a) Raza Palomero toluqueño.

Son plantas muy cortas aproximadamente de 1.7 m. de altura, precoces con pocos hijos, con tendencia al acame por el poco desarrollo del sistema radicular, pocas hojas un promedio de 12.2 por planta estas son caídas, angostas y cortas pero relativamente largas en proporción a su anchura. Las espigas con grueso raquis central con pocas ramificaciones estas en promedio de 3.6 por espiga. La mazorca es de longitud corta a muy corta, de forma cónica con un adelgazamiento agudo y uniforme de la base del ápice, número de hileras elevadas de 20 o más, color ausente en la parte mediana del olote, diámetro pequeño del pedúnculo, grano de tipo maíz reventador con forma de arroz

pequeños, tanto angostos como delgados, pero relativamente largos en proporción a su espesor y anchura, agudos y frecuentemente con prolongación formando un pico, endospermo muy corneo de color blanco grisáceo, aleurona sin color (Wellhausen *et al.*, 1951).

Los productores de maíz del Estado de México que cultivan el Palomero Toluqueño, consideran que sus maíces criollos son de baja productividad y características agronómicas no deseables, sin embargo estos materiales criollos deben seguir sembrándose y conservarse por parte de los agricultores, ya que se adaptan a sus condiciones de ambiente y por buenas características en la alimentación humana (Esteva, 2003).

### 2.2.3. Razas exóticas pre-colombianas

Se cree que las razas Exóticas Pre-Colombianas fueron introducidas a México de Centro o Sur América durante épocas prehistóricas, se reconocen cuatro de éstas: Cacahuacintle, Harinoso de Ocho, Olotón y Maíz Dulce. El Cacahuacintle, maíz blanco, harinoso y grano grande, se encuentra únicamente en ciertas localidades de México, Puebla y Tlaxcala (Wellhausen *et al.*, 1951). Un ejemplo de esta raza que se encuentran muy comúnmente en el altiplano mexicano es la raza Cacahuacintle que se describe a continuación.

#### a) Raza Cacahuacintle

Con plantas de altura media, poco menos de 2 m, son precoces, poco ahijamiento, pocas hojas de longitud y anchura media; alto grado de coloración y pubescencia; gran tendencia al acame, debido al pobre desarrollo del sistema radicular. Adaptado a altitudes elevadas de 2,200 a 2,800 msnm. Las espigas cortas, escasamente ramificadas, ramas en un promedio de 5.6, con pocas secundarias, terciarias poco frecuentes; con grueso raquis central; índice de condensación mediano. Las mazorcas con caracteres como longitud media, gruesas en la parte media de su longitud y con adelgazamiento gradual hacia el ápice; promedio de hileras, 15.2; diámetro del pedúnculo, medianamente pequeño. Granos de tamaño mediano a largo, redondeado, liso, con ligeras

estrías; endospermo blanco, suave, harinoso; aleurona sin color, pericarpio sin color. Una de las características sobresalientes de la mazorca del Cacahuacintle es la forma en que la base de la mazorca está completamente cubierta por los granos (Wellhausen *et al.*, 1951).

El grano del maíz Cacahuacintle se caracteriza por ser de color blanco, textura harinosa y de tamaño grande, que se produce únicamente en localidades del Estado de México, Puebla y Tlaxcala. Por ser un tipo de maíz con un nicho ecológico muy específico, los productores que se dedican a su cultivo son únicos en su género, lo que les permite tener ante sí un amplio mercado a nivel nacional (Bonifacio *et al.*, 2005).

#### 2.2.4. Razas mestizas prehistóricas

Las Mestizas Prehistóricas están constituidas por razas que se cree se originaron por medio de hibridaciones entre las razas Indígenas Antiguas y las razas Exóticas Pre-Colombianas y por medio de la hibridación de ambas, incorporando al teocintle. Se puede mencionar al Cónico, Reventador, Tabloncillo, Tehua, Tepecintle, Comiteco, Jala, Zapalote Chico, Zapalote Grande, Pepitilla, Olotillo, Tuxpeño, Vandeño. Actualmente sólo cinco de las razas que se incluyen en este grupo, denominado Mestizas Prehistóricas, se consideran como productos primarios del cruzamiento entre variedades más antiguas o de la hibridación con teocintle (Wellhausen *et al.*, 1951). Un ejemplo de estas razas es la Cónica y se describe a continuación.

##### a) Raza Cónica

Con plantas cortas a intermedias, con un promedio de 1.7 metros, son muy precoces, pocos "hijos" y sistema radicular débilmente desarrollado con gran tendencia al acame, hojas escasas y caídas, con textura gruesa, anchas en relación a su longitud; con coloración y pubescencia prominente, se adapta a altitudes elevadas, 2,200 a 2,800 msnm. Las espigas son cortas, con pocas ramificaciones dispuestas en un corto espacio del grueso raquis central. Las mazorcas son cortas, de forma cónica, con adelgazamiento pronunciado y

uniforme de la base al ápice, número promedio de hileras de 16, granos medianamente pequeños, siendo largos en relación con el espesor y anchura, moderadamente puntiagudos y dentados, estrías ligeras a ausentes, endospermo desde moderadamente duro a duro y de color blanco sucio, aleurona y pericarpio sin color (Wellhausen *et al.*, 1951).

#### 2.2.5. Razas modernas incipientes

Wellhausen *et al.*, (1951), mencionan que son razas que se han desarrollado desde la época de la Conquista, el origen de estas razas es en realidad bastante reciente. La raza Celaya, por ejemplo, que es la raza agrícola más importante del Bajío, región que representa para México lo que la Faja Maicera para los Estados Unidos de Norte América. La Raza Chalqueño es de origen relativamente reciente; es uno de los tipos más vigorosos y productivos agrícolamente de los que sirven para siembras tempranas en la Mesa Central de México.

#### 2.2.6. Razas no bien definidas

Wellhausen *et al.*, (1951), menciona que son aquellas razas que han sido recolectadas recientemente de las cuales se ha reunido poca información para justificar su clasificación y la presentación de sus genealogías con un grado suficiente, como son: Conejo, Mushito, Complejo Serrano de Jalisco, Zamorano Amarillo, Maíz Blando de Sonora, Onaveño, Dulcillo del Noroeste.

#### 2.3. Patosistema del maíz.

Un patosistema se define como un subsistema dentro del sistema agrícola caracterizado por el fenómeno de parasitismo, está constituido por un hospedante susceptible, un patógeno y un ambiente predispuesto a la enfermedad (Robinson, 1987). En las interacciones parásito-hospedero se asume que existe una coevolución y coadaptación como producto de las asociaciones (Palau, 2000).

La relación de un microorganismo con su hospedero involucra interacciones donde participa el medio ambiente, la enfermedad resulta del ataque de

patógenos a hospederos susceptibles, a través de la expresión de factores de virulencia y un reconocimiento por el hospedero que induce una respuesta benéfica o dañina con el objetivo de eliminar el patógeno (Rocha *et al.*, 2004).

El maíz es susceptible a varias enfermedades, que en alguna forma afectan el normal desarrollo de las plantas, las enfermedades son favorecidas por las condiciones ambientales, el tipo de suelo, la susceptibilidad de los materiales y en el caso de las enfermedades de origen viral, por las condiciones que favorezcan la migración, establecimiento y supervivencia de los insectos vectores (Varón y Sarria, 2007).

En el cultivo de maíz se desarrollan enfermedades que pueden ser causadas por hongos, bacterias y virus, de las enfermedades causadas por hongos existen foliares, pudrición del tallo, pudrición de la mazorca y grano; las foliares causadas por hongos incluyen a la mancha café, roya común, roya tropical, tizón foliar, mancha bandeada de hoja y vaina; de las enfermedades de pudrición del tallo se puede citar pudriciones de tallo por *Gibberella* y *Fusarium*, carbón de la espiga, falso carbón de la espiga, necrosis vascular y marchitez tardía, pudrición de tallo por antracnosis, pudrición carbonosa del tallo, pudrición de tallo por *Botryodiplodia* entre otras; entre las enfermedades de la mazorca y del grano se cita pudriciones de mazorca por *Penicillium*, *Aspergillus*, *Gibberella* y *Fusarium*, cornezuelo, diente de caballo, pudrición gris de la mazorca, carbón común, entre otras (De León, 1984).

Varios hongos y algunas bacterias infectan las mazorcas y los granos, causando su pudrición y muchos de los patógenos que participan en la pudrición del tallo también son responsables por la pudrición de las mazorcas. Algunos de las causantes de la pudrición de las mazorcas están ampliamente distribuidos y muchos de ellos causan daños importantes entre la iniciación de la floración femenina y la cosecha, sobre todo en áreas húmedas y con lluvias abundantes. En las variedades con espigas de la mazorca laxas o cuando éstas están dañadas por pájaros o insectos de los granos almacenados en el campo, el cultivo sufre daños adicionales de parte de los hongos de la pudrición. La pudrición de las mazorcas y los granos afecta sensiblemente el rendimiento en

los ambientes de las tierras altas y con intensas precipitaciones en el período en que éstas disminuyen. Además, la calidad del grano y de la semilla son seriamente afectadas; en los ambientes donde la incidencia de esta pudrición es alta, la producción de semillas y el mantenimiento de un buen poder germinativo es difícil (Paliwal *et al.*, 2001).

### 2.3.1. Enfermedades causadas por hongos fitopatógenos asociadas al grano de maíz.

De las enfermedades que atacan a la mazorca y el grano causado por hongos fitopatógenos podemos mencionar las siguientes (De León, 1984).

- a) Pudrición de mazorca por *Penicillium spp.* El daño más frecuente es causado por *Penicillium oxalicum*, aunque en ocasiones puede haber otras especies asociadas, muchas veces la infección está asociada con el daño causado por insectos en la mazorca. Se presenta un polvo de color azul-verdoso que crece entre los granos y sobre la superficie del olote, los granos dañados por el hongo desarrollan un color amarillento y rayas visibles en el pericarpio.
- b) Pudrición de mazorca por *Aspergillus*. Esta enfermedad puede constituir un problema serio cuando se almacenan mazorcas infectadas con alto contenido de humedad. Existen varias especies de *Aspergillus* capaces de infectar las plantas de maíz en el campo. La más común es *Aspergillus niger*, que genera masas pulverulentas negras de esporas que cubren los granos y el olote o raquis, a diferencia de *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus ochraceus*, cuyas masas normalmente son amarillo-verdosas y de *Aspergillus parasiticus*, la especie menos común, cuya masa es verde hiedra. *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, producen micotoxinas, conocidas como aflatoxinas, que resultan tóxicas para mamíferos y aves.
- c) Pudriciones de mazorca por *Fusarium*: *Fusarium graminearum*, *Fusarium moniliforme*, en el maíz, estas dos especies de hongos provocan pudrición de mazorca, tallo y tizón en las plántulas, *Gibberella zeae* el estado sexual

del patógeno, es más común en las zonas frías y húmedas. Los primeros signos de la infección son la formación de micelios blancos, que van descendiendo desde la punta de la mazorca y dan una coloración rojiza y rosada a los granos infectados. El hongo produce micotoxinas conocidas como Deoxinivalenol, Zearalenona y Zearalenol que son tóxicas para varias especies animales. La pudrición por *Fusarium moniliforme* es probablemente el patógeno más común de la mazorca de maíz en todo el mundo. Los granos infectados desarrollan un moho algodonoso o rayas blancas en el pericarpio y germinan estando aún en el olote. Por lo general, las mazorcas invadidas por barrenadores del tallo son infectadas por *Fusarium moniliforme*. El hongo produce micotoxinas conocidas como Fumonisin, que son tóxicas para algunas especies animales.

- d) Cornezuelo, diente de caballo, *Claviceps gigantea*. Esta enfermedad es endémica en ciertas regiones elevadas, frías y húmedas de la meseta central de México. Los granos infectados se convierten en extensas estructuras fúngicas conocidas como esclerocios y se mezclan con los granos sanos. En las primeras etapas de la infección, los esclerocios son de color claro, suaves y viscosos, y se van endureciendo a medida que se acerca la cosecha. No producen el polvo negro característico del carbón común, pero cuando caen al suelo, germinan y desarrollan muchas estructuras parecidas a cabezuelas (estromas), las cuales liberarán esporas nuevas durante la emisión de estigmas en el siguiente ciclo de cultivo. Este patógeno está estrechamente relacionado con el del cornezuelo del centeno y también produce alcaloides tóxicos.
- e) Pudrición carbonosa de mazorca *Macrophomina phaseolina*. Esta enfermedad se desarrolla en regiones calientes y húmedas, con periodos secos, principalmente durante la floración, en el momento de la cosecha las mazorcas están disecadas y los granos están flojos, son de color amarillo claro y tienen rayas oscuras debajo del pericarpio, los granos son fácilmente removidos del olote (raquis) y muestran esclerocios superficiales negros, pequeños y redondos, como del tamaño de un alfiler.

Las plantas afectadas por la pudrición carbonosa del tallo no siempre desarrollan pudrición de la mazorca transmitida por el mismo patógeno.

- f) Pudrición de mazorca por *Nigrospora*. Anamorfo: *Nigrospora oryzae*  
Teleomorfo: *Khuskia oryzae*, esta enfermedad está ampliamente distribuida y el hongo causante sobrevive generalmente en los residuos de las plantas que quedan en el campo, las mazorcas están disecadas y no pesan, además, los granos están manchados y se desprenden fácilmente del olote. Un examen cuidadoso de los tejidos del olote y de las puntas de los granos mostrará pequeñas masas negras de esporas.
- g) Pudrición gris de mazorca *Physalospora zeae*. Si, después de la floración, llega a presentarse un periodo de varias semanas de mucho calor o humedad, esto favorecerá la pudrición de la mazorca. Los primeros síntomas son muy similares a aquellos de *Stenocarpella*: aparece un moho blanco-grisáceo que crece entre los granos y las brácteas, que luego se decoloran y se aglutinan. En las etapas posteriores de la infección, los dos hongos se pueden identificar con facilidad pudrición gris de mazorca, la mazorca tiene un marcado color negro, el moho es también oscuro y produce pequeños esclerocios o puntos negros dispersos en la mazorca, la mazorca es de color gris-pardusco y el moho blanco con picnidios negros que cubren el olote y los granos.
- h) Carbón común *Ustilago maydis*. El carbón común ocurre en todas las regiones productoras de maíz, pero puede ser más grave en climas húmedos y templados que en las tierras bajas tropicales con clima caluroso y húmedo, el hongo ataca las mazorcas, los tallos, las hojas y las espigas. Unas agallas blancas cerradas muy conspicuas sustituyen a los granos individuales con el tiempo las agallas se rompen y liberan masas negras de esporas que infectarán las plantas de maíz del siguiente ciclo de cultivo, la enfermedad causa daños más graves en plantas jóvenes en estado activo de crecimiento y puede producirles enanismo o matarlas. El carbón común se distingue fácilmente del carbón de la espiga por la

ausencia de tejidos vasculares que aparecen en forma de fibras en las mazorcas infectadas por este patógeno.

### 2.3.2. Pérdidas causadas por hongos en el grano de maíz.

Los productos agrícolas son invadidos por diversos microorganismos durante el desarrollo del cultivo en el campo, cosecha y almacenamiento, siendo los hongos los más abundantes y la principal causa de enfermedades, ocasionando pérdidas económicas al reducir el potencial de producción de los cultivos. En cuanto a las pérdidas poscosecha de granos, las estimaciones en el ámbito mundial son del orden del 10% de la producción. Para México de un volumen de 32 millones de toneladas de maíz que el país consume anualmente, las pérdidas poscosecha estimadas en un 10 % representan miles de millones de pesos, en un solo cultivo (Ochoa *et al.*, 2016).

La pudrición de las mazorcas y los granos afecta sensiblemente el rendimiento, además disminuye la calidad del grano, cuando la incidencia de pudrición es alta afecta la producción de semillas y el mantenimiento de un buen poder germinativo. La pudrición de la mazorca, causada por hongos, principalmente del género *Fusarium*, es una de las enfermedades más dañinas del maíz en el mundo, pues en países desarrollados llega a reducir el rendimiento en más del 40%. En el altiplano de México, en donde se siembran más de 3.5 millones hectáreas de maíz, puede haber pérdidas superiores al 30% y en el sureste de México, este mal es un factor limitante en la producción. En Sinaloa, la pudrición de la mazorca comúnmente no rebasa el 10% de las mazorcas dañadas. Esta afectación está asociada al ataque de insectos con la posterior invasión de *Fusarium*, *Aspergillus*, levaduras entre otros agentes (Agrosintesis, 2010).

La especie *Fusarium verticillioides*, provoca pudrición de la mazorca de maíz más común y provoca pérdidas considerables en todo el mundo a causa del establecimiento deficiente de los cultivos. *Fusarium graminearum*, especialmente importante en las regiones húmedas, causa considerables pérdidas de rendimiento, es la más destructiva de las pudriciones de tallo del maíz. El *Aspergillus flavus* causa deterioro del maíz almacenado con un contenido de humedad superior al 15%. La pudrición de la mazorca del maíz ocasionada por

*Penicillium*, causa pérdidas de poca importancia, no obstante, la pudrición del grano de maíz en condiciones de humedad y temperatura elevada puede ser importante, ya que reduce la germinación y se produce tizón de las plántulas (Warham et al., 1999). Los daños ocasionados por *Nigrospora oryzae* son solamente visibles en el momento de la recolección, induciendo ocasionalmente pérdidas de producción (Vares, 1984).

#### 2.4. Hongos fitopatógenos potencialmente toxigénicos en el grano de maíz.

Algunas regiones maiceras de Mexico se caracterizan por presentar cultivos de temporal, períodos de sequía y altas temperaturas intermitentes. Aunado a lo anterior, se registra comúnmente la incidencia de hongos fitopatógenos que principalmente invaden al grano en campo y almacén, el caso del maíz destacan los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Claviceps*, mismos que ocasionan efectos nocivos en el cultivo y los consumidores del grano (Hernández et al, 2007).

Los hongos fitopatógenos invaden las plantas en el campo y ocasionan severas pérdidas de rendimiento, pueden atacar los productos almacenados después de la cosecha y producir pérdidas adicionales con deterioro de la calidad nutricional. A todo esto se suma que algunas especies de hongos pueden producir sustancias de alta potencia tóxica, las micotoxinas, que contaminan los alimentos y ponen en peligro la salud de la población humana o animal (Godoy, 2006).

##### 2.4.1. Especies del genero *Aspergillus*.

Las especies del género *Aspergillus* se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, debido a la facilidad de dispersión de sus conidios y a su pequeño tamaño, éstos pueden permanecer en suspensión en el ambiente durante un largo periodo, el hombre se encuentra expuesto constantemente a su inhalación. Diferentes especies del género *Aspergillus* son una causa frecuente de micosis invasivas normalmente fatales, aunque *Aspergillus fumigatus* es el agente etiológico más común, otras especies del género como *Aspergillus flavus*,

*Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger* y *Aspergillus nidulans* se consideran también responsables de infecciones invasivas (Abarca, 2000).

Clasificación taxonómica del genero *Aspergillus* (Agrios, 2008).

Reino: *Hongos*

División: *Ascomicota*

Subdivisión: *Deutoromycotyna*

Clase: *Hypomicetes*

Orden: *Hypales*

Familia: *Monileaceae*

Género: *Aspergillus*

La mayoría de las especies del género *Aspergillus* son hongos filamentosos saprófitos que desempeñan un papel esencial en la degradación de la materia orgánica, su hábitat natural es el suelo donde sobreviven y se desarrollan sobre materia en descomposición, este género es uno de los más abundantes en la naturaleza y puede encontrarse en cualquier ambiente, se reproduce por conidios cuya germinación da origen a las hifas, para su crecimiento requiere de una humedad relativa entre el 70 y 90 %, contenido de agua en la semilla entre 15 y 20 % y un rango de temperatura amplio 0 a 45 °C (Klich, 2002).

*Aspergillus* es un género mitospórico que se caracteriza por la producción de hifas especializadas, denominadas conidióforos, sobre los que se encuentran las células conidiógenas que originarán las esporas asexuales o conidios (Figura 1). El conidióforo característico de *Aspergillus*, aunque es una estructura unicelular posee tres partes bien diferenciadas: vesícula que es el extremo apical hinchado, estipe es la sección cilíndrica situada debajo de la vesícula y célula pie es la sección final, a veces separada por un septo, que une el conidióforo con el micelio. Sobre la vesícula se disponen las células conidiógenas, denominadas habitualmente fiálides, en muchas especies, entre la vesícula y las fiálides se encuentran otras células denominadas métulas (Abarca, 2000).

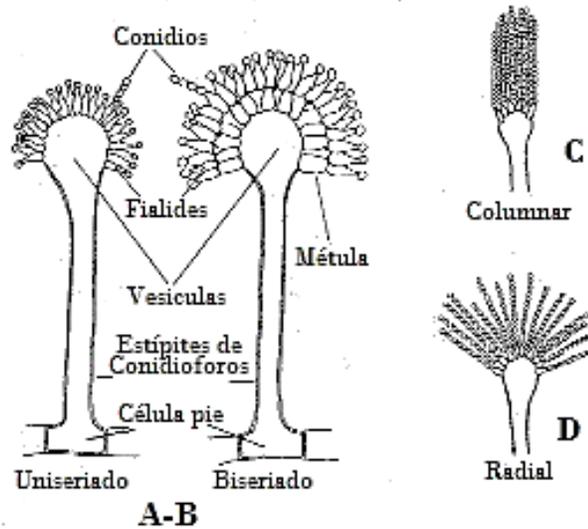


Figura 1. Estructuras morfológicas del género *Aspergillus*, (A-B) Conidióforos (C-D) Cabezas conidiales, tomado de Abarca (2000).

Los hongos del género *Aspergillus* (Figura 2), también inhiben la germinación de la semilla, además de producir cambios de color, calentamiento, enmohecimiento, apelmazamiento y pudrición. En contraste, especies como *Aspergillus niger* y *Aspergillus oryzae* que son de interés industrial se utilizan en la fermentación de alimentos (Martínez *et al.*, 2013).

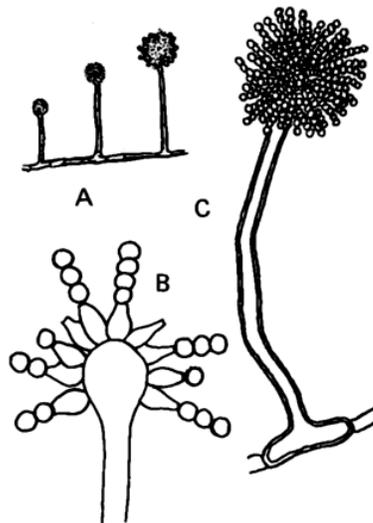


Figura 2. Estructura morfológica del género *Aspergillus* (A) Cuerpos fructíferos, (B, C) Conidióforo con cabeza y conidios, según Barnett and Hunter (1987).

### *Aspergillus Flavus.*

La especie *Aspergillus flavus*, se describe macroscópicamente como un hongo aterciopelado, de color amarillo a verde o marrón, con reverso dorado a rojo marrón, aparece con frecuencia en maíz y cacahuetes, *Aspergillus flavus* es el responsable del inicio de la micotoxicología moderna por la producción de las Aflatoxinas, potentes carcinógenos, que recientemente han sido identificadas como la segunda causa de aspergilosis en pacientes inmunodeprimidos (González, 2010).

Características macroscópicas: Colonias de color verde oliváceo a verde amarillento, micelio blanco; esclerocios cuando están presentes de color marrón oscuro a negro; variables en forma y tamaño; reverso incoloro, marrón claro o anaranjado; textura de la colonia variable, generalmente lanosa o flocosa. Características microscópicas: Cabezas conidiales uniseriadas y biseriadas, principalmente radiales; estipes normalmente rugosos, hialinos o de color marrón pálido. Vesícula esférica, mótulas ocupando prácticamente toda la superficie de la vesícula. Conidios globosos o elipsoidales, lisos o ligeramente rugosos (Abarca, 2000).

La colonia en la semilla por lo general se expande y puede ser de color verde amarillento muy claro, verde amarillento intenso, café oliváceo o café. Los conidióforos hinchados en el ápice producen numerosas células esporíferas (liálidas), con esporas en largas cadenas secas. Las cabezas conidiales típicamente son esféricas, hendidas en varias columnas mal definidas; su diámetro rara vez supera los 500-600  $\mu\text{m}$ . Los conidióforos tienen paredes gruesas, incoloras, muy rugosas; por lo general tienen menos de 1 mm de longitud y un diámetro de 10-20  $\mu\text{m}$  justo debajo del ápice. Los ápices son alargados cuando los conidios son jóvenes, y se vuelven luego subesféricos o esféricos, con un diámetro que varía de 10 a 65  $\mu\text{m}$ , los conidios son típicamente esféricos o subesféricos, espinosos a veces ovalados o en forma de pera al principio, forma que en ocasiones conservan (Warham *et al.*, 1999).

*Aspergillus Níger* van Tieghem.

Características macroscópicas: Colonias de color negro o marrón muy oscuro; reverso incoloro a amarillo; colonia densa, granular a flocosa. Características microscópicas: Cabezas conidiales biseriadas y radiales, estipes de paredes gruesas, lisos, hialinos, amarillentos o de color marrón pálido en especial cerca de la vesícula. Vesícula casi esférica; métulas ocupando toda la superficie de la vesícula. Conidios globosos de color marrón, normalmente muy rugosos con crestas irregulares y protuberancias (Abarca, 2000).

Esta especie se considera la principal causa de deterioro del maíz almacenado con un contenido de humedad superior al 15%, reduce la germinación de las semillas. La colonia en semilla crece lentamente, constituida por un micelio basal entre compacto y bastante suelto, de color blanco o amarillo, produce abundantes estructuras conidiales erguidas y por lo general apiñadas, de color negro carbón pero a veces negro parduzco intenso. Las cabezas conidiales son grandes y negras, compactas al principio, esféricas o divididas en dos o más columnas poco o bien definidas. Los conidióforos son lisos, hialinos o tenuemente parduzcos cerca del ápice; tienen hasta 3.0 mm de largo y 15-20  $\mu\text{m}$  de diámetro. Los ápices son esféricos o casi esféricos, de hasta 75  $\mu\text{m}$  de diámetro, se producen dos series de células que generan conidios (células de apoyo y fiálidas), en algunas cabezas sólo hay fiálidas. Los conidios comúnmente son esféricos en la madurez, a menudo muy rugosos o espinosos; en su mayoría tienen un diámetro de 4-5  $\mu\text{m}$  y son muy oscuros o con estrías longitudinales muy visibles (Warham *et al.*, 1999).

#### 2.4.2. Especies del genero *Fusarium* Link.

Las especies de *Fusarium* presentan distribución cosmopolita, son endémicas en las regiones maiceras, capaces de colonizar todas las partes de la planta y sobrevivir largos períodos en restos vegetales (Desjardins *et al.*, 1994). Las especies de mayor prevalencia son *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum* y *Fusarium subglutinans*, las que además de deteriorar el grano,

producen micotoxinas que afectan la salud humana y animal (Robledo *et al.*, 2001).

El género *Fusarium* es un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en el suelo y plantas, debido a su capacidad de crecer a 37°C, son considerados oportunistas, de las más de 100 especies de *Fusarium* descritas, sólo 12 de ellas pueden considerarse patógenas para el humano, entre ellas destacan *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium graminearum* y *Fusarium verticilloides* (Tapia y Amaro, 2014),

Las especies de *Fusarium* son ampliamente variables debido a cambios en el ambiente en el cual crecen, producen cambios morfológicos especialmente en los macroconidios que son claves para la identificación taxonómica, es necesario seguir todos los pasos de un procedimiento estandarizado para hacer esta tarea más fácil. Las especies de *Fusarium* pueden ser identificadas con certeza sólo si los cultivos han sido crecidos bajo condiciones óptimas de esporulación, además, todas las colonias deben ser purificadas mediante cultivos monospóricos, dado que cada conidio es un genotipo individual y la colonia que desarrolla, es de un genotipo particular y es un clon reconocible por sus propias características. Todo esto hace entonces, que la máxima prioridad para los taxónomos sea reducir la variación fenotípica tanto como sea posible (Nelson *et al.*, 1983).

Clasificación del genero *Fusarium* (Agrios, 2008).

Reino: *Hongos*

División: *Ascomicota*

Subdivisión: *Deutoromycotyna*

Clase: *Hypomicetes*

Orden: *Hypales*

Familia: *Tuberculariaceae*

Género: *Fusarium*

El género *Fusarium* presenta micelio algodonoso en cultivo, con algo de tinte rosa, amarillo, purpura en el medio, conidióforos variables, delgados y simples o gruesos y cortos, ramificados irregularmente o en verticilos de fialides, simples o agrupados en esporodoquios, conidias hialinas variables principalmente de dos

clases frecuentemente contenidas en pequeñas cabezas húmedas, macroconidios de varias células ligeramente curvadas o encorvadas en las puntas, típicamente en forma de canoa, microconidios unicelulares ovoides u oblongas, simples o en cadenas (Barnett and Hunter, 1987).

Las especies del genero *Fusarium* (Figura 3), producen dos tipos de conidios que difieren considerablemente en tamaño, algunas especies producen esporas pequeñas llamadas microconidios, pero otras no la producen. Los microconidios son extremadamente pequeños y carecen de características útiles para el diagnóstico; sin embargo la presencia o ausencia de estos puede ser útil para la identificación de las especies. Las esporas más grandes llamados macroconidios, son producidas por todas las especies y tienen características útiles para su identificación (Zillinsky, 1984).

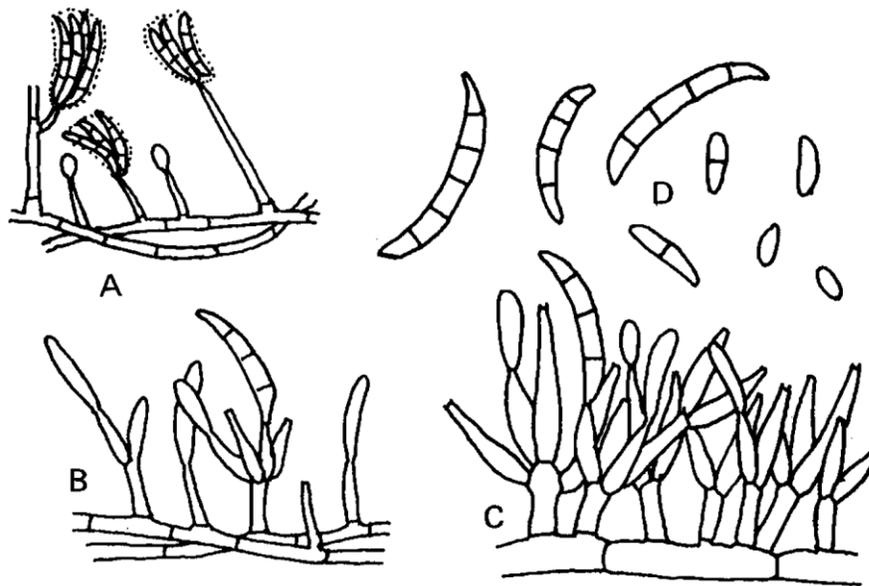


Figura 3. Estructura morfológica del genero *Fusarium*, (A) Hifas con conidioforos simples, (B) Hifas con conidióforo variable, (C) Esporodocio suelto formado por conidioforos ramificados (D) Macroconidios y microconidios, según Barnett and Hunter (1987).

Respecto a la forma de los macroconidios existen tres formas básicas, la primera es la forma lisa con apariencia de aguja, si las paredes del conidio son delgadas, en la segunda, las esporas tienen una curvatura a lo largo o en una porción del macroconidio, esos conidios tienen por lo general, pero no siempre, el mismo ancho a lo largo de todo el conidio, y por último existen los conidios en los cuales la curvatura es mucho más pronunciada en el lado dorsal que en el lado ventral. En estas esporas, generalmente las células del medio son más anchas que las extremas, existen cuatro formas generales para las células apicales: en forma de punta, de gancho, papilada y estrecha (Leslie y Summerell, 2006).

*Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg.

La especie *Fusarium verticillioides*, es un hongo fitopatógeno que afecta la productividad del maíz en el mundo, penetra a la planta por distintas rutas e infecta raíces, tallo y mazorca, produce varias toxinas en el tejido y en los granos del maíz, lo que disminuye su calidad. Esta especie de hongo fitopatógeno es un ascomiceto perteneciente a la subdivisión Deuteromycota, que agrupa a aquellos hongos en los que no hay descrita una fase sexual, *Fusarium verticillioides* cae en esta última categoría, porque sí presenta una fase sexual llamada teleomorfo, o forma perfecta, muy difícil de encontrar en la naturaleza y se requieren condiciones especiales para observarla in vitro. La forma teleomórfica recibe otro nombre de género y especie para *Fusarium verticillioides* es *Gibberella moniliformis*, que es heterotálico ya que el apareamiento ocurre entre colonias de distintos grupos (De la Torre *et al.*, 2014).

Las semillas de maíz infectadas a menudo presentan estrías blancas o están podridas, los abundantes microconidios por lo general son hialinos, generalmente unicelulares, pero en ocasiones bicelulares, miden 5-12 x 1-3  $\mu\text{m}$ , tienen forma oval o de garrote y están ligeramente aplanados en cada extremo, los macroconidios se presentan en forma infrecuente, son hialinos, delicados, con paredes delgadas y su forma varía de curva a casi rectos; tienen 3 a 7 septos, miden 25-60 x 2-4  $\mu\text{m}$  y la célula basal tiene forma de pie. Nunca hay clamidosporas en el micelio o los conidios. Los peritecios se presentan rara vez

y son esféricos de color negro azulado. Las ascas son ovaladas o en forma de garrote con 4-8 ascosporas, se forman abundantes microconidios uniformes en cadenas largas, que se pueden observar de inmediato (Warham *et al.*, 1999).

#### *Fusarium graminearum* Schwabe.

La especie *Fusarium graminearum* se encuentra comúnmente en granos de cereales es más conocido como un fitopatógeno vegetal, provoca diversas enfermedades de los granos de cereales, como la podredumbre de la oreja de *gibberella* en el maíz y la picadura de la cabeza del *Fusarium* o la costra en el trigo y otros granos. Se ha encontrado que los metabolitos secundarios producidos por esta especie son tóxicos en humanos y animales, las principales micotoxinas producidas por *Fusarium graminearum* son el Deoxinivalenol (DON) y la Zearalenona (Marasas *et al.*, 1984).

