

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Hongos Fitopatógenos Asociados a La Pudrición de Maíz Destinado Como Alimento
Para el Ganado

Por:

JOEL DE SANTIAGO MEZA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Junio de 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Hongos Fitopatógenos Asociados a La Pudrición de Maiz Destinado Como
Alimento Para el Ganado

Por:

JOEL DE SANTIAGO MEZA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

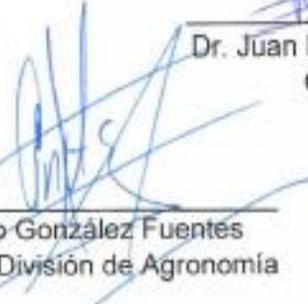
Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dr. Agustín Hernández Juárez
Asesor Principal Interno


M.C. José Luis Arispe Vázquez
Asesor Principal Externo


Dr. Epifanio Castro Del Ángel
Coasesor


Dr. Juan Mayo Hernández
Coasesor


Dr. José Antonio González Fuentes
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Junio de 2021



Declaración de no plagio

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, graficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante


Joel De Santiago Meza

Firma y Nombre

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme vida, salud, sabiduría, y por darme la fortaleza para poder salir adelante en los momentos complicados de mi vida.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por acogerme y haberme permitido ser parte de ella. Por formarme como profesionista; poniendo a su disposición a excelentes maestros, así como sus instalaciones y materiales.

A todos mis maestros por aportarme conocimiento, sabiduría y experiencias durante mi formación académica.

Al Dr. Agustín Hernández Juárez por todo el apoyo brindado durante esta etapa, por su tiempo, amistad y por darme la oportunidad de realizar este trabajo.

Al M.C. José Luis Arispe Vázquez por su tiempo, orientación y ayuda durante este tiempo. Por su apoyo en el laboratorio para la realización del experimento.

Al Dr. Epifanio Castro por su tiempo y ayuda en la revisión de este trabajo.

Al Dr. Alberto Sandoval Rangel por el apoyo, tiempo y conocimiento que me transmitió.

Al Dr. Gustavo Alberto Frías Treviño por haberme permitido realizar mis prácticas profesionales dentro de la empresa SERVESA A.C.

Al Lic. Gustavo Alberto Frías Díaz “Ito” por todo el apoyo que me brindó durante mi estancia de prácticas profesionales.

Al M.C. Héctor Quiñones Dena por brindarme su amistad, apoyo y por compartirme su conocimiento.

A la M.C. Yuria Medina Uriarte por su amistad y todo el conocimiento que me ha compartido.

Al profesor Christian Oviedo de la Torre por su amistad, apoyo y consejos durante esta etapa.

A mi entrenador Gregorio López por todo el apoyo que me ha brindado.

A mis amigos por su amistad durante este tiempo; Luis Enrique Vargas, Roberto Rendón, Oscar Martínez, Salvador Cárdenas, Axel Payan, Midiam Salas, Anabel Blanco, David Barriguete.

DEDICATORIA

A mis padres:

Isela Meza Rosas y Tereso De Santiago Salinas

Por estar a mi lado en todo momento, por su amor, por inculcarme valores y hacerme ver las cosas que están mal o bien. A mi Papá por levantarse todas las mañanas para ir al trabajo sin importar las condiciones en las que estuviera el amanecer, con el fin de buscar un mejor futuro para mí. A mi mamá por todo el tiempo que me ha dedicado, por apoyarme en mis decisiones y por hacer que nunca falte comida en la mesa.

A mis tíos:

José Luis, Xavier, Ma. Del Carmen, Rosalba, Yuridia, Susana, Claudia, Isabel, Gerardo, por brindarme consejos y por todo su apoyo durante este tiempo.

A mis abuelos:

Julia, Odilón, Enemesia, por el apoyo y amor que me han brindado durante todo este tiempo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIA.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE CUADROS	x
RESUMEN	xi
INTRODUCCIÓN	1
Justificación	2
Objetivos	2
Hipótesis	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Fitopatógenos en el Cultivo de Maíz	3
Producción Mundial de Maíz Grano y Forraje.....	4
Producción Nacional de Maíz Grano y Forraje	4
Producción de Maíz Grano y Forraje en Puebla	4
Inocuidad en Granos.....	5
Contaminantes Presentes en los Alimentos.....	5
Biológicos	5
Químicos	6
Físicos.....	6
Principales Hongos Fitopatógenos en la Pudrición de maíz	6
Género <i>Fusarium</i>	7

Importancia.....	7
Clasificación taxonómica (EPPO, 2021).....	8
Ciclo de vida.....	8
Diseminación.....	9
Características del Género <i>Aspergillus</i>	9
Clasificación taxonómica (Pontón, 2002)	10
Importancia.....	10
Características del Género <i>Penicillium</i>	10
Clasificación taxonómica.....	11
Importancia.....	11
Micotoxinas	11
MATERIALES Y MÉTODOS	14
Ubicación del Experimento	14
Obtención del Material Genético.....	14
Pruebas de Sanidad de la Semilla	15
Análisis Estadístico	17
Pruebas de Sanidad en Tallos	18
Preparación de Medio de Cultivo	18
Aislamiento	20
Purificación	20
Preparación de Laminillas.....	21
Identificación Morfofisiológica	21
Evaluación	21
Análisis Estadístico	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22

Identificación de patógenos en tallos y granos de maíz.....	22
Incidencia.....	25
CONCLUSIÓN	28
BIBLIOGRAFÍA	29

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Micotoxinas en la cadena alimenticia desde la producción de grano hasta su consumo por animales	13
Figura 2. Entrada principal del DP de la UAAAN, Saltillo, Coahuila	14
Figura 3. Muestras de tallos con diferentes pigmentaciones en el exterior, VL= Verde lima, A= Amarilla, R= Roja, M= Marrón	15
Figura 4. Granos de los maíces híbridos utilizados en esta investigación	16
Figura 5. Establecimiento de los granos de manera equidistante sobre el contenedor de plástico	16
Figura 6. Contenedores de plástico con granos de maíz colocadas en el congelador.....	17
Figura 7. Cortes de tallo colocadas en toallas de papel para un correcto secado.....	17
Figura 8. Cajas de Petri con medio PDA listas para el aislamiento de patógenos	18
Figura 9. Cortes de tallo distribuidos equidistantemente en caja de Petri con medio PDA.....	18
Figura 10. Aislamiento de patógenos en el Laboratorio de Entomología Molecular y Alternativas de Control de Plagas	19
Figura 11. Estructuras microscópicas correspondiente al género <i>Fusarium</i>	21
Figura 12. Estructuras microscópicas del género <i>Penicillium</i>	22
Figura 13. Estructuras microscópicas observadas del género <i>Bipolaris</i>	23
Figura 14. Estructuras microscópicas observadas del género <i>Aspergillus</i>	24