Las semillas de maíz infectadas son de color rosado a café rojizo, no hay microconidios, los macroconidios producidos a partir de conidióforos se forman lateralmente o en conidióforos cortos muy ramificados o a partir de conidióforos agrupados en los cultivos más viejos. Los conidios son hialinos, rectos o ligeramente curvos, con 3 a 7 septos, con una célula basal semejante a un pie bien desarrollada, una célula apical curva y muy puntiaguda. Los peritecios ovalados son negros azulados, con una pared externa rugosa, miden de 140 a 250 µm de diámetro, las ascas tienen forma de garrote, un pedicelo basal corto contienen 8 ascosporas hialinas o café claro, con 1 a 3 septos, curvas y con un extremo redondeado (Warham *et al.*, 1999).

#### 2.4.3. Especies del género *Penicillium* Link.

La primera descripción del género *Penicillium* fue realizada por Johann Heinrich Friedrich Link en el año 1809, estos hongos se desarrollan sobre los más diversos sustratos como granos, paja, frutas entre otros. La importancia de estos hongos en la alimentación humana y animal se debe a que, además causar deterioro, producen micotoxinas (Pitt y Leistner 1991).

Clasificación del género *Penicillium* (Agrios, 2008).

Reino: *Hongos*  
División: *Ascomicota*  
Subdivisión: *Deutoromycotyna*  
Clase: *Hypomicetes*  
Orden: *Hypales*  
Familia: *Monileaceae*  
Género: *Penicillium*

El género *Penicillium* es uno de los hongos más comunes presentándose en una amplia gama de hábitats, desde el suelo hasta la vegetación, aire, ambientes interiores y diversos productos alimenticios. Tiene una distribución mundial y un gran impacto económico, su función principal en la naturaleza es la descomposición de material orgánico, donde las especies causan pudriciones devastadoras como patógenos en precosecha y poscosecha en los cultivos (Visagie *et al.*, 2014).

El *Penicillium* (Figura 4), causa la pudrición del grano de maíz en condiciones de humedad y temperatura elevadas, puede reducir la germinación y se produce tizón de las plántulas. Las colonias en semilla tienen un ritmo de crecimiento lento y moderado, el micelio no es muy abundante, hay una esporulación que da a la colonia una apariencia de cojín, en un tono azul/verde. Los conidióforos generalmente son conspicuos, más o menos erguidos, hialinos, rugosos o lisos, septados, con una serie de ramificaciones que le dan la estructura característica de un cepillo, con típicas fiálidas hialinas en forma de frasco que producen largas cadenas secas de conidios, El “cepillo” puede estar constituido por un solo verticilo de fiálidas o una serie de ramificaciones en verticilo, cada una de las cuales termina en un verticilo de fiálidas. Los conidios son unicelulares, esféricos u ovoides, lisos o rugosos y de color brillante, por lo general un tono de azul/verde (Warham *et al.*, 1999).

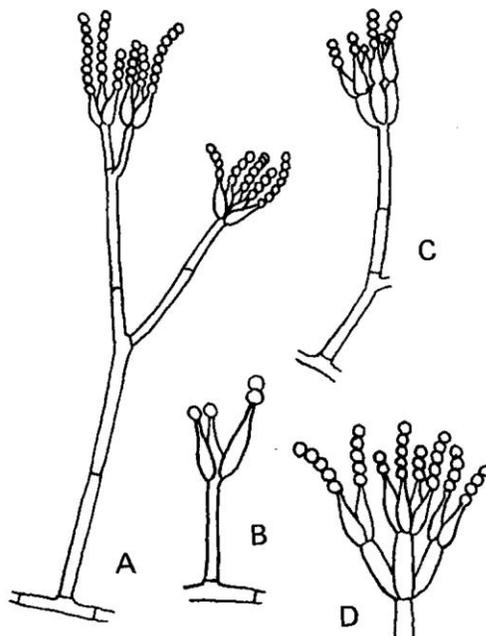


Figura 4. Estructuras morfológicas del genero *Penicillium*, (A, B, C), Tipos de conidióforos, (D) Ramificaciones, fiálides y cadenas de conidios, según Barnett and Hunter (1987).

### ***Penicillium Verrucosum* Dierckx.**

Es un hongo que fue descrito por Dierckx en 1901, la especie *Penicillium verrucosum*, crece en granos, semillas y vegetación en descomposición, es un contaminante de los cultivos de cereales como la cebada, el maíz, la avena y el trigo, *Penicillium verrucosum* produce una micotoxina muy potente llamada Ocratoxina A en climas templados y fríos (Pitt, 1987).

El conidióforo es fino, alargado y septado, presenta forma compacta triverticilada, el tallo es delgado y alargado con elementos irregularmente dispuestos, presenta dos ramas que nacen del tallo las cuales son cortas y moderadamente anchas; posee de 7 a 10 métulas cortas y anchas que nacen de una rama, las fiálides son en forma de punta de botella, los conidios se presentan en forma esférica y se encuentran en forma de cadena de color verde oscuro (Torrenegra y Baquero, 2000).

#### 2.4.4. Especies del genero *Claviceps* (Fr.) Tul.

Todas las especies del género *Claviceps* del orden *Hypocreales* pueden infestar las plantas pertenecientes a la familia de las gramíneas, las hifas de los hongos invaden el óvulo de la planta que actúa como hospedero y colonizan todo el ovario, de tres a cuatro semanas después de la infección el cuerpo del hongo se vuelve visible y reemplaza a algunos granos de la espiga, esta forma del hongo se conoce como esclerocio, es de color oscuro y puede verse como sobresale la irregularidad de granos y representan la etapa final de la enfermedad (AFHS, 2015).

Clasificación del genero *Claviceps* (Agris, 2008).

Reino: *Hongos*

División: *Ascomicota*

Subdivisión: *Ascomycotina*

Clase: *Pyrenomycetes*

Orden: *Hypocreales*

Familia: *Clavicipitaceae*

Género: *Claviceps*

Los hongos que pertenecen al género *Claviceps* producen metabolitos secundarios llamados alcaloides del ergot que infectan plantas de cereal y otras gramíneas. La avena, trigo, maíz, cebada y sorgo pueden verse infectados por estos hongos aunque el centeno es el cultivo más sensible. Estos hongos producen alcaloides tóxicos como la ergotamina. Estos alcaloides se acumulan en una estructura macroscópica llamada esclerocio y que crece en las semillas contaminadas. Actualmente estos esclerocios pueden ser retirados de los cereales gracias a las modernas técnicas de limpieza, que elimina en gran parte la incidencia de los alcaloides del ergot en los alimentos para consumo humano (Bennett y Klich, 2003).

*Claviceps* puede ser fácilmente identificado mediante el examen visual. Las sernillas son sustituidas por esclerocios que tienen hasta cuatro veces la longitud

de los granos normales y que son de color negro azulado o blanco a crema en los cornezuelos del trigo y del maíz, respectivamente (Warham *et al.*, 1996).

*Claviceps purpurea* (Fr.) Tul.

El cornezuelo del centeno (*Claviceps purpurea*) es un hongo ascomiceto parásito de un gran número de cereales, destaca sobre las espigas como una excrescencia, el esclerocio en forma de cuerno (de ahí su nombre) que se desarrolla en los granos del cereal, tiene longitud entre 1 y 4 cm y unos 4 mm de ancho y su color varía entre púrpura y el negro. En relación con el ser humano su importancia radica en que su consumo ha sido responsable del ergotismo, enfermedad causada por los alcaloides. Los animales se envenenan al alimentarse de gramíneas con esclerocios y entre los síntomas que muestran están la aparición de gangrena en las patas, pezuñas o cola, abortos; las personas resultaban afectadas al consumir pan con harina contaminada (Quezada y Ortega, 2011).

La especie *Claviceps purpurea* (Figura 5), produce un gran número de compuestos activos que varían de los simples, como aminoácidos, hasta los más complejos, como son los alcaloides policíclicos, se han llegado a identificar más de 200 compuestos químicos en un extracto de hongo, sus principales efectos farmacológicos residen en los alcaloides, al menos existen doce tipos diferentes basados en la estructura del ácido lisérgico y sus amidas como la ergotamina, ergometrína y ergocriptina (Quezada y Ortega, 2011).

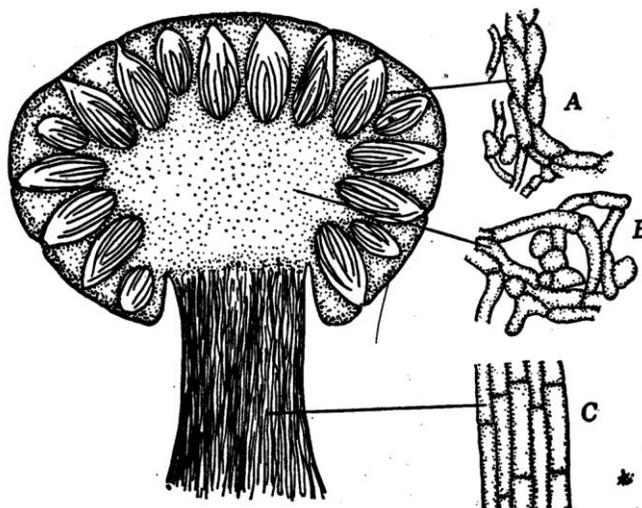


Figura 5. *Claviceps purpurea*: Estroma con peritecios incluidos A. Estructura de la pared peritecical, B. Estructura de la cabeza estromática, C. Estructura de la cabeza estromática, tomado de Alexopoulos (1996).

#### *Claviceps gigantea*.

La enfermedad diente de caballo en maíz, causada por *Claviceps gigantea* (anamorfo *Sphacelia* sp.), ha aumentado su incidencia y distribución limitando la calidad del grano producido, afectando hasta 90 % de la cosecha, especialmente en híbridos comerciales, *Claviceps gigantea* conocida por los agricultores como “diente de caballo”, debido a la forma que toman los granos infectados, además de dañar al grano el hongo produce toxinas alucinógenas del grupo del ácido lisérgico. El altiplano de Mexico, presenta condiciones ambientales con baja temperatura y alta humedad, idóneas para que se presente la enfermedad causada por este hongo. Los síntomas característicos de la enfermedad se observan al final del ciclo del cultivo, en el ápice de las mazorcas las brácteas se abren y dejan al descubierto estructuras fungosas de color castaño que corresponden a los esclerocios (Moreno, 2016).

Los esclerocios de *Claviceps gigantea* son inicialmente blancos o de color crema, blandos, pegajosos y huecos, más tarde se vuelven duros y córneos, de color blanco a café, a menudo asemejan un diente de caballo. Los granos de maíz son sustituidos por los esclerocios de *Claviceps gigantea* tienen una apariencia

arrugada y son de color café oscuro. Los peritecios están dispuestos en cabezas estromáticas. Las ascosporas son hialinas, no septados y miden 176-186 x 1-2  $\mu\text{m}$ , los macroconidios son ovalados miden 8-27 x 4-6  $\mu\text{m}$ , los microconidios también son ovalados y miden 4-7 x 2-4  $\mu\text{m}$  (Warham *et al.*, 1999).

#### 2.4.5. Ciclos biológicos de los hongos potencialmente toxigénicos del maíz.

Los hongos fitopatógenos en su mayoría pasan su ciclo de vida en las plantas que les sirven de hospedante y otra parte en el suelo o en los residuos vegetales depositados en este sustrato, otros pasan todo su ciclo de vida sobre el hospedante y sólo sus esporas alcanzan el suelo, donde permanecen en reposo hasta que son llevadas a un hospedero en el que germinan y se reproducen. La supervivencia y función de la mayoría de los hongos fitopatógenos depende ampliamente de las condiciones predominantes de temperatura y humedad o de la presencia de agua en su medio. Un micelio libre sólo sobrevive dentro de un cierto intervalo de temperatura que va de -5 a 45°C y cuando entra en contacto con superficies húmedas, ya sea que se localicen en el exterior o el interior de una planta hospedante. La mayoría de los hongos fitopatógenos necesitan de agentes como el viento, agua, aves, insectos, otros animales y del hombre para poder diseminarse de una planta a otra e incluso en las distintas partes de una misma planta. Los hongos se diseminan principalmente en forma de esporas. Los fragmentos de hifas y las masas de micelio endurecidas, conocidas como esclerocios (Agrios, 2008).

#### Ciclo biológico del *Aspergillus*.

Las especies toxigénicas de hongos del género *Aspergillus* se encuentran ampliamente distribuidas en climas húmedos y calurosos en donde contaminan alimentos y ocasionan un problema crónico y difícilmente controlable. El *Aspergillus* se propaga a través del aire, suelo y por medio de insectos que lo diseminan, puede inocular y colonizar los granos en cualquier tiempo desde la fecha de floración hasta la cosecha particularmente cuando se presentan algunas condiciones como las sequías, el daño de los granos por insectos y condiciones

óptimas de temperatura y humedad. *Aspergillus* requiere de una humedad relativa entre el 70 y 90 %, contenido de agua en la semilla entre 15 y 20 % y un rango de temperatura amplio 0 a 45 °C (Martínez *et al.*, 2013).

El ciclo biológico del *Aspergillus* (Figura 6), tiene su origen en el suelo donde el patógeno tiene su reservorio natural en residuos de cosecha y granos, es ahí donde el patógeno germina y forma las conidias, posteriormente invade las plantas de maíz en campo donde coloniza los granos de la mazorca donde crece el micelio y se da la reinfeksi3n, el grano y los desechos de cosecha quedan nuevamente en el suelo y se inicia nuevamente el ciclo.

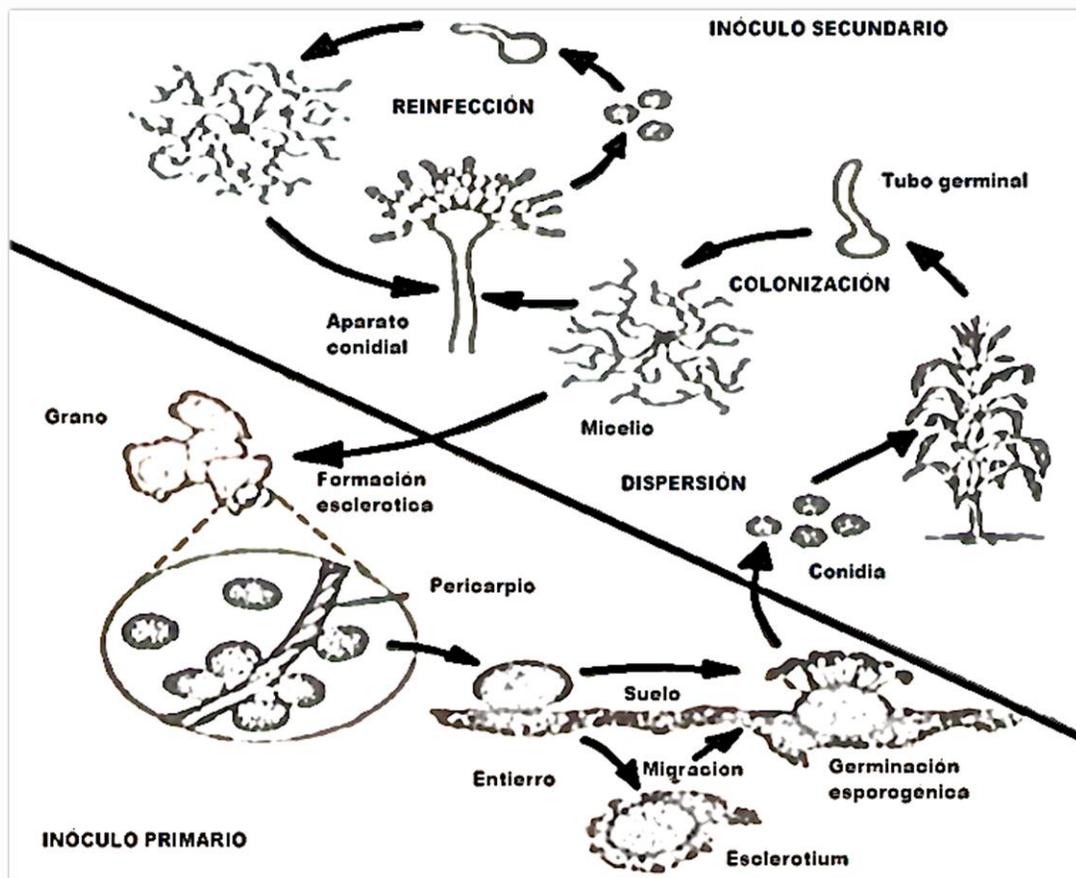


Figura 6. Ciclo biológico de *Aspergillus*: Interrelación entre inoculo primario y secundario (Diener y Davis, 1987).

Ciclo biológico de *Fusarium graminearum*.

Para la sobrevivencia de la fuente de inóculo, los residuos de cultivo juegan un papel importante en la preservación de *Fusarium graminearum* (Figura 7), pues éste sobrevive en forma de micelio o peritecios inmaduros en las espiguillas infectadas en restos de mazorcas o sobre el rastrojo del maíz. Las prácticas culturales juegan un papel importante en la sobrevivencia de la fuente de inóculo, ya que al enterrar el rastrojo se logra disminuir la sobrevivencia de los peritecios y reducir la fuente de inóculo primario (Teich y Nelson, 1984).

En el proceso de infección puede iniciar con diferentes tipos de inóculo: macroconidios producidos sobre esporodoquios o en forma individual, ascosporas producidas en el interior de los peritecios de *Gibberella zeae*, clamidosporas que persisten en el suelo o sobre los residuos, el micelio que sobrevive sobre los restos de maíz. Las condiciones apropiadas para la producción del inóculo son humedad relativa elevada y una temperatura ligeramente caliente (Ireta y Gilchrist, 1994).

La temperatura requerida para la formación de macroconidios es de 16°C a 36°C, con un óptimo de 32°C, la formación de peritecios en campo se observa de cuatro a cinco semanas después de las primeras infecciones, siempre y cuando las condiciones ambientales se mantengan favorables. Se ha observado que las ascosporas se pueden producir con temperaturas de 13°C a 33°C, con un óptimo de 25-28°C. La luz ultravioleta juega un papel importante en la producción de peritecios y ascosporas, ya que se necesitan longitudes de onda de alrededor de 390 nm (Reis, 1989).

Los principales medios de diseminación del inóculo son la lluvia y el viento, durante la cosecha, los granos infectados que caen al suelo y se mantienen en la superficie del suelo son la fuente de inóculo para el cultivo del año siguiente, si esos granos infectados son enterrados, pueden afectar las raíces del nuevo cultivo, los hospederos más comunes de *Fusarium graminearum* son maíz, trigo, la cebada, la avena, el centeno, la alfalfa y el triticale (Ireta y Gilchrist, 1994).

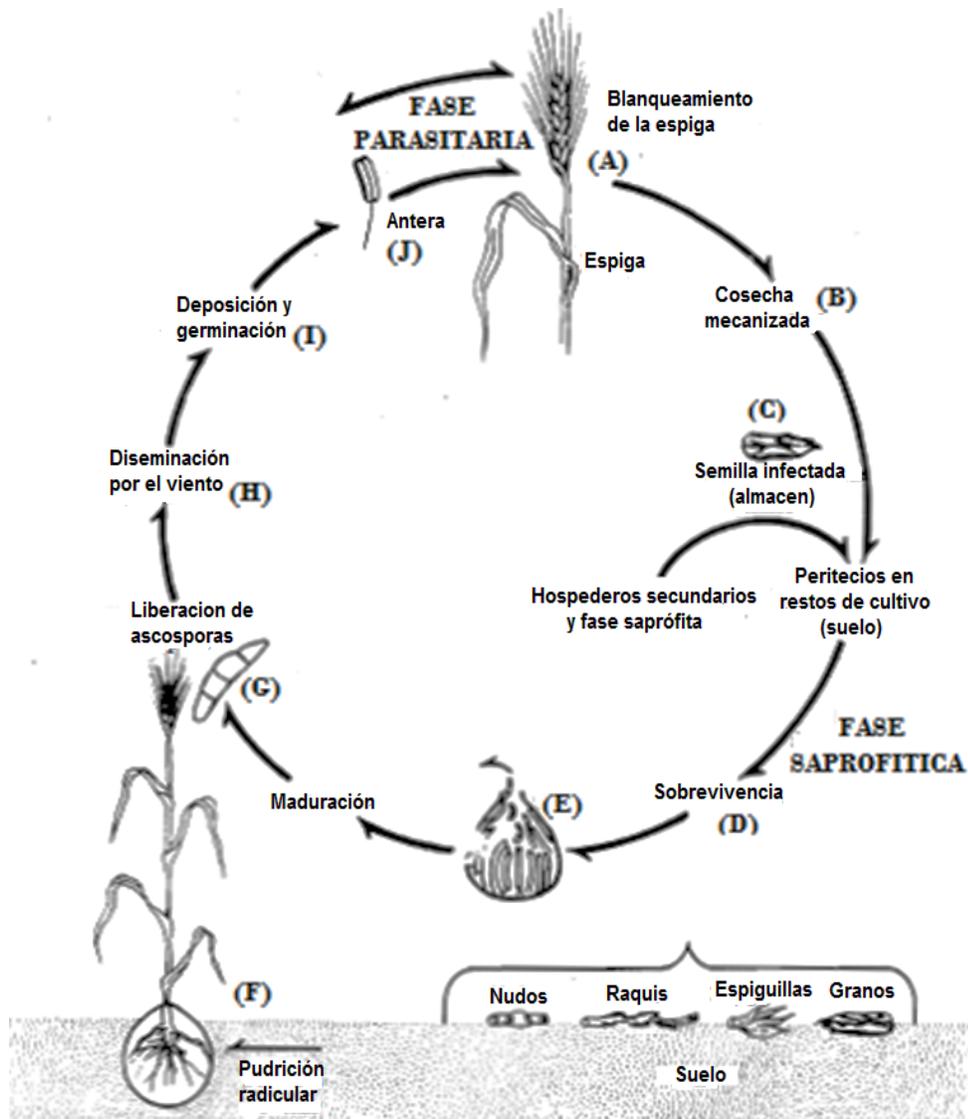


Figura 7. Ciclo biológico de *Fusarium graminearum*, tomado de Ireta y Gilchrist (1994).

Ciclo biológico de *Fusarium verticillioides*.

A la especie *Fusarium verticillioides*, se le conoce como un patógeno que causa la muerte del tejido hospedero y sobrevive como saprofito en el rastrojo, durante los periodos tempranos de la infección el hongo adquiere una fase biotrofa, que puede sobrevivir como endófito en la semilla y en el tallo de las plantas sin causar daños visibles. Cuando las condiciones ambientales son favorables, infecta los tejidos de la planta y es capaz de provocar pudrición en órganos como la raíz, el

tallo y la mazorca. El clima caliente y húmedo favorece la pudrición de la mazorca durante el periodo de llenado de grano. Uno de los aspectos que favorece la infección y la alta incidencia de *Fusarium verticillioides* en el maíz es que el hongo utiliza múltiples rutas de entrada a la planta para colonizar distintos tejidos y, de esa manera, causa diversas enfermedades a lo largo de su desarrollo (De la Torre *et al.*, 2014).

En el Ciclo biológico (Figura 8), la pudrición por *Fusarium verticillioides* es favorecida por temperaturas entre 28 y 30 °C, con humedad elevada por el exceso de lluvias, por daños en la espiga y en los granos causados por el ataque de plagas, es típicamente un hongo de suelo, que puede sobrevivir en restos de cultivo en la materia orgánica, la dispersión del hongo es más eficiente por el viento que por las semillas (Galvao y Miranda, 2004).

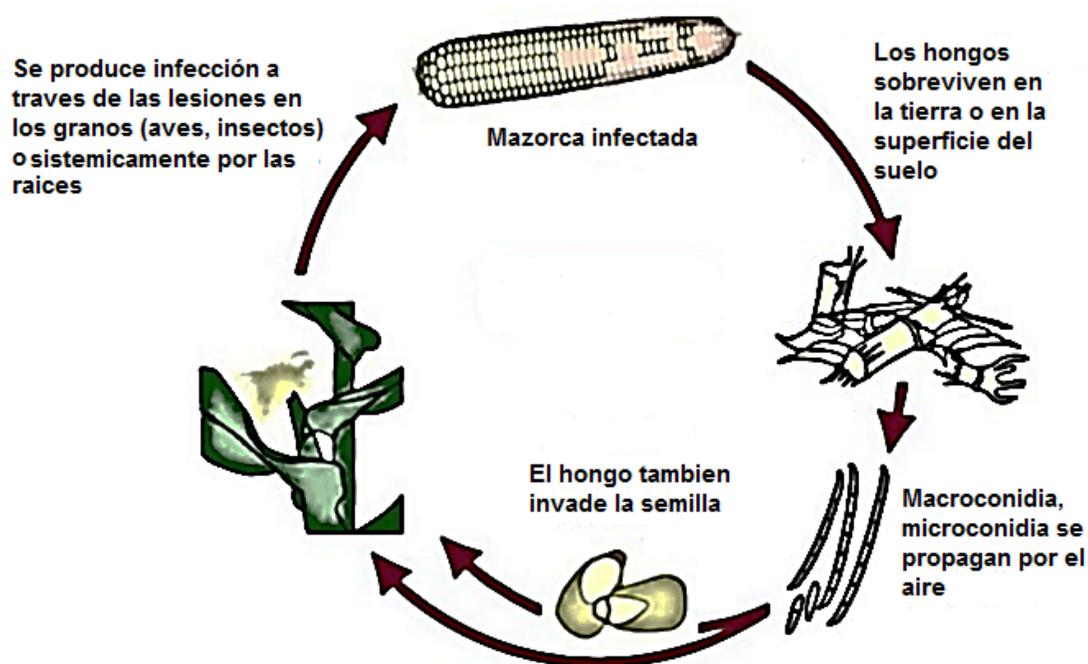


Figura 8. Ciclo biológico de *Fusarium Verticillioides*, tomado de Galvao y Miranda (2004).

### Ciclo biológico del Género *Claviceps*.

El género *Claviceps* produce ascosporas filiformes que se descargan activamente desde los peritecios en primavera, coincidiendo con la floración de las especie de gramíneas como el maíz. Cuando las esporas al hospedante susceptible germinan envían tubos germinativos que llegan hasta el ovario e inician la infección (Figura 9). A medida que se desarrolla el micelio destruye los tejidos del ovario y lo sustituye por una alfombra micelar blanca, suave y algodonosa, donde queda recubierta de acérvulos de conidióforos cortos, portadores en sus extremos de pequeños conidios ovalados. Esos conidios están recubiertos de una secreción pegajosa y dulce que atrae a los insectos contribuyendo a la diseminación del hongo (Alexopoulos, 1996).

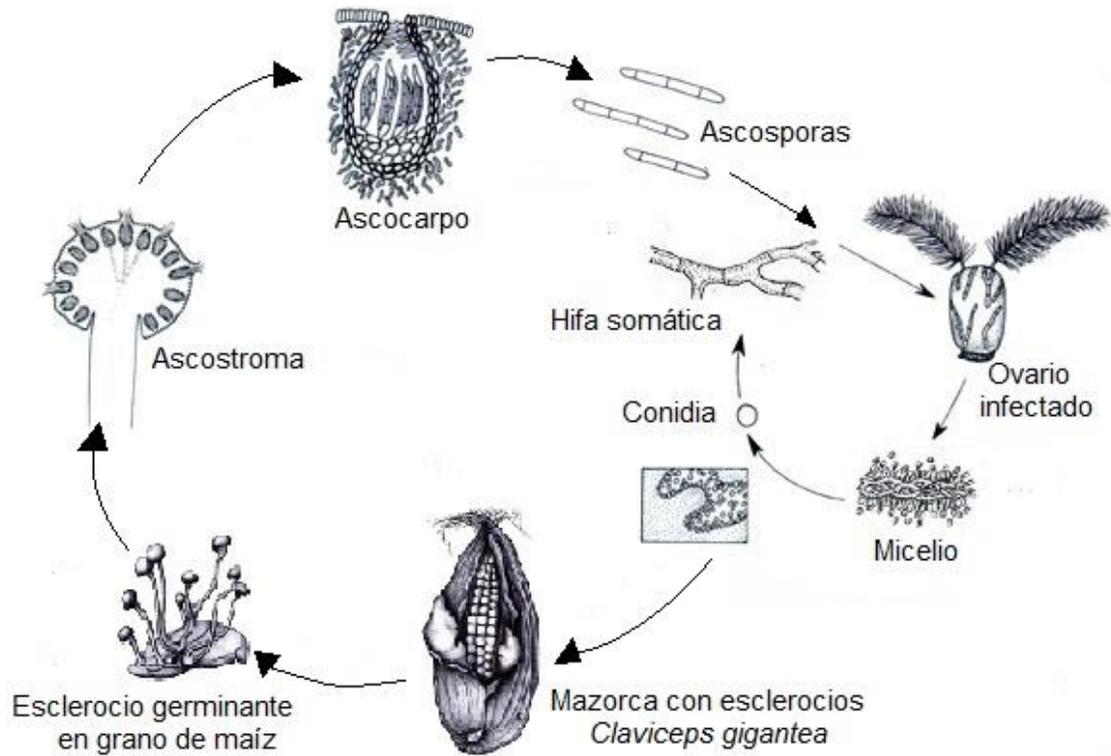


Figura 9. Ciclo biológico de *Claviceps gigantea*, basado en Alexopoulos (1996).

La alfombra micelar se sigue desarrollando, se endurece y al final se transforma en esclerocio duro, recibe el nombre de diente de caballo. Los esclerocios de

*Claviceps gigantea* son inicialmente blancos o de color crema, blandos, pegajosos y huecos, más tarde se vuelven duros y córneos. Los granos de maíz son sustituidos por los esclerocios de *Claviceps gigantea* tienen una apariencia arrugada y son de color café oscuro. (Alexopoulos, 1996).

En la cosecha muchos esclerocios caen al suelo donde pasan el invierno y en la primavera siguiente germinan formando estromas pedunculados y alargados con aspecto de seta y cabezas globosas, bajo la superficie de estas cabezas se forman cavidades diminutas, cada una contiene uno o más anteridios y un único ascogonio plurinucleado. La plasmogamia se produce entre uno de los anteridios y el ascogonio, migrando el núcleo masculino hasta el órgano femenino. Mientras las ascas se van formando, se desarrollan paredes periteciales delgadas, dentro de las cabezas estromaticas produciendo peritecios que se abren sobre la superficie del estroma a través de un largo ostiolo con aspecto de cuello. Cada peritecio maduro presenta varias ascas alargadas y cilíndricas, cada una con ocho ascosporas filiformes que se liberaran en primavera reiniciando el ciclo (Alexopoulos, 1996).

## 2.5. Las micotoxinas en el maíz.

El término micotoxina proviene del griego “mycos” que significa hongo y del latín “toxicum” que significa tóxico o veneno (Castro *et al.*, 2015). Las micotoxinas son metabolitos secundarios altamente tóxicos producidos por ciertos hongos que se desarrollan en productos agrícolas como el maíz, cuya ingestión, inhalación o absorción causan daños patológicos e incluso la muerte de animales y personas (Arroyo *et al.*, 2014).

Herrera y Ulloa (1990) mencionan que las micotoxinas son toxinas de origen fúngico, es decir sustancias tóxicas producidas por hongos y la micotoxicosis son intoxicaciones o enfermedades producidas por la ingestión de micotoxinas en alimentos que han sido invadidos por hongos toxigénicos. Los primeros casos de micotoxicosis se conocieron en la Edad Media debido al centeno contaminado con *Claviceps purpurea*, alcanzando proporciones de epidemia, mutilando y matando a miles de personas en Europa (Bolet y Socarrás, 2005).

Las micotoxinas son metabolitos secundarios fúngicos, estos se producen cuando la fase de crecimiento del hongo termina o cuando hay deficiencia de nutrientes esenciales, los procesos de síntesis del hongo se encaminan a la producción de metabolitos secundarios incluyendo pigmentos, antibióticos y micotoxinas, son moléculas relativamente pequeñas con una estructura química y una actividad biológica muy diversa. Aunque suelen ser genotípicamente específicas para un grupo de especies, el mismo compuesto puede también ser elaborado por hongos pertenecientes a géneros distintos (Abarca, *et al.*, 2000). Las micotoxinas son sustancias producidas por ciertos hongos pertenecientes principalmente a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, suelen encontrarse en una gran variedad de productos agrícolas, siendo los contaminantes naturales de los alimentos más extendidos a nivel mundial. Son altamente tóxicos, producen mutaciones, cáncer, malformaciones en los fetos y disminuyen la inmunidad, debido a su gran variedad de efectos tóxicos y sobre todo a su extrema resistencia al calor, la presencia de las micotoxinas en los alimentos es considerada de alto riesgo para la salud humana y de los animales (Méndez y Moreno, 2009).

Gimeno y Martins (2011), mencionan que los principales factores para el desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas son : factores físicos como la humedad, agua disponible, temperatura, zonas de microflora y la integridad física de los granos; factores químicos como pH, composición del sustrato, nutrientes, minerales y potencial de oxireducción; factores biológicos como la presencia de invertebrados.

El género *Aspergillus* es un contaminante habitual de alimentos almacenados granos y cereales, cuyas condiciones óptimas para la producción de micotoxinas son 25 °C y una humedad relativa del 95 %. Las principales toxinas producidas por este género de mohos son las Aflatoxinas y las Ocratoxinas (Segal, 2009).

Las micotoxinas del género *Fusarium* son capaces de inducir efectos tóxicos agudos y crónicos que suelen relacionarse con el tipo de micotoxina, el nivel de exposición y las especies animales que se exponen, las principales micotoxinas producidas por este género son los Tricotecenos, Fumonisinias y Zearalenona.

Este género de hongos tienen mayor capacidad genética para sintetizar micotoxinas bajo condiciones óptimas de temperatura que oscilan entre los 18 a 30 °C y una humedad relativa del 88 % (Gimeno y Martins, 2011).

Se han identificado más de 200 tipos de micotoxinas, sin embargo, las que pueden encontrarse con mayor frecuencia como contaminantes naturales en los alimentos para animales y humanos son las: Aflatoxinas B1, B2, G1 y G2, Ocratoxinas, Zearalenona, Tricotecenos (Vomitoxina, T-2, Nivalenol, DON), Citrinina, Patulina, Fumonisininas B1 y B2, Alcaloides del cornezuelo del centeno como Ergotamina, Ergotoxina y Ergometrina (Gimeno y Martins, 2011; Castro *et al.*, 2015).

#### 2.5.1. Grupo de micotoxinas asociadas a la microbiota toxigénica del maíz.

Los granos de maíz son atacados por hongos causando pudrición, en el proceso de invasión de los tejidos del grano, algunos de estos hongos producen sustancias contaminantes conocidas como micotoxinas que son compuestos orgánicos biológicamente activos causando intoxicaciones agudas o crónicas. Tomando en cuenta únicamente las micotoxinas que contaminan el maíz, la lista de micotoxinas se reduce, a nivel mundial la gran mayoría de los problemas de contaminación se centran en las siguientes micotoxinas: Aflatoxinas, Fumonisininas, Deoxniivalenol, Zearalenona y Ocratoxinas, excepto casos particulares, las demás toxinas tienen menor incidencia o menor toxicidad (Godoy, 2006).

#### 2.5.2. Las Aflatoxinas.

Las Aflatoxinas se descubrieron a raíz de una severa epidemia, que mató a más de 100.000 pavos en Inglaterra en 1960, estas aves fueron alimentadas con cacahuate contaminado proveniente de Brasil (Carvajal, 2013). El estudio del alimento causal llevó a la identificación de cuatro sustancias tóxicas con propiedades similares, que se identificaron como Aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 (Godoy, 2006).

Las Aflatoxinas se componen de un grupo con aproximadamente 20 compuestos estrechamente relacionados, sin embargo únicamente cuatro tipos se encuentran con frecuencia en los alimentos, éstos han sido subdivididos en los grupos B y G, con base en la fluorescencia azul (Blue) o verde (Green) que presentan bajo la luz ultravioleta y se denominan AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> y AFG<sub>2</sub> (Méndez y Moreno, 2009). Las aflatoxinas son producidas tanto en el campo como en almacén por hongos del género *Aspergillus*, de las especies *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus nonius* (Abarca *et al.*, 2000).

Los hongos productores de Aflatoxinas crecen de 8 a 55 °C con temperaturas óptimas de 36 a 38 °C; la producción de esta micotoxina se inicia de 11 a 14 °C cesando a menos de 10 °C o a más de 45 °C, la producción óptima va de 25 a 35 °C. La producción de esta toxina se favorece según el sustrato, por factores bioquímicos, biológicos y ambientales, con una humedad relativa de 70-90%, con un contenido de humedad del grano de 16.5 a 18% (Carvajal, 2013).

Las Aflatoxinas son termoestables, resisten altas temperaturas de 237 °C a 320 °C, se descomponen de 237 °C a 306 °C, según el tiempo de calentamiento, la humedad del alimento y el pH. La contaminación del maíz ocurre durante el cultivo y almacenamiento, se creía que el crecimiento de *Aspergillus flavus* sólo ocurría en el maíz durante el almacenamiento, pero se ha demostrado que puede infectar al maíz en el campo y producir Aflatoxina antes de la cosecha (Ochoa *et al.*, 2016).

La estructura básica de las Aflatoxinas (Figura 10), consiste en un anillo dihidro-difurano o tetrahydro-difurano unido a una cumarina con un anillo de cinco o seis átomos de carbono (Martínez *et al.*, 2013). Las Aflatoxinas son inodoras, insípidas e incoloras, químicamente son estables en los alimentos, resistentes a la degradación bajo procedimientos de cocción normales, es difícil eliminarlas una vez que se producen (Urrego y Díaz, 2006).

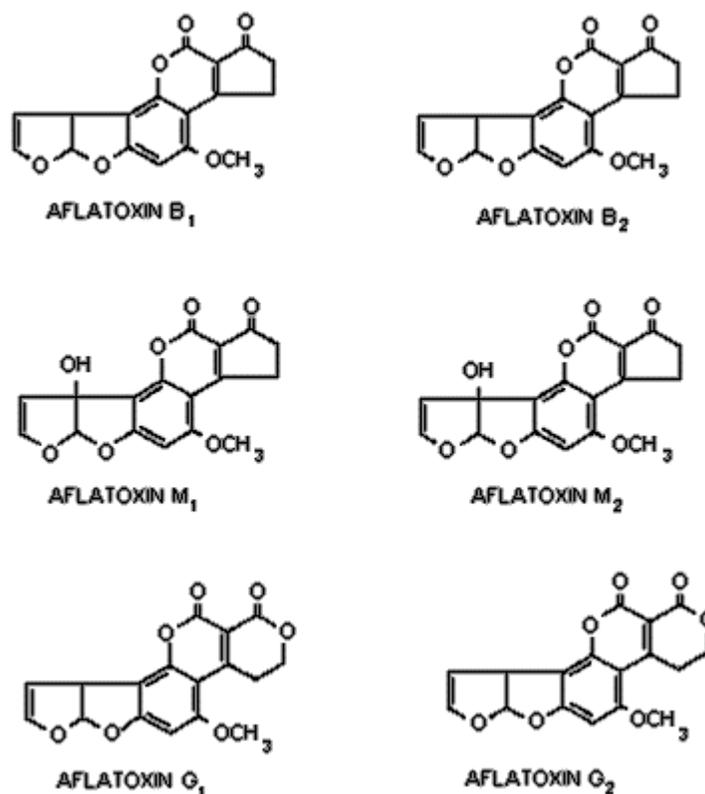


Figura 10. Estructura química de las principales Aflatoxinas (Carvajal, 2013).

Los efectos toxigénicos que ocasionan las Aflatoxinas varían desde los carcinogénicos, teratogénicos o mutagénicos hasta la producción de desórdenes hormonales o inmunosupresores, este depende del tipo de Aflatoxina, dosis, tiempo de exposición u organismo expuesto (Carvajal, 2013). El modo de acción de las Aflatoxinas es acumulativo de modo que una vez que contaminan el grano o el producto agrícola en campo o almacén, persisten a la digestión, son resistentes al calor de la cocción o al congelamiento. Las Aflatoxinas son ingeridas por los seres humanos no sólo a través de granos, semillas o frutos, también se presentan en la leche o la carne de animales criados con alimentos contaminados (Requena *et al.*, 2005).

Debido a sus efectos tóxicos en la salud humana y de los animales pecuarios, que consumen alimento contaminado con esta micotoxina, en México existe una normativa para regular la incidencia de Aflatoxinas en cereales, la Norma Oficial

Mexicana NOM-247-SSA1-2008 indica que el límite máximo permisible de Aflatoxinas en cereales es de 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  tanto para el consumo humano así como de animales pecuarios, además aporta información acerca de las especificaciones sanitarias de transporte y almacenamiento de cereales e indica que el límite máximo de Aflatoxinas en harina de maíz nixtamalizado y masa para tortillas es de 12  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (NOM247-SSA1, 2008).

La Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA), estableció un límite permisible de 20 microgramos por kilogramo para las Aflatoxinas totales en los alimentos destinados al consumo humano. Sin embargo, en algunos países europeos se han establecido límites de tolerancia más estrictos, específicamente para la micotoxina AFB1, reglamentando 5 microgramos por kilogramo para los alimentos destinados tanto al consumo humano como animal (FAO, 2003).

### 2.5.3. Las Fumonisinias.

En 1988, un grupo de investigadores sudafricanos aislaron y purificaron las Fumonisinias de cultivos de *Fusarium verticillioides*, en ese mismo año se dilucidó la estructura química de las toxinas, desde entonces se han descrito más de 60 moléculas relacionadas estructuralmente con la Fumonisina, sin embargo, sólo ciertas cepas del hongo producen muchas de esas moléculas y en condiciones particulares de cultivo. Las Fumonisinias más abundantes de incidencia natural son las del grupo B, derivadas de la mayoría de las cepas de *Fusarium verticillioides* (De la Torre *et al*, 2014).

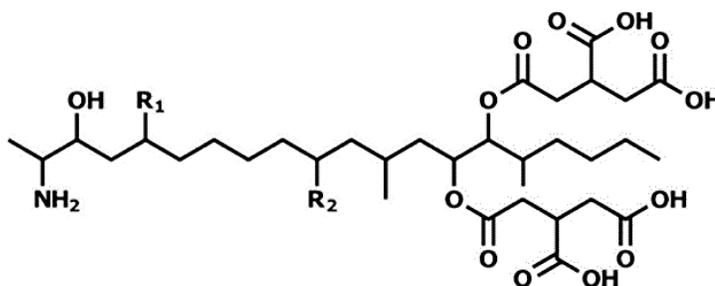
Las Fumonisinias son un grupo de toxinas de estructura muy similar, producidas por varias especies de hongos del género *Fusarium*, pero principalmente por *Fusarium verticillioides*, esta especie se encuentra entre las que con mayor frecuencia contaminan el maíz en todo el mundo, los granos atacados por esta especie de hongo pueden tener una coloración blanca o ligeramente rosada, pero muy frecuentemente la contaminación no es detectable a simple vista. Las mazorcas de maíz aparentemente intactas pueden contener el hongo y la toxina en cantidades significativas (Godoy, 2006). La producción de Fumonisinias está

influenciada por la variedad de semilla usada para el cultivo, así como por las variaciones en las condiciones de almacenamiento y características ambientales como temperatura, humedad y precipitación (Ariño *et al.*, 2009).

La mayor producción de Fumonisinas tiene lugar en sustratos con una actividad de agua superior a 0,91 y a una temperatura comprendida entre 15 y 25 °C. Las Fumonisinas resisten temperaturas de hasta 150 °C, en función del tiempo de permanencia a esas temperaturas y del pH del sustrato, además son muy polares y solubles en agua (Gimeno, 2009).

Existen 15 tipos de Fumonisinas agrupadas en cuatro categorías, las más conocidas son la FB1, FB2 y FB3, de las cuales la FB1 es la más tóxica y representa aproximadamente el 70% de la Fumonisina total (Torres y López, 2010).

Las Fumonisinas más abundantes de incidencia natural son las del grupo B, derivadas la mayoría de cepas con *Fusarium verticillioides*. Las Fumonisinas del tipo B (Figura 11), contienen un esqueleto lineal de 20 carbonos, con un amino en el C-2 y residuos de ácido tricarbóxico esterificados en C-14 y C-15, estos compuestos difieren por la presencia o la ausencia de un grupo hidroxilo en los C-5 y C-10 (Martínez y Anadón, 2009).



	R1	R2
Fumonisina B1	OH	OH
Fumonisina B2	OH	H
Fumonisina B3	H	OH

Figura 11. Estructura química de las Fumonisinas del Grupo B (De la Torre *et al.*, 2014).

Marasas (1995), menciona que las Fumonisinias son conocidas por causar la leucoencefalomalacia en equinos y conejos, edema pulmonar e hidrotórax en cerdos, hemorragia cerebral en conejos, cáncer renal en ratas. Las Fumonisinias producen toxicidad de leve a grave en el hígado, el riñón y el corazón en caballos cerdos, ganado vacuno, pollos, patos, conejos y ratones. La FB1 en los cereales se asoció con la incidencia de una alta tasa de cáncer de esófago en humanos en África, norte de Italia, Irán y el sureste de Estados Unidos (Moreno *et al.*, 2016).

La Agencia Internacional para las Investigaciones del Cáncer (IARC), evaluó a las Fumonisinias como posiblemente carcinogénica para el ser humano, basados en evidencias suficientes de cáncer de hígado y esófago (Bolet y Socarras, 2005) La Unión Europea (2006), estableció los límites máximos de Fumonisinias en maíz no procesado de 4 ppm para maíz y alimentos destinados para consumo humano de 1 ppm, en cereales para desayuno a base de maíz y aperitivos de maíz de 0.8 ppm y en alimentos a base de maíz para bebés y niños pequeños de 0.2 ppm. Se ha propuesto 5 miligramos por kilogramo para proteger a los animales más susceptibles, como los caballos y 50 miligramos por kilogramo para cerdos.

#### 2.5.4. Las Zearalenonas.

La Zearalenona fue aislada por primera vez en 1962 a partir de maíz infectado con *Fusarium*, es una micotoxina fitoestrogénica, es originada principalmente por diversas especies de *Fusarium* tales como *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum* y *Fusarium sporotrichioides* responsables de los efectos estrogénicos comúnmente encontrados en animales de granja (Martínez y Anadón, 2009).

Estos hongos se han encontrado en todos los continentes especialmente en regiones templadas en cultivos de cereales como maíz y trigo, el crecimiento del hongo y la producción de Zearalenona son dependientes de las condiciones climáticas y del manejo de los cultivos, así como de las etapas de transportación, almacenamiento y procesamiento. La Zearalenona es un compuesto estable a altas temperaturas, no se degrada durante la etapa de cocción o procesamiento

de alimentos, persiste a la congelación a  $-15^{\circ}\text{C}$ . Temperaturas por debajo de  $10^{\circ}\text{C}$  y humedad menor del 33%, son condiciones favorables para la estabilidad de la producción de Zearalenona (Castillo y Durán, 2005).

Químicamente la Zearalenona (Figura 12), es una lactona del ácido resorcílico, biológicamente se puede considerar como un "estrógeno xenobiótico", es decir, una sustancia que tiene la capacidad de actuar sobre los receptores estrogénicos en los tejidos animales o humanos, produciendo una respuesta similar a la de las hormonas que existen en el organismo (Godoy, 2006). Al parecer la Zearalenona sufre un doblez en su estructura que permite que el grupo hidroxilo se oriente adecuadamente para facilitar el enlace con los receptores de los estrógenos (Espíndola, 2006).

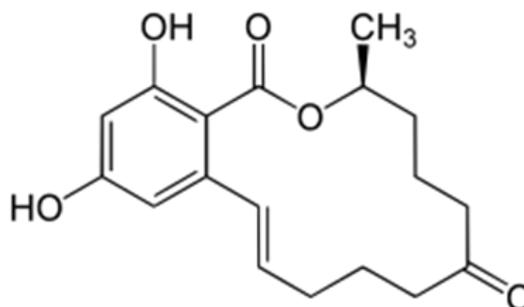


Figura 12. Estructura química de la Zearalenona (Carrillo y Gómez, 2007).

Los efectos tóxicos más importantes de esta toxina se deben a su acción sobre los receptores estrogénicos, que si son estimulados en exceso dan lugar a hiperestrogenismo, con consecuencias dañinas para el sistema reproductivo (Godoy, 2006). La exposición a maíz contaminado con Zearalenona ha ocasionado producción de estrógenos (hiperestrogenismo) en animales particularmente en las cerdas, caracterizado por vulvovaginitis, mastitis e infertilidad (Gimeno y Martins, 2011).

La Unión Europea (2006) ha establecido los límites máximos de Zearalenona de  $100\ \mu\text{g}/\text{kg}$  para cereales no procesados, para maíz no procesado de  $350\ \mu\text{g}/\text{kg}$ , para cereales destinados al consumo humano de  $75\ \mu\text{g}/\text{kg}$ , para aceite de maíz de  $400\ \mu\text{g}/\text{kg}$ , para pan, galletas, pasteles y cereales de desayuno de  $50\ \mu\text{g}/\text{kg}$ , para alimentos destinados a base de cereales para bebés y niños pequeños  $20$

µg/kg, Maíz destinado al consumo humano directo, aperitivos de maíz y cereales para el desayuno a base de maíz de 100 µg/kg.

La FDA establece las siguientes recomendaciones para Zearalenona, raciones de origen vegetal 100 µg/kg, raciones completas para bovinos, porcinos y otros animales de granja 100 µg/kg, raciones completas para bovinos jóvenes, porcinos jóvenes y otros animales de granja jóvenes 50 µg/kg, raciones complementarias para bovinos, porcinos y otros animales de granja 200 µg/kg, raciones complementarias para bovinos jóvenes, porcinos jóvenes y otros animales de granja jóvenes 50 µg/kg (FAO, 2003).

#### 2.5.5. Tricotecenos.

Los Tricotecenos comprenden un grupo de más de 150 metabolitos secundarios fúngicos con la misma estructura básica, existen varios géneros de hongos que son capaces de producir Tricotecenos, pero la mayoría de ellos han sido aislados de especies de *Fusarium* (Moreno *et al.*, 2016). Las principales especies de hongos que producen Tricotecenos son *Fusarium nivale*, *Fusarium roseum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium solani*, *Fusarium culmorum* y *Fusarium poae* (Serrano y Cardona, 2015).

Los Tricotecenos han sido clasificados en dos grandes grupos: el grupo A, que incluye la toxina T-2 y la toxina HT-2 y el grupo B, que incluye al Deoxinivalenol, Nivalenol y Fusarenona X. Los Tricotecenos se encuentran generalmente en cereales como maíz, trigo, cebada, avena, arroz y soya (Méndez y Moreno, 2009).

Los Tricotecenos son estables al calor y no se degradan durante la cocción de los alimentos o tratamientos en autoclave. También son estables a pH neutro y ácido, en consecuencia, no se hidrolizan en el estómago después de la ingestión. El grado de la infección depende de varios factores, por ejemplo las condiciones del clima, alta humedad y temperatura de 6-24 °C y las condiciones de almacenamiento de los cultivos de los cereales (Moreno *et al.*, 2016).

Los Tricotecenos son sesquiterpenos caracterizados químicamente por un doble enlace entre los carbonos 9 y 10 y un grupo epóxido entre los carbonos 12 y 13,

que confiere a la molécula una gran estabilidad frente a nucleófilos (Figura 13). Su mecanismo de acción es la inhibición de la síntesis proteica, seguida de una interrupción secundaria de la síntesis de ADN y ARN (Domínguez, 2005).

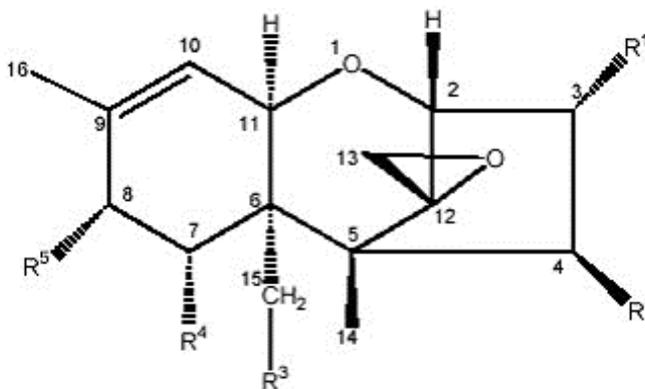


Figura 13. Estructura química de los Tricotecenos de tipo A y B (Gómez, 2008).

El primer caso de intoxicación por Tricotecenos fue en la URRS durante 1932, en la cual se identificaron necrosis y alteraciones epiteliales por aleucia toxica alimentaria (Peraica *et al.*, 2000). La exposición a ciertas micotoxinas Tricotecenos como Deoxinivalenol y la toxina T2 se ha asociado principalmente a aleucia tóxica alimentaria (ATA), se trata de una intoxicación caracterizada por inflamación de la piel, vómitos y daño a los tejidos hematopoyéticos (Pintón y Oswald, 2014). La toxicidad de los Tricotecenos es caracterizada por alteraciones gastrointestinales como vómito y diarrea, además este grupo de micotoxinas son extremadamente tóxicas a nivel celular y altamente inmunosupresoras (Gimeno y Martins, 2011). La Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer identificó al Deoxinivalenol, al Nivalenol y a la Fusarenona X en el grupo 3 como no cancerígenas en humanos. El nivel máximo admisible de toxina T-2 y HT-2 es 100 y 25-100 mg/kg respectivamente (Sanchis *et al.*, 2000).

Debido a su importancia a continuación se detallan algunos aspectos de uno de los principales Tricotecenos, el Deoxinivalenol.

#### 2.5.6. Deoxinivalenol.

El Deoxinivalenol (DON), muy conocido por el nombre de vomitoxina, es una micotoxina perteneciente al grupo de los Tricotecenos, producido por diversos

hongos del género *Fusarium*, como *Fusarium graminearum* y *Fusarium culmorum*, los cultivos más sensibles a la presencia de estos hongos son el trigo y el maíz (Mendoza *et al.*, 2014). A pesar de que el Deoxinivalenol no es tan tóxico como otros Tricotecenos como las toxinas T-2 o HT-2, esta micotoxina es uno de los contaminantes más comunes de los cereales en todo el mundo (Ramos *et al.*, 2013).

El Deoxinivalenol es uno de los 150 compuestos conocidos como Tricotecenos, frecuentemente se detectan cantidades significativas de esta toxina en maíz, avena, cebada y trigo, mientras que los niveles más bajos generalmente están asociados a cultivos como el triticale, centeno, sorgo y arroz (Méndez y Moreno, 2009).

El Deoxinivalenol está clasificado como Tricoteceno tipo B, químicamente (Figura 14) es un epoxi-sesquiterpenoide, con un peso molecular de  $296.3 \text{ gmol}^{-1}$  (Sosa *et al.*, 2017). Es térmicamente estable hasta  $180 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , por tanto es difícil de eliminar una vez formado en los cereales, sin embargo es soluble en agua y puede eliminarse una cantidad considerable en los procesos que involucran el lavado (Méndez y Moreno, 2009). DON pertenece a la familia de los Tricotecenos, que tienen en común un núcleo de 12,13 epoxy tricoteceno, el cual es responsable de la toxicidad de dichas sustancias, debida a la capacidad de inhibir la biosíntesis de proteínas a nivel ribosomal (Godoy, 2009).

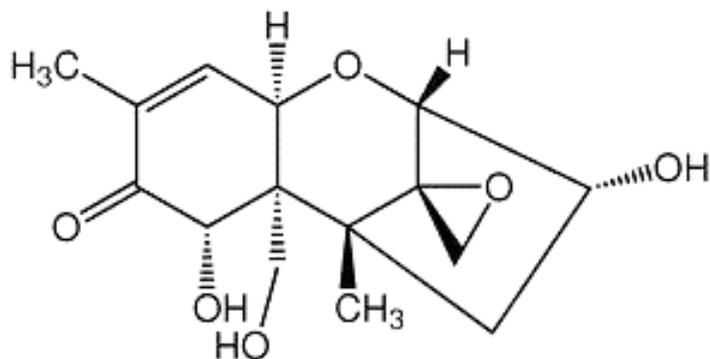


Figura 14. Estructura química de Deoxinivalenol (Sosa, *et al.*, 2017).

Los principales efectos tóxicos del DON son inmunosupresión, dolor abdominal, aumento en la salivación, diarrea, vómito y anorexia en los animales, en humanos

causa vómito, mareos, náuseas y dolor de cabeza (Moreno *et al.*, 2016). En animales, las altas dosis de DON producen rechazo del alimento, disminución del peso corporal, alteraciones inmunológicas, irritación dérmica y gastrointestinal, a bajas concentraciones en la dieta ocasiona anorexia y reduce el crecimiento. El principal síndrome que provoca es el gastroentérico, el órgano afectado es el aparato digestivo (Petska, 2007; Gimeno y Martins, 2011).

En general, las normas existentes en los distintos países tendientes a regular los niveles máximos permitidos de DON en los alimentos humanos o animales son mucho menos estrictas que las que se han establecido para las Aflatoxinas, debido a la ausencia de efectos mutagénicos o cancerígenos (Godoy, 2006). La agencia internacional para la búsqueda del cáncer IARC en 1993 clasificó a DON en la categoría 3, como no cancerígena para humanos (López, 2013; Sosa *et al.*, 2017).

La Unión Europea (2006) ha establecido los límites máximos de DON de 1.25 ppm para cereales no procesados, 1.75 ppm para trigo duro, avenas no procesadas y maíz no procesado, 0.75 ppm en cereales para consumo humano y pastas, 0.5 ppm para pan, pasteles, galletas, cereales para desayuno y 0.2 ppm en alimentos a base de cereales para bebés y niños pequeños.

La FDA establece límites máximos para consumo animal, en el caso de granos y productos de granos destinados para la vacas y el ganado mayor de cuatro meses, así como pollos con la recomendación que no exceda el 50 % de la dieta para el ganado y los pollos de 10000 ppb, para granos y productos de granos destinados para cerdos con la recomendación que no exceda el 20 % de la dieta 5000 ppb, para granos y productos de granos destinados para todos los demás animales con la recomendación que no exceda el 40 % de la dieta 5000 ppb (FAO, 2003).

#### 2.5.7. Ocratoxinas.

Otro grupo de micotoxinas que pueden contaminar el maíz en determinadas regiones del mundo son las Ocratoxinas, producidas por algunas especies de hongos de campo o de almacenamiento (Godoy, 2006). Las Ocratoxinas son

producidas por las especies *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus cretensis*, *Aspergillus clerotiorum*, *Penicillium verrucosum* y *Penicillium viridicatum* (Ravelo *et al.*, 2011). Estas micotoxinas se encuentran comúnmente presentes en los cereales como trigo, maíz, cebada, sorgo, arroz, avena y centeno; además el café, pan, uvas frescas y secas, vino, cerveza, cacao, así como en todo tipo de productos de origen animal (Moreno *et al.*, 2016).

Las Ocratoxinas son un grupo de compuestos químicos no favorables para la salud del hombre y animales, su consumo se asocia a numerosos daños y enfermedades. Se han descrito cinco tipos de ocratoxinas: A, B, C,  $\alpha$  y  $\beta$ , siendo la más tóxica la Ocratoxina A (OTA), además de ser la más frecuente, abundante importante de las toxinas de este grupo (Araguas *et al.*, 2005; Serrano y Cardona, 2015). El primer reporte de ocurrencia natural de Ocratoxina A fue en una muestra de maíz procedente de EE. UU (Bolet y Socarrás, 2005).

La Ocratoxina A, es una micotoxina producida por el metabolismo secundario de algunas especies de hongos filamentosos pertenecientes a los géneros, *Aspergillus* y *Penicillium* (Koury y Atouri, 2010). Las principales especies productoras de esta micotoxina son *Aspergillus ochraceus* y *Penicillium verrucosum*, con promedios óptimos de humedad 95 a 99% y con temperatura de 24 °C producen Ocratoxina A.

La Ocratoxina A, químicamente (Figura 15), consiste en un grupo de dihidroumarina derivada de policétidos enlazados a través del grupo 12 carboxil con la fenilalanina. Las Ocratoxinas, son moléculas moderadamente estables y por tanto suelen resistir la mayoría de los procesos de elaboración de los alimentos (Castillo y Durán, 2005).

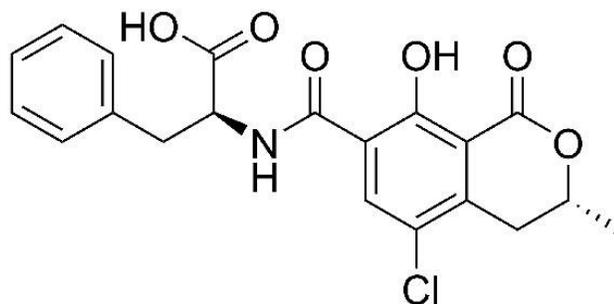


Figura 15. Estructura química de la Ocratoxina A (Ravelo *et al.*, 2011).

Esta micotoxina es soluble en disolvente orgánico y ligeramente soluble en agua, es absorbida en el tracto digestivo, especialmente en el intestino delgado y de ahí es transportada a través de la sangre, principalmente a los riñones y en una menor concentración se deposita en el hígado, en músculos y en grasa (Serrano y Cardona, 2015).

La ingesta de estas toxinas provoca efectos nefrotóxicos, inmunosupresores, genotóxicos, carcinogénicos y teratogénicos. La OTA es una potente toxina que afecta principalmente el riñón y el hígado, que puede producir tanto daños agudos como crónicos; es teratogénica y embriotóxica en roedores así como en pollos, ocasiona efectos inmunosupresores en mamíferos. En humanos se ha demostrado la presencia de nefropatía y tumores en hígado y riñón. La Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC) clasificó a la Ocratoxina A en el grupo 2B, como una sustancia posiblemente cancerígena en humanos (Castillo

y Durán 2005; Godoy, 2009; Gimeno y Martins, 2011; Moreno *et al.*, 2016)

Los Estados Unidos y la Comisión Europea (2006) establecieron un límite máximo de tolerancia de 5 microgramos por kilogramo para los cereales no destinados al consumo humano; 3 microgramos por kilogramo para los destinados al consumo humano; 3 microgramos por kilogramo para los granos de café tostado; 10 para el vino procedente de frutos deshidratados; 2 para los granos de cacao; 0.5 para el vino de mesa y los jugos de uva, y 0.2 microgramos por kilogramo para la cerveza.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación que consiste en la detección de micotoxinas en grano de poblaciones criollas de maíces mexicanos, se realizó en 2 etapas: 1) La etapa de campo que consistió en el muestreo de poblaciones criollas de maíces mexicanos, 2) La etapa de laboratorio, donde se cubrieron análisis de: a) Caracterización morfométrica de poblaciones de maíces mexicanos, b) Evaluación de calidad fisiológica de las poblaciones de maíz, c) Determinación de la biodiversidad de hongos fitopatógenos, d) Detección y cuantificación de hongos fitopatógenos potencialmente toxigénicos en grano de maíz, e) Determinación de los niveles de contaminación por micotoxinas, f) Asociación multivariada de los parámetros evaluados, entre las poblaciones de los maíces mexicanos.

### 3.1. Etapa de campo.

El muestreo se llevó a cabo en municipios de los estados de México y Tlaxcala, donde se contactaron agricultores cooperantes y se dio seguimiento al desarrollo del cultivo del maíz de poblaciones de maíces mexicanos en el ciclo Primavera-Verano del año 2016.

Para lograrlo se realizó una capacitación en el Laboratorio de Geomática del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) ubicado en el municipio de Zinacantepec, Estado de México, donde se realizó un itinerario para contactar agricultores cooperantes, en dicho itinerario se estableció la georreferenciación de áreas ecológicas de los puntos muestreados en comunidades del Estado de México y Tlaxcala. La georreferenciación se realizó con equipos GPS y la información fue descargada en un Sistema de Información Geográfica ArcGis® versión 10.3 (ESRI, 2016) que sirvió de apoyo para establecer rutas de acceso para minimizar tiempo, costos del recorrido y la generación de mapas.

Durante el recorrido se utilizó transporte terrestre otorgado por el Laboratorio de Geomática del INIFAP, en dicho recorrido se pudo contactar y ubicar parcelas de

productores, de igual manera conocer el tipo de poblaciones de maíz que se cultivan, fecha de siembra y cosecha, de esta forma obtener información previa para realizar el muestreo.

Los productores cooperantes se ubican en los municipios de Villa Victoria, Ocotiltepec y Jocotitlán del estado de México el cual fueron georreferenciadas sus parcelas durante un primer recorrido previo al muestreo. En el estado de Tlaxcala los municipios donde se contactaron productores cooperantes fueron Apizaco, Tocatlán y Huamantla (Cuadro 1).

Cuadro 1. Padrón de productores de los Estados de México y Tlaxcala.

Productor	Municipio	Georreferenciación			Clima*		
		Latitud	Longitud	Alt	PAA	TMA	HRA
		00°00'00"	00°00'00"	msnm	mm	°C	%
Benjamín García Álvarez	Ocotiltepec <sup>1</sup>	19° 22' 34"	97° 59' 49"	2605	948.9	13.3	73.6
Crescencio Madrid Romero	Ocotiltepec <sup>1</sup>	19° 26' 41"	99° 33' 41"	2525	948.9	13.3	73.6
Job castaño Arriaga	Ocotiltepec <sup>1</sup>	19° 26' 25"	99° 33' 33"	2606	948.9	13.3	73.6
Alejandro Díaz Maya	Ocotiltepec <sup>1</sup>	19° 26' 57"	99° 32' 53"	2598	948.9	13.3	73.6
Refugio García Álvarez	Ocotiltepec <sup>1</sup>	19° 26' 23"	99° 31' 62"	2608	948.9	13.3	73.6
Rómulo Ruiz Rivera	Villa Victoria <sup>1</sup>	19° 19' 52"	99° 57' 45"	2743	937.3	12.7	70.2
Martha Álvarez Galicia	Villa Victoria <sup>1</sup>	19° 19' 33"	99° 58' 05"	2734	937.3	12.7	70.2
Graciano Cruz Olmos	Jocotitlán <sup>1</sup>	19° 38' 34"	99° 43' 58"	2553	783.0	12.9	65.9
Daniel Gerónimo Urbina	Jocotitlán <sup>1</sup>	19° 44' 34"	99° 51' 55"	2541	783.0	12.9	65.9
Martin Hernández Avendaño	Tocatlán <sup>2</sup>	19° 22' 34"	97° 59' 49"	2541	706.1	15.1	62.1
Apolinar Rodríguez Cortez	Apizaco <sup>2</sup>	19° 25' 54"	98° 04' 32"	2430	809.1	13.9	63.1
Gabriel Gutiérrez López	Huamantla <sup>2</sup>	19° 21' 43"	97° 52' 11"	2432	619.7	13.5	63.5
Leobardo Rodríguez Avendaño	Tocatlán <sup>2</sup>	19° 22' 34"	97° 59' 49"	2510	706.1	15.1	62.1

<sup>1</sup> = Estado de México, <sup>2</sup>= Tlaxcala, Alt=altitud, msnm=Metros sobre el nivel del mar, mm=Milímetros, PAA=Precipitación Acumulada Anual, TMA=Temperatura Media Anual, HRA.=Humedad Relativa Media Anual, \*=Datos climatológicos históricos 1981-2016 (INIFAP, 2017; Servicio Meteorológico Nacional, 2017).

El perfil de los productores son de una edad promedio de 60 años, ejidatarios, con estudios de primaria incompleta en su mayoría, siembran maíces nativos desde hace aproximadamente 45 años, actividad heredada de sus padres; sus parcelas son en promedio de 2 a 3 hecteras por productor, las cuales son sembradas en la modalidad de temporal, utilizan tecnología tradicional, la época de siembra es de Abril-Mayo y cosechan en Noviembre-Diciembre, dependiendo

de la raza de maiz que cada productor cultive. Dichos productores utilizan el grano de maiz para autoconsumo, principalmente en la elaboracion de especialidades como tortillas, tamales, tacos, tlacoyos, elotes, entre otros; el grano es utilizado también en la alimentacion del ganado asi como el forraje. Algunos productores aprovechan las mazorcas y el totomoxtle para elaborar artesanias que son vendidas en el mercado local. Los productores seleccionan su semilla de la misma cosecha para ser utilizada para la siembra en el siguiente ciclo agricola.

### 3.1.1. Muestreo en parcelas.

En las parcelas se cosecharon 40 mazorcas de plantas con competencia completa en el centro de la parcela; éstas se colocaron en arpillas debidamente etiquetadas, protegiéndolas de plagas como gorgojos y roedores. De las 40 mazorcas obtenidas, 20 mazorcas se utilizaron para la caracterización morfométrica y 20 más para el análisis microbiológico y pruebas de calidad fisiológica.

En total se colectaron 21 poblaciones (muestras) de maíces mexicanos (Figura 16); de las cuales 16 colectas son provenientes del Estado de México y 5 de Tlaxcala. Estas fueron trasladadas desde el municipio de Toluca, México al Banco Nacional de Germoplasma de los Productores de Maíz de México (BNGPMM) de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” (UAAAN) campus Saltillo.