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Numero de muestras de tallos y mazorcas que se colectaron por cada híbrido.	15
Cuadro 2. Géneros de hongos identificados sobre las distintas pigmentaciones en los genotipos de maíz	26

RESUMEN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los granos alimenticios más utilizados para el consumo humano y animal, sin embargo; como muchos cultivos, se ve afectado por distintos fitopatógenos, principalmente hongos que ocasionan pérdidas en el rendimiento, así como en la calidad del grano y forraje, debido, a que muchos de esos patógenos producen micotoxinas. El objetivo de esta investigación fue detectar los hongos presentes en tallos y granos de maíces híbridos: DK-2069, DK-2061 y DK-2048, destinados para la alimentación de animales. La siembra fue el 17 de abril de 2019 y la cosecha se realizó el 20 de diciembre de 2019, en San Andrés Cacaloapan, Puebla. Se obtuvieron 15 muestras de tallos con diferentes pigmentaciones en el exterior y 15 mazorcas principales en un muestreo al azar sobre 10 surcos centrales por cada una de las parcelas evaluadas. La evaluación se llevó a cabo en el LEMyACP del DP de la UAAAN, donde las muestras de tallos y granos colectados se desinfectaron y colocaron en medio de cultivo PDA y posteriormente se identificaron los patógenos mediante criterios morfológicos. Se hizo un análisis de varianza y comparación entre medias con una prueba de rango múltiple de Tukey ($p=0.05$), utilizando el software SAS® versión 9.1. De las muestras de tallos se identificaron hongos fitopatógenos correspondientes a los géneros; *Bipolaris*, *Penicillium* y *Fusarium* con una incidencia total de 33.89 a 68.89%, mientras que en las muestras de granos se identificaron los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* con incidencia total de 27.10 a 70.99%. Debido a la incidencia de los hongos potencialmente toxigénicos (*Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*) en los granos de los diferentes genotipos, la zona de estudio requiere estrategias para una producción de forraje para el consumo animal más seguro, es decir, inocuo, para evitar enfermedades en el ganado y contaminación indirecta de las micotoxinas a las personas.

Palabras clave: Fitopatógenos, granos, hongos, maíz, micotoxinas, tallos.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los granos alimenticios más utilizados para el consumo humano y animal. En el caso del consumo animal, es utilizado principalmente en la época de estiaje como forraje fresco, ensilado o rastrojo (Luna *et al.*, 2013). Los hongos toxicológicos más importantes (*Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium*) tienen amplia distribución geográfica y pueden desarrollarse sobre una amplia gama de granos almacenados, ocasionando bajos rendimientos y pérdidas de calidad del forraje, debido a que muchos de esos patógenos producen micotoxinas (aflatoxinas, fumonisinas, tricotecenos, zearalenonas, etc.) (Navarrete, 1986). En el género *Aspergillus* son comunes las aflatoxinas; en *Fusarium* son importantes las fumonisinas, zearalenonas y los tricotecenos; mientras que en *Penicillium* destacan la síntesis de la patulina, la citrina y la ocratoxina (Sharma, 2004).

El consumo de maíz contaminado por micotoxinas por el ganado, puede tener consecuencias, por ejemplo, menor ganancia de peso, mayor incidencia de enfermedades y disminución de la capacidad reproductiva (Binder *et al.*, 2007). De modo que las micotoxinas son ingeridas por los seres humanos no sólo a través de granos, semillas o frutos (directamente); sino también se presentan en la leche o la carne de animales criados con alimentos contaminados (indirectamente) (Requena *et al.*, 2005), por otra parte, Wild (1996) y Peraica (1999) mencionaron que en los animales, las micotoxinas ocasionan hígado graso y edema cerebral severo y a largo plazo presentan efectos carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos, estrogénicos, inmunológicos, nefrotóxicos y neurotóxicos.

Por ello, el conocimiento de los hongos fitopatógenos que pueden afectar al cultivo de maíz forrajero en cada zona geográfica es importante para predecir los riesgos de contaminación del forraje fresco o ensilado, por micotoxinas (Dorn *et al.*, 2009).

Los tallos y hojas del maíz han recibido menos atención, a pesar de que algunos estudios indican que presentan mayor infección por *Fusarium* spp. que los granos

(Di Menna *et al.*, 1997), lo que resulta muy grave, esto por la posible toxicidad del forraje, ya que, tanto los tricotecenos, zearalenonas y fumonisinas persisten en el forraje (Mansfield y Kuldau, 2007). Por tal motivo, es importante tener una buena sanidad en el forraje, y en este trabajo se pretende determinar los hongos fitopatógenos causantes de la pudrición grano y tallo de maíces destinados para forraje.

Justificación

En el manejo de enfermedades es muy común realizar estrategias de control, sin reconocer correctamente el agente causal. Por este motivo, es importante determinar correctamente el fitopatógeno(s) causante de la enfermedad para seleccionar el método(s) acorde al organismo(s) que está causando el problema.

Objetivos

Identificación de la micobiota de granos y tallos de maíces híbridos destinados para la alimentación del ganado.

Identificar los hongos fitopatógenos asociados a la pudrición de grano y tallo de maíces híbridos forrajeros.

Hipótesis

Se espera reconocer al menos tres géneros asociados a la contaminación de grano y tallo de maíz forrajero.

REVISIÓN DE LITERATURA

Fitopatógenos en el Cultivo de Maíz

En la agricultura mundial, los hongos fitopatógenos son causantes de enfermedades de pre y pos cosecha en el cultivo de maíz, responsables de pérdidas económicas (Agrios, 2005). Al maíz lo afectan numerosas enfermedades, dentro de ellas las fungosas que provocan serios daños, ya que anualmente en las zonas maiceras se presentan ligeros decrementos hasta pérdidas totales de la producción, por diversas enfermedades, y entender el efecto del medio ambiente en el desarrollo de una enfermedad es bastante complejo, puesto que es el resultado de la conjugación del ambiente favorable y el patógeno virulento, siendo la temperatura el factor determinante de la incidencia regional de las enfermedades (Navarrete, 1986).