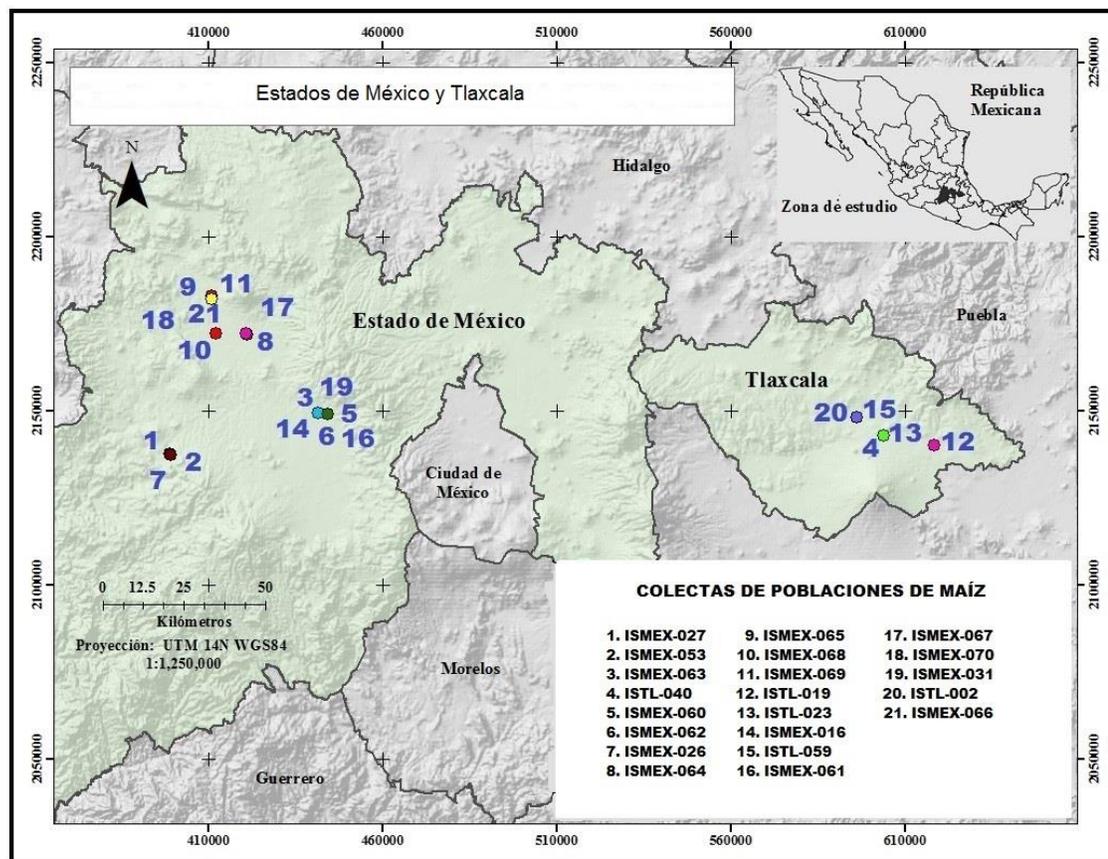


Figura 16. Zona de estudio y localización de las muestras de 21 poblaciones de maíz en el Estado de Mexico y Tlaxcala.

### 3.2. Etapa de laboratorio.

Una vez recibidas las muestras en el BNGPMM, éstas fueron sometidas al proceso de secado natural (asoleadero) hasta alcanzar el contenido de humedad en un rango de 8 a 13% para su manejo posterior y análisis. La etapa de laboratorio consistió en realizar pruebas analizando las poblaciones colectadas, tales pruebas incluyeron: a) Caracterizar morfométricamente las poblaciones de maíces criollos, b) Analizar la calidad fisiológica de la semilla de dichas poblaciones, c) Pruebas para detectar y cuantificar hongos fitopatógenos en semilla/grano, d) Extracción y cuantificación de micotoxinas. El trabajo de caracterización de las poblaciones de maíz se llevó a cabo en el BNGPMM; el trabajo relacionado con microbiología, pruebas fisiológicas y detección de micotoxinas se realizó en los laboratorios de ensayos de semillas del Centro de

Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS), de la UAAAN campus Saltillo.

### 3.2.1. Caracterización morfométrica de poblaciones criollas de maíces mexicanos.

Las variables que se utilizaron para la caracterización morfológica de las 21 poblaciones de maíces mexicanos colectadas, se clasificaron en cualitativas y cuantitativas, determinadas en 20 mazorcas por población de maíz. La caracterización permitió identificar el nivel de diversidad morfológica y los tipos de maíces en ciertas áreas agrícolas, tomando en cuenta características morfológicas de mazorcas y granos (Cruz, 2012). La caracterización de mazorca y grano se midió de acuerdo los descriptores para maíz de la *International Board for Plant Genetic Resources* (IBPGR, 1991); la Guía Técnica para la Descripción Varietal SNICS (SAGARPA, 2009) y el Manual Gráfico para la Descripción Varietal de Maíz (SNICS-CP, 2009).

#### 3.2.1.1. Variables cualitativas analizadas

Para la evaluación de los caracteres cualitativos se tomó una muestra de 20 mazorcas de cada una de las 21 poblaciones, donde se consideraron las siguientes variables.

Tipo de grano: Harinoso, semiharinoso, dentado, semidentado, cristalino, semicristalino, dulce, reventador, opaco-2, ceroso.

Forma de la superficie del grano: Contraída, dentado, plano, redondo, puntiagudo, muy puntiagudo.

Color de grano: Blanco, amarillo, anaranjado, rosado, morado, azul, rojo, moteado, capa blanca, negro.

Forma de la mazorca: De acuerdo a la clasificación, cónica, cónica- cilíndrica, cilíndrica, esférica.

Disposición de hileras: Regular, irregular, densa, en espiral.

Color de olote: Blanco, rojo, guinda, morado, café, jaspeado.

### 3.2.1.2. Variables cuantitativas analizadas.

Las variables cuantitativas, se presentan en el (Cuadro 2), dichos caracteres han sido utilizados como criterio de reconocimiento, descripción y clasificación de razas de maíz en previos trabajos de identificación de las mismas (Sánchez *et al.*, 1993).

Cuadro 2. Características cuantitativas evaluadas en las 21 poblaciones de maíz.

Número	Característica	Clave	Unidades
1	Longitud de mazorca	LM	cm
2	Diámetro de mazorca	DM	cm
3	Diámetro de raquis	DR	cm
4	Número de hileras	N.H.	
5	Número de granos por hilera	NGPH	
6	Peso de mazorca al 10% de humedad	M10%H	g
7	Peso de grano al 10% de humedad	G10%H	g
8	Diámetro de olote	D.O.	cm
9	Longitud de grano	L.G.	mm
10	Ancho de grano	A.G.	mm
11	Grosor de grano	G.G.	mm
12	Relación AG/LG	AG/LG	
13	Relación GG/LG	GG/LG	
14	Relación GG/AG	GG/AG	
15	Peso de 100 granos	P100G	g
16	Volumen de 100 granos	V100G	cc
17	Relación peso/volumen	RPV	g/cc
18	Factor de desgrane	F.D	%

A continuación se describe como se caracterizó cada variable cuantitativa que se utilizó en este estudio.

Longitud de la mazorca. Se midió la longitud de la mazorca desde la base hasta el ápice, en la medición se utilizó un vernier, la longitud fue reportada en centímetros (cm).

Diámetro de la mazorca. Se midió la parte media de la mazorca utilizando el vernier, la medición del diámetro se reporta en centímetros (cm).

Diámetro del olote. Se desgranó cada mazorca y se midió la parte media del olote, utilizando para ello un vernier y se reportó la medición del diámetro en centímetros (cm).

Diámetro del raquis. Después que la mazorca fue desgranada por completo, se partió el olote en la parte media y se midió el raquis utilizando un vernier y la medición se reportó en centímetros (cm).

Número de hileras en la mazorca. De la mazorca se contó el número de hileras de granos en la parte media, realizando el conteo de manera visual.

Número de granos por hilera. Se contó el número de granos por hilera desde la base hasta el ápice de cada mazorca, realizando el conteo de manera visual.

Peso de mazorca. Se realizó el peso de la mazorca en una báscula granataria, colocando las 20 mazorcas en una cubeta y realizando la tara correspondiente, el peso se reportó en gramos (g).

Peso de 100 granos. Se colocaron los 100 granos en un vaso de plástico, se realizó la tara en una báscula granataria y se determinó el peso, fue reportado en gramos (g).

Volumen de 100 granos. Se introdujeron los 100 granos de cada población de maíz en una probeta y se obtuvo su volumen, se reportó el volumen en centímetros cúbicos (cc).

Contenido de humedad. Se tomó la humedad del grano de las 20 mazorcas de cada población de maíz con un aparato determinador de humedad Dickey-John®, se reportó el contenido de humedad en porcentaje (%).

Dimensiones del grano. De los 100 granos, se tomaron 10 granos al azar, se les midió la Longitud (L), Ancho (A) y Grosor (G) del grano expresado en (mm), la medición se realizó con una regla graduada con centímetros (cm) y milímetros (mm) de 30 cm. Posteriormente se obtuvo la relación: L/A, L/G, A/G.

### 3.2.2. Análisis de calidad fisiológica.

Estas pruebas se realizaron en el Laboratorio de Ensayo de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS) de la UAAAN campus Saltillo. El análisis constó de dos pruebas fisiológicas estandarizadas, la de germinación y la de vigor (ISTA, 2009).

En la prueba de germinación, se preparó una muestra de 100 semillas por población para establecer cuatro repeticiones de 25 semillas cada una, que

consistió en sembrar las semillas en toallas de papel para germinación marca anchor®, las cuales se enrollan en forma de taco y se colocan en bolsas de plástico dispuestas conjuntamente en la cámara de germinación Lab-Line®, con temperaturas de 25°C durante siete días, realizando el conteo al séptimo día transformando en porcentajes a las siguientes variables: Germinación de Plántulas Normales (GPN), Germinación de Plántulas Anormales (GPA) y Semillas Sin Germinar (SSG).

Para la prueba de vigor, se utilizaron tres repeticiones de 25 semillas de las cuales se ocuparon 10 plántulas normales por repetición donde se midieron las variables de: Longitud de Plúmula (LP), Longitud de Radícula (LR) y fueron registradas en centímetros medidas con una regla graduada tipo Vernier. El Peso Seco (PS) fue obtenido de la plúmula y radícula de 10 plántulas normales que fueron introducidas en bolsas de papel y se colocaron en un horno de secado Felisa® modelo 292A a 70°C por 24 horas, posteriormente se utilizó un homogenizador de humedad marca Pimsa® y se reportó el PS en miligramos/plántulas (mg/pl).

### 3.2.3. Determinación de la biodiversidad de hongos fitopatógenos en la semilla/grano de maíz.

La biodiversidad de hongos fitopatógenos infectantes de la semilla/grano de maíz se determinó utilizando la prueba de papel secante y congelación (Warham *et al.*, 1999).

La prueba de papel secante y congelación, consistió en desinfectar 200 semillas previamente con hipoclorito de sodio y se enjuagaron con agua destilada estéril y secaron sobre toallas de papel estériles; después se colocaron en una caja de plástico transparente 50 semillas sobre dos capas de papel secante húmedas y se selló con *parafilm*, de la cual se realizaron 4 repeticiones; se incubaron las cajas a una temperatura de 25 °C con periodos de 12 horas con luz cercana a la luz ultravioleta y 12 horas de oscuridad, seguido de un periodo de incubación a - 18 °C por 24 horas, transcurrido el tiempo de congelación se sacaron las cajas y

se colocaron en una incubadora con las mismas condiciones del primer periodo de incubación durante 11 días.

Las colonias de hongos fitopatógenos que crecieron en la prueba de papel secante y congelación se observaron mediante estereomicroscopio y microscopio compuesto, analizando cada grano en forma individual. Para la identificación de los géneros de hongos fitopatógenos que se desarrollaron en cada grano se utilizaron claves taxonómicas especializadas en la identificación de hongos (Barnett and Hunter, 1987; Burgess *et al.*, 1987, Warham *et al.*, 1999). Con dichas técnicas se determinaron las siguientes variables:

Número de géneros de hongos fitopatógenos. Es el promedio total de la incidencia de géneros de hongos fitopatógenos, que se detectaron en cada una de las repeticiones analizadas.

Número de géneros de hongos potencialmente toxigénicos. Es el promedio total de géneros que se han asociado con la producción de micotoxinas. El porcentaje de incidencia de hongos potencialmente toxigénicos, se tomó como base las semillas infectadas por cada repetición.

Número de especies de hongos fitopatógenos potencialmente toxigénicas. La identificación de especies hongos fitopatógenos reportados como potencialmente productores de micotoxinas fueron clasificados a nivel de especie. Para el género *Fusarium* se usaron claves taxonómicas para identificación de especies (Burgess, *et al.*, 1988), donde se enfatiza las siguientes características de identificación:

1. Forma de las macroconidias
2. Presencia o ausencia de las microconidias
3. Forma y modo de formación de las microconidias
4. Naturaleza de la célula conidiógena del cojinete de macroconidios
5. La presencia o ausencia de clamidosporas
6. Diámetro de la corona en PDA después de la incubación en oscuridad durante 3 días a 25 °C y 30 °C,
7. Diámetros de las colonias en PDA después de una incubación de 10 a 14 días.

De acuerdo a los resultados de incidencia en grano de especies de hongos toxigénicos detectados y las micotoxinas que potencialmente producen, se decidió detectar y cuantificar las siguientes micotoxinas: Fumonisin (FUM), Zearalenonas (ZON) y Deoxinivalenol (DON).

#### 3.2.4. Determinación de los niveles de contaminación por micotoxinas.

La detección y cuantificación de micotoxinas se realizó por el *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA); en la cuantificación de micotoxinas se ocupó el Kit AgraQuant® Romer Lab, que es un ensayo directo ligado a enzimas competitivas de inmunoabsorción el cual determina en forma cuantitativa niveles para la presencia de micotoxinas en productos agroalimentarios como granos y otras materias primas.

Para la determinación de micotoxinas se incluyeron varios pasos, los cuales fueron la preparación de la muestra, la extracción, detección y cuantificación.

##### a) Preparación de la muestra

- Se utilizaron 20 mazorcas por población para el análisis micotoxicológico, dichas mazorcas fueron desgranadas y se tomó una muestra de trabajo de 1.5 kg.
- Se molió el grano utilizando una licuadora Oster®, se tamizó con una malla de cobre del número 20, hasta que el 75% pasó a través del tamiz, luego se mezcló manualmente y se obtuvo una muestra de 20 g.

##### b) Extracción

- Se dispuso 20 g de la muestra molida dentro de un vaso, se agregó 100 ml de agua destilada. Las muestras se extrajeron en una proporción de muestras a solución de extracción de 1.5 (p:v) respectivamente, que fueron (20 g/100 ml de agua destilada)
- Se licuó durante 3 minutos, se dejó sedimentar la muestra y el sobrenadante se filtró a través de un filtro de papel Whatman #1 colocado en un embudo buchner dispuesto en un matraz Kitazato, conectados a una bomba de extracción eléctrica. Se colectó el filtrado en vasos de precipitado, posteriormente se dispuso el filtrado en frascos de plástico

debidamente identificados. Se le determinó el pH a los extractos para calibrarlos a un pH de 6-8 (condiciones de excesiva alcalinidad o acidez pueden afectar el resultado de la prueba).

- Se diluyó el extracto filtrado con agua destilada en una relación 1:4, se agregó 1 ml del extracto a 3 ml de agua destilada.
- La muestra estuvo lista para analizar sin otra preparación.
- Para la extracción de la muestra de Fumonisin y Zearalenona se utilizó metanol al 70 %, de ahí todo el procedimiento fue el mismo para ambas micotoxinas.

### c) Detección y cuantificación

1. Se prepararon 26 tiras de dilución (borde verde) en una gradilla correspondiendo cinco para los estándares (0, 0.25, 1.0, 2.5 y 5.0 ppm) y 21 para las muestras de maíz. Se colocaron un número igual con pocillos recubiertos con anticuerpos en una gradilla. 2. Se midió la cantidad necesaria de conjugado a partir de la botella con tapa verde (240 µl/pocillo o 2 ml/tira) se colocaron en un contenedor por separado. Se utilizó una micropipeta multicanal de 8 vías, se dispensaron 200 µl de conjugado dentro de cada pocillo con dilución con borde verde.

3. Empleando una pipeta monocal, se agregó 100 µl de cada patrón o muestra dentro del pocillo correspondiente de dilución apropiado, que contiene 200 µl de conjugado. Se utilizaron puntas nuevas para cada patrón o muestra. Con una pipeta multicanal de 8 vías se mezcló bien, pipeteando y liberando la mezcla 3 veces y se transfirió de inmediato 100 µl del contenido de cada pocillo de dilución a su correspondiente pocillo recubierto con anticuerpos. Se incubó a temperatura ambiente por 15 minutos.

4. Se vació el contenido de las tiras de pocillo en un contenedor para residuos, se lavó llenando cada pocillo de la solución de lavado y se vació la misma de los pocillos. Se repitió esta operación por 5 veces.

5. Se empalmaron varias capas de toallas de papel absorbente sobre una superficie plana y se sacudieron vigorosamente sobre ellas las tiras de pocillos a

fin de eliminar la mayor cantidad de solución de lavado residual tras cada lavado; se secó la base de los pocillos con un paño limpio y seco.

6. Se midió la cantidad necesaria de sustrato que fue la cantidad de 120  $\mu$ l/pocillo y se dispuso dentro de un contenedor separado. Se pipetearon 100  $\mu$ l del sustrato dentro de cada pocillo de la tira utilizando una pipeta multicanal de 8 vías. Se incubó a temperatura ambiente por 5 minutos, después de los cuales se generó un color azul del sustrato.

7. Se midió la cantidad necesaria de Stop a partir de la botella con tapa roja (120  $\mu$ l/pocillo o 1 ml/tira) y se dispuso dentro de un contenedor separado. Se pipeteó 100  $\mu$ l de solución stop dentro de cada pocillo de la tira utilizando una pipeta multicanal de 8 vías, produciendo un cambio de color de azul a amarillo.

8. Se leyeron las tiras con un lector de placas marca Biotek® modelo Elx808 utilizando un filtro de 450 nm y 630 nm. Se registraron los valores de densidades ópticas leídos para cada pocillo.

Interpretación de los resultados.

Utilizando los valores de Densidad Óptica (DO) sin modificar o los valores de DO expresados como un porcentaje del valor de DO del patrón cero (0), se construyó una curva de dosis-respuesta empleando los cinco patrones. Mientras que la concentración DON en cada patrón es conocida, las desconocidas pueden medirse por interpretación a partir de la curva de patrones. Los datos de absorbancia obtenidos fueron convertidos a partes por millón con la fórmula de Log/logit a partes por millón (ppm).

### 3.3. Análisis estadístico.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizaron varios procedimientos:

1. Análisis de Varianza (ANOVA), se determinó la variación que existe entre las poblaciones de maíces criollos en cuanto a las características morfométricas de mazorca y grano, variables de germinación y vigor, detección de géneros de hongos fitopatógenos, especies de hongos fitopatógenos potencialmente toxigénicas y niveles de contaminación por micotoxinas, se utilizó el paquete SAS

(2004) con un diseño completamente al azar (DCA) bajo el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

$Y_{ij}$  = Observación del  $i$ -ésimo tratamiento en la  $j$ -ésima repetición.

$\mu$  = Media general del carácter en estudio.

$t_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo tratamiento.

$\varepsilon_{ij}$  = Efecto del error experimental.

$i = 1, 2, \dots, t$  (tratamientos)

$j = 1, 2, \dots, r$  (repeticiones)

2. Se realizaron pruebas de comparaciones de medias con la prueba de Tukey al 5% de probabilidad de error.

3. Se realizó un análisis multivariado con Minitab 16 (2009) donde se analizaron las variables estudiadas de las poblaciones de maíz bajo los conceptos de:

a). Análisis de Conglomerados.

b) Análisis de Componentes Principales.

a). El Análisis de Conglomerados (AC), se realizó con el paquete computacional Minitab16 (2009), básicamente lo que el programa hace es una implementación del siguiente algoritmo.

1. Examina la matriz original ( $n \times p$ ) conformada por  $n$  poblaciones y  $p$  variables.
2. Estandariza la matriz de datos originales ( $n \times p$ ) con la siguiente fórmula para transformar los datos a distribución normal con media 0 y varianza 1

$$Z = \frac{(X - \bar{X})}{\sigma}$$

Donde:

$Z$  = Es la observación transformada a unidades de desviación estándar.

$X$  = Es el valor original a estandarizar.

$\bar{X}$  = Es la media de la variable original.

$\sigma$  = Es la desviación estándar de la variable original.

3. Estima la distancia euclidiana entre el par de poblaciones  $(i, j)$  con la siguiente fórmula.

$$E_{ij} = \left[ \sum_{k=1}^P (x_{ik} - x_{jk})^2 \right]^{1/2}$$

Donde:

$E_{ij}$  = Es la distancia entre la población  $i$  y la población  $j$ .

$x_{ik}$  = Es el valor de la  $k$ -ésima variable sobre la  $i$ -ésima población.

Lo que da por resultado una matriz de distancias euclidiana en forma de matriz simétrica donde solo se escriben los elementos que están debajo de la diagonal principal.

4. Con la matriz simétrica y utilizando el procedimiento jerárquico, donde una población colocada en un grupo no puede ser agrupada en un paso posterior. El método jerárquico utilizado fue el de enlace completo para la obtención del dendograma.
  5. Examina la matriz simétrica de distancias euclidianas donde agrupa el par de poblaciones  $(i, j)$  que son más similares y las une en un nuevo grupo.
  6. Forma una nueva matriz simétrica de distancias euclidiana para reflejar la supresión del par de poblaciones,  $i$  y  $j$ , que fueron unidos, enlazando la nueva población correspondiente al nuevo grupo hasta que las  $n$  poblaciones estén en un solo grupo, finalmente se obtiene el dendograma.
- b). El Análisis de Componentes Principales (ACP) es una técnica estadística que reduce el número de variables, evitando la menor cantidad de pérdida de información posible. En cuanto al análisis de componentes principales, Sánchez (1995) indica que el Análisis de Componentes Principales (ACP), consiste en transformar la serie de variables originales en un nuevo conjunto de variables no correlacionadas llamadas componentes principales. Esas nuevas variables son combinaciones lineales de las variables originales y se derivan en orden decreciente de importancia (varianza), de tal manera que el primer componente

principal es responsable de la mayor proporción posible de la variación con respecto a los datos originales.

Sea  $X$  una matriz de orden  $(n \times p)$ ,  $n$  poblaciones y  $p$  variables, de  $np$  observaciones correspondientes a los valores de  $p$  variables de cada una de  $n$  poblaciones de estudio. El ACP consiste en transformar un conjunto de variables  $x_1, x_2, \dots, x_p$  a un nuevo conjunto de variables  $y_1, y_2, \dots, y_p$ . Estas nuevas variables deben tener las propiedades siguientes.

1. Es una combinación lineal de las  $x$ 's. Por ejemplo, para el primer componente.  $Y_1 = a_{11}x_1 + a_{12}x_2 + \dots + a_{1p}x_p = a_1'x$ . Donde  $x = [x_1 \ x_2 \ \dots \ x_p]$  es el vector de valores muestrales de las variables originales, y  $a_{ij}$  es el valor del  $j$ -ésimo elemento del vector característico  $a_1$  asociado al valor característico más grande  $\lambda$
2. En forma matricial para todos los componentes,  $Y = XA$ , en donde  $Y$  es la matriz de orden  $n \times p$  de componentes principales;  $A$  = una matriz de orden  $p \times p$  de vectores característicos y  $X$  es la matriz de orden  $n \times p$  de observaciones.
3. La suma de cuadrados de los coeficientes  $a_{ij}$  para cada  $i$  ( $j=1, 2, \dots, p$ ) es la unidad.
4. De todas las posibles combinaciones,  $Y_1$  tiene la máxima varianza:  
 $\text{Var}(Y_1) > \text{Var}(Y_2) > \dots > \text{Var}(Y_p)$ .
5. Las  $Y$  no están correlacionadas, por lo que los componentes generados no están asociados entre si

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Características cualitativas de las poblaciones de maíces mexicanos.

Las características cualitativas como forma de la mazorca, tipo de grano, textura de grano y color de grano son importantes para la caracterización debido a que están muy relacionadas a la raza que pertenecen y al uso que se le da (Figueroa *et al.*, 2013; Fernández *et al.*, 2013). En el Cuadro 3 se presentan las características de las 21 poblaciones de maíz evaluadas.

Se observa que en la forma de la mazorca predomina la cónica, excepto en las poblaciones de la raza Cacahuacintle con forma cilíndrica-cónica; el tipo de grano harinoso o semiharinoso se presenta en las razas Cacahuacintle, Elotes Cónicos y Pepitilla, el tipo de grano cristalino se observa en los Palomeros, las poblaciones de Cónico presentaron gran diversidad en cuanto al tipo de grano; con respecto a esta característica Jiménez *et al.* (2015) indican que el endospermo está constituido por un 86 a 89% de almidón compuesto por amilosa de cadena lineal y amilopectina de cadena ramificada y señalan que los maíces con una proporción mayoritaria de amilosa son de textura harinosa o suave y cuando el tejido del endospermo contiene amilopectina en forma preponderante, la textura es cristalina o dura, además mencionan que existen texturas intermedias que pueden ser semiharinosas o semicristalinas, de acuerdo al contenido de uno u otro almidón.

En un estudio realizado por Vázquez y Santiago (2013) se reporta que en el grano de maíz Cacahuacintle se observa la presencia de un alto contenido de endospermo harinoso (80.6%) y nula la presencia de endospermo cristalino lo que demuestra la suavidad de los granos de este maíz.

En cuanto a la forma de la superficie del grano, las poblaciones de Cacahuacintle presentan forma redonda la cual contrasta con los Palomeros de forma puntiaguda. En las poblaciones de Cónico, Elotes Cónicos y Pepilla predominó la dentada. De acuerdo a la característica de color de grano (Cuadro 3), predominaron los de color blanco, amarillo y naranja, las poblaciones Elotes Cónicos y Pepitilla presentan granos negros o morados los cuales poseen

antocianinas y son utilizados en la elaboración de tortillas azules pigmentadas naturalmente (Aguilera *et al.*, 2011). Salinas *et al.*, (2008) mencionan que el color amarillo del grano de maíz es por la presencia de los carotenoides los cuales son pigmentos naturales solubles en grasa.

Cuadro 3. Características cualitativas de poblaciones de maíz

P	Raza	Forma de la Mazorca	Tipo de grano	Forma de la superficie	Color de grano
1	Cacahuacintle	Cilíndrica-Cónica	Harinoso	Redonda	Pinto
2	Cacahuacintle	Cilíndrica-Cónica	Harinoso	Redonda	Blanco
3	Cacahuacintle	Cilíndrica-Cónica	Harinoso	Redonda	Blanco
4	Cacahuacintle	Cilíndrica-Cónica	Semiharinoso	Redonda	Blanco
5	Cónico	Cónica	Semicristalino	Dentada	Amarillo
6	Cónico	Cónica	Dentado	Dentada	Blanco
7	Cónico	Cónica	Semiharinoso	Contraído	Blanco
8	Cónico	Cónica	Semicristalino	Dentado	Blanco
9	Cónico	Cónica	Cristalino	Dentada	Amarillo
10	Cónico	Cónica	Cristalino	Dentada	Naranja
11	Cónico	Cónica	Cristalino	Dentada	Amarillo
12	Cónico	Cónica	Semicristalino	Dentada	Blanco
13	Cónico	Cónica	Semicristalino	Dentada	Amarillo
14	Cónico x Chalqueño	Cónica	Dentado	Dentada	Blanco
15	Cónico x Pepitilla	Cónica	Semicristalino	Dentada	Rojo
16	Elotes Cónicos	Cónica	Semiharinoso	Dentada	Negro
17	Elotes Cónicos	Cónica	Semiharinoso	Dentada	Negro
18	Elotes Cónicos	Cilíndrica	Semiharinoso	Dentada	Negro
19	Palomero Toluqueño	Cónica	Cristalino	Puntiaguda	Blanco
20	Palomero	Cónica	Semicristalino	Puntiaguda	Blanco
21	Pepitilla	Cónica	Semiharinoso	Dentada	Morado

Dónde: P=Población.

#### 4.2. Características cuantitativas de las poblaciones de maíces mexicanos

En el análisis de las características cuantitativas se estudiaron 9 variables de mazorca y 9 de grano (Cuadro 4) las cuales son importantes para la evaluación de las características morfológicas de las poblaciones de maíz y determinar su variabilidad fenotípica (Pardey *et al.*, 2016).

Las primeras cuatro poblaciones corresponden a la raza Cacahuacintle sobresaliendo la población 2 por tener mayor LM (19.3 cm), AG (14.26 mm), GG (7.10 mm), P100G (79.85 g), V100G (151.0 cc) y solo fue superada por la población 3, en el peso de mazorca M10%H (252.62 g) y peso de grano G10%H (216.53 g).

Las poblaciones de la 5 a la 13 pertenecen a la raza Cónica, destaca la población 12 por presentar mejores características en cuanto a LG (17.2 mm), AG (8.29 mm), GG (5.09 mm), M10%H (247.18 g) y G10%H (223.22 g). De las dos mezclas de la raza Cónico, sobresale la población 14 (Cónico x Chalqueño) por presentar promedios altos para P100G (57.7 g) y V100G (79.25 cc) superando a la población 12 en estas variables.

Las poblaciones de la 16 a la 18 corresponden a la raza Elotes Cónicos, la 16 se diferenció del resto por presentar promedios bajos de LM (13.75 cm), DO (1.72 cm) y DR (0.89 cm), esta población estuvo sometida a condiciones de estrés en su lugar origen, con respecto a los resultados obtenidos en estas características Arellano *et al.* (2003) indican que la raza Elotes Cónicos es sensible a condiciones de sequía y temperatura lo cual influye en disminuir sus caracteres de rendimiento.

En la raza Palomero incluye las poblaciones 19 y 20, diferenciándose la 19 por presentar el mayor NH (17.5) y en las características de grano fueron las más bajas de todas las poblaciones LG (12.48 mm), AG (6.07 mm) y GG (4.20 mm) dando como consecuencia un bajo P100G (22.5 g) y V100G (30.65 cc).

La población 21 de la raza Pepitilla presentó características parecidas a la de Elotes Cónicos en LG (16.45 mm), P100G (44.15 g) y V100G (63.25 cc) sobresale además en F.D. (93.2%) siendo el segundo más alto.

Cuadro 4. Características cuantitativas de la mazorca y grano de las poblaciones de maíz.

P	LM (cm)	DM (cm)	DO (cm)	DR (cm)	NH	NGPH	LG (mm)	AG (mm)	GG (mm)	AG/ LG	GG/ LG	GG/ AG	P100G (g)	V100G (cc)	RPV (g/cc)	M10%H (g)	G10%H (g)	F.D. %
1	17.01	5.44	2.84	1.49	11.50	23.60	15.38	11.84	6.73	0.77	0.43	0.56	74.80	124.75	0.600	217.02	192.07	88.5
2	19.30	5.31	2.83	1.70	9.50	26.25	15.02	14.26	7.10	0.94	0.47	0.49	79.85	151.00	0.529	214.50	182.33	85.0
3	18.22	5.80	3.34	2.03	12.40	26.95	15.54	11.94	6.45	0.76	0.41	0.54	64.30	123.75	0.520	252.62	216.53	85.7
4	16.50	5.37	2.68	1.60	13.50	27.20	16.35	10.06	5.93	0.61	0.36	0.59	54.55	89.50	0.609	216.72	195.83	90.4
5	15.96	4.56	2.34	1.39	14.30	30.95	13.85	7.57	5.02	0.54	0.36	0.66	34.30	51.50	0.666	161.22	145.99	90.6
6	16.02	5.06	2.39	1.38	15.20	31.45	15.88	7.83	4.77	0.49	0.30	0.60	42.15	60.50	0.697	211.63	194.00	91.7
7	17.63	5.15	2.36	1.29	14.60	31.50	14.86	8.63	5.37	0.58	0.36	0.62	48.10	66.75	0.721	214.84	197.94	92.1
8	17.70	5.11	2.31	1.26	16.90	34.75	15.00	7.67	4.67	0.51	0.31	0.60	39.40	54.25	0.726	235.05	211.67	90.1
9	17.91	4.90	2.42	1.44	15.90	35.20	14.29	7.41	4.62	0.51	0.32	0.62	36.55	52.75	0.693	210.70	190.63	90.5
10	16.00	4.83	2.30	1.24	16.90	31.40	14.64	7.39	4.72	0.50	0.32	0.63	35.05	48.00	0.730	192.96	172.64	89.5
11	16.40	4.60	2.27	1.31	14.50	30.50	13.26	7.65	4.88	0.57	0.36	0.63	34.90	48.00	0.727	166.10	151.00	90.9
12	17.56	5.35	2.36	1.39	15.20	32.00	17.20	8.29	5.09	0.48	0.29	0.61	50.65	73.75	0.687	247.18	223.22	90.3
13	16.00	5.82	2.43	1.40	14.90	30.55	16.77	8.50	5.14	0.50	0.30	0.60	50.70	64.50	0.786	233.17	208.37	89.4
14	16.62	5.53	2.87	2.06	14.60	29.05	17.14	9.63	5.60	0.56	0.32	0.58	57.70	79.25	0.728	247.22	221.26	89.5
15	16.55	5.19	2.32	1.26	16.10	31.00	16.02	7.59	4.95	0.47	0.30	0.65	42.40	57.00	0.744	234.86	211.88	90.2
16	13.75	4.72	1.72	0.89	15.00	28.80	15.93	7.12	4.44	0.44	0.27	0.62	34.65	52.75	0.657	155.34	145.32	93.6
17	16.82	5.11	2.30	1.33	16.50	33.65	16.80	7.58	4.82	0.45	0.28	0.63	41.95	66.25	0.633	237.61	212.33	89.4
18	15.87	5.08	2.18	1.27	15.80	30.05	16.39	7.49	4.69	0.45	0.28	0.62	41.00	60.75	0.675	219.33	201.06	91.7
19	14.88	3.99	2.02	1.21	17.50	32.95	12.48	6.07	4.20	0.48	0.33	0.69	22.50	30.65	0.734	126.25	113.63	90.0
20	15.12	4.88	2.10	1.09	17.30	32.75	15.65	6.79	4.47	0.43	0.28	0.65	33.75	46.50	0.726	197.50	177.50	89.9
21	17.00	5.40	2.18	1.17	15.50	31.70	16.45	8.03	4.99	0.48	0.30	0.62	44.15	63.25	0.698	227.09	211.61	93.2

P= Población, LM= Longitud de Mazorca, DM= Diámetro de mazorca, DO= Diámetro de olote, DR= Diámetro de raquis, NH= Numero de hileras, NGPH= Numero de granos por hilera, LG= Largo de grano, AG= Ancho de grano, GG= Grosor de grano, P100G= Peso de 100 granos, V100G= Volumen de 100 granos, RPV= Relación peso volumen, cm= Centímetros, g= Gramos, cc= Centímetros cúbicos, M10%H= Peso de mazorca al 10% de humedad, G10%H= Peso de grano al 10% de humedad, F.D.= Factor de desgrane, es el porcentaje del peso de la mazorca que corresponde al grano.

La tipología de las 21 poblaciones de maíz y la raza a la que pertenecen se presentan en las Figuras de la 17 a la 20.

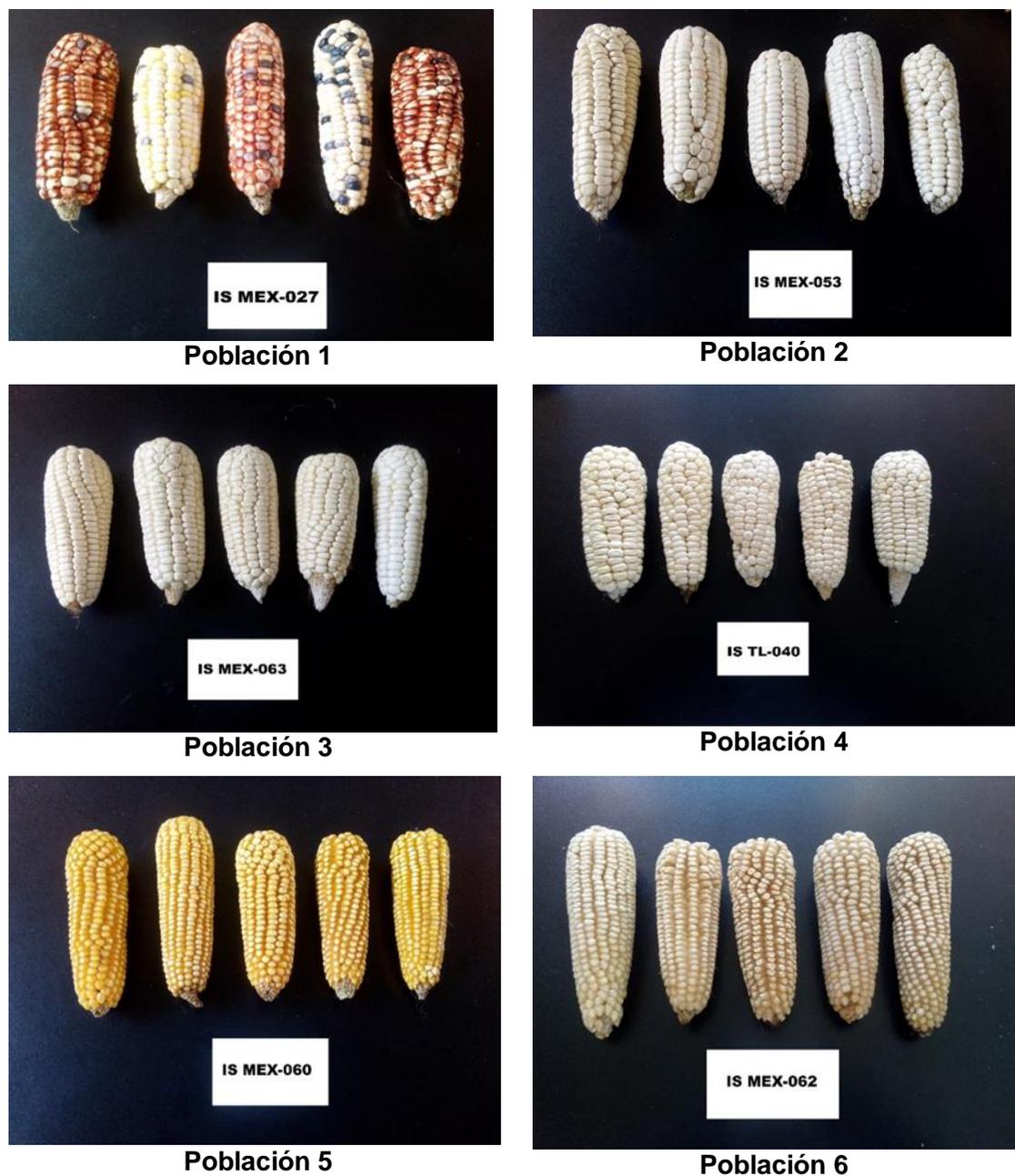


Figura 17. Morfología de las poblaciones de maíz, de la 1-4 asociadas a la Raza Cacahuacintle, la 5-6 a la Raza Cónica, IS MEX, IS TL = Colectas realizadas *in situ* en los estados de México y Tlaxcala.



Población 7



Población 8



Población 9



Población 10



Población 11



Población 12

Figura 18. Morfología de las poblaciones de maíz, de la 7-12 asociadas a la Raza Cónica, IS MEX, IS TL = Colectas realizadas *in situ* en los estados de México y Tlaxcala.



Figura 19. Morfología de las poblaciones de maíz, población 13 asociada a la Raza Cónica, 14 mezcla de Cónico x Chalqueño, 15 mezcla de Cónico x Pepitilla, de la 16-18 Raza Elotes Cónicos, IS MEX, IS TL = Colectas realizadas *in situ* en los estados de México y Tlaxcala.

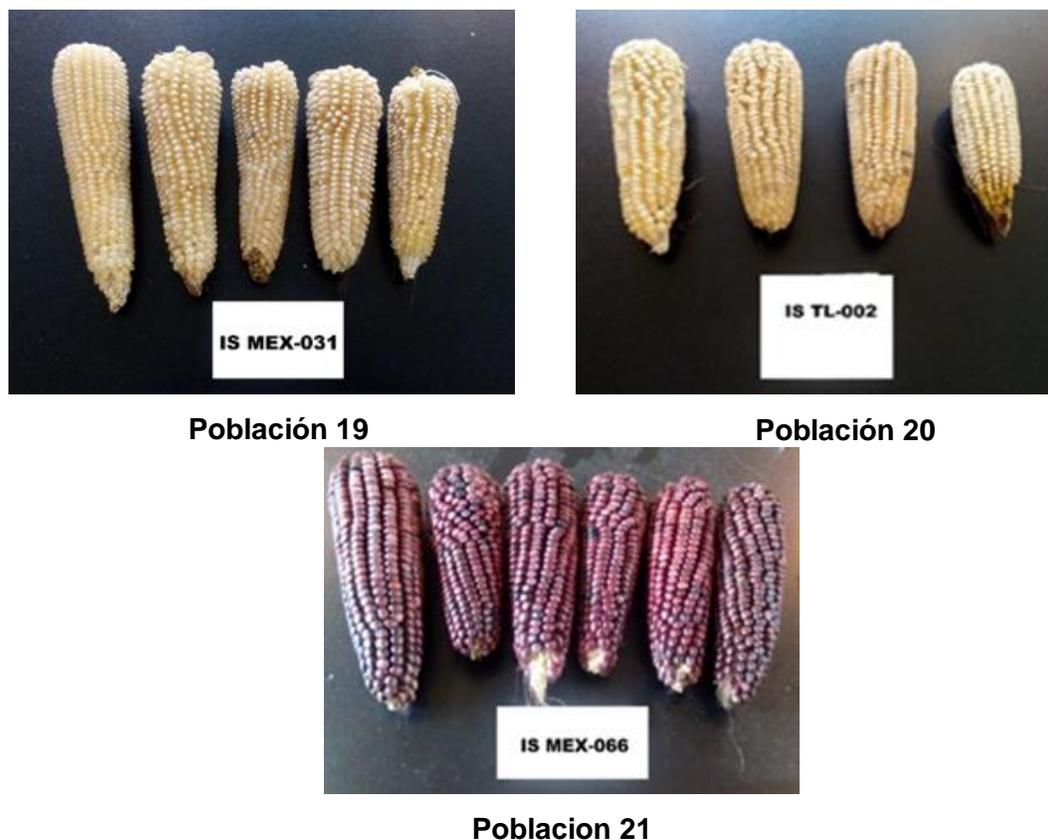


Figura 20. Morfología de las poblaciones de maíz, 19-20 asociadas a la Raza Palomero, 21 a la Raza Pepitilla, IS MEX, IS TL = Colectas realizadas *in situ* en los estados de México y Tlaxcala.

Análisis de conglomerados en la caracterización de las poblaciones.

Con las 18 variables de mazorca y grano se realizó el análisis de conglomerados. Algunas de estas variables han sido seleccionadas en otros estudios de caracterización morfológica y se confirma su utilidad para medir o diferenciar la diversidad de determinado grupo de poblaciones, entre razas y entre poblaciones de la misma raza (Sánchez *et al.*, 1993, Herrera *et al.*, 2000).

Este análisis permitió agrupar a las poblaciones de maíz de acuerdo a sus similitudes en relación a las variables cuantitativas de mazorca y grano, midiendo la distancia euclidiana entre poblaciones. Zorrilla (2011) indica que en un análisis de conglomerados las poblaciones resultantes deberán mostrar un alto grado de

homogeneidad interna (dentro del conglomerado) y un alto grado de heterogeneidad externa (entre conglomerados) esta misma condición se cumplió en este estudio.

Los resultados obtenidos se presentan en el Cuadro 5, donde se observa que el punto de corte se efectuó en el paso 15 a una distancia euclidiana de 4.3832 donde la población 1 se enlaza con la población 2, formándose 6 conglomerados (grupos), la elección de número de grupos se realiza a criterio del investigador el cual se basa en su conocimiento sobre las poblaciones analizadas (Crossa *et al.*, 1995).

Cuadro 5. Valores de distancia euclidiana y pasos enlace para 21 poblaciones de maíz y 18 variables, método de enlace completo.

Paso	Número de grupos	Nivel de distancia	Conglomerados incorporados		Poblaciones en el conglomerado
1	20	1.2617	6	18	2
2	19	1.3676	5	11	2
3	18	1.7306	8	9	2
4	17	1.8320	10	20	2
5	16	1.9221	12	17	2
6	15	1.9296	6	15	3
7	14	2.0584	6	21	4
8	13	2.5973	6	12	6
9	12	2.6957	7	8	3
10	11	3.1987	4	14	2
11	10	3.4377	6	13	7
12	9	3.8691	5	10	4
13	8	3.9620	1	3	2
14	7	4.3526	6	7	10
<b>15</b>	<b>6</b>	<b>4.3832</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
16	5	4.6476	5	16	5
17	4	5.3625	5	19	6
18	3	5.4733	4	6	12
19	2	9.8722	4	5	18
20	1	13.7392	1	4	21

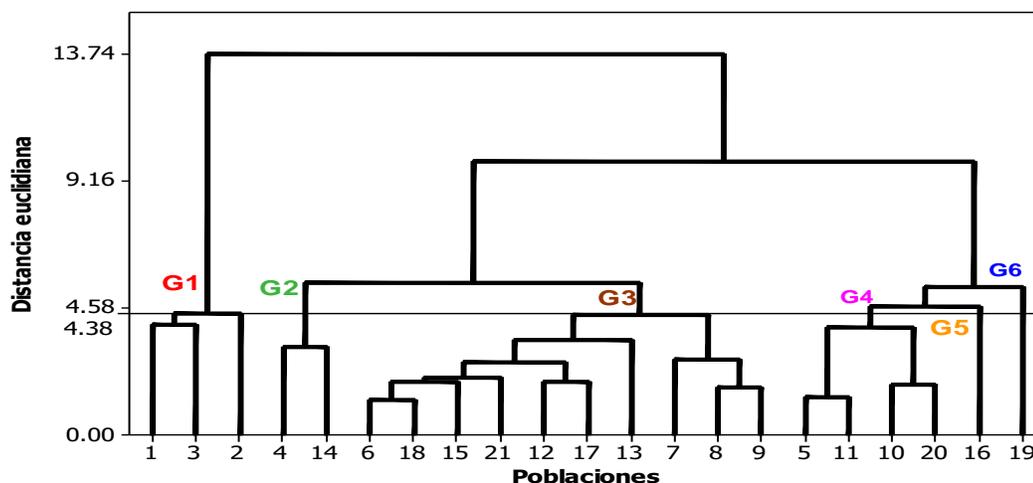


Figura 21. Dendrograma para la clasificación de 21 poblaciones de maíz en base caracteres de mazorca y grano.

A los grupos de las poblaciones formados en el dendrograma (Figura 21), se aplicó un análisis de varianza en el cual se obtuvieron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0,01$ ) entre los grupos de las variables estudiadas (Cuadro 1 de Anexos) cuyos coeficientes de variación fueron menores al 11%. Con los promedios obtenidos en cada una de las variables (Cuadro 6) se realizó la prueba de medias de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), (Salinas *et al.* 2008; Ramírez *et al.* 2013).

Los resultados de este análisis muestran que el G1 se integra por tres poblaciones de la Raza Cacahuacintle y se caracteriza por presentar estadísticamente el promedio más elevado en las variables LM (18.17 cm), DM (5.52 cm), DO (3.00 cm), AG (12.68 mm), GG (6.76 mm), P100G (72.98 g) y V100G (133.17 cc). El G2 formado por 2 poblaciones, una pertenece a la Raza Cacahuacintle y la otra es una mezcla de Cónico x Chalqueño se caracteriza por presentar mayores promedios en las variables DR (1.83 cm) y LG (16.74 mm). El G3 es el grupo más grande y está conformado por diez poblaciones, donde seis pertenecen a la Raza Cónico, dos a la Raza Elotes cónicos, una de la Raza Pepitilla y una mezcla de Cónico x Pepitilla, se caracteriza por presentar un promedio alto en la variable NGPH (32.19). El G4 está conformado por cuatro

poblaciones, tres de las cuales pertenecen a la Raza cónica y una de la Raza Palomero donde muestran promedios altos en la variable RPV (0.71 g/cc).

Cuadro 6. Promedios de características cuantitativas de mazorca y grano en los grupos de poblaciones de maíz.

G	Poblaciones	LM (cm)	DM (cm)	DO (cm)	DR (cm)	NH	NGPH
1	1,3,2	18.17 a	5.52 a	3.00 a	1.74 a	11.13 d	25.60 d
2	4,14	16.56 bc	5.45 a	2.78 b	1.83 a	14.05 c	28.13 cd
3	6,18,15,21,12, 17,13,7,8,9	16.90 b	5.21 b	2.32 c	1.32 b	15.66 b	32.19 a
4	5,11,10,20	15.87 cd	4.71 c	2.25 c	1.26 b	15.75 b	31.40 ab
5	16	13.75 e	4.72 c	1.72 e	0.89 c	15.00 bc	28.80 bc
6	19	14.88 d	3.99 d	2.02 d	1.21 b	17.50 a	32.95 a
DMS		1.034	0.215	0.153	0.131	1.498	2.662
G	Poblaciones	LG (mm)	AG (mm)	GG (mm)	AG/LG	GG/LG	GG/AG
1	1,3,2	15.31 b	12.68 a	6.76 a	0.83 a	0.44 a	0.54 d
2	4,14	16.74 a	9.84 b	5.76 b	0.59 b	0.34 b	0.59 c
3	6,18,15,21,12, 17,13,7,8,9	15.96 ab	7.90 c	4.91 c	0.50 cd	0.31 cd	0.62 bc
4	5,11,10,20	14.35 c	7.35 d	4.77cd	0.52 c	0.33 bc	0.65 ab
5	16	15.93 ab	7.12 d	4.44de	0.45 d	0.28 d	0.62 bc
6	19	12.48 d	6.07 e	4.20 e	0.49 cd	0.34 bc	0.69 a
DMS		0.829	0.496	0.334	0.050	0.032	0.042
G	Poblaciones	P100G (g)	V100G (cc)	RPV (g/cc)	M10%H (g)	G10%H (g)	F.D %
1	1,3,2	72.98 a	133.17 a	0.55 d	228.05	196.98	86.0
2	4,14	56.13 b	84.38 b	0.67 bc	231.97	208.55	90.0
3	6,18,15,21,12, 17,13,7,8,9	43.71 c	61.98 c	0.71 ab	227.15	206.27	91.0
4	5,11,10,20	34.50 d	48.50 d	0.71 a	179.45	161.78	90.0
5	16	34.65 d	52.75 d	0.66 c	155.34	145.32	94.0
6	19	22.50 e	30.65 e	0.73 a	126.25	113.63	90.0
DMS		3.981	6,815	0.039			

Las medias que no comparten la misma letra son significativamente diferentes, Prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). G=Grupos, LM= Longitud de Mazorca, DM= Diámetro de mazorca, DO= Diámetro de olote, DR= Diámetro de raquis, NH= Numero de hileras, NGPH= Numero de granos por hilera, LG= Largo de grano, AG= Ancho de grano, GG= Grosor de grano, P100G= Peso de 100 granos, V100G= Volumen de 100 granos, RPV= Relación peso volumen, cm= Centímetros, g= Gramos, cc= Centímetros cúbicos, F.D.= Factor de desgrane, es el porcentaje del peso de la mazorca que corresponde al grano.

El G5 está conformado por una sola población de la Raza Elotes Cónicos presenta promedios bajos en las variables LM (13.75 cm), DO (1.72 cm) y alto promedio en F.D. (94.0%). El G6 se integra por una población de la Raza Palomero Toluqueño caracterizándose por presentar estadísticamente promedios bajos en las variables DM (3.99 cm), LG (12.48 mm), AG (6.07 mm), GG (4.20 mm), P100G (22.50 g) y V100G (30.65 cc), observando promedios altos en NH (17.5) y NGPH (32.95).

#### Análisis de Componentes Principales.

En este análisis se utilizaron 18 variables en las 21 poblaciones de maíz estudiadas, con la opción de matriz de correlaciones que se utiliza cuando las variables están en diferentes unidades.

Cuadro 7. Valor y vectores característicos para los tres primeros componentes principales de 18 variables cuantitativas evaluadas en 21 poblaciones de maíz.

	Componentes principales (CP)		
	1	2	3
Valor propio	11.560	3.406	1.261
Proporción (%)	64.2	18.9	7.0
Acumulada (%)	64.2	83.1	90.1
Variables	Vectores propios		
LM	0.212	0.090	<b>0.470*</b>
DM	0.206	<b>0.352*</b>	-0.114
DO	0.263	0.043	0.233
DR	0.229	0.059	0.268
NH	-0.262	0.160	0.203
NGPH	-0.217	0.151	<b>0.481*</b>
LG	0.075	<b>0.454*</b>	<b>-0.381*</b>
AG	<b>0.289*</b>	-0.067	-0.064
GG	<b>0.287*</b>	-0.070	-0.080
AG/LG	0.266	-0.218	0.060
GG/LG	0.266	<b>-0.302*</b>	0.117
GG/AG	0.234	-0.037	0.079
P100G	<b>0.284*</b>	0.049	-0.138
V100G	<b>0.288*</b>	-0.035	-0.110
RPV	-0.220	0.149	0.129
M10%H	0.159	<b>0.444*</b>	0.129
G10%H	0.131	<b>0.475*</b>	0.088
F.D.	-0.219	0.100	<b>-0.340*</b>

\* Cargas del vector propio > 0.280, indican a las variables con mayor peso por componente.

En el Cuadro 7 se presentan los tres primeros componentes principales los cuales presentaron valores propios mayores a la unidad, los componentes con valores arriba de 1.0 son más relevantes, mientras que aquellos con valores menores a la unidad aportan poca explicación a la variación total.

Estos tres componentes principales explicaron el 90.1 % de la variación total (proporción acumulada). De acuerdo con los vectores propios, en el primer componente principal las variables originales más importantes fueron: AG, GG, P100G Y V100G. En el segundo componente principal las variables con mayor influencia fueron: DM, LG, GG/LG, M10%H, G10%H. El tercer componente estuvo fuertemente influido por las variables: LM, LG, NGHP y Factor de desgrane.

En la distribución de las cargas de las variables, con el CP1 y CP2 se explica el 83.1 % de la variabilidad total, por lo tanto la gráfica (Figura 23) representa de una forma confiable la relación entre las variables (Balzarini *et al.*, 2006). En el CP1 se muestra que las variables de mayor peso son: P100G, V100G, GG y AG, presentando las dos primeras mayor longitud de vector. Con respecto al CP2, se observa que las variables de mayor peso son: AG/LG, GG/LG, NH, G10% y M10%.

En la Figura 22 se observan las correlaciones entre las variables según los ángulos de los vectores que las representan, ángulos agudos indican correlaciones positivas, ángulos obtusos corresponden a correlaciones negativas y ángulos rectos indican que no hay correlación entre las variables.

Se presenta una correlación positiva y altamente significativa entre las siguientes variables: M10%H y G10%H ( $r = 0.990^{**}$ ), DO y DR ( $r = 0.931^{**}$ ), P100G y V100G, ( $r = 0.966^{**}$ ) y GG y AG ( $r = 0.984^{**}$ ). Con respecto a las variables que presentan una relación negativa y altamente significativa son: NH y AG ( $r = -0.932^{**}$ ), GG y NH ( $r = -0.931^{**}$ ) y NH y AG/LG ( $r = -0.918^{**}$ ), los datos de las correlaciones se presentan en el (Cuadro 2 de Anexos).

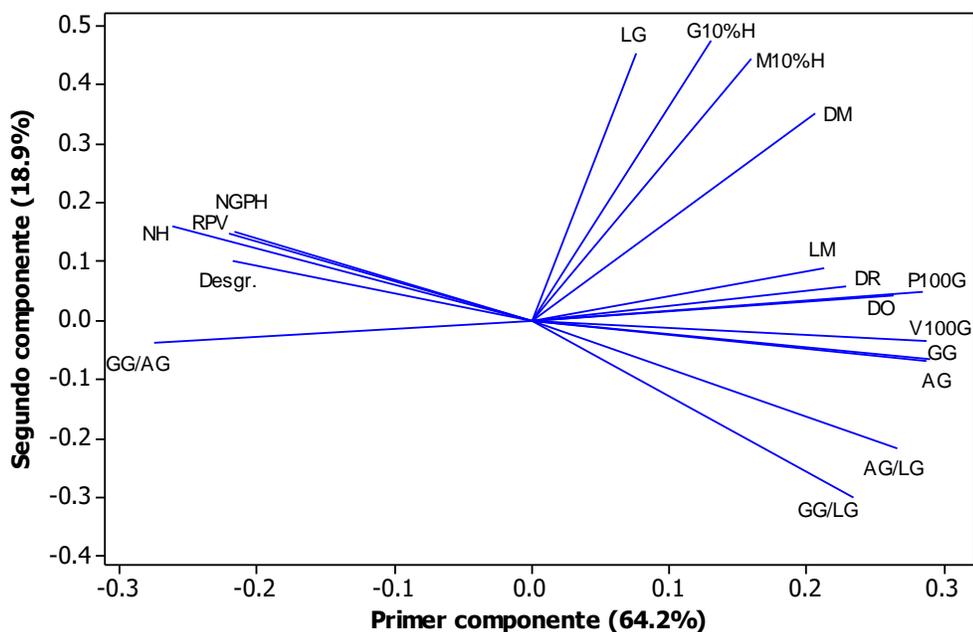


Figura 22. Distribución de 18 variables con su peso sobre los dos primeros componentes principales.

En la Figura 23 se observa la distribución de las poblaciones con respecto a los dos primeros componentes principales, los cuales explican en conjunto el 83.1 % de la variación contenida en las 18 variables originales. En el CP1 se observa que G1 formado por poblaciones de la Raza Cacahuacintle, se distinguen por su mayor GG, AG, P100G y V100G, este se ubica en el extremo derecho de la gráfica contrastando con el G6 el cual está formado por la población de Raza Palomero Toluqueño, siendo este grupo los que presentan la menor GG, AG, P100G y V100G.

Con respecto al CP2, el G2 estar formado por 2 poblaciones una de Raza Cacahuacintle y mezcla de Cónico x Chalqueño, se caracteriza por tener el mayor LG contrastando con el G6 y G5 fueron los menores, el G3 es el que mayor número de poblaciones se observan y está formado por poblaciones de Raza Cónica, Elotes cónicos, Pepitilla, mezcla de Cónico x Pepitilla, el G5 compuesto por una raza de Elotes Conicos y el G6 formado por una Raza de Palomero se caracterizan por presentar los mayores promedios en NH y NGPH. Las

poblaciones de Raza Cónico presentaron una mayor variabilidad en las características analizadas, atribuible al mayor número de colectas evaluadas.

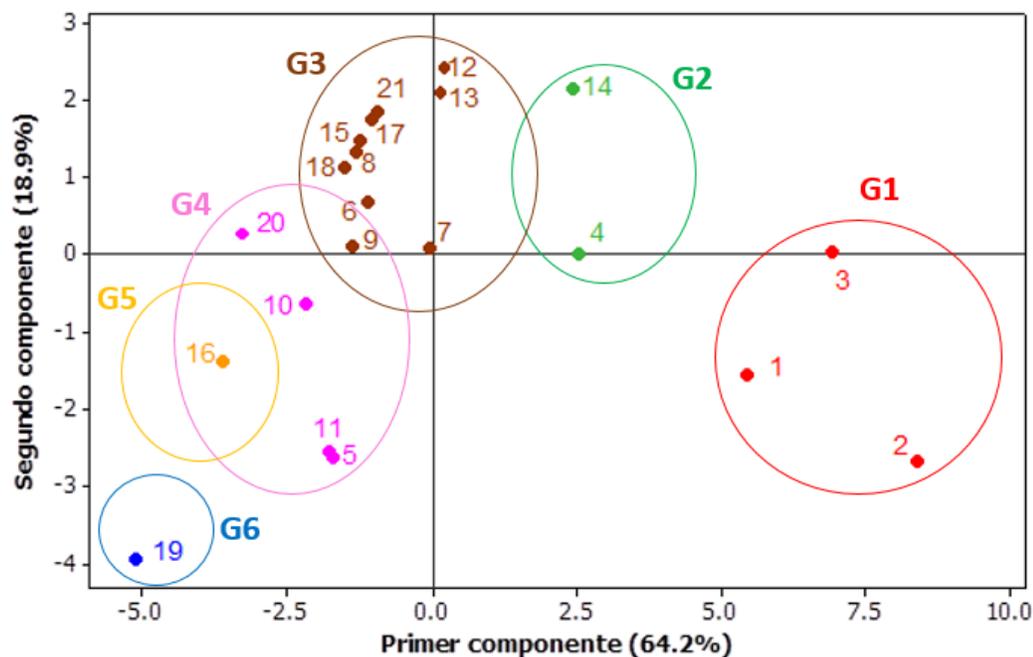


Figura 23. Agrupación de poblaciones de maíces mexicanos del Estado México y Tlaxcala con base en los dos primeros componentes principales.

#### 4.3. Asociación entre características morfométricas del grano de maíz y su calidad fisiológica como semilla.

En este estudio se analizan cinco características cuantitativas de la semilla y su relación con pruebas de calidad fisiológicas de germinación y vigor. Los resultados obtenidos fueron los siguientes, en el Cuadro 8, se observa que las poblaciones de la raza Cacahuacintle (1-4) sobresalen por tener altos valores de AG, GG, P100G y V100G, su porcentaje de geminación fue bajo (GPN) y alto el porcentaje de GPA y SSG; promediando además una corta LP en las pruebas de vigor.

Cuadro 8. Promedios de las variables utilizadas en la caracterización del grano y pruebas fisiológicas.

Pob.	Características de grano					Germinación			Vigor		
	LG (mm)	AG (mm)	GG (mm)	P100G (g)	V100G (cc)	GPN (%)	GPA (%)	SSG (%)	LP (cm)	LR (cm)	PS (mg/pl)
1	15.38	11.84	6.73	74.80	124.75	76	16	8	8.49	17.24	101.11
2	15.02	14.26	7.10	79.85	151.00	63	33	4	9.08	26.48	103.15
3	15.54	11.94	6.45	64.30	123.75	71	25	4	9.64	22.00	134.27
4	16.35	10.06	5.93	54.55	89.50	79	19	2	12.20	26.11	116.85
5	13.85	7.57	5.02	34.30	51.50	94	5	1	10.27	24.28	121.13
6	15.88	7.83	4.77	42.15	60.50	95	5	0	10.53	26.78	116.52
7	14.86	8.63	5.37	48.10	66.75	76	19	5	13.14	20.45	109.95
8	15.00	7.67	4.67	39.40	54.25	94	6	0	13.89	21.07	103.49
9	14.29	7.41	4.62	36.55	52.75	94	2	4	14.83	25.48	150.13
10	14.64	7.39	4.72	35.05	48.00	93	3	4	10.27	24.28	218.33
11	13.26	7.65	4.88	34.90	48.00	93	3	4	12.89	24.34	118.94
12	17.20	8.29	5.09	50.65	73.75	92	5	3	11.43	28.10	146.29
13	16.77	8.50	5.14	50.70	64.50	95	5	0	10.82	24.44	130.04
14	17.14	9.63	5.60	57.70	79.25	88	9	3	8.03	24.91	163.03
15	16.02	7.59	4.95	42.40	57.00	91	6	3	14.23	24.46	98.16
16	15.93	7.12	4.44	34.65	52.75	92	7	1	15.12	22.42	109.20
17	16.80	7.58	4.82	41.95	66.25	89	10	1	12.45	26.44	163.17
18	16.39	7.49	4.69	41.00	60.75	89	10	1	10.42	31.65	132.08
19	12.48	6.07	4.20	22.50	30.65	97	2	1	12.91	22.66	58.69
20	15.65	6.79	4.47	33.75	46.50	84	13	3	12.34	31.85	125.70
21	16.45	8.03	4.99	44.15	63.25	88	10	2	9.70	24.70	138.18

LG= Longitud de grano, AG= Ancho de grano, GG= Grosor de grano, P100G= Peso de 100 granos, V100G= Volumen de 100 granos, GPN= Germinación de plántulas normales, GPA= Germinación de plántulas anormales, SSG= Semillas sin germinar, LP= longitud de plúmula, LR= Longitud de radícula, PS= Peso seco.

Las poblaciones de la raza Cónica (5-13) presentaron GPN mayores de 90% a excepción de la población 7; la población 9 sobresale con altos promedios en LP (14.83 cm) y PS (150.13 mg/pl), en esta última característica la población 10 fue superior al resto con un promedio de 218.33 mg/pl; en la población 12 se observan buenas características en vigor con altos promedios para LR (28.10 cm) y PS (146.29 mg/pl).

La población 14 que es una mezcla de Cónico x Chalqueño es la de mayor LG (17.14mm) y tiene un alto PS (163.03 mg/pl). Las poblaciones de Elotes Cónicos (16-18) presentan un GPN intermedio, la población 17 sobresale por su alto PS (163.17mg/pl) y la 18 por su alta LR (31.65 cm).

De las poblaciones de Palomero la 19 presentó el mayor GPN (97%) y la 20 el más alto promedio de LR (31.85 cm). La población 21 (Pepitilla) con una GPN (88%) y con una baja LP (9.70 cm), registró una germinación de tipo intermedio.

Análisis de conglomerados

Con las características cuantitativas de semilla y las variables de germinación y vigor se realizó un análisis de conglomerados. En el Cuadro 9, se observa que el punto de corte se efectuó en el paso 16 a una distancia euclidiana de 4.55 donde la población 1 se enlaza con la población 2 formándose 5 grupos.

En la Figura 24 se presenta el dendograma en el cual se observa la formación de cinco grupos, el G3 se divide en dos subgrupos. Se efectuó adicionalmente un análisis de varianza entre los grupos arrojados en el análisis de conglomerados aplicando la prueba de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

Cuadro 9. Valores de distancia euclidiana y pasos enlace para 21 poblaciones de maíz y 11 variables, método de enlace completo.

Paso	Número de grupos	Nivel de distancia	Conglomerados incorporados		Poblaciones en el conglomerado
1	20	1.2984	8	16	2
2	19	1.3798	6	13	2
3	18	1.6779	9	11	2
4	17	1.7479	12	17	2
5	16	1.8170	6	21	3
6	15	1.8432	18	20	2
7	14	2.0696	8	15	3
8	13	2.3406	6	12	5
9	12	2.9436	5	9	3
10	11	2.9453	4	7	2
11	10	2.9690	2	3	2
12	9	3.0656	5	8	6
13	8	3.4040	6	14	6
14	7	4.0253	5	18	8
15	6	4.1116	6	10	7
<b>16</b>	<b>5</b>	<b>4.5501</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
17	4	4.8336	4	5	10
18	3	5.3371	4	6	17
19	2	6.9638	4	19	18
20	1	10.2613	1	4	21

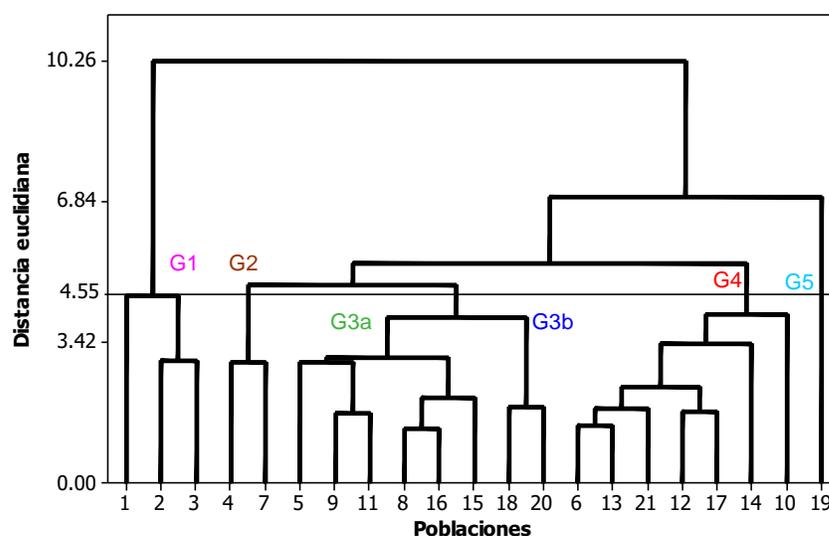


Figura 24. Dendrograma para la clasificación de 21 poblaciones de maíz en base caracteres de grano y pruebas fisiológicas de la semilla.

En el Cuadro 10 se presentan los promedios de las variables para los grupos obtenidos y la prueba de comparación de medias (Tukey 0.05), los cuales se ordenaron de acuerdo al incremento de la variable GPN.

Cuadro 10. Promedios de las variables de semilla y fisiológicas de los grupos obtenidos en el análisis de conglomerados.