MacGee (1988) enlistó las principales enfermedades del maíz, mencionando las que son portadas y transmitidas por semillas, así como su agente causal, entre estas se encuentran las pudriciones del tallo, raíz y mazorca, ocasionado por los géneros *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Alternaria*, de igual modo; Castaño (1978), Ahmed y Blutta (1989), mencionan que las enfermedades fungosas del maíz, prácticamente inician con las infecciones causadas en el endospermo del grano, especialmente por especies denominados “hongos del campo” principalmente el género *Fusarium* y otros contaminantes externos ocasionados por los denominados “hongos mohos” del almacén, principalmente *Aspergillus* y *Penicillium*, en particular; *Fusarium* es uno de los hongos de mayor prevalencia que causa daños en las zonas maiceras de México (Marasas *et al.*, 1988), es decir, presenta una distribución cosmopolita y es endémico de zonas maiceras de todo el mundo (Mendoza *et al.*, 2003).

Producción Mundial de Maíz Grano y Forraje

En el mundo durante el ciclo 2019 la producción de maíz fue de alrededor de 1, 148, 487, 291 t, superando al trigo y al arroz, donde, Estados Unidos fue el principal productor con una producción de 347, 047, 570 t seguido de China Continental con 260, 957, 662 t y en tercer lugar Brasil con 101, 138, 617 toneladas (FAOSTAT, 2019), para el mismo ciclo, la producción de maíz forrajero en el mundo fue de 200 millones de t (RECA, 2019).

Producción Nacional de Maíz Grano y Forraje

El maíz es el principal alimento en México, cuenta con un área de siembra de 7, 122, 562 ha y una producción de 27, 169, 400 ton (FAOSTAT, 2019) y Sinaloa es el principal productor, con 5.5 millones de t de maíz blanco y 858 mil t de maíz amarillo, abarcando alrededor del 23.4% en la producción nacional (SADER, 2019).

En el ciclo 2019, la producción de maíz forrajero a nivel nacional fue de 15,569,846.80 t y los principales estados productores de maíz forrajero fueron: Jalisco con 5 millones de t, Durango con 1, 942,000 t y Zacatecas con 1, 721,000 t (SADER, 2020).

Producción de Maíz Grano y Forraje en Puebla

El área de siembra de maíz en el estado de Puebla es de 516,722 ha, con una producción total de 986,348 t, donde, San Salvador El Seco es el principal municipio productor con 37,494 t anuales, lo que representa el 3.80% de la producción estatal y el área de siembra para el forraje de Puebla es de 7, 125 ha, con una producción total de 307,910 t (SIAP, 2020).

Inocuidad en Granos

Dentro de los factores que encontramos para la formación de hongos se encuentra: la calidad del grano o también llamado semilla (Arano, 1998), en síntesis, el término grano se utiliza cuando se destinan para la alimentación humana y animal, o como materia prima para la industria; mientras que el término de semilla se utiliza para indicar su uso en la siembra, reproducción y multiplicación de la especie o variedad. Si una semilla pierde o reduce su capacidad para generar una nueva planta, se debe utilizar sólo como grano siempre y cuando no este tratada con productos que pueden afectar la salud humana o animal y que no se le hayan desarrollado compuestos tóxicos o alterando sus cualidades alimenticias (FAO, 2010).

Contaminantes Presentes en los Alimentos

Actualmente el mundo demanda alimentos que no ocasionen daño a la salud de humanos y animales, por lo que el riesgo de contaminación es una importante preocupación para la inocuidad alimentaria de los granos y forraje de maíz (Abramson, 1997).

Entre las principales causas de contaminación que resultan con pérdidas de inocuidad de los granos se identifican la presencia de micotoxinas, residuos de plaguicidas, metales pesados, microorganismos de control de calidad y patógenos , por lo que, el consumo de granos contaminados puede ocasionar un daño a la salud de los animales y a las personas o causar pérdidas económicas en la producción de carnes, leche y huevos (D' Mello *et al.*, 1997; Smith, 1997), sin embargo, existen diferentes tipos de contaminantes presentes en los alimentos, los cuales son:

Biológicos

Es la producida por agentes vivos o microorganismos (bacterias, hongos, virus, parásitos) o cualquier metabolito primario o secundario que estos produzcan. Generalmente estos agentes no alteran de manera visible los alimentos (cambios

de color, textura u olor), por lo que no despiertan ninguna sospecha y pueden causar enfermedad (AESAN, 2006).

Químicos

Es la producida por sustancias químicas. Por ejemplo, plaguicidas, metales pesados, hormonas, etc., también se considera contaminación química la presencia de aditivos no autorizados en cantidades que superen los límites establecidos legalmente (FAO, 2017).

Físicos

Suelen deberse a la presencia de sustancias extrañas al alimento: cortes de huesos, plumas, piedras, plásticos, grapas, maderas, cristales, etc. (Masana, 2015).

Principales Hongos Fitopatógenos en la Pudrición de maíz

Durante su crecimiento, el maíz es susceptible a infecciones de diversos hongos (Scudamore y Livesey, 1998), sin embargo, los géneros que más destacan son: *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, mismos que ocasionan efectos nocivos en el cultivo y en los consumidores, por otro lado Auerbach (2003) mencionó que los géneros más relevantes son *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus*, en particular la contaminación por *Fusarium* es la más frecuente y la de mayor incidencia (Rodríguez-del Bosque *et al.*, 1995; Rodríguez-del Bosque, 1996). Otra patología emergente es *Aspergillus* cuando afecta la espiga de maíz causando pudrición, este hongo filamentoso viene causando alerta desde 2008 por los niveles de aflatoxinas detectados luego de períodos de estrés de los cultivos (Camiletti *et al.*, 2017).

Las espigas de maíz afectadas, presentan proliferación de micelio que varía en color e intensidad dependiendo de los hongos que están produciendo la infección, por otra parte, los granos de maíz pueden ser dañados por hongos tanto antes de la cosecha como en post cosecha (campo, transporte o almacenamiento) y estas enfermedades afectan tanto la productividad como la calidad física y química de los

granos, en concreto, la mayor preocupación radica en su contaminación con metabolitos secundarios de los hongos conocidos como micotoxinas, causantes de enfermedades a humanos y animales genéricamente denominadas micotoxicosis (Presello *et al.*, 2004).

Género *Fusarium*

Importancia

Algunas especies del género *Fusarium* son ampliamente conocidas alrededor del mundo, y se han convertido en un problema serio ya que producen metabolitos tóxicos que ponen en peligro la salud de los seres humanos y de los animales (Ma *et al.*, 2013).

Es un hongo de campo que requiere alta humedad relativa (90%) y la temperatura del grano debe estar a 23°C para su crecimiento por lo que muy raramente crece después de cosecha ya que las condiciones de almacén generalmente no son convenientes para su desarrollo, por otra parte, en campo el hongo causa la muerte de óvulos, marchitamiento del grano, debilitamiento o muerte de embriones (Ramírez, 2006), también Lawlor y Lynch (2011) mencionaron que este género de hongo causa enfermedades tales como destrozo principal del trigo, cebada y putrefacción en maíz, tanto que son un riesgo significativo por la producción de micotoxinas.

El género *Fusarium* es un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en el suelo y plantas y debido a su capacidad de crecer a 37 °C, son considerados oportunistas (Leslie, 2006). Estos patógenos vegetales se pueden dividir en tres grupos en función del tipo de enfermedad que producen. Un primer grupo, cuyo representante principal es *F. oxysporum*, y cuyos integrantes provocan marchitamiento vascular en el huésped. En segundo lugar, estarían las podredumbres de raíz causadas principalmente por *F. solani* y por último las especies que provocan enfermedades en plantas gramíneas (*F. verticillioides*, *F. graminearum*, *F. avenaceum* y *F. culmorum*) (Price, 1984).

Clasificación taxonómica (EPPO, 2021)

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hipocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Fusarium* Link ex Grey

Ciclo de vida

La infección y colonización de las partes superiores de la planta de maíz por *Fusarium* se produce a través de heridas provocadas por plagas, sobre todo, a través de las sedas (estilos de las flores femeninas) expuestas que sobresalen por la parte superior de las brácteas en el momento de la floración, en particular, la floración femenina se considera un momento clave en la infección de *Fusarium* (Reid *et al.*, 2009), puesto que, las microconidias del hongo son depositadas sobre las sedas por el viento, salpicaduras de agua o insectos (Duncan y Howard, 2010). El hecho de que las sedas no estén protegidas por las brácteas como sí lo están los granos, las dispone como una vía principal para germinar, desarrollar el micelio y producir más esporas (Miller *et al.*, 2003).

Existen algunos estudios, como el de Miller *et al.* (2007), que han investigado en detalle el proceso de infección de *Fusarium* en sedas de maíz, demostrando que la germinación de conidios se produce 4-6 h después de la inoculación del hongo en el canal de las sedas, pero que podría tardar hasta 12-24 h, además, a las 48h, probablemente después de que los nutrientes disponibles en el sitio de inoculación hayan sido agotados, alguna de las hifas crece en líneas más o menos rectas, tanto en la superficie como penetrando en las células epidérmicas de las sedas, hacia la mazorca, y finalmente infectan los granos en desarrollo.

Diseminación

La vía más común para que *Fusarium* infecte a la mazorca es a través del estigma, esto sucede cuando el inóculo aéreo y las conidias transportadas por el agua de lluvia se depositan en el estigma. Hay insectos que actúan como vectores del hongo, ya sea dispersándolo a lo largo de la superficie de la planta hacia los granos, como los gusanos barrenadores *Ostrinia* spp. y *Diatraea* spp. o bien, transportándolo a través de grandes distancias, como el gusano de la raíz (*Diabrotica* sp.). Otros vectores descritos son gusano elotero (*Helicoverpa zea*) en sus fases de larva y de adulto, los trips (*Frankliniella* spp) y los gorgojos (*Sitophilus* spp.). La función de vector se apoya en el hecho de que el hongo sobrevive en los órganos externos de los insectos mencionados (De la Torre, 2014).

Características del Género *Aspergillus*

El género *Aspergillus* es un hongo filamentoso hialino a las 192 horas, saprofito, perteneciente al grupo Ascomycota (Denli y Pérez, 2006) y las diferentes especies se diferencian en tamaño, tasa de crecimiento, textura (aterciopelada, granular, algodonosa) y color de la colonia: verde-amarillento (*A. flavus*), negro (*A. niger*), marrón (*A. terreus*). La coloración aparece casi siempre en todas las estructuras aéreas, tanto en el micelio como en las cabezas conidiales, hay que mencionar, además que *Aspergillus* es uno de los principales hongos productores de micotoxinas, es necesario recalcar que las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos y secretados por el hongo durante el proceso de degradación de la materia orgánica, como mecanismo de defensa frente a otros microorganismos (INSHT, 2012).

Clasificación taxonómica (Pontón, 2002)

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Eurotiomycetes

Orden: Eurotiales

Familia: Trichocomaceae

Género: *Aspergillus* P. Micheli ex Haller

Importancia

Una de las particularidades de las especies de *Aspergillus* es su capacidad para producir micotoxinas, en este caso, aflatoxinas (Carvajal, 2013) y el efecto toxígeno de las aflatoxinas producidas por especies del género *Aspergillus* varía desde los carcinogénicos, teratogénicos o mutagénicos hasta la producción de desórdenes hormonales o inmunosupresores; lo que a su vez depende de la aflatoxina, dosis, tiempo de exposición u organismo expuesto (Carvajal, 2013). El problema principal reside en que las aflatoxinas son acumulativas de modo que una vez que contaminan el grano o el producto agrícola en campo o almacén persisten a la digestión, al calor de la cocción o al congelamiento, habrá que decir que 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).

Características del Género *Penicillium*

Penicillium es un hongo saprófito perteneciente al filo Ascomycota, que crece sobre los alimentos preparados o sus materias primas, ya sean de origen vegetal o animal; si encuentran la humedad y los nutrientes necesarios en los granos de cereales pueden desarrollarse antes de la cosecha (Lacey, 1989).

Clasificación taxonómica

En principio fue ubicado en los Deuteromicetos (hongos imperfectos), ya que sólo se conocía su estado anamorfo (asexual). Posteriormente se comprobó que *Penicillium* correspondía a los estados teleomorfos (sexuales). Además, como resultado de estudios filogenéticos, la clasificación del género *Penicillium* se incluye dentro de la familia Trichocomaceae (Berbee *et al.*, 1995; Schoch *et al.*, 2009; Bisby *et al.*, 2012).

Reino: Fungi

Phyllum: Ascomycota

Clase: Eurotiomycetes

Orden: Eurotiales

Familia: Trichocomaceae

Género: *Penicillium* Link

Importancia

Penicillium es un género diverso que se encuentra en todo el mundo y sus especies juegan un papel importante como descomponedores de materiales orgánicos y causan pudriciones destructivas en la industria alimentaria, donde producen una amplia gama de micotoxinas (Visagie *et al.*, 2014).

Micotoxinas

Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos producidos por hongos al final de la fase de crecimiento del cultivo, durante el período de secado del grano, previo y posterior a la cosecha, con una duración de uno a cinco meses, por lo que el

hongo se ve favorecido por el alto contenido de humedad, del mismo modo, que por los daños que las plagas hacen al grano durante el almacenamiento (Fernández *et al.*, 2002), además de ser un riesgo directo para los humanos el consumo de granos contaminados con micotoxinas; también existe un riesgo indirecto a la salud para aquellas personas que consumen productos animales contaminados con residuos de micotoxinas carcinogénicas. (Ramírez *et al.*, 1993).