Grupo	Poblaciones en los Grupos	LG (mm)	AG (mm)	GG (mm)	P100G (g)	V100G (cc)
G1	1,2,3	15.31 bc	12.68 a	6.76 a	72.98 a	133.17 a
G2	4,7	15.61 b	9.35 b	5.65 b	51.33 b	78.13 b
G3b	18,20	16.02 ab	7.14 d	4.58 d	37.38 d	53.63 d
G4	6,13,21,12,17,14,10	16.41 a	8.18 c	5.02 c	46.05 c	65.07 c
G3a	5,9,11,8,16,15	14.73 c	7.50 d	4.76 cd	37.03 d	52.71 d
G5	19	12.48 d	6.07 e	4.20 e	22.50 e	30.65 e
DMS		0.7256	0.4093	0.2879	3.7499	6.64

Grupo	Poblaciones en los Grupos	GPN (%)	GPA (%)	SSG (%)	LP (cm)	LR (cm)	PS (mg/pl)
G1	1,2,3	70.0 d	24.6 a	5.3 a	9.0 d	21.9 c	112.8 b
G2	4,7	77.5 cd	19.0 ab	3.5 a	12.6 ab	23.2 bc	113.4 b
G3b	18,20	86.5 bc	11.5 bc	2.0 a	11.3 bc	31.7 a	128.8 ab
G4	6,13,21,12,17,14,10	91.4 ab	6.7 cd	1.8 a	10.4 cd	25.6 b	153.6 a
G3a	5,9,11,8,16,15	93.0 ab	4.8 cd	2.1 a	13.5 a	23.6 bc	116.8 b
G5	19	97.0 a	2.0 d	1.0 a	12.9 ab	22.6 bc	58.6 c
DMS		9.57	8.69	4.43	1.75	3.17	35.54

\*Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey 0.05). DMS= Diferencia mínima significativa ( $p \leq 0.05$ ).

El G1 formado por poblaciones de Cacahuacintle se caracteriza por tener estadísticamente altos promedios para AG (12.68 mm), GG (6.76 mm), P100G (72.98 g) y V100G (133.17 cc), sin embargo su porcentaje de germinación fue estadísticamente el más bajo GPN (70.0%) y se asoció con un alto porcentaje de plántulas anormales GPA (24.6%) y semillas sin germinar SSG (5.3%). En las pruebas de vigor fue el de menor LP (9.0 cm), LR (21.9 cm) y el peso seco de plántula también fue bajo PS (112.8 mg/pl).

En el G2 se constituyó por las poblaciones 4 (Cacahuacintle) y 7 (Cónico) que en comparación con el G1, promediaron valores estadísticamente menores para las mismas variables de grano y valores mayores para GPN (77.5%), LP (12.6 cm), LR (23.2 cm).

El G3b comprende las poblaciones 18 (Elotes Cónicos) y 20 (Palomero) en el cual también se observa una disminución en el promedio de las variables de grano con respecto al G1 y G2 excepto que incrementó LG (16.02 mm), GPN (86.5%), PS (128.8 mg/pl) y sobresalió por su mayor LR (31.7 cm).

El G4 formado por cinco poblaciones de Cónico, una de Elotes Cónicos y una de Pepitilla sobresalió por el mayor promedio para LG (16.41 mm), LR (25.6 cm) y PS (153.6 mg/pl), su LP (10.4 cm) fue bajo, pero su porcentaje de germinación fue alto GPN (91.4%). El G3a comprende cuatro poblaciones de Cónico, una de Elotes Cónicos y la mezcla Cónico x Pepitilla. Solo se diferenció del G3a por su menor LG (14.73 mm) y mayor GPN (93.0%), estadísticamente presentó la mayor LP (13.5 cm). El G5 formado por la población de Palomero Toluqueño debido a su tamaño de grano pequeño presentó el más bajo P100G (22.5 g) y V100G (30.65 cc); sobresalió por su alto porcentaje de germinación GPN (97.0%) y el más bajo porcentaje de GPA (2.0%) y SSG (1.0%); en las pruebas de vigor su LP (12.9) fue alto, pero su PS (58.6 mg/pl) fue el más bajo.

#### Análisis de componentes principales

En el Cuadro 11 se reportan los tres primeros componentes principales los cuales presentaron valores propios mayores a la unidad. Estos tres componentes

principales explicaron el 83.3% de la variación total de los datos (proporción acumulada).

De acuerdo con los vectores propios, en el primer componente principal las variables originales más importantes fueron: AG, GG, P100G, V100G y GPA, las cuales contrastan con GPN y LP. En el segundo componente principal las variables con mayor influencia fueron: LG, LR y PS que contrastan SSG y LP. El tercer componente estuvo fuertemente influido por las variables: GPA y LR que se relacionan negativamente con SSG.

Cuadro 11. Valores y vectores propios para los tres primeros componentes principales de 11 variables evaluadas en 21 poblaciones de maíz.

	Componentes principales		
	1	2	3
Valor propio	6.2825	1.8253	1.0599
Proporción (%)	57.1	16.6	9.6
Acumulada (%)	57.1	73.7	83.3
Variables	Vectores propios		
LG	0.091	<b>-0.579*</b>	-0.167
AG	<b>0.391*</b>	0.014	-0.037
GG	<b>0.392*</b>	0.039	0.026
P100G	<b>0.384*</b>	-0.082	-0.004
V100G	<b>0.391*</b>	-0.024	-0.068
GPN	<b>-0.367*</b>	-0.068	0.158
GPA	<b>0.353*</b>	0.022	<b>-0.305*</b>
SSG	0.237	0.222	<b>0.525*</b>
LP	-0.243	0.296	-0.264
LR	-0.098	<b>-0.507*</b>	<b>-0.368*</b>
PS	-0.020	<b>-0.507*</b>	<b>0.605*</b>

\* Cargas del vector propio > 0.300, indican a las variables de mayor peso por componente.

En la Figura 25, se observa la distribución de las cargas de las variables, con el CP1 y CP2 se explica el 73.7 % de la variabilidad total, por lo tanto, la gráfica representa de una forma confiable la relación entre las variables y las poblaciones (Balzarini *et al.*, 2006). En la gráfica se observan las correlaciones entre las variables según los ángulos de los vectores que las representan. Ángulos agudos

indican correlaciones positivas, ángulos obtusos corresponden a correlaciones negativas y ángulos rectos indican que no hay correlación entre las variables. Se presentó una correlación positiva y altamente significativa entre las siguientes variables: GPA con AG ( $r=0.85^{**}$ ), GG ( $r=0.82^{**}$ ), P100G ( $r=0.78^{**}$ ) y V100G ( $r=0.85^{**}$ ), lo que significa que las poblaciones con mayor tamaño de grano tuvieron altos promedios de plantas anormales. Con respecto a las variables que presentan una relación negativa y altamente significativa se encuentran: GPN con GPA ( $r= -0.98^{**}$ ), AG ( $r= -0.87^{**}$ ), GG ( $r= -0.86^{**}$ ), P100G ( $r= -0.80^{**}$ ) y V100G ( $r= -0.87^{**}$ ), por lo tanto, las poblaciones con alto porcentaje de germinación tuvieron un tamaño de grano pequeño y menor número de plantas anormales. Los valores de correlación se presentan en el (Cuadro 4, Anexos).

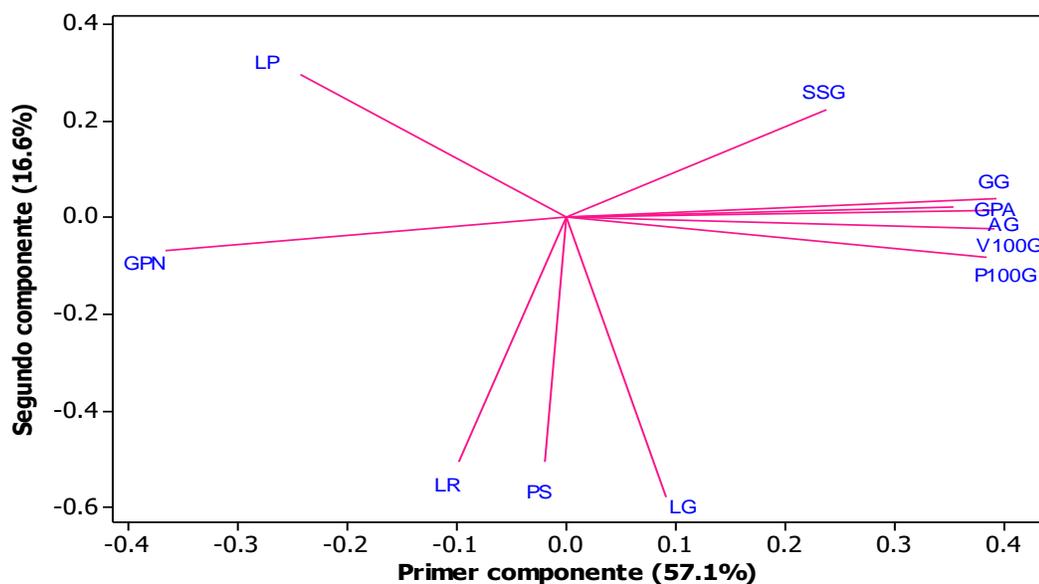


Figura 25. Distribución de 11 variables con su peso sobre los dos primeros componentes principales.

En la Figura 26, se observa la agrupación de las poblaciones con respecto a los dos primeros componentes principales, los cuales explican en conjunto el 73.7% de la variación contenida en las 11 variables originales.

En el CP1 se observa que G1 formado por poblaciones de Cacahuacintle se distinguen por su mayor GG, AG, V100G y P100G (Cuadro 9) y fisiológicamente

por una alta presencia de plántulas anormales (GPA), este se ubica en el extremo derecho de la gráfica contrastando con el G5 el cual está formado por la población Palomero Toluqueño siendo este grupo el que presenta el menor tamaño de grano y la mayor germinación de plántulas (GPN).

En el G2 formado por una población de Cacahuacintle y otra de Cónico, las características de tamaño de grano fueron menores que las del G1, pero registraron un incremento en GPN.

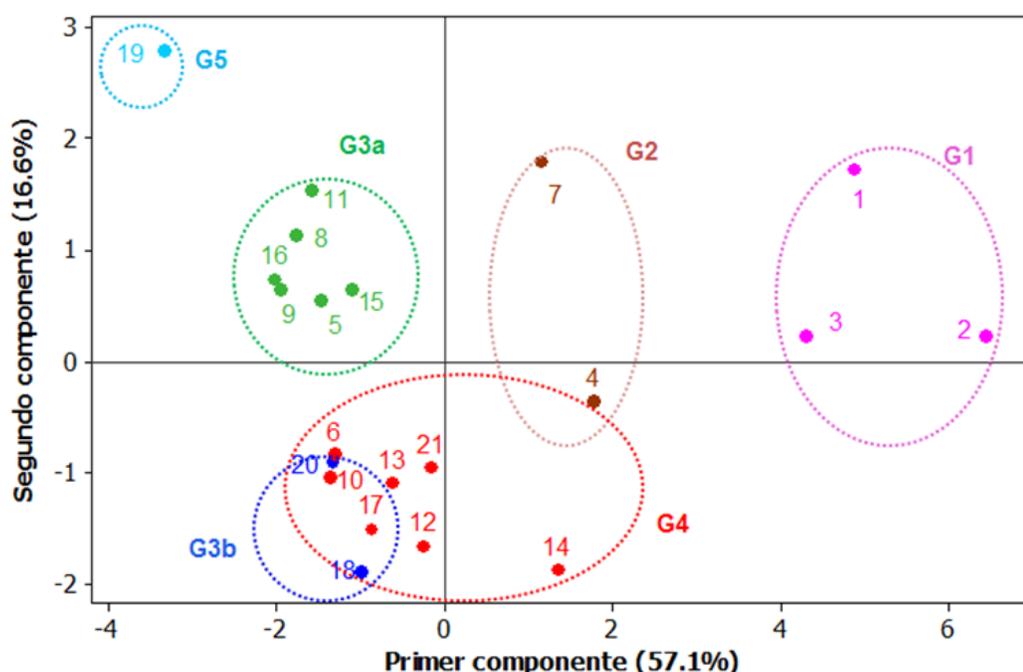


Figura 26. Agrupación de poblaciones de maíz en base a los dos primeros componentes principales.

Con respecto al CP2, el G5 y G3a se localizan en el extremo superior izquierdo de la gráfica, los cuales se caracterizan por tener menor LG contrastando con el G3b y G4 que fueron los de más alto promedio para esta variable. Con respecto a LP el G5 y G3a mostraron estadísticamente los más altos promedios superando a G3b y G4. Los grupos G3b y G4 mostraron fisiológicamente un mayor vigor que los grupos G5 y G3a al presentar altos promedios para las variables LR y PS. Es importante indicar que las poblaciones de Cacahuacintle con endospermo de tipo harinoso denotan un bajo porcentaje de plántulas normales y un alto

porcentaje de plántulas anormales y semillas sin germinar. Estos resultados concuerdan con las observaciones de Estrada *et al.* (1999) y Pérez *et al.* (2007) en el sentido de que hay mejor respuesta en la germinación en los genotipos con endospermo cristalino los cuales presentaron mayor porcentaje de plántulas normales.

Tofiño *et al.* (2006) mencionan que la amilopectina presente en la semilla de textura cristalina es más estable que la amilosa que se encuentra en la de tipo harinoso como la de la raza Cacahuacintle, lo que probablemente provoca que durante la germinación la actividad de las enzimas hidrolíticas en el endospermo harinoso sea menos eficiente, la función de las enzimas hidrolíticas es acelerar las reacciones en las que una sustancia se rompe en componentes más simples por reacción con moléculas de agua

En estudios realizados por Pérez *et al.* (2007) en 56 poblaciones de maíz observaron una respuesta diferencial entre genotipos, donde las poblaciones con endospermo cristalino tuvieron mayor vigor y calidad fisiológica, con una mayor acumulación de peso seco en plúmula y radícula, lo cual es indicativo de mayor vigor. Los maíces de endospermo harinoso mostraron un vigor reducido con plántulas anormales y semillas sin germinar, por lo tanto, los genotipos de endospermo cristalino fueron más vigorosos que los de endospermo harinoso.

#### 4.4. Detección y cuantificación de hongos fitopatógenos con potencial toxigénico en grano en poblaciones de maíz.

En este estudio se analizó la microbiota existente en las poblaciones de maíz donde se detectaron géneros de hongos fitopatógenos y especies de la misma con potencial en la producción de micotoxinas.

##### 4.4.1. Detección de número de géneros de hongos fitopatógenos en semilla de maíz.

Se encontraron diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0,01$ ) entre poblaciones y géneros de hongos fitopatógenos, excepto para el género *Bipolaris* que no fue significativo (NS) para esta variable (Cuadro 5, Anexos). Los resultados

encontrados en cuanto a los géneros de hongos fitopatógenos realizados en este estudio se muestran en el (Cuadro 12).

En las poblaciones de maíz se presentó una incidencia total de 9 géneros, donde el género *Fusarium* se presentó en un 63.3%, seguido del género *Penicillium* con un 10.0% y el género *Acremonium* con 8.5%. En un estudio realizado en maíces amarillos por Hernández *et al.* (2007), encontró que en el maíz proveniente de campo mostró mayor presencia de *Fusarium* con un 76.9% *Penicillium* con 11.6% y *Aspergillus* 3.1%, estos resultados revelaron una importante similitud con los estimados en este estudio. Las poblaciones 1 a 4 pertenecen a la Raza Cacahuacintle, a las que se detectó un rango de 4 a 7 géneros de hongos fitopatógenos. Las poblaciones 5 a 13 pertenecen a la Raza Cónica, donde la población 12 presentó alta incidencia de *Fusarium* de 80%, las poblaciones 16, 17 y 18 pertenecientes a la raza Elotes Cónicos obtuvieron el menor NGHF que fue de 3 géneros, la raza Palomero de las poblaciones 19 y 20 presentaron en NGHF 4 y 6 géneros para cada población respectivamente. La raza Pepitilla sobresale de las demás por presentar mayor incidencia de *Fusarium* con 82%. Los otros géneros de hongos se presentaron con menor incidencia en un rango promedio entre 0.02 a 1.9% que corresponden al género *Bipolaris* y *Penicillium* respectivamente.

Los géneros *Fusarium*, *Penicillium* y *Aspergillus* suelen encontrarse en una gran variedad de productos agrícolas, siendo los géneros de hongos fitopatógenos más importantes en la contaminación de alimentos en todo el mundo y pueden producir micotoxinas (Méndez y Moreno, 2009).

Cuando el maíz es cultivado bajo condiciones de temporal, este presenta períodos de sequía y altas temperaturas registrando comúnmente la incidencia de hongos fitopatógenos que principalmente invaden al grano, en el caso del maíz destacan los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Claviceps* (Hernández *et al.*, 2007).

Cuadro 12. Géneros de hongos fitopatógenos en poblaciones de maíz.

Pob.	Raza	NGHF	Fus	Pen	Pho	Tric	Acre	Asp	Bip	Clad	Chae
1	Cacahuacintle	4	62.0	14.0	9.0	3.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2	Cacahuacintle	7	31.0	10.0	12.0	17.0	7.5	0.0	0.5	6.5	0.0
3	Cacahuacintle	5	56.0	7.0	0.0	0.0	5.5	3.0	0.0	0.0	9.5
4	Cacahuacintle	7	57.0	8.5	0.5	0.0	10.0	0.5	0.0	0.5	8.5
5	Cónico	5	78.5	5.5	0.5	1.5	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6	Cónico	5	75.5	1.0	1.0	0.0	9.5	1.0	0.0	0.0	0.0
7	Cónico	4	60.5	24.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5
8	Cónico	5	59.5	1.5	2.0	2.0	22.0	0.0	0.0	0.0	0.0
9	Cónico	4	63.0	10.5	0.5	0.0	9.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	Cónico	3	47.0	29.5	0.0	0.0	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0
11	Cónico	4	49.5	20.0	1.5	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0
12	Cónico	4	80.0	1.0	0.0	0.0	2.5	0.5	0.0	0.0	0.0
13	Cónico	4	75.5	1.0	0.5	0.0	14.0	0.0	0.0	0.0	0.0
14	Cónico x Chalqueño	5	52.5	11.5	0.5	0.0	19.5	0.0	0.0	0.0	7.0
15	Cónico x Pepitilla	4	63.0	8.0	0.0	0.0	24.0	0.5	0.0	0.0	0.0
16	Elotes Cónicos	3	74.0	0.0	0.0	0.0	16.0	1.0	0.0	0.0	0.0
17	Elotes Cónicos	3	69.5	15.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
18	Elotes Cónicos	3	50.0	27.5	0.0	0.0	11.0	0.0	0.0	0.0	0.0
19	Palomero Toluqueño	4	72.0	8.0	1.0	0.0	6.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	Palomero	6	71.5	5.0	0.5	1.5	10.0	0.0	0.0	0.0	1.5
21	Pepitilla	4	82.0	1.0	7.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.5
Promedio			63.3	10.0	1.9	1.2	8.5	0.3	0.02	0.3	0.3

Pob= Población, NGHF=Número de géneros de hongos fitopatógenos, Fus=*Fusarium*, Pen=*Penicillium*, Pho=*Phoma*, Tric=*Tricotecium*, Acre=*Acremonium*, Asp=*Aspergillus*, Bip=*Bipolaris*, Clad=*Cladosporium*, Chae=*Chaetomium*.

El grano de maíz posee una microbiota particular, entre ellos se encuentra el género de hongo fitopatógeno *Aspergillus*, donde las especies como *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* son las más importantes porque producen Aflatoxinas que provocan gran variedad de efectos tóxicos en seres vivos expuestos al grano contaminado (Martínez *et al.*, 2013). En el caso del género *Fusarium* las especies de mayor prevalencia son *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum* y *Fusarium subglutinans*, que deterioran el grano/semilla y pueden producir micotoxinas como Fumonisinias, Zearalenonas y Tricotecenos, las especies de *Fusarium* presentan una amplia distribución, se pueden encontrar

en las zonas maiceras, sobreviven por largos períodos en restos vegetales (Desjardins *et al.*, 1994; Robledo *et al.*, 2001). Entre las especies del Genero *Penicillium* encontramos a *Penicillium verrucosum* produce una micotoxina muy potente llamada Ocratoxina A (Pitt, 1987).

Identificación de especies de hongos potencialmente toxigénicos.

En la identificación de las especies de hongos con potencial toxigénico, se encontraron dos cepas del genero *Fusarium* con mayor porcentaje de incidencia en la semilla, estas fueron *Fusarium verticillioides* y *Fusarium graminearum*, estas especies son las de mayor prevalencia que además de deteriorar el grano, producen micotoxinas que afectan la salud humana y animal (Robledo *et al.*, 2001; Gimeno y Martins, 2011).

*Fusarium verticillioides.*

La colonia en semilla se presentó con un micelio aéreo blanco que se tiñó de púrpura en el papel secante, el micelio se observó con apariencia pulverulenta a causa de la formación de microconidios Figura 27 C, se formaron abundantes microconidios uniformes en cadenas largas Figura 27 A, que se observaron de inmediato usando el método de la cinta adhesiva, los microconidios se presentaron hialinos con forma oval y ligeramente aplanados en cada extremo. Los macroconidios se presentaron hialinos, con paredes delgadas, su forma varía de curvos a casi rectos Figura 27 B, con 3 a 7 septos y la célula basal con forma de pie. En PDA la colonia midió en promedio 3.4 cm después de 3 días a 25 °C, el color del micelio aéreo blanco y flocoso, al reverso del PDA de color violeta a morado oscuro, estas características de identificación de especies de *Fusarium* coinciden con lo descrito por Burgess *et al.*, (1988); Warham *et al.*, (1999).

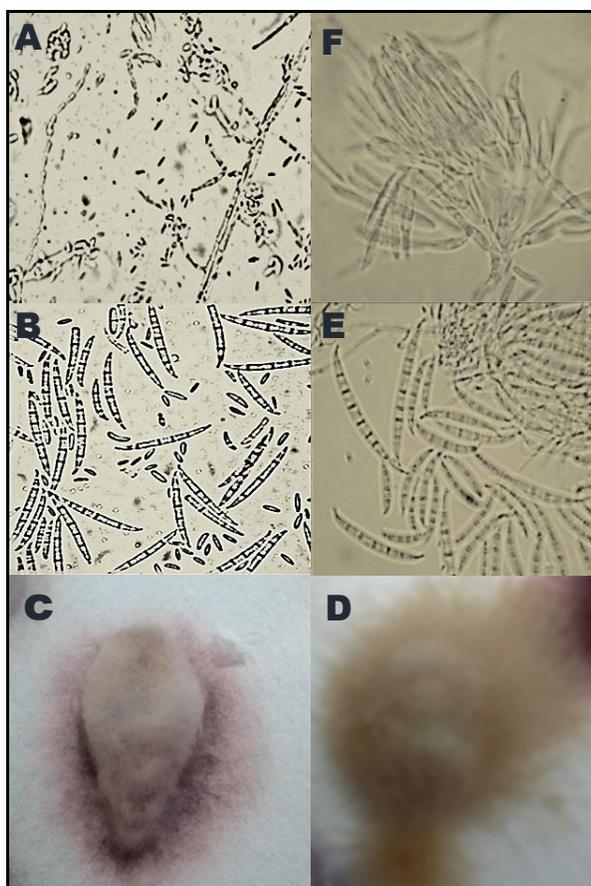


Figura 27. *Fusarium verticillioides* (A, B, C). A. Largas cadenas de microconidias, B. Macroconidias, C. Colonia en grano. *Fusarium graminearum* (D, E, F). D. Colonia en grano, E. Macroconidias. F. Macroconidios en conidioforos ramificados.

#### *Fusarium graminearum*.

Macroscópicamente, la colonia en semilla de maíz, se presentó de color rosado a café rojizo, con abundante micelio fino y suelto inicialmente blanco, pero lentamente se volvió amarilla y por último roja Figura 27 D; no hubo presencia de microconidios, los macroconidios producidos a partir de conidióforos se formaron lateralmente y en conidióforos cortos muy ramificados a partir de conidióforos agrupados Figura 27 F. Los conidios se observaron hialinos, rectos y ligeramente curvos, de 3 a 7 septos con una célula basal semejante a un pie bien desarrollada, una célula apical curva y puntiaguda Figura 27 E. En PDA la colonia midió 5.2 cm después de 3 días a 25 °C, el color del micelio se presentó con una

combinación de color amarillo alrededor y de color blanco en el centro, estas características de identificación de especies de *Fusarium* coinciden con lo descrito por Burgess *et al.*, (1988); Warham *et al.*, (1999).

En especies potencialmente toxigénicos del género *Fusarium* se observaron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0,01$ ) para las dos especies (Cuadro 5, Anexos). Las diferencias significativas entre poblaciones son indicativos de las diferentes respuestas de las poblaciones al ambiente y muestran la diversidad fenotípica y genética en las variantes del maíz criollo del altiplano central mexicano (Briones *et al.*, 2015).

Cuadro 13. Promedios de especies de *Fusarium* potencialmente toxigénicos

<i>Fusarium verticillioides</i>			<i>Fusarium graminearum</i>		
Población	Media	Agrupación*	Población	Media	Agrupación *
12	62.5	a	21	31.0	a
15	54.0	ab	17	29.5	a
13	52.0	ab	1	28.5	ab
16	50.0	ab	9	23.0	abc
20	49.0	ab	11	22.5	abc
19	48.5	ab	3	21.5	abc
4	41.0	abc	7	17.0	abc
8	41.0	abc	19	13.0	abc
14	41.0	abc	10	12.0	abc
5	39.0	abc	6	12.0	abc
21	38.5	abc	12	10.5	abc
11	38.0	abc	16	9.0	abc
6	36.0	abc	5	9.0	abc
7	35.0	abc	4	8.5	abc
9	34.0	bc	13	6.5	abc
17	33.0	bc	20	6.0	abc
1	32.5	bc	2	3.0	abc
3	29.0	bc	8	3.0	abc
10	28.0	bc	14	1.5	bc
2	27.0	bc	18	0.0	c
18	21.5	c	15	0.0	c

\* Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey 0.05)

Con respecto a las especies de hongos potencialmente toxigénicas (Cuadro 13), los resultados muestran que en la especie *Fusarium verticillioides*, la población 12 de la raza Cónica fue la que obtuvo estadísticamente el promedio más alto

con 62.5% y el más bajo promedio se presentó en la población 18 de la raza Elotes Cónicos con 21.5%, en la especie *Fusarium graminearum* el promedio más alto se observa en la población 21 que pertenece a la raza Pepitilla con 31% y promedio más bajo con 0 % lo tienen las poblaciones 18 y 15 de la raza Cónico y la mezcla Cónico x Pepitilla respectivamente. Los resultados obtenidos en cuanto a la alta incidencia de las especies de *Fusarium verticillioides* y *Fusarium graminearum*, además de la importancia en el aspecto de inocuidad agroalimentaria, sirvieron como criterio para elegir las micotoxinas (Desjardins, 2006) que se estudiaron en esta investigación, las cuales fueron Deoxinivalenol (DON), Zearalenonas (ZON) y Fumonisinás Totales (FUM).

#### 4.5. Detección de niveles de contaminación con micotoxinas y su asociación con la incidencia de hongos fitopatógenos potencialmente toxigénicos y variables fisiológicas de la semilla/grano de maíz.

En este estudio se analizaron variables de germinación y su relación con especies de *Fusarium* con potencial toxigénico en semilla de maíz y las micotoxinas: Deoxinivalenol (DON), Zearalenona (ZON) y Fumonisinás Totales (FUM). Con respecto a la producción de micotoxinas la especie de *Fusarium verticillioides* es generador de Fumonisinás y es uno de los hongos fitopatógenos a los que se le ha prestado especial atención por su amplia distribución (Chavarri *et al.*, 2017). Por otra parte la especie de *Fusarium graminearum* es productora de las micotoxinas DON y ZON (Presello *et al.*, 2015), por lo tanto, debido a su importancia y a la alta incidencia de estas dos especies de hongos fitopatógenos arrojadas en las pruebas de papel secante y congelación se procedió a estudiar los niveles de contaminación por estas micotoxinas en las poblaciones de maíz utilizando la prueba serológica de ELISA. Los resultados obtenidos indican que se presentó una gran variación en cuanto a las características de germinación, incidencia de especies de *Fusarium* y producción de micotoxinas en las muestras de semillas de las 21 poblaciones de maíz (Cuadro 14), en las que también se observó un comportamiento diferencial entre los genotipos cultivados en un mismo ambiente (Municipio).

Cuadro 14. Promedios de las variables de germinación, especies de *Fusarium* y micotoxinas estimados en 21 poblaciones de maíces mexicanos.

P	Raza	Municipio	Estado	GPN %	GPA %	SSG %	F.v. %	F.g. %	DON ppm	ZON ppm	FUM ppm
1	Cacahuacintle	Villa Victoria	México	76	16	8	32.5	28.5	2.459	0.580	0.000
2	Cacahuacintle	Villa Victoria	México	63	33	4	27.0	3.0	0.000	0.000	0.000
3	Cacahuacintle	Jocotitlán	México	71	25	4	29.0	21.5	1.142	0.111	0.000
4	Cacahuacintle	Tocatlán	Tlaxcala	79	19	2	41.0	8.5	1.101	0.317	0.000
5	Cónico	Otzolotepec	México	94	5	1	39.0	9.0	2.349	0.490	0.000
6	Cónico	Otzolotepec	México	95	5	0	36.0	12.0	0.380	0.000	0.000
7	Cónico	Villa Victoria	México	76	19	5	35.0	17.0	1.314	0.312	0.000
8	Cónico	Jocotitlán	México	94	6	0	41.0	3.0	1.529	0.056	0.000
9	Cónico	Jocotitlán	México	94	2	4	34.0	23.0	2.562	1.394	0.000
10	Cónico	Jocotitlán	México	93	3	4	28.0	12.0	1.998	1.152	0.000
11	Cónico	Jocotitlán	México	93	3	4	38.0	22.5	0.600	0.083	0.000
12	Cónico	Huamantla	Tlaxcala	92	5	3	62.5	10.5	0.385	0.000	0.000
13	Cónico	Tocatlán	Tlaxcala	95	5	0	52.0	6.5	0.586	0.000	0.000
14	Cónico x Chalqueño	Otzolotepec	México	88	9	3	41.0	1.5	0.380	0.000	0.000
15	Cónico x Pepitilla	Tocatlán	Tlaxcala	91	6	3	54.0	0.0	1.861	0.140	0.000
16	Elotes Cónicos	Otzolotepec	México	92	7	1	50.0	9.0	0.267	0.000	0.000
17	Elotes Cónicos	Jocotitlán	México	89	10	1	33.0	29.5	1.637	0.117	0.000
18	Elotes Cónicos	Jocotitlán	México	89	10	1	21.5	0.0	0.586	0.000	0.000
19	Palomero Toluqueño	Otzolotepec	México	97	2	1	48.5	13.0	2.232	0.110	0.000
20	Palomero	Apizaco	Tlaxcala	84	13	3	49.0	6.0	0.875	0.000	0.000
21	Pepitilla	Jocotitlán	México	88	10	2	38.5	31.0	1.637	0.062	0.000

P= Población, GPN= Germinación de plántulas normales, GPA= Germinación de plántulas anormales, SSG = Semillas sin germinar, F.V. = *Fusarium verticillioides*, F.g. = *Fusarium graminearum*, DON = Deoxinivalenol, ZON= Zearalenona, FUM= Fumonisin, ppm= Partes por millón.

En las poblaciones de la raza Cacahuacintle (1 a 4) se presentaron bajos porcentajes de germinación (GPN). La incidencia de *Fusarium verticillioides* varió de 27.0 a 41.0%; la de *Fusarium graminearum* fue menor con un rango de 3.0 a 28.5%.

En las poblaciones 1, 3 y 4 el nivel de contaminación con Deoxinivalenol fue de 2.459, 1.142 y 1.101 ppm y la contaminación con Zearalenona de 0.580, 0.111 y 0.317 ppm, respectivamente. La población 2 no presentó niveles de contaminación de estas micotoxinas contrastando con la población 1 que presentó altos niveles de contaminación, aun cuando ambas poblaciones se cultivaron en el mismo ambiente (municipio de Villa Victoria); cabe señalar que los niveles de incidencia de *Fusarium graminearum* fueron menores en la población 2, al respecto Briones *et al.* (2015) señalan que se puede presentar una respuesta diferencial entre poblaciones cultivadas en un mismo ambiente, debido a que estas poblaciones presentan diferentes grados de susceptibilidad y mecanismos asociados a la tolerancia o resistencia al patógeno.

En las poblaciones de la raza Cónico 5 a13 se registraron altos porcentajes de germinación, excepto en la población 7. Se observó una mayor incidencia de *Fusarium verticillioides* siendo superior que en las poblaciones de Cacahuacintle ya que los rangos observados varían de 28.0 a 62.5%, presentándose la mayor incidencia en los municipios de Huamantla (población 12), y Tocatlán (población 13) del estado de Tlaxcala. Con respecto a *Fusarium graminearum* se observó que la incidencia en las poblaciones varió con porcentajes que fueron de 3 a 23%, detectando los porcentajes más altos en las poblaciones 9 (23.0%) y 11 (22.5%) del municipio de Jocotitlán. Hubo variación en los niveles de contaminación de DON en las poblaciones con valores de 0.380 a 2.562 ppm, algunas de las poblaciones con más altos niveles de contaminación se localizaron el municipio de Jocotitlán. Se detectaron altos niveles de contaminación con ZON en las poblaciones 9 (1.394 ppm) y 10 (1.152 ppm) las cuales también corresponden al municipio de Jocotitlán, siendo bajos para las demás poblaciones de 0.0 a 0.490 ppm.

En las mezclas de poblaciones 14 (Cónico x Chalqueño) y 15 (Cónico x Pepitilla), pertenecientes a los municipios de Ocotlán y Tocatlán, respectivamente, la germinación promedió un 89%; la incidencia de *Fusarium verticillioides* fue de 41 a 54%, en *Fusarium graminearum* se observaron promedios bajos de 0.0 a 1.5%, en la población 15 no se presentó incidencia de *Fusarium graminearum* pero se observaron niveles de contaminación por micotoxinas de DON (1.861 ppm) y ZON (0.140 ppm), al respecto se puede señalar que aunque no se detectaron cepas *Fusarium graminearum* productoras de DON, existen, otras cepas como las de *Fusarium culmorum* también productoras de DON (Méndez y Moreno, 2009). Con respecto a ZON, Martínez y Anadón (2009) indican que existen cepas como *Fusarium sporotrichioides* que también producen Zearalenona, las cuales no se detectaron posiblemente porque la cantidad de inóculo no se encontró a niveles detectables por el muestreo realizado.

Las poblaciones de la raza Elotes Cónicos promediaron 90% de germinación, la incidencia de *Fusarium verticillioides* fue de 21.5 a 50.0% y la de *Fusarium graminearum* de 0.0 a 29.5% en el municipio Jocotitlán también se observó una respuesta diferencial entre poblaciones situadas en un mismo ambiente, siendo la incidencia de *Fusarium graminearum* de 29.5% en la población 17 y de 0.0% en la 18. La contaminación con DON fue alta en las poblaciones 17 (1.637 ppm) y 18 (0.586 ppm) y baja la de ZON en las tres poblaciones de Elotes Cónicos con valores de 0.0 a 0.117 ppm, posiblemente atribuible también a la baja cantidad de inóculo en el grano que se escapó a la detección en la prueba correspondiente. Las poblaciones 19 (Palomero Toluqueño) y 20 (Palomero) promediaron valores de germinación de 97.0% y 84.0 %, respectivamente. La incidencia de *Fusarium verticillioides* en promedio en las dos poblaciones fue de 49% y la de *Fusarium graminearum* varió de 6.0 a 13.0%. La población 19 tuvo un nivel de contaminación con DON de 2.232 y la 20 de 0.875 ppm, siendo la de ZON baja con valores de 0.110 y 0.00 ppm, respectivamente.