Wild (1996) y Peraica (1999) mencionaron que en humanos las micotoxinas ocasionan un hígado graso y edema cerebral severo; a largo plazo se presentan efectos carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos, estrogénicos, inmunológicos, nefrotóxicos y neurotóxicos, por lo que resulta preocupante el consumo de carne, leche y huevos de animales que han consumido alimento contaminado con dichas toxinas.

Existen 5 grupos de micotoxinas que comúnmente se encuentran en granos para consumo humano y animal denominadas como aflatoxinas, vomitoxinas, ocratoxina A, fumonisinas y zearalenonas; en particular las aflatoxinas son reconocidas como las de mayor riesgo, debido a que son sustancias potencialmente carcinogénicas y mutagénicas (Montesano, 1997), por ejemplo; la molécula producida por el hongo *Aspergillus flavus*, causó la muerte más de 100,000 pavos en una granja de Inglaterra (conocida como la “enfermedad X de los pavos”) que fueron alimentados con harina de cacahuate importada de Sudamérica en los años sesenta (Lawlor y Lynch, 2001), simultáneamente a estos hechos, se descubrió en California la aparición masiva de cáncer de hígado en las truchas arcoiris de varias pisci-factorías comerciales, aislándose en aquella ocasión aflatoxinas en el alimento utilizado (Burdaspal, 1998).

Las aflatoxinas se encuentran principalmente en productos agrícolas como las materias primas para la preparación de alimentos balanceados para el ganado (Requena *et al.*, 2005), y debido al alimento contaminado, este provoca daños en el hígado de los animales, reducción en la producción de leche y huevo, pérdida de peso y recurrentes infecciones debido a la supresión inmunitaria (Fig 1.), además

las especies jóvenes son las más vulnerables pero el grado de susceptibilidad varía por especie (Ramos *et al.*, 2015).

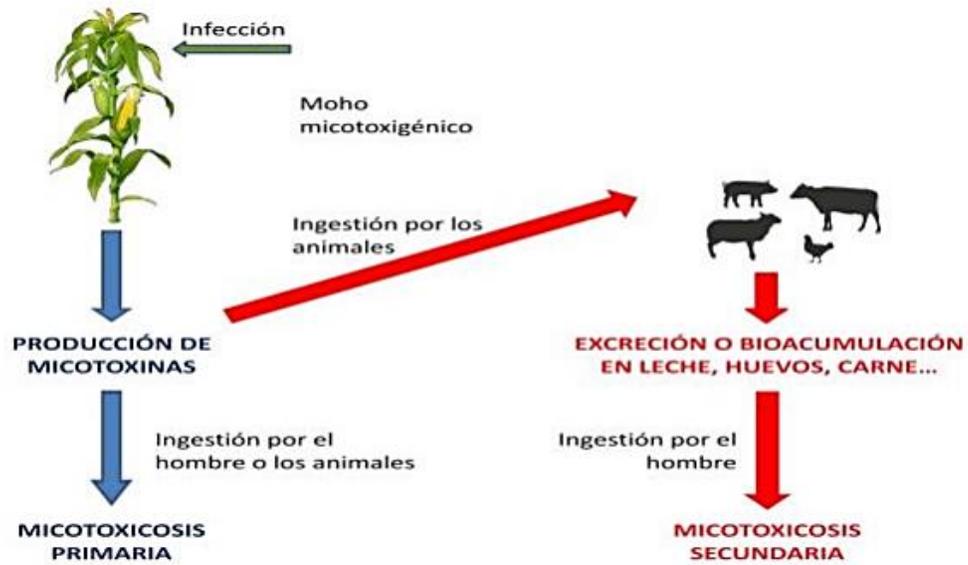


Figura 1. Micotoxinas en la cadena alimenticia desde la producción de grano hasta su consumo por animales (Ramos *et al.*, 2015)

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Experimento

El experimento se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Entomología Molecular y Alternativas de Control de Plagas (LEMyACP) del Departamento de Parasitología (DP) (Fig. 2) en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).



Figura 2. Entrada principal del DP de la UAAAN, Saltillo, Coahuila

Obtención del Material Genético

El muestreo se realizó en San Andrés Cacaloapan, Puebla, México ($18^{\circ}35'14.1''N$ $97^{\circ}35'32.3''$) con una altitud de 1871 msnm, se seleccionaron 10 surcos centrales, y se cosecharon 15 mazorcas con síntomas y asintomáticas (12 de abril de 2019 al 20 de diciembre de 2019), además, se colectaron 15 muestras de tallos con diferentes pigmentaciones en el exterior entre el primer y cuarto entrenudo, por cada parcela evaluada, posteriormente, se colocaron en bolsas de papel para evitar la

humedad y se rotularon (Cuadro 1, Fig. 3). Finalmente fueron introducidas en una hielera de poliestireno expandido y se trasladaron a la UAAAN.

Cuadro 1. Número de muestras de tallos y mazorcas que se colectaron por cada híbrido.

Híbrido	NMT	NMM
DK-2048	15	15
DK-2061	15	15
DK-2069	15	15

NMT= Número de muestras de tallos, NMM= Numero de muestras de mazorcas



Figura 3. Muestras de tallos con diferentes pigmentaciones en el exterior, VL= Verde lima, A= Amarilla, R= Roja, M= Marrón

Pruebas de Sanidad de la Semilla

La prueba se realizó de acuerdo al manual de laboratorio para semillas de maíz y trigo CIMMYT (2003). Se tomaron 900 granos de maíz con síntoma y asintomáticos y se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) (blanqueador

comercial) al 2%, por 3 min y posteriormente se lavaron con agua destilada por 2 min (dos veces) (Fig. 4).



Figura 4. Granos de los maíces híbridos utilizados en esta investigación

Posteriormente se colocaron 60 granos de manera uniforme en contenedores de plástico (con doble papel de estroza previamente humedecido) (Fig. 5) y se rotularon, para conformar un total de 15 réplicas por genotipo.



Figura 5. Establecimiento de los granos de manera equidistante sobre el contenedor de plástico

Los contenedores se mantuvieron a $25 \pm 2 \text{ C}^\circ$ por 48 h en cámara bioclimática en el Laboratorio de Fitopatología (LF) del DP de la UAAAN, posteriormente se mantuvieron en congelación a -20°C por 24 h (Fig. 6), por último, se retiraron del congelador y se mantuvieron a $25 \pm 2 \text{ C}^\circ$, con periodos de 12 h luz blanca y 12 h de oscuridad, por 264 h.



Figura 6. Contenedores de plástico con granos de maíz colocadas en el congelador

Para determinar la incidencia se contabilizó el número de colonias de hongos por su color y textura por réplica de cada híbrido de maíz, así como los granos sin crecimiento de micelio.

Análisis Estadístico

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y comparación entre medias con una prueba de rango múltiple de Tukey ($p=0.05$), utilizando el software SAS® 9.1 (SAS 2002; versión 9.1, SAS Institute, Cary, North Carolina, USA).

Pruebas de Sanidad en Tallos

En los tallos se hicieron 12 cortes por muestra (tejido sano y tejido pigmentado), es decir, cuatro cortes de tallo (unidades experimentales) por replica, y un total de 15 réplicas por genotipo, los cuales se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio) al 2%, por 3 min y se lavaron con agua destilada por 2 min (dos veces), más tarde, se colocaron en toallas de papel (previamente esterilizadas) para su secado (Fig. 8).



Figura 7. Cortes de tallo colocadas en toallas de papel para un correcto secado.

Preparación de Medio de Cultivo

En un matraz de 1 L se agregaron 19.5 g de PDA y 500 mL de agua destilada, y la boca del matraz se cubrió con papel aluminio, y se agitó constantemente por 2 min. A continuación, se esterilizó en olla de presión a 120 °C por 15 min, después, se dejó enfriar por 45 min a temperatura ambiente, y se agregó gentamicina 1 mL por L⁻¹, finalmente se llevó a la cámara de flujo laminar para su vaciado en cajas de Petri (Fig. 8).



Figura 8. Cajas de Petri con medio PDA listas para el aislamiento de patógenos

Después del secado de las muestras, estas se colocaron de manera equidistante 4 cortes de cada tallo en caja de Petri (3 repeticiones por tallo) con medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) (Fig. 9), se rotularon y se resguardaron a $25 \pm 2 \text{ C}^\circ$ por 192 h.



Figura 9. Cortes de tallo distribuidos equidistantemente en caja de Petri con medio PDA.

Aislamiento

Una vez observado el desarrollo completo de las diferentes colonias fungosas en las charolas con grano y cajas de Petri con secciones de tallo se procedió a aislar los patógenos, primero, se tomó una muestra de micelio con una aguja estéril de las diferentes réplicas (Fig. 10) y se colocó en cajas de Petri con PDA por 144 h bajo una temperatura de 26 °C.



Figura 10. Colonias de patógenos de grano en el Laboratorio de Entomología Molecular y Alternativas de Control de Plagas

Purificación

Se tomaron discos de 6 mm de diámetro de las colonias de patógenos y se colocaron en tubos de ensayo con 9 mL de agua destilada estéril, se agitaron en un Vortex por 20 s y luego se colocaron 40 μ L en una placa Petri con medio de cultivo PDA. 24 h después, una conidia germinada fue tomada con ayuda del estereoscopio y se colocó en placas de Petri con PDA, mantenidas a 25 C \pm 2 ° C por 192 h.

Preparación de Laminillas

Con una aguja de disección (previamente estéril) se tomó una pequeña muestra de cada una de las cepas de las diferentes colonias y se colocó en un portaobjetos con una gota de agua destilada extendiendo el micelio y se agregó una gota de azul de algodón, colocando por último el cubreobjetos y se observó al microscopio compuesto con el objetivo de 40x.

Identificación Morfofisiológica

La identificación de los patógenos fúngicos se realizó mediante características micro y macroscópicas, utilizando los manuales de Barnett y Hunter (2006) y Warham *et al.* (2003).

Evaluación

Se observó la coloración de las diferentes colonias presente en los tallos y granos de maíz, así como los que no presentaron crecimiento de micelio. La incidencia se reportó como porcentaje de semillas y tallos colonizados por los patógenos en cada réplica por genotipo.

Análisis Estadístico

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y comparación entre medias con una prueba de rango múltiple de Tukey ($p=0.05$), utilizando el software SAS[®] 9.1 (SAS 2002; versión 9.1, SAS Institute, Cary, North Carolina, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de patógenos en tallos y granos de maíz

En las muestras de tallos se presentaron colonias de hongos de diferente coloración (blanco, verde y café), y tres colonias de hongos en las muestras de granos (blanco, verde y negro). En las colonias blancas se observaron macroconidias y microconidios, hialinos, en conidióforos cortos y ramificados, características determinantes para *Fusarium* (Fig. 11), similar a lo reportado por Al-Sadi *et al.*, (2012); Mirhosseini *et al.* (2014); Renteria-Martinez *et al.* (2015); Stack *et al.*, (2017); Shan *et al.* (2017); Xia *et al.* (2018).

El estudio de la ocurrencia de hongos toxigénicos del género *Fusarium* se ha centrado en los granos del maíz (Logrieco *et al.*, 2002; Visentin *et al.*, 2010), cabe resaltar que, en esta investigación *Fusarium* presentó mayor incidencia en granos y tallos, mientras que en los tallos el patógeno con menor incidencia corresponde al género *Bipolaris*, por lo que, coincide con lo reportado por Figueroa-Rivera (2010), quien reportó seis especies del género *Fusarium* asociadas a las pudriciones del tallo y raíz en maíz en el estado de Guanajuato, entre las que destacaron; *F. subglutinans*, *F. verticillioides* y *F. heterosporum*. Del mismo modo, las especies de hongos aislados con mayor frecuencia en alimentos pertenecen a los géneros; *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* y *Eurotium* (Filtborg *et al.*, 1996), donde, los principales géneros productores de micotoxinas son: *Fusarium*, *Penicillium* y *Aspergillus* (Resnik, 1997; Hernández *et al.*, 2007; Montes *et al.*, 2009), los cuales se identificaron en esta investigación.



Figura 11. Estructuras microscópicas correspondiente al género *Fusarium*

En las colonias de color verde se observaron conidióforos hialinos, lisos, septados, con ramificaciones con la estructura de un cepillo con típicas fiálides hialinas en forma de frasco que producen largas cadenas secas de conidios, características determinantes para el género *Penicillium* (Fig. 12), características que concuerdan con Raybaudi-Massilia y Martínez (1999), Acuña *et al.* (2005), Martínez (2010), Gallardo-Reyes *et al.* (2006), éste género contiene un gran número de especies toxígenas, capaces de producir diferentes micotoxinas es superior a la existente en cualquier otro género fúngico (Pitt *et al.*, 1990; Sweeney y Dobson, 1998; Comerio, 2000), causando infecciones respiratorias e infecciones locales o superficiales como: neumonías, queratitis, endoftalmitis, otomicosis, endocarditis, esofagitis e infecciones cutáneas y de heridas quirúrgicas (INSHT, 2016), además, muchos hongos de alimentos son capaces de producir antibióticos como la penicilina (Andersen y Frisvad, 1994), lo que supone un riesgo para los consumidores con alergia a este antibiótico (Bremmelgaard, 1998).