La población 21 de la raza Pepitilla, con un promedio de germinación de 88%, presentó una incidencia de *Fusarium verticillioides* de 38.5% y en esta población situada en el municipio de Jocotitlán se registró el más alto nivel de incidencia de

*Fusarium graminearum* (31.0%). El nivel de contaminación por DON fue de 1.637 ppm y de 0.062 ppm para ZON.

Al evaluar la incidencia de especies de *Fusarium* en poblaciones de maíz, Mazzani *et al.* (2008) y Manrique (2014) establecieron diferentes rangos de incidencia: 1) baja de 0.0 a 15.0%, 2) media de 16.0 a 30.0% y 3) alta mayor de 30.0%. De acuerdo a esta clasificación los resultados obtenidos en las poblaciones estudiadas indican que se presentó una incidencia media de *Fusarium verticillioides* de 22.5 a 29.0% en 4 poblaciones de maíz y una incidencia alta de 32.5 a 62.5% en las 17 poblaciones restantes. Los niveles de incidencia de *Fusarium graminearum* fueron bajos de 0.0 a 13.0% en 14 poblaciones, media de 17.0 a 29.5% en 6 poblaciones y alta de 31.0% en una población de maíz.

De los resultados obtenidos en el análisis de micotoxinas, se observa que para la micotoxina DON se presentaron niveles de contaminación altos de 1.861 a 2.562 ppm en las poblaciones: 1 de la raza Cacahuacintle, poblaciones 5, 9, 10 y 15 de la raza Cónico y la población 19 de la raza Palomero Toluqueño las cuales superaron los niveles de contaminación establecidos por la Unión Europea (2006) donde establece que los límites máximos de DON son de 1.75 ppm para maíz no procesado utilizado para consumo humano. Con respecto a consumo animal la FDA establece límites máximos en los granos destinados para las dietas de ganado vacuno y aves de 10 ppm y productos de grano destinados para cerdos de 5 ppm (FAO, 2003) donde se puede observar que ninguna de las poblaciones estudiadas superan estos límites establecidos para DON por lo que se pueden utilizar para la alimentación del ganado porcino sin riesgo para la salud del mismo.

En el caso de ZON la Unión Europea (2006) establece los límites máximos para maíz no procesado para consumo humano de 0.350 ppm. Los resultados obtenidos para ZON muestran que las poblaciones 1 (raza Cacahuacintle), las poblaciones 5, 9 y 10 (raza Cónico), superaron los límites establecidos por la Unión Europea lo que posiblemente existan riesgos para la salud humana. La FAO (2003) menciona que la Unión Europea establece límites para el contenido

de ZON en las raciones de animales, donde establece límites de 1.0 ppm para el consumo de maíz y otros cereales donde se observa que las poblaciones 9 y 10 sobrepasan los límites permitidos lo que puede causar efectos tóxicos en animales que consuman dicho grano.

Realizando un análisis de las dos micotoxinas DON y ZON, se puede notar que las poblaciones 1, 5, 9 y 10 superaron los niveles de contaminación para consumo humano, observando también que las poblaciones 9 y 10 presentan riesgo para consumo animal por altos niveles de contaminación con ZON, sin embargo la Agencia Internacional para la investigación del cáncer (IARC) identificó a la Zearalenona y DON en el grupo 3 donde incluye a estas micotoxinas como sustancias no clasificables como cancerígenas en humanos (Sosa, 2017). La Zearalenona es considerada como una micotoxina que tiene pocos efectos tóxicos para el ser humano, la ingestión de Zearalenona no produce micotoxicosis graves y sólo a muy altas concentraciones puede producir efectos inmunosupresores o adenocarcinomas (Cruz, 2016).

En el estudio realizado sobre la contaminación por Fumonisinas totales (FB1, FB2 y FB3) en las 21 poblaciones de maíz, los resultados obtenidos en la prueba de ELISA no arrojaron niveles de contaminación con Fumonisinas (FUM), al respecto Velluti (2002) indica que existen varios factores que determinan la producción de micotoxinas tales como el potencial genético del hongo, actividad de agua ( $a_w$ ), temperatura y nutrientes, además señala que la incidencia de una especie fúngica micotoxigénica no indica necesariamente la presencia de micotoxinas, ya que no todas las cepas de estas especies son toxicogénicas; aún en condiciones óptimas, la producción de toxinas puede ser nula. A su vez, las micotoxinas pueden persistir por un largo tiempo después de que el crecimiento vegetativo del hongo haya cesado e incluso si el hongo ha muerto por lo que es posible que las cepas detectadas en el altiplano de México y en este estudio no hayan sido detectadas.

Por otra parte las interacciones entre hongos fitopatógenos han captado más atención debido al hecho de que la producción de micotoxinas por cepas toxigénicas puede verse inhibida o favorecida por la presencia de otras especies,

Sanchis *et al.* (2000) mencionan que la producción de Fumonisinas en presencia de otras especies de hongos como *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus* y *Penicillium implicatum* se ve en general inhibida excepto bajo algunas condiciones en las cuales se ve estimulada, dichas condiciones en general coinciden con alta humedad relativa ( $0.98_{aw}$ ) y temperaturas de 15 a 25°C. Las causas de la inhibición podrían ser la propia competencia por los nutrientes por parte de una sustancia inhibidora de síntesis o la degradación de las Fumonisinas por la interacción con otros hongos fitopatógenos.

Por su parte De la Torre *et al.* (2014) indican que de las Fumonisinas más abundantes de incidencia natural son las del grupo B, derivadas de la mayoría de las cepas de *Fusarium verticillioides*. Dentro de las Fumonisinas la FB1 conforma más del 75% del total de las Fumonisinas. Esta autora menciona que la capacidad de sintetizar Fumonisinas depende de la presencia de una serie de genes, agrupados en una región de 46 kpb en el cromosoma 1 de *Fusarium verticillioides* y que forman el locus *FUM* y añade que en la naturaleza sobreviven cepas de *Fusarium verticillioides* incapaces de sintetizar Fumonisinas porque tienen una mutación en el gen *FUM1* o, bien, carecen del locus *FUM*. También ocurren mutaciones en otros genes del locus, como aquellos que codifican las oxigenasas responsables de la hidroxilación en C-10 y C-5 del esqueleto de la molécula, lo anterior provoca que no produzcan FB1 y entonces acumulan FB2 y FB3.

Análisis de conglomerados.

En el análisis de conglomerados se detectó diversidad entre las poblaciones de maíces mexicanos a una distancia euclidiana de 3.22 (Cuadro 6 de Anexos) lo que permitió caracterizarlas en siete grupos (Figura 28). Para identificar diferencias entre grupos derivados del análisis de conglomerados, se procedió a realizar un análisis de varianza, resultando que hubo diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) y altamente significativas ( $p < 0.01$ ) entre los siete grupos (Cuadro 7, Anexos). Adicionalmente a las variables de germinación, incidencia de hongos

potencialmente toxigénicos y micotoxinas se les aplicó la prueba de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

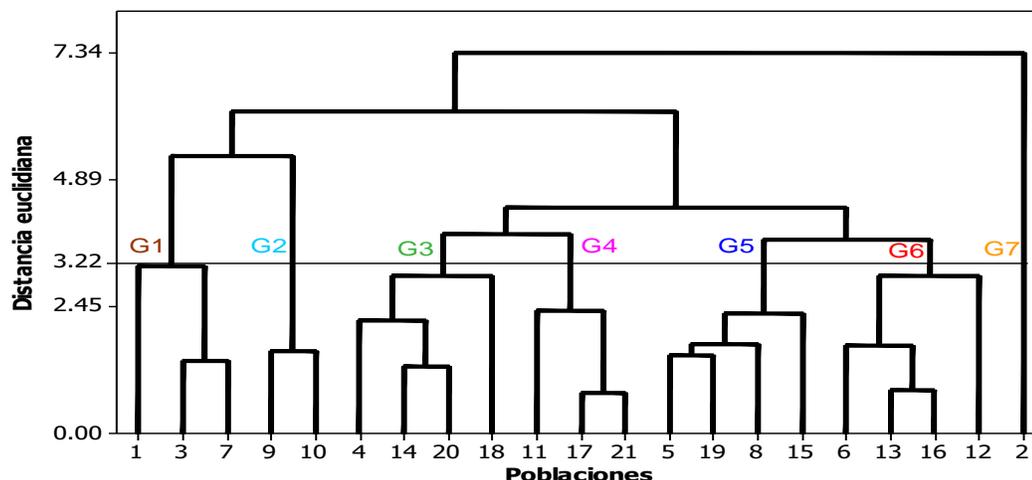


Figura 28. Dendrograma para la clasificación de 21 poblaciones de maíz en base a pruebas de germinación, especies de *Fusarium* y contenido de micotoxinas.

Los grupos analizados se ordenaron de acuerdo a los promedios de la variable DON (Cuadro 15) para centrar el análisis en el estudio de las micotoxinas y la relación que tiene con las demás variables. La clasificación de los grupos obtenidos con el análisis de conglomerados se describe a continuación.

El grupo G2 formado por las poblaciones 9 y 10 de la raza Cónico situadas en el municipio de Jocotitlán presentaron un alto promedio de GPN (93.5%), con promedios intermedios de incidencia de *Fusarium verticillioides* (31.0%) y *Fusarium graminearum* (17.5%), estadísticamente promedió ( $p < 0.05$ ) los más altos contenidos de contaminación por DON (2.28 ppm) y ZON (1.27 ppm).

En el G5 se incluyen las poblaciones 5 y 8 de Cónico, 15 (Cónico x Pepitilla) y 19 (Palomero Toluqueño), tuvieron el más alto promedio ( $p < 0.05$ ) de GPN (94.0%), alta incidencia de *Fusarium verticillioides* (45.63%) y baja incidencia de *Fusarium graminearum* (6.25%), en promedio el nivel de contaminación por micotoxinas para DON fue alto (1.99 ppm) y bajo para ZON (0.20 ppm). Las poblaciones se

ubicaron en los municipios de Ocotolotepec (5 y 19), Jocotitlán (8) y Tocatlán (15), respectivamente.

Cuadro 15. Promedios de los grupos obtenidos en el análisis de conglomerados, los cuales se ordenaron de acuerdo a los niveles de la variable DON.

Grupo	Poblaciones en el grupo	Germinación			Hongos toxigénicos		Micotoxinas	
		GPN %	GPA %	SSG %	F.v. %	F.g. %	DON ppm	ZON ppm
G2	9,10	93.5 a <sup>1</sup>	2.50 e	4.00 ab	31.00 bc	17.50 ab	2.28 a	1.27 a
G5	5,19,8,15	94.0 a	4.75 de	1.25 b	45.63 ab	6.25 c	1.99 b	0.20 bc
G1	1,3,7	74.3 c	20.00 b	5.67 a	32.17 bc	22.33 a	1.64 c	0.33 b
G4	11,17,21	90.0 ab	7.67 d	2.33 ab	36.50 abc	27.67 a	1.29 d	0.09 bc
G3	4,14,20,18	85.0 b	12.75 c	2.25 ab	38.13 abc	4.00 c	0.74 e	0.08 bc
G6	6,13,16,12	93.5 a	5.50 de	1.00 b	50.13 a	9.50 bc	0.40 f	0.00 c
G7	2	63.0 d	33.00 a	4.00 ab	27.00 c	3.00 c	0.00 g	0.00 c
DMS		7.54	5.92	4.04	15.26	11.15	0.25	0.23

<sup>1</sup> Valores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente (Tukey, 0.05). DMS = Diferencia mínima significativa. GPN = Germinación de plántulas normales, GPA = Germinación de plántulas anormales, SSG = Semillas sin germinar, F.v. = *Fusarium verticillioides*, F.g.=*Fusarium graminearum*, DON = Deoxinivalenol, ZON = Zearalenona.

En el G1 se encuentran las poblaciones 1 y 3 de Cacahuacintle y la 7 de Cónico, el cual se caracteriza por un bajo promedio de GPN (74.3%), una incidencia intermedia de *Fusarium verticillioides* (32.17) y alta de *Fusarium graminearum* (22.33%). El nivel de contaminación con DON fue alto (1.64 ppm) y bajo el de ZON (0.33 ppm), estas poblaciones se ubicaron en los municipios de Villa Victoria (1 y 7) y Jocotitlán (3), observándose además que tuvieron el más alto promedio de SSG (5.67%) y el segundo en GPA (20.0%).

El G4 formado por las poblaciones 11 (Cónico), 17 (Elotes Cónicos) y 21 (Pepitilla) se localizan en el municipio de Jocotitlán, presentaron un promedio alto de GPN (90%), una incidencia intermedia de *Fusarium verticillioides* (36.5%) y estadísticamente ( $p < 0.05$ ) la más alta incidencia de *Fusarium graminearum* (27.67%). El nivel de contaminación para DON fue alto (1.29 ppm) y bajo para ZON (0.09 ppm).

En el G3 se localizan las poblaciones 4 (Cacahuacintle), 14 (Cónico x Chalqueño), 20 (Palomero) y 18 (Elotes Cónicos) con un promedio intermedio de

GPN (85%), incidencia intermedia de *Fusarium verticillioides* (38.13%) y baja de *Fusarium graminearum* (4.0%); con un nivel de micotoxinas de 0.74 ppm para DON y de 0.08 ppm para ZON.

El G6 incluye las poblaciones 6, 12 y 13 de Cónico y la 16 de Elotes Cónicos. Las poblaciones 6 y 16 pertenecen al municipio de Oztolotepec, la 12 a Huamantla y la 13 a Tocatlán. Se caracterizan por tener alto promedio de GPN (93.5%), el más bajo promedio de SSG (1%), la más alta incidencia de *Fusarium verticillioides* (50.0%), en promedio la incidencia de *Fusarium graminearum* fue de 9.5%; el nivel de contaminación por DON fue de 0.4 ppm y no se presentó contaminación por ZON (0.0). En el G7 se encuentra la población 2 de la raza Cacahuacintle la cual se ubica en el municipio de Villa Victoria, esta población registró estadísticamente ( $p < 0.05$ ) el más bajo promedio de GPN (63.0%), debido a que tuvo el más alto porcentaje de plántulas anormales GPA (33.0%). La incidencia de *Fusarium verticillioides* fue de 27% y de *Fusarium graminearum* de 3%; no se detectaron niveles de contaminación por las micotoxinas de DON y ZON.

Realizando un análisis del G7 donde la población 2 no registró contaminación por micotoxinas, cabe resaltar que en el estudio realizado en la micobiota, esta población presentó el mayor número de géneros de hongos fitopatógenos (Cuadro 12), al respecto Carrillo (2007) menciona que la competencia que existe en la micobiota entre los distintos géneros de hongos que se encuentran naturalmente suele constituir una desventaja para la producción de las micotoxinas, lo que posiblemente influyó en que no se detectaran DON y ZON en esta población. Esto coincide con lo que menciona Gómez (2008) donde indica que la producción de metabolitos secundarios se ve afectada drásticamente cuando otras especies comparten el mismo nicho ecológico y afirma que generalmente en los cereales como el maíz las especies toxigénicas coexisten con otras especies fúngicas cuya presencia puede inhibir la producción de micotoxinas.

### Análisis de componentes principales.

Con el análisis de componentes principales, se detectaron las variables que más contribuyeron para diferenciar las poblaciones de maíz, en base a las variables de mayor peso (Varela, 1998). En este análisis con los tres primeros componentes principales se explicó el 82.2% de la variación total de los datos, el cual corresponde al porcentaje de la proporción acumulada (Cuadro 16).

Los resultados indican que con los dos primeros componentes se explica más del 71.0% de la varianza total entre las variables estudiadas. Esto evidencia que GPN, GPA, SSG y *F.v.* fueron las que mostraron mayor carga sobre el CP1 por lo que se presentan como las más importantes. En el CP2 sobresalen las variables DON, ZON y *Fusarium graminearum* como las de mayor peso. La relación entre estas variables correspondientes a los dos primeros componentes principales se observan en la gráfica de vectores de la Figura 29.

Cuadro 16. Valores y vectores propios para los tres primeros componentes principales de 7 variables evaluadas en 21 poblaciones de maíz.

	Componentes principales		
	CP1	CP2	CP3
Valor propio	2.6901	2.2896	0.7718
Proporción (%)	38.4	32.7	11.0
Acumulada (%)	38.4	71.1	82.2
Variable		Vectores propios	
GPN	<b>-0.529*</b>	<b>-0.305*</b>	0.095
GPA	<b>0.477*</b>	<b>0.378*</b>	0.002
SSG	<b>0.473*</b>	-0.148	<b>-0.441*</b>
<i>F.v.</i>	<b>-0.402*</b>	0.071	<b>-0.776*</b>
<i>F.g.</i>	0.254	<b>-0.353*</b>	<b>-0.374*</b>
DON	0.096	<b>-0.567*</b>	-0.022
ZON	0.184	<b>-0.539*</b>	0.233

\* Cargas del vector propio > 0.300, indican las variables con mayor peso.

En el primer componente principal (CP1) de la gráfica de vectores (Figura 29), se presentó una relación positiva y significativa entre las variables GPN y *Fusarium verticillioides* ( $r=0.42^*$ ), las cuales contrastan con las variables GPA y SSG, en esta relación se nota la influencia de las variables de germinación ya que hubo una correlación negativa y altamente significativa de GPN: con GPA ( $r=-0.98^{**}$ ) y

con SSG ( $r=-0.576^{**}$ ). Los valores de las correlaciones entre las variables se presentan en el Cuadro 8 de Anexos, retomando la relación entre GPN y *Fusarium verticillioides* se observa que la germinación de plántulas normales (GPN) de las poblaciones de maíz no se vio afectada por la alta incidencia de *Fusarium verticillioides* (32.5 a 62.5%), al respecto en un estudio realizado por Vázquez (2008) sobre pruebas de sanidad y germinación de semillas en tres genotipos de maíz, detectó alta incidencia de *Fusarium verticillioides* en dos de los tres materiales: VAN-443 (83.75%), Material Experimental (62%), siendo menor en AN-447 (13.75%); en la prueba de germinación se presentaron los siguientes porcentajes: VAN-443 (93%), Material Experimental (89%) y AN-447 (73%), donde también concluye que la alta incidencia de *Fusarium verticillioides* no afectó el porcentaje de germinación de la semilla. Al respecto Velluti (2002) menciona que en el grano de maíz en particular, la infección por *Fusarium verticillioides* puede ser tanto sistémica como externa donde indica que la infección sistémica no necesariamente afecta el porcentaje de germinación de la semilla.

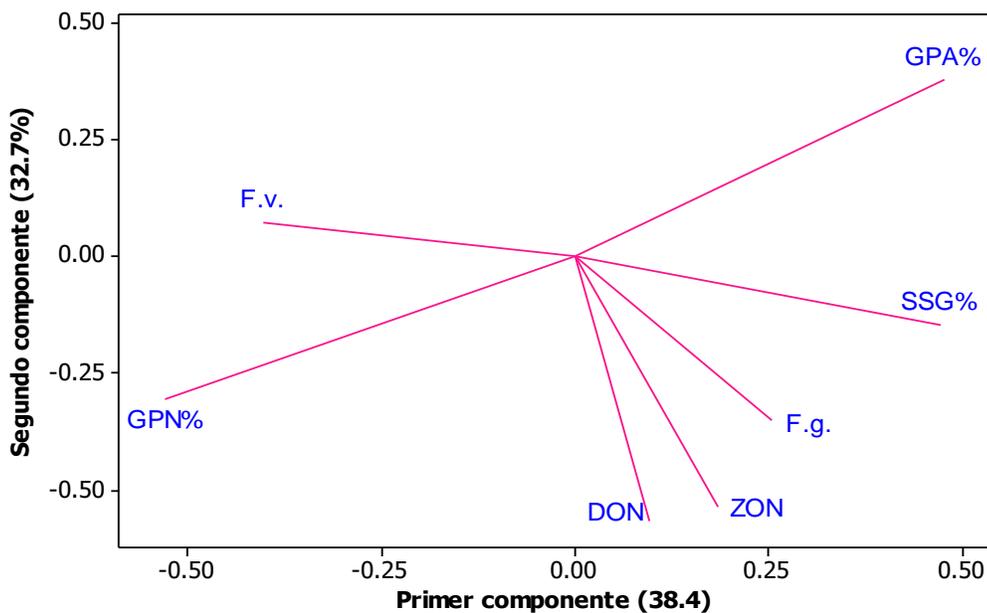


Figura 29. Distribución de 7 variables con su peso sobre los dos primeros componentes principales.

En el segundo componente principal (CP2) de la gráfica de vectores, destaca la correlación positiva de *Fusarium graminearum*: con DON ( $r=0.43^*$ ) y con ZON ( $r=0.31$ ), además sobresale la correlación positiva y altamente significativa entre estas dos micotoxinas DON y ZON ( $r=0.679^{**}$ ), ambas micotoxinas son generadas por esta especie de *Fusarium* (Arroyo *et al.*, 2014; Reyes *et al.*, 2016) y se ha demostrado que el nivel de DON y ZON está directamente correlacionado con la presencia de *Fusarium graminearum* (Sainz *et al.*, 2012). Por otra parte se observó una relación negativa entre *Fusarium verticillioides* y *Fusarium graminearum* ( $r = -0.255$ ) esta tendencia coincide con estudios realizados por Vásquez *et al.* (2016) y Martínez *et al.* (2017) en poblaciones de maíces criollos colectados en la misma región del Altiplano de México en los que obtuvieron valores de correlación negativos de  $r = -0.467^*$  y  $r = -0.270$ , respectivamente. En el análisis de este mismo componente es importante señalar que existe una interacción entre estas dos especies de hongos fitopatógenos y la producción de micotoxinas, ya que la producción de ZON por *Fusarium graminearum* no se ve afectada por *Fusarium verticillioides*, sin embargo en otros estudios se ha determinado que la producción de Fumonisinias por esta especie disminuye en presencia de *Fusarium graminearum* excepto a una temperatura promedio de 25°C y una actividad de agua entre 0.95 a 0.98  $a_w$ . (Soriano y Dragacci, 2004; Gómez, 2008; Cruz, 2016).

En el siguiente análisis se estudia la agrupación de las poblaciones de maíz y su distribución en base a los dos primeros componentes principales (Figura 30). Los grupos y su ubicación en los dos primeros componentes se describen a continuación.

En el CP1, se observa que en el extremo izquierdo de la gráfica (Figura 30), los grupos G5 y G6 representan a las poblaciones con altos promedios de GPN con 94.0% y 93.5%, bajos promedios para GPA de 4.75% y 5.50%, bajos promedios para SSG de 1.25% y 1.0% respectivamente; ambos grupos también mostraron alta incidencia de *Fusarium verticillioides* con promedios de 45.63% y 50.13%. En contraste en el extremo derecho de la gráfica se ubican los grupos G7 y G1 en los cuales sus poblaciones presentaron los más bajos promedios de GPN con

valores de 63.0% y 74.3%, los más altos promedios de GPA de 33.0% y 20.0% y de SSG de 4.0% y 5.67%, ambos grupos también mostraron una menor incidencia de *Fusarium verticillioides* con promedios de 27.0% y 32.17% respectivamente.

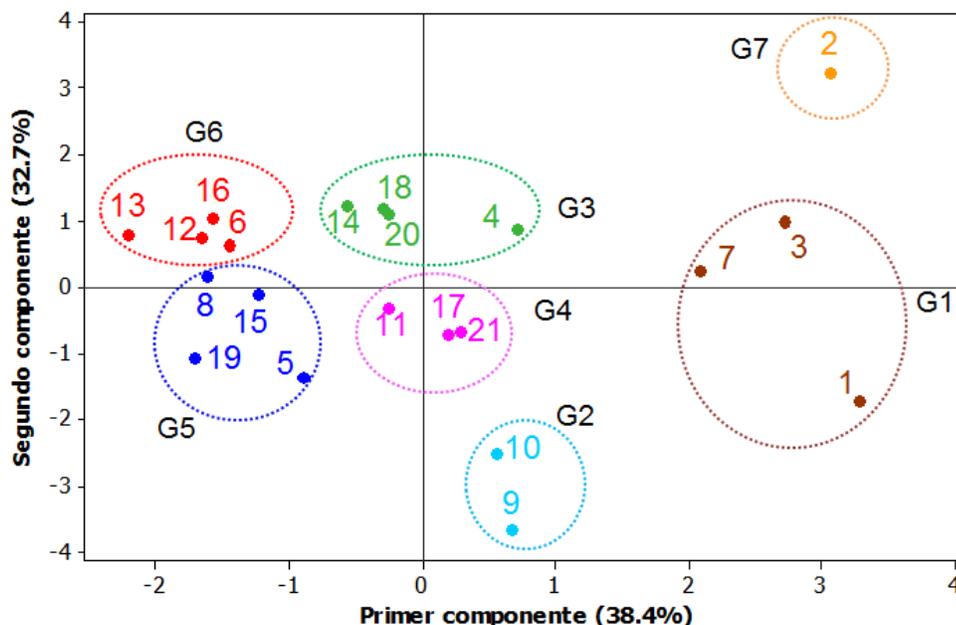


Figura 30. Agrupación de poblaciones de maíz en base a los dos primeros componentes principales.

Con respecto al CP2 se observa que la variable DON es una de las que más influyen en la ubicación de los grupos; en el extremo inferior de la gráfica se sitúan los grupos con alto promedio de DON: G2 (2.28 ppm), G5 (1.99 ppm) y G4 (1.29 ppm) en contraste en la parte superior de la gráfica se ubican los grupos G7 (0.0 ppm), G6 (0.4 ppm) y G3 (0.74 ppm) con bajos valores de contaminación por DON. La variable GPA también influyó en la ubicación de los grupos, observándose que los grupos G7 (33.0%), G3 (12.75%) y G1 (20.0%) mostraron los mayores promedios de plántulas anormales, estos se sitúan en la parte superior de la gráfica, contrastando con los grupos G2 (2.5%), G5 (4.75%) con bajos promedios de GPA situados en la parte inferior de la gráfica.

Conviene destacar que el G6 que incluye las poblaciones 6, 12 y 13 de la raza Cónico y la 16 de la raza Elotes Cónicos mostraron alto porcentaje de germinación GPN=93.5%, con el más bajo porcentaje de semillas sin germinar SSG=1% y con bajos promedios de DON= 0.4 ppm y ZON=0.0 ppm.

## CONCLUSIONES

- Mediante la caracterización morfométrica de mazorca y grano de las 21 poblaciones de maíz se detectaron 4 razas de Cacahuacintle, 9 de Cónico, 3 de Elotes cónicos, 2 Palomeros, 1 de Pepitilla y 2 mezclas de razas que fueron Cónico x Chalqueño y Cónico x Pepitilla.
- En las poblaciones de maíz, las razas Elotes Cónicos y Pepitilla presentaron granos con tonalidad negra, morada y roja, en la raza Cacahuacintle el color de grano fue blanco y pinto, en la raza Cónico fue amarillo y blanco, en la raza Palomero color blanco.
- En el Análisis de Conglomerados (AC) de la caracterización morfométrica de mazorca y grano de maíz, el dendograma permitió distinguir seis grupos. En el Análisis de Componentes Principales (ACP), se presentó una correlación positiva y altamente significativa entre las siguientes variables: peso de Mazorca al 10% de humedad y peso de Grano al 10% de humedad ( $r = 0.990^{**}$ ), Diámetro de olote y Diámetro de raquis ( $r = 0.931^{**}$ ), Peso de 100 granos y Volumen de 100 granos ( $r = 0.966^{**}$ ) y Grosor de grano y Ancho de grano ( $r = 0.984^{**}$ ).
- El estudio de caracterización de la semilla y su relación con pruebas fisiológicas de las 21 poblaciones de maíz indicó que en el Análisis de Conglomerados se formaron cinco grupos. El Análisis de Componentes Principales, estableció la relación negativa entre el peso de la semilla y la germinación de plántulas normales.
- La exploración fisiológica de la semilla de las poblaciones de maíz, indicó que la longitud de plúmula se correlacionó positivamente con germinación de plántulas normales, al igual que la longitud del grano con el peso seco, la longitud de la radícula y las plántulas anormales y semillas sin germinar con semillas de mayor volumen y peso como en la raza Cacahuacintle.
- En la detección y cuantificación de hongos fitopatógenos con potencial toxigénico en grano en poblaciones de maíz se detectaron 9 géneros de hongos fitopatógenos, de lo cual 3 incluyen especies potencialmente

toxigénicas como son *Fusarium*, *Penicillium* y *Aspergillus* con incidencia en la semilla de 63.3%, 10.0% y 0.3% respectivamente

- El estudio de incidencia de especies de *Fusarium* potencialmente toxigénicas indicó que en las poblaciones estudiadas se detectó una alta incidencia de la especie *Fusarium verticillioides* (39.5%) y en una menor proporción la especie *Fusarium graminearum* (12.9%).
- De las 21 poblaciones de maíz, las poblaciones 1, 5, 9, 10, 15 y 19 presentaron niveles de contaminación altos de 1.861 a 2.562 ppm rebasando los niveles de contaminación por DON para el consumo humano. Con respecto al consumo animal ninguna población superó los límites de contaminación regulados para DON.
- Para el caso de ZON, las poblaciones 1, 5, 9 y 10 rebasaron los límites de contaminación regulados para consumo humano que en promedio fue de 0.904 ppm. En el caso de consumo animal, las poblaciones 9 y 10 superaron el límite de contaminación establecido cuyos niveles de contaminación promediaron 1.273 ppm.
- *Fusarium verticillioides* tuvo una incidencia en semilla de 39.5 % contrastando con la ausencia de Fumonisinás Totales
- En el Análisis de Conglomerados que estudió la asociación entre micotoxinas, germinación y especies de hongos potencialmente toxigénicas, se detectó la diversidad entre las poblaciones que permitió agruparlas en siete grupos con características similares.
- El primer componente principal (CP1) determinó que el porcentaje de germinación de semilla de maíz no se vio afectado por la alta incidencia de *Fusarium verticillioides*. La incidencia de *Fusarium graminearum* mostro una asociación negativa con Germinación de plántulas normales
- El segundo componente principal (CP2) mostró la asociación positiva entre *Fusarium graminearum*, Deoxinivalenol y Zearalenona, por lo que poblaciones con alta incidencia de *Fusarium graminearum* generaron niveles de contaminación de dichas micotoxinas.

## LITERATURA CITADA

- Abarca M. 2000. Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. *Revista Iberoamericana de Micología*. 17: pp 79-84
- Abarca M, Bragulat M, Castella G, Accensi F y Cabañera F. 2000. Hongos Productores de micotoxinas emergentes. *Revista Iberoamericana de micología*, pp. 63-68.
- AFHSE. 2015. Asociación de Fabricantes de Harinas y Sémolas de España. Recomendaciones para la prevención, el control y la vigilancia de las micotoxinas en las fábricas de harinas y sémolas. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Secretaría General Técnica. 118 p.
- Agrios GN. 2008. *Plant pathology*. Fifth Edition. Ed. Elsevier Academic press. San Diego, California. 922 p.
- Agrosintesis. 2010. Pudrición de la mazorca. *Revista publicación mensual*. Disponible en [www.agrosintesis.com/pudricion-de-la-mazorca-2/](http://www.agrosintesis.com/pudricion-de-la-mazorca-2/), fecha de consulta Noviembre de 2017.
- Aguilera M, M. Reza MC, Chew RG y Meza JA. 2011. Propiedades funcionales de las antocianinas. *BIOTecnia*. 2: 16-22.
- Anderson E and Cutler HC. 1942. Races of *Zea mays*. I. Their recognition and classification. *Ann. Bot. Gard.* pp. 69-74.
- Alexopoulos CN. 1996. *Introducción a la micología*. Editorial Universitaria de Buenos Aires. 610 p.
- Araguás C, González E y López A. 2005. Study on ochratoxin A in cereal-derived products from Spain, *Food Chemistry*. 92:459-464,
- Arellano JL, Tut C, María A, Salinas Y y Tabeada OR. 2003. Maíz azul de los Valles Altos de México. 1. Rendimiento de grano y caracteres agronómicos. *Rev. Fitotec. Mex.* 26: 101-107.
- Ariño A, Herrera M, Estopañan JT, Carramiñana J y Rota J. 2009. Influence of agricultural practices on the contamination of maize by fumonisin mycotoxins. *Food Prot.* 72:898-902.
- Arroyo A. 2003. El cultivo de maíz como eje principal en las actividades agrícolas en la región norte del municipio de Saltillo, Coahuila. Tesis de licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 54 p.
- Arroyo N, Huertas J, Gámiz L y García AM. 2014. Control de micotoxinas en alimentos. *Investigación graseqa: seguridad alimentaria*. Boletín graseqa Nº 7. 16p.

- Barnett HL and Hunter BB. 1987. Illustrated genera imperfect fungus. Third Edition. Editorial Burgess Publishing Company. 241p.
- Benítez C y Pfeiffer P. 2006. El maíz, origen composición química y morfológica. *Materiales avanzados*. 7:15-20.
- Bennett JW and Klich M. 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*.16: 497-516.
- Benson L. 1962. *Plant Taxonomy Methods and Principles*. The Royal Press Co. New York, U.S.A. 494 p.
- Benz BF. 1997. Diversidad y distribución prehispánica del maíz mexicano. *Arqueología mexicana* 5(25): pp 17-23.
- Berger J. 1967. El maíz, su producción y abonamiento. *Agricultura de las Américas*. La revista agropecuaria moderna. 205 p.
- Boege E. 2009. Centros de origen, pueblos indígenas y diversificación del maíz. *Ciencias* 92-93. 11p
- Bolet M y Socarrás M. 2005. Micotoxinas y cáncer. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 24(1):54-9
- Bonifacio EI, Salinas Y, Ramos A y Carrillo A. 2005. Calidad pozolera en colectas de maíz Cacahuacintle. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 28: 253- 260.
- Briones R, Castillo F, Chávez JL, Aguilar VH, García CL y Ramírez A. 2015. Respuesta del maíz nativo del altiplano mexicano a pudrición de mazorca, bajo infección natural. *Rev. Agron. Mesoam.* 26:73-85.
- Burges LW, Liddell CM and Summerell BA. 1988. *Laboratory manual for Fusarium Research*. Second edition. Fusarium research Laboratory. Department of Plant Pathology and Agricultural Entomology. The University of Dysney pp 1-4.
- Carvajal M. 2013. Transformación de la aflatoxina B de alimentos, en el cancerígeno humano aducto AFB -ADN. 1 TIP Revista Especializada en Ciencias Químico Biológicas UNAM 16:109-120.
- Carrillo L y Gómez SE. 2007. Micotoxinas. *In* Carrillo L y Audisio MC. *Manual de microbiología de los alimentos*. San Salvador de Jujuy, Argentina, Universidad Nacional de Jujuy Facultad de Ciencias Agrarias. p. 89-101.
- Castillo F, Herrera E, Romero J, Ortega R, Goodman M y Smith M. 2000. Diversidad genética del maíz y su aprovechamiento *in situ* a nivel regional. En: CIAT, editor, *Fitomejoramiento Participativo en América Latina y el Caribe*. Mem. Simp. Internacional. Quito, Ecuador. CIAT – Programa PRGA del CGIAR. Cali, Colombia. 7 p.