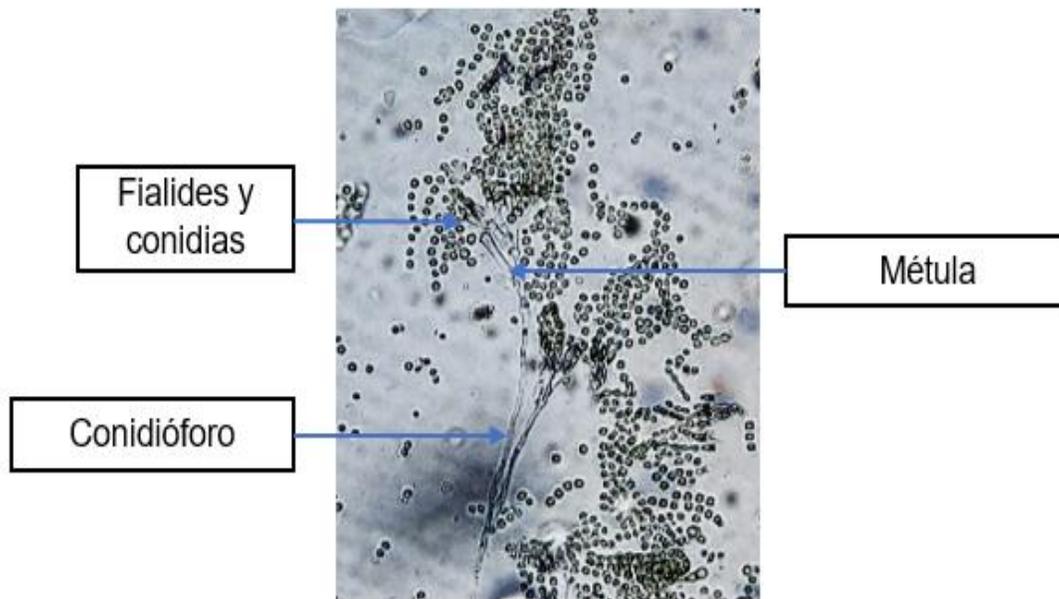


Figura 12. Estructuras microscópicas del género *Penicillium*

En las colonias de color café se presentaron conidias de ovales a elípticas, de color marrón y pared gruesa, de 3 a 5 septos, además, los conidióforos alternamente doblados, geniculados y septados, de color café, características que corresponden

al género *Bipolaris* (Fig. 13) concordando con García-León (2013), éste género afecta cultivos de importancia económica, por ejemplo; la caña de azúcar *Saccharum* sp. híbrida, el trigo *Triticum aestivum* L., el arroz *Oryza sativa* L. y el maíz *Zea mays* L. (Melo, 1985; Tokeshi, 1988), sin embargo, éste género está relacionado con los géneros; *Dreschlera*, *Curvularia* y *Exserohilium* (McGinnis *et al.*, 1986; Anuradha *et al.*, 2011), no obstante, unas pocas especies de *Bipolaris* junto con *Curvularia* son ocasionalmente causantes de infecciones oportunistas en humanos u otros animales (Hoog *et al.*, 2000-2011).



Figura 13. Estructuras microscópicas observadas del género *Bipolaris*

En la colonia de color negro se contemplaron cabezas de esporas compactas, esféricas en un tono negro, los conidióforos tenuemente parduzcos cerca del ápice y el largo de las fiálides fue más uniforme con conidios esféricos, y muy oscuros, características determinantes para el género *Aspergillus* (Fig.14), similar a lo reportado con Tangarife (2011) y Bonifaz (2012). Éste género junto con *Penicillium* son hongos de almacenamiento y se desarrollan en semillas que tienen un contenido de humedad del 12-18% (FAO, 2021), para esta investigación los granos tenían un 13% de humedad. Soriano (2007) mencionó que algunas especies de *Aspergillus* son importantes debido a que producen aflatoxinas B1, B2, G1, G2 y ácido ciclopiazónico, por otra parte, Perrone *et al.* (2007) mencionaron que las principales micotoxinas producidas por *Aspergillus* son las aflatoxinas y las

ocratoxinas, el consumo de alimentos contaminados con micotoxinas causa enfermedades en humanos y animales que pueden llegar a ser fatales (Presello *et al.*, 2009). Por otra parte, la importancia de este género es notable para el humano, debido a que, algunas especies se han utilizado para la producción de sustancias como aminoácidos, ácidos orgánicos, enzimas y metabolitos secundarios, por ejemplo; *Aspergillus niger* es la principal especie utilizada para la producción de ácidos orgánicos (básicamente ácido cítrico y ácido glucónico) (Pariza y Johnson, 2001; Papagianni, 2007), sin embargo, ésta especie junto con *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. terreus*, *A. clavatus*, *A. flavus*, *A. niveus* y, finalmente, *A. ustus* son responsables de la mayoría de infecciones en humanos (Kradin y Mark, 2008).

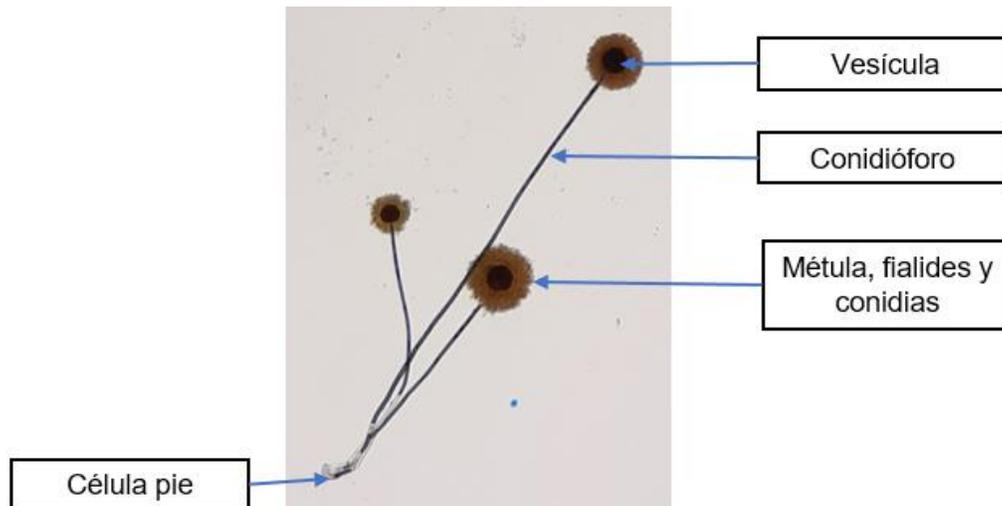


Figura 14. Estructuras microscópicas observadas del género *Aspergillus*

Incidencia

Los genotipos que presentaron mayor y menor incidencia de hongos en los granos de maíz fue el híbrido DK-2069 y DK-2048 con 71.99 y 27.10%, respectivamente, sobresaliendo el género *Fusarium*, sin embargo, la mayor y menor incidencia de hongos en los tallos de maíz, fue el híbrido DK-2048 y DK-2061 con 24.44 y 11.22% respectivamente (Cuadro 2). La pigmentación observada con mayor frecuencia fue