- Castillo P y Durán C. 2005. Las micotoxinas: metabolitos secundarios de los hongos filamentosos. Ciencia-Tecnología-Sociedad. Educación Química 17(2): 122-128
- Castro J, A. Alvarado, Y. Koga, R. Tinoco. 2015. Cuantificación de micotoxinas en ingredientes alimenticios utilizados en la dieta de aves comerciales. Rev Inv Vet. Perú. 26(4): 558-564
- CEDRSSA (Centro de estudios para el desarrollo rural sustentable y la soberanía alimentaria). 2014. Consumo, distribución y producción de alimentos: el caso del complejo maíz-tortilla. LXII. Cámara de diputados. 15 p.
- Chavarri M, Barroyeta J, Ochoa Y, Rumbos N y Alezone J. 2017. Detección de *fusarium verticillioides* y fumonisinas en granos de maíz blanco provenientes de los estados Yaracuy y Guárico, Venezuela. Nova Scientia. 9: 173-184.
- Crossa J, Basford K, Taba S, Delacy I and Silva E. 1995. The Three mode analyses of maize using morphological and agronomic attributes measured in multilocation trials. Crop Sci. 35:1483-1941.
- Cruz HM. 2012. Diversidad de maíces criollos en cinco localidades del municipio de Tacotalpa, Tabasco. Trabajo de investigación, Universidad Intercultural del Estado de Tabasco. *Oxolotán, Tacotalpa, Tabasco*. 80 p
- Cruz A. 2016. Control de especies de *Fusarium* productoras de fumonisinas: factores ecofisiológicos y cambio climático. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España. 221 p.
- De la Torre M, Sánchez D, Galeana E y Plasencia J. 2014. Fumonisinas síntesis y función en la interacción *Fusarium verticilloides*-maíz. D. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas. 17:77-91.
- De León C. 1984. Enfermedades del maíz una guía para su identificación en el campo. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). 3ra Edición Mexico D.F. 114 p.
- Delouche JC and Cadwell WP. 1962. Seed vigour and vigour test. Porc. Assoc. Offic. Seed Anal. 50: 124-129.
- Desjardins AE. 2006. *Fusarium* mycotoxins. Chemistry, Genetics, and Biology. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. 260 p.
- Desjardins AE, Plattner RD y Nelson PE. 1994. Fumonisin production and other traits of *Fusarium moniliforme* strains from maize in northeast Mexico. Appl. Environ. Microbiol. 60:1695-1697.
- Diener UL y Davis ND. 1987. Biology of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. Rev. CIMMYT México. pp 31-40.

- Domínguez Carmona, Manuel (2005). Las toxinas como agresivos químicos: micotoxinas» *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia*. pp 121-187.
- Doria J. 2010. Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*. 31: 74-85.
- Espíndola S. 2006. Micotoxinas y micotoxicosis en el ganado bovino lechero. *Revista Chapingo. Serie Zonas Áridas*. 5: 89-94.
- ESRI, Environmental Systems Research Institute. 2016. ArcGis®, versión 10.3 <https://www.esri.com/es-es/arcgis/products/arcgis-pro/overview>.
- Esteva G. 2003. Los árboles de las culturas mexicanas. In: Esteva, G. y Marielle, C. (Eds.). Sin maíz no hay país. CONACULTA. Museo Nacional de las Culturas Populares. México. 17-28 pp
- Estrada JA, Hernández A, Hernández F, Carballo A y Gonzáles FV. 1999. Tipos de endospermo de maíz y su relación con la calidad de semilla. *Rev. Fitotec. Mex*. 22: 99-109.
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2003. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones. Estudio FAO: Alimentación y nutrición. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 60 p.
- Fassio A, Cozzolino D, Bonjour V, Pascal A, Condon F y Delucchi I. 2000. Maíz: variabilidad genética y usos alternativos del grano. INIA Uruguay. Serie Técnica N° 109. ISBN: 9974:38-108
- Fernández R, Morales LA y Gálvez A. 2013. Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional: una revisión indispensable. *Rev. Fitotec. Mex*. 36:275-283.
- Figueroa JD, Narváez DE, Mauricio A, Taba S, Gaytán M, Véles JJ, Rincón F y Aragón F. 2013. Propiedades físicas del grano y calidad de los grupos raciales de maíces nativos (criollos) de México. *Rev. Fitotec. Méx*. 36: 305-314.
- Gámez VA, Olan M, Santacruz A y López H. 2014. Conservación in situ, manejo y aprovechamiento de maíz Palomero Toluqueño con productores custodios In situ. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*.5:1519-1530
- Galvao JCC y Miranda GV. 2004. *Technology of Producción of Corn*. Viçosa, UFV, pp. 227-264.
- Gimeno A. 2009. Revisión de las concentraciones máximas tolerables para ciertas micotoxinas. En [www.engormix.com](http://www.engormix.com) (Micotoxinas en español). Artículos técnicos de Alberto Gimeno.
- Gimeno A y Martins ML. 2011. *Micotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos*. 3 ed. Special nutrients Inc. Miami, FL, USA. 130p.

- Godoy H. 2006. Maíz y Nutrición. Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal. Micotoxinas en maíz. Recopilación de ILSI Argentina. Serie de Informes Especiales. Vol. 2. 80 p.
- Gómez ED. 2008. Caracterización de cepas toxigénicas del género *Fusarium* mediante técnica de biología molecular. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España. 226 p.
- González S. 2010. Diagnóstico y control de especies de *Aspergillus* productoras de Ocratoxina A. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias Biológicas. Departamento de Genética. 236 p.
- Hellin J and Keleman A. 2013. Las variedades criollas del maíz, los mercados especializados y las estrategias de vida de los productores. Publicado en InfoAserca. 1-6 p.
- Hernández JM. 2010. Proyecto: "conocimiento de la diversidad y distribución actual del maíz nativo y sus parientes silvestres en México, segunda etapa 2008-2009. 17 p.
- Hernández DS, Reyes MA, García JG, Mayek N y Reyes CA. 2007. Incidencia de Hongos Potencialmente Toxígenos en Maíz (*Zea mays* L.) Almacenado y Cultivado en el Norte de Tamaulipas, México. Revista Mexicana de Fitopatología. 25:120-133.
- Hernández X. 1971. Exploración etnobotánica y su metodología, México, Colegio de Posgraduados, Escuela nacional de Agricultura, Chapingo, México. 43 p.
- Herrera BE, Castillo F, Sánchez JJ, Ortega R y Goodman MM. 2000. Caracteres morfológicos para valorar la diversidad entre poblaciones de maíz en una región: caso la raza Chalqueño. Revista Fitotecnia Mexicana 23:335-354.
- Herrera BE, González F, Sánchez JJ, Hernández JM, Ortega RA y Goodman MM. 2004. Diversidad del maíz Chalqueño. Agrociencia. Vol. 38: 12p.
- Herrera T y Ulloa M. 1990. El reino de los hongos, micología básica y aplicada, primera edición. Editorial Fondo de Cultura Económica. 380 p.
- IBPGR. 1991. Descriptores para maíz. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT)- International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR), Roma, Italia. 88p
- INIFAP, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 2017. Red de estaciones del INIFAP, variables agroclimáticas. Disponible en <http://clima.inifap.gob.mx/redinifap/estaciones.aspx>. Fecha de consulta diciembre de 2017.
- Ireta M y Gilchrist S. 1994. Roña o tizón de la espiga del trigo. Informe especial de trigo No. 20. Mexico, D.F: CIMMYT. 15p

- ISTA, International Seed Testing Association. 2009. International Rules for Seed Testing. Ed. Bassersdorf, CH-Switzerland. 700 p.
- Izquierdo N y Cirilo A. 2013. Usos del maíz. Efectos del ambiente y del manejo sobre la composición del grano. Jornada de Actualización Calidad del grano de maíz para la industria y la producción en bovinos. Balcarce. 10p.
- Jiménez A, Vázquez G, Rodríguez R y Carrizales N. 2015. Propiedades de doce razas occidentales de maíz nativo (*Zea mays* L. poaceae) para Elaboración de Tortilla. Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias. 2: 519-530
- Jugenheimer RW. 1988. Maíz, variedades mejoradas, métodos de cultivo y producción de semillas. Limusa, México. 841p.
- Kato TA, Mapes C, Mera LM, Serratos JA y Bye RA. 2009. Origen y diversificación del maíz. Una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad (CONABIO), México, D.F. 116 p.
- Klich MA. 2002. Identification of Common *Aspergillus* Species. First edition. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht. The Netherlands. 166p.
- Koury A y Atouri A. 2010. Ochratoxin A: general overview and actual molecular status. Toxins. pp 461-493.
- Leslie JF y Summerell BA. 2006. The Fusarium Laboratory Manual. In Blackwell Publishing 388 p.
- López LM. 2013. Principales micotoxicosis asociadas al consumo de maíz y sus subproductos. Trabajo de grado para optar al título de Especialista en alimentación y nutrición. Corporación Universitaria Lasallista Facultad de ingeniería de alimentos. Caldas –Antioquia, Colombia. 58 p
- Manrique FL. 2014. Caracterización morfológica y molecular de aislamientos de *fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg en maíz (*Zea mays* L.) de algunas localidades de los estados Aragua y Guárico de Venezuela. Tesis Doctoral. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela. 141 p.
- Marasas WFO, Nelson PE y Tousson TA 1984. Especies Toxigénicas de Fusarium: Identidad y Micotoxicología. La prensa de la universidad del estado de Pennsylvania, parque de la universidad. 328p
- Marasas WFO. 1995. Fumonisins: their implications for human and animal health. Natural Toxins. Vol. 3, 193-198.
- Márquez F. 2008. De las variedades criollas del maíz (*Zea mays* L.) a los híbridos transgénicos. I. recolección de germoplasma y variedades mejoradas. Revista. Agricultura, sociedad y desarrollo. Volumen 5:151-166

- Martínez P, Hernández S, Reyes CA y Vázquez G. 2013. El Género *Aspergillus* y sus Micotoxinas en Maíz en México: Problemática y Perspectivas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. Texcoco, México vol. 31, núm. 2. pp. 126-146
- Martínez E y Jiménez V. 2013. Estructura y Morfología de los Cereales. Taller de procesos tecnológicos de cereales. UNAM. Disponible en <http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/semillas/index>. Fecha de consulta noviembre 2017.
- Martínez M y Anadón A. 2009. Micotoxinas, toxicología alimentaria. Editorial España Díaz de Santos. p 66.
- Martínez S, Vásquez LM, Herrera JL, Vega MC y Muñoz A. 2017. Hongos fitopatógenos potencialmente micotoxigénicos en poblaciones de maíces en los estados de México y Tlaxcala. Suplemento de la *Revista Mexicana de Fitopatología*. Volumen 35, p. 111.
- Mazzani C, Luzón O, Chavarri M, Fernández M y Hernández N. 2008. *Fusarium verticillioides* en maíz cosechado en pequeñas explotaciones y conucos de algunos estados de Venezuela. *Rev. Fitopatología Venezolana* 21:18-22.
- Méndez A, y Moreno E. 2009. Las micotoxinas contaminantes naturales de los alimentos. *Comunicaciones libres*. Ciencia. 7 P.
- Mendoza, A., A. La Manna, J. Mieres, Y. Acosta. 2014. Evaluación del consumo de Deoxinivalenol y de un adsorbente comercial de micotoxinas en vacas lecheras a pastoreo. *Agrociencia Uruguay*. Vol.18 1:133-140
- Minitab, Inc. 2009. Minitab Statistical Software, Versión 16 para Windows, State College, Pennsylvania. Minitab® es una marca comercial registrada de Minitab, Inc.
- Moreno J, Pérez M y Moreno E. 2016. Micotoxinas en cereales. Almacenamiento en Mexico. *Revista Claridades Agropecuarias*. ASERCA. No. 271. 52 p.
- Nelson P, Toussoun TA y Marasas WFO. 1983. *Fusarium species: an illustrated manual for identification*. University Park: Pennsylvania State University Press. 206p.
- NOM, Norma Oficial Mexicana-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. d o f . g o b . m x. Fecha de consulta, enero de 2018.
- Ochoa BR, Jiménez C, Berrueto E y Hernández J. 2016. Almacenamiento en Mexico. *Revista Claridades agropecuarias*. ASERCA. N. 271. 52 p.
- Ortega PR. 2003. La diversidad del maíz en México. In: Esteva G y C Marielle (eds.). *Sin Maíz no hay País*. Consejo Nacional para la Cultura y las

- Artes, Dirección General de Culturas Populares e Indígenas México, D. F. Pp. 123-154.
- Palau MT. 2000. Relación hospedero-parásito *Trypanosoma cruzi*. MVZ-Córdoba 5:33-37.
- Paliwal RL, Granados G y Laffite H. 2001. El maíz en los trópicos, mejoramiento y producción. Dirección de Producción y Protección Vegetal de la FAO. 392 p.
- Pardey C, García MA y Moreno N. 2016. Caracterización de maíz procedente del departamento del Magdalena, Colombia. Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecuaria, Mosquera (Colombia). 17: 167-190.
- Perales R. 2009. Maíz, riqueza de México. Revista Ciencias, Núm. 92 - 93, pp. 46-55.
- Pérez FJ, Carballo A, Santacruz A, Hernández A y Molina C. 2007. Calidad fisiológica en semillas de maíz con diferencias estructurales. Agricultura Técnica en México. 33:53-61.
- Peraica M, Radic B, Lucic A y Pavlovic M. 2000. Efectos tóxicos de las micotoxinas en el ser humano, *Boletín de la Organización Mundial de la Salud* recopilación de artículos 2: 80-92.
- Pestka JJ. 2007. Deoxynivalenol: Toxicity, mechanisms and animal health risks. *Animal Feed Science and Technology*, 137: 283-298.
- Pitt JI. 1987. *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum* and production of ochratoxin A. *Appl Environ Microbiol*. 53: 266- 269
- Pitt JI and Leistner L. 1991. Toxigenic *Penicillium* species, Mycotoxins and Animal Foods. CRC Press, Boca Ratón, Florida pp. 81-99
- Pinton P y Oswald IP. 2014 Effect of deoxynivalenol and other Type B trichothecenes on the intestine: a review. *Toxins*. 6:1615-43.
- Presello D, Fernández M y Oviedo S. 2015. Resistencia a las podredumbres de espiga causadas por *Fusarium* en cultivares de maíz. Proyecto-1127023. Contaminación con micotoxinas en grano. Programa Nacional de Cereales y Oleaginosas. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Argentina. pp 29-32
- Ramírez A, García G, Carballo A, F. Castillo, Serratos JA y Cadena J. 2013. Caracterización morfológica de una muestra etnográfica de maíz (*Zea mays* L.) raza bolita de Oaxaca. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 4: 895-907.
- Ramos AJ, Cano G y Marín S. 2013. Evaluación de la exposición humana a las micotoxinas: Estudio global en la población de Cataluña (España) *.Revista Bio Ciencias* ISSN. Vol. 2. Núm.1: 45 a 57

- Ravelo A, Rubio C, Gutiérrez AJ y Hardisson A. 2011. La Ocratoxina A en alimentos de consumo humano: revisión. *Nutr Hosp.* 6:1215-1226
- Reís EM. 1989. Fusariosis: Biología y epidemiología de *Gibberella zeae* en trigo. En: Taller sobre la Fusariosis de la espiga en América del Sur. M.M. Kohli (ed.). México, D.F.: CIMMYT.
- Requena F, Saume E y León A. 2005. Micotoxinas: Riesgos y prevención. *Zootecnia Tropical* 23:393-410.
- Reyes CP. 1990. El maíz y su cultivo. AGT Editor, S.A. México, D.F. pp 258-264.
- Reyes W, Patricio S, Pereyra C, González ML, Cavaglieri L y Dalcero A. 2016. Aflatoxinas, Deoxinivalenol y Zearalenona en rastrojo de maíz cosechado en Tepatitlán, Jalisco, México. *Revista Bio Ciencias.* 4: 3-14.
- Robinson AR. 1987. Manejo del hospedante en patosistemas agrícolas. Patosistemas vegetales. Colegio de Postgraduados. Pp. 15-38
- Robledo ML, Marín S y Ramos AJ. 2001. Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México). *Rev. Iberoam. de Micol.* 18:141-144.
- Robles SR. 1981. Producción de granos y forrajes. Segunda edición. Editorial limusa S.A. México. 592 p.
- Rocha G, Lozano Z y Martínez L. 2004. Mecanismos de patogenicidad e interacción: parásito-Hospedero II. BUAP. Puebla, México. 263p
- Rojas A y Casas G. 1987. Desarrollo de la planta y ciclo del cultivo, In Argentina. Comisión de Maíz. AACREA-Cargill. Cuaderno de Actualización Técnica no. 42. p. 13-20.
- Russo V, Bruton V y Sams C. 2010. Classification of temperature response in germination of Brassicas. *Industrial Crops and products* 31, 48-51.
- Sainz MJ, Aguin O, Bande MJ, Pintos C y Mansilla JP. 2012. Biodiversidad de especies de *Fusarium* en tallos de maíz forrajero en Galicia. *Pastos.* 42: 51-66.
- Sánchez JJ, Goodman MM and Stuber CW. 2000. Isozymatic and orphological diversity in the Races of maize of México. *Economic Botany.* 54: 43-59.
- Sánchez JJ. 1995. Análisis biplot en clasificación. *Rev. Fitotec. Mex.* 18: 188-203.
- Sánchez JJ. 2011. Diversidad del Maíz y el Teocintle. Informe preparado para el proyecto: "Recopilación, generación, actualización y análisis de información acerca de la diversidad genética de maíces y sus parientes silvestres en México". 98 p.
- Sánchez JJ, Goodman MM and Rawlings JO. 1993. Appropriate characters for racial classification in maize. *Economic Botany* 47:44-59

- Sanchis V, Marin S y Ramos AJ. 2000. Control de micotoxinas emergentes. Situación legislativa actual. *Rev. Iberoam. Micol.* 17:69-75.
- Salinas Y y Aguilar L. 2010. Efecto de la dureza del grano de maíz (*Zea mays* L.) sobre el rendimiento y calidad de la tortilla. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas.* 2: 5-11.
- Salinas Y, Saavedra, Soria J, y Espinosa E. 2008. Características fisicoquímicas y contenido de carotenoides en maíces (*zea mays* l.) amarillos cultivados en el estado de México. *Agric. Téc. Méx.* 34: 357-364.
- SAS (Statistical Analysis System). 2004. SAS/STAT 9.1 User's Guide Cary, NC: SAS Institute Inc. USA. 5121 p.
- SAGARPA. 2009. Guía Técnica para la Descripción Varietal. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS) – Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 39p
- SAGARPA-SIAP. 2016. Cierre de la producción agrícola. Disponible en <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>. Fecha de consulta diciembre de 2017.
- Segal BH. 2009. Aspergillosis. Department of Medicine, Roswell Park Cancer Institute, Buffalo, NY 14263, USA. 360(18):1870-84.
- Serrano HA y Cardona N. 2015. Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. *Rev CES Med.* 29(1):143-152
- SMN, Servicio Meteorológico Nacional. 2017. Información Climatológica, Normales climatológicas por estado. Disponible en la página <http://smn.cna.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica>, fecha de consulta diciembre de 2017.
- SNICS-CP. 2009. Manual Grafico para la Descripción Varietal de maíz (*Zea maíz* L.), Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS) – Colegio de Postgraduados (CP), SAGARPA. 118p
- Sosa D, Escobar A y Faure R. 2017. Deoxinivalenol: métodos de análisis de residualidad en cereales. Toxicidad en animales de granjas. *Rev. Salud Anim.* Vol. 39, No. 2: 2224-4697
- Soriano JM y Dragacci S. 2004. Occurrence of fumonisins in foods. *Food. Res. Int.* 37: 985 -1000.
- Sturtevant EL. 1899. Varieties of corn. *USDA Off. Exp. Stn. Bull.* 571: 1-108.
- Suárez D y Melgarejo L. 2010. Biología y germinación de semillas. In *Experimentos en fisiología vegetal.* Departamento de biología Universidad Nacional de Colombia. Primera edición. 277 p.

- Teich AH y Nelson K. 1984. Survey of Fusarium head blight and possible effects of cultural practices. in wheat fields in Lambton County in 1983. Can. Plant Dis. Surv. 64:11-13.
- Tapia C y Amaro J. 2014. Programa de Microbiología y Micología. Instituto de Ciencias Biomédicas. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Rev. Chilena Infectología. 31: 85-86
- Tofiño A, Fregene M, Ceballos H y Cabal D. 2006. Regulación de la biosíntesis de almidón en plantas terrestres: perspectivas de modificación. Acta Agronómica. 55: 1.-17.
- Torres L y López L. 2010. Consumo de fumonisinas y daños en la salud humana. Salud pública, Mexico, 461-467.
- Torrenegra R, y Baquero J. 2000. Determinación de metabolitos secundarios a partir de una cepa nativa de *Penicillium* spg 28. Aislada del Páramo de Guasca, Departamento de Cundinamarca. Bogotá, Colombia: Pontificia Universidad Javeriana
- Unión Europea. REGLAMENTO (CE). 2006. No 1881/2006 DE LA COMISIÓN de 19 de diciembre de 2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. Diario Oficial de la Unión Europea. 364:5-24.
- Urrego J y Díaz G. 2006. Aflatoxinas: Mecanismos de toxicidad en la etiología de cáncer hepático celular. Rev. Fac. Medicina. Univ. Nac. Colomb. Vol. 54 No. 2. 10 p.
- Valladares C. 2010. Taxonomía y Botánica de los cultivos de grano. Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Centro Universitario Regional del Litoral Atlántico (CURLA), Departamento de producción vegetal asignatura cultivos de grano Sección 10:01. 28p
- Varela M. 1998. Análisis Multivariado de Datos. Aplicación a las Ciencias Agrícolas, Matemática Aplicada, INCA, La Habana. 56p
- Vares FM. 1984. Algunas enfermedades criptogámicas del maíz. Hojas diviugaldoras. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Núm. 8/84. 28 p.
- Varón AF y Sarria VG. 2007. Enfermedades del maíz y su manejo, compendio ilustrado. ICA, Colombia. Edición: Grupo Transferencia de Tecnología. 56 p.
- Vásquez LM, Herrera JL, Vega MC, Muñoz A y Martínez S. 2016. Incidencia de hongos potencialmente micotoxigénicos en poblaciones de maíces mexicanos del altiplano de México. Suplemento de la Revista Mexicana de Fitopatología. Volumen 34, p. 91.

- Vázquez MG y Santiago D. 2013. Características fisicoquímicas y calidad del pozole del maíz Cacahuacintle procesado mediante tres métodos. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 36, Supl. 3-A: pp 357 – 366.
- Vázquez R. 2008. Detección de *Fusarium verticillioides* en tres materiales de maíz del estado de Veracruz y Guanajuato. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila. 42 p.
- Velluti A. 2002. Ecofisiología de especies de *Fusarium* productoras de fumonisinas, zearalenona y deoxinivalenol en maíz: aceites esenciales como inhibidores fúngicos. Tesis doctoral. Universitat de Lleida. Lleida, España. 139 p.
- Visagie CM, Houbroken J, Frisvad JC, Hong CH, Klaassen W, Perrone G, Seifert KA, Varga J, Yaguchi T and Samson RA. 2014. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. Fungal Biodiversity Centre. Studies in mycology 78: 343–371.
- Warham EJ, Butler LD y Sulton BC. 1999. Ensayos para la semilla de maíz y trigo, manual de laboratorio. CIMMYT. CAB International Wallingford. 84 p.
- Wellhausen EJ, Roberts LM, y Hernández E. 1951. Razas de maíz en México, su origen, características y distribución. Folleto técnico No. 5. Oficina de estudios especiales, Secretaría de Agricultura y Ganadería. México, D.F. 223 P.
- Zillinsky FJ. 1984. Enfermedades comunes de los cereales de grano pequeño: una guía para su identificación. CIMMYT, el Batán, México. 141 p
- Zorrilla L. 2011. Población, condiciones de vida e indicadores sociales en España. Predictores de las emisiones de dióxido de carbono. Un análisis multivariante por comunidades autónomas. 59 p.

## ANEXOS

**Cuadro 1. Cuadrados medios y coeficientes de variación de variables cuantitativas de mazorca y grano.**

Fuente	GL	CM LM	CM DM	CM DO	CM DR	CM NH	CM NGPH	CM LG	CM AG
Grupo	5	49.27**	6.55**	4.48**	2.46**	91.86**	158.42**	46.48**	115.02**
Error	114	1.27	0.05	0.02	0.02	2.67	8.43	0.81	0.29
Total	119								
CV (%)		7.03	4.68	7.14	10.46	11.0	8.43	5.98	6.4

Fuente	GL	CM GG	CM P100G	CM V100G	CM RPV	CM AG/LG	CM GG/LG	CM GG/AG
Grupo	5	18.32**	6508.1 **	26228.1**	0.08**	0.39**	0.06**	0.05**
Error	114	0.13	18.9	55.3	0.001	0.003	0.001	0.002
Total	119							
CV (%)		7.1	9.9	10.8	6.3	9.8	10.3	7.5

\*\* = Altamente significativo

**Cuadro 2. Coeficientes de correlación y niveles de significancia para variables cuantitativas de mazorca y grano.**

	LM	DM	DO	DR	NH	NGPH	LG	AG	GG
DM	0.522*								
DO	0.686**	0.669**							
DR	0.586**	0.571**	0.931**						
NH	-0.533**	-0.471*	-0.688**	-0.581**					
NGPH	-0.129	-0.424*	-0.572**	-0.459*	0.835**				
LG	0.074	0.746**	0.174	0.195	-0.068	-0.168			
AG	0.669**	0.617**	0.823**	0.704**	-0.932**	-0.782**	0.181		
GG	0.646**	0.618**	0.840**	0.706**	-0.931**	-0.816**	0.172	0.984**	
AG/LG	0.654**	0.371	0.760**	0.632**	-0.918**	-0.727**	-0.149	0.945**	0.930**
GG/LG	0.578**	0.200	0.702**	0.566**	-0.856**	-0.689**	-0.350	0.843**	0.862**
GG/AG	-0.669**	-0.709**	-0.771**	-0.683**	0.848**	0.668**	-0.330	-0.938**	-0.878**
P100G	0.654**	0.752**	0.800**	0.676**	-0.876**	-0.765**	0.386	0.960**	0.958**
V100G	0.655**	0.639**	0.800**	0.665**	-0.909**	-0.778**	0.260**	0.985**	0.969**

Continuación...

RPV	-0.457	-0.294	-0.590**	-0.475	0.750**	0.632**	-0.071	-0.763**	-0.738**
M10%H	0.619**	0.886**	0.576**	0.514	-0.200	-0.097	0.754**	0.418	0.412
G10%H	0.558**	0.861**	0.481	0.428	-0.120	-0.033	0.787**	0.321	0.320
Desgr	-0.577**	-0.356	-0.756**	-0.676**	0.556**	0.412	0.062	-0.728**	-0.696**
	AG/LG	GG/LG	GG/AG	P100G	V100G	RPV	M10%H	G10%H	
GG/LG	0.962**								
GG/AG	-0.834**	-0.664**							
P100G	0.837**	0.713**	-0.920**						
V100G	0.905**	0.788**	-0.929**	0.966**					
RPV	-0.745**	-0.666**	0.703**	-0.659**	-0.817**				
M10%H	0.170	-0.000	-0.536	0.577**	0.465	-0.17			
G10%H	0.062	-0.105	-0.455	0.500	0.371	-0.091	0.990**		
Desgr.	-0.751**	-0.693**	0.632**	-0.639**	-0.715**	0.570**	-0.307	-0.167	

\* = Significativo al nivel 0.05 de probabilidad de error, \*\* = altamente significativo al nivel 0.01 de probabilidad de error.

### Cuadro 3. Cuadrados medios y coeficientes de variación de características de semilla y variables fisiológicas de germinación y vigor.

Fuente	GL	CM	CM	CM	CM	CM	CM	CM	CM
		LG	AG	GG	P100G	V100G			
Grupo	5	39.53**	108.07**	16.97**	5803.2**	24754.1**			
Error	114	0.62	0.20	0.098	16.7	52.5			
Total	119								
C.V (%)		5.23	5.27	6.02	9.17	10.52			
Fuente	GL	CM	CM	CM	Fuente	GL	CM	CM	CM
		GPN	GPA	SSG			LP	LR	PS
Grupo	5	353.6**	296.7**	36.5ns	Grupo	5	8.83**	39.35**	3090**
Error	18	21.1	16.1	16.4	Error	12	0.409	1.34	168
Total	23				Total	17			
C.V (%)		4.97	22.17	48.79	C.V (%)		5.47	4.67	11.31

\* = Significativo  $P \leq 0.05$ , \*\* = Altamente significativo  $P \leq 0.01$ . ns= No significativo

**Cuadro 4. Coeficientes de correlación y niveles de significancia de características de grano y variables fisiológicas**

	LG	AG	GG	P100G	V100G	GPN	GPA	SSG	LP	LR
AG	0.181									
GG	0.173	0.984**								
P100G	0.386	0.960**	0.958**							
V100G	0.261	0.985**	0.968**	0.966**						
GPN	-0.118	-0.870**	-0.865**	-0.809**	-0.873**					
GPA	0.172	0.850**	0.829**	0.781**	0.856**	-0.980**				
SSG	-0.160	0.510*	0.575**	0.516*	0.503*	-0.576**	0.402			
LP	-0.266	-0.585**	-0.604**	-0.614**	-0.573**	0.400	-0.387	-0.250		
LR	0.326	-0.249	-0.305	-0.227	-0.209	0.138	-0.064	-0.372	-0.021	
PS	0.357	-0.073	-0.080	-0.017	-0.065	0.129	-0.167	0.091	-0.272	0.273

\*Significativo al 0.05 ( $r=0.433$ ), \*\*Altamente significativo al 0.01 ( $r=0.549$ ) de probabilidad de error

**Cuadro 5. Cuadrados medios y coeficientes de variación de géneros y especies de hongos potencialmente toxigénicas**

Fuente	GL	F.v	F.g	F.o	Tric	Pho	F.spp
Trat	20	148.9 **	381.8 **	388.7 **	60.5*	100.0**	124.9**
Error	63	39.48	103.5	24.07	32.42	23.83	20.08
Total	83						
C.V. %		16.2	59.0	31.7	198.1	98.8	57.4

Fuente	GL	Pen	Bip	Acr	Cl	Asp	Chae
Trat	20	338.7**	0.575ns	290.5**	18.41**	12.32**	115.58**
Error	63	57.4	0.5751	42.09	7.225	4.493	13.43
Total	83						
C.V. %		49.7	55.6	45.5	147.0	105.3	95.0

F.v= *Fusarium verticilloides*, F.g= *Fusarium graminearum*, F.o= *Fusarium Oxysporum*, Tr= *Tricotecium*, Pho= *Phoma*, F.spp= *Fusarium spp*, Pen= *Penicillium*, Bip= *Bipolaris*, Acr= *Acremonium*, Cl= *Cladosporium*, Asp= *Aspergillus*, Chae= *Chaetomium*. \*\*= Altamente significativo, \* = significativo, ns= No significativo.

**Cuadro 6. Valores de distancia euclidiana y pasos de enlace para la construcción del dendograma, método de enlace completo.**

Paso	Número de conglomerados	Nivel de Distancia	Conglomerados incorporados		Poblaciones en el conglomerado
1	20	0.7753	17	21	2
2	19	0.8258	13	16	2
3	18	1.2812	14	20	2
4	17	1.4039	3	7	2
5	16	1.5093	5	19	2
6	15	1.5849	9	10	2
7	14	1.6909	6	13	3
8	13	1.7291	5	8	3
9	12	2.1723	4	14	3
10	11	2.3123	5	15	4
11	10	2.3715	11	17	3
12	9	3.0348	6	12	4
13	8	3.0455	4	18	4
<b>14</b>	<b>7</b>	<b>3.2182</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>3</b>
15	6	3.7441	5	6	8
16	5	3.8380	4	11	7
17	4	4.3573	4	5	15
18	3	5.3661	1	9	5
19	2	6.2217	1	4	20
20	1	7.3389	1	2	21

**Cuadro 7. Cuadrados medios y coeficientes de variación para la prueba de germinación, incidencia de especies de *Fusarium* y niveles de contaminación por micotoxinas.**

Fuente	G.L.	C.M. Germinación <sup>1</sup>			C.M. Incidencia <sup>1</sup>		Fuente	G.L.	C.M. micotoxinas	
		GPN	GPA	SSG	F.v.	F.g.			DON	ZON
Grupos	6	326.9**	332.7**	39.4*	99.0**	361.1**	Grupos	6	2.17**	0.63**
Error	21	5.62	4.27	13.1	17.4	33.3	Error	14	0.0085	0.0071
Total	27						Total	20		
C.V. (%)		3.5	10.8	40.2	11.1	30.5	C.V. (%)		7.78	29.1
$\bar{x}$		68.3	19.1	9.0	37.5	18.9	$\bar{x}$		1.19	0.29

<sup>1</sup>Datos de germinación e incidencia de especies de *Fusarium* transformados por arco seno. \* = Significativo P≤ 0.05, \*\* = Altamente significativo P≤0.01.

**Cuadro 8. Coeficientes de correlación y niveles de significancia para caracteres de germinación, incidencia de especies de *Fusarium* y micotoxinas.**

	GPN	GPA	SSG	<i>F. v.</i>	<i>F. g.</i>	DON
GPA	-0.980**					
SSG	-0.576**	0.402				
<i>F. v.</i>	0.422*	-0.409	-0.262			
<i>F. g.</i>	-0.089	0.007	0.378	-0.255		
DON	0.199	-0.284	0.249	-0.127	0.430*	
ZON	0.105	-0.220	0.418*	-0.325	0.310	0.679**

\* = Significativo al nivel 0.05 de probabilidad de error, \*\* = altamente significativo al nivel 0.01 de probabilidad de error.