color marrón, por otro lado, la que presentó menor frecuencia fue la de color amarillo, verde lima y roja, Pionner (2020) mencionó que las lesiones en los tallos aparecen de forma ovalada o áreas estrechas y verticales con apariencia turbia que empiezan de color rojizo-café y después se tornan negras y en estadios avanzados de la pudrición por *Gibberella/Fusarium* el tallo se quiebra a la altura del nudo, observándose un micelio blanco en la corteza del tallo. Los patógenos que se presentaron con mayor incidencia corresponden a los géneros *Bipolaris* y *Fusarium*, datos que concuerdan con Trejo (2018), al encontrar a los géneros: *Fusarium*, *Penicillium* y *Aspergillus*, en semillas de maíz criollo amarillo, siendo *Fusarium* el que manifestó la mayor incidencia, de igual forma, Vega (2012), analizó granos de maíz de 14 diferentes orígenes geográficos de la república mexicana , reportando incidencias de *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium*, indicando que *Fusarium* presentó la mayor incidencia. Del mismo modo, Arispe (2016) reportó hongos en semillas de maíces híbridos, sobresaliendo el género *Fusarium* con la mayor incidencia, mientras que *Aspergillus* y *Penicillium* no se presentaron en ninguno de los tratamientos, esto probablemente se debe al tiempo y condiciones de almacenamiento de las semillas.

Cuadro 2. Géneros de hongos identificados sobre las distintas pigmentaciones en los genotipos de maíz

Variables	Granos		I.I		Tallo	Incidencia (%)	I.T. (%)	Ag	I.I. (%)
	Géneros	I.T. (%)	Ag (%)	I.I					
DK-2069	<i>Fusarium</i>		49.55	<i>Bipolaris</i>	Marrón	66.70			4.44
	<i>Aspergillus</i>	71.99	A	8	Verde lima	13.32			
	<i>Penicillium</i>				Amarilla	6.66	20.92	BA	16.11
DK-2061	<i>Penicillium</i>				Roja	13.32			0.37
	<i>Fusarium</i>			14.44					
	<i>Fusarium</i>			44.55	Marrón	53.33			9.63
DK-2048	<i>Aspergillus</i>	46.10	B	0.22	Verde lima	6.66			
	<i>Penicillium</i>				Roja	40.00	11.22	B	1.86
	<i>Fusarium</i>								
DK-2048	<i>Fusarium</i>			26	Marrón	86.66			
	<i>Aspergillus</i>	27.10	B	0.66	Roja	6.66			
	<i>Penicillium</i>				Verde lima	6.66	24.44	A	24.44
				0.44					

I.T.= Incidencia Total, I.I.= Incidencia Individual, Ag= Agrupación estadística de acuerdo a Tukey al 0.05, grupos con diferente letra son estadísticamente diferentes.

CONCLUSIÓN

Se identificaron cuatro géneros de hongos fitopatógenos asociados a la pudrición de tallo y mazorca de maíz para alimento de ganado (*Bipolaris*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*). Debido a la incidencia de los últimos tres, potencialmente toxigénicos en los granos de los diferentes genotipos, la zona de estudio requiere estrategias para una producción de forraje para el consumo animal más seguro, es decir, inocuo, para evitar enfermedades en el ganado y contaminación indirecta por micotoxinas a las personas.

BIBLIOGRAFÍA

- AESAN. 2006. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Legislación Residuos de plaguicidas. España. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/detalle/residuos_productos_fitosanitarios.htm. Fecha de consulta: 10 de mayo de 2021.
- AECOSAN. 2015. Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Toxinas por *Fusarium*. España. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subdetalle/micotoxinas.htm. Fecha de consulta: 10 de mayo de 2021.
- Abramson, D. 1997. Toxicants of the Genus *Penicillium*. Handbook of Plant and Fungal Toxicants. CRC Press, Boca Raton, Florida. 368 pp.
- Acuña, C. A., Díaz, G. J., Espitia, M. E. 2005. Aflatoxinas en maíz: reporte de caso en la costa atlántica colombiana. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. 52(2):156-162.
- Ahmed, S. L., Blutta, A. R. 1989. Seed-borne fungal pathogens of maize in Pakistan. Journal of Scientific and industrial research. 32(2): 107-109.
- Al-Sadi, A. M., Al-Jabri, A. H., Al-Mazroui, S. S., & Al-Mahmooli, I. H. 2012. Characterization and pathogenicity of fungi and oomycetes associated with root diseases of date palms in Oman. Crop Protection. 37(1): 1-6.
- Agrios, G. N. (2005). Patología de planta. Maarsse. Edit. Limusa. 952 pp.
- Andersen, S. J. & Frisvad, J. C. 1994. Penicillium production by *Penicillium nalgiovense*. Lett. Appl. Microbiol., 19: 486-488.
- Anuradha, C., Randhawa, H. S., Singh, V., Khan, Z. U., Ahmad, S., Shallu, K. 2011. *Bipolaris hawaiiensis* as etiologic agent of allergic bronchopulmonary mycosis: first case in a pediatric patient. Med Mycology, 49:760–765.
- Arispe, J. L. 2016. Hongos Portadores en Semilla de Maíz (*Zea mays*) de Tepalcingo, Morelos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 48 pp.
- Auerbach, H. 2003. Mould growth and mycotoxin contamination of silages: sources, types and solutions. Pp.247-265. In: Lyons T., Jacques K. (ed) Proceedings of Alltech's Nineteenth Annual Symposium, United States of America.
- Arano, R. C. 1998. Forraje Verde Hidropónico y Otras Técnicas de Cultivos sin Tierra. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires. 180 pp.
- Barnett, H. L. and Hunter, B. B. (2006) Illustrated genera of imperfect fungi. 4th Edition, The American Phytopathological Society, St. Paul Minnesota.

- Barnett, H. L. & Hunter B. B. 1999. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. The American Phytopathological Society Press. United States of America. 218 pp.
- Berbee, M., Yoshimura, A., Sugiyama, J., Taylor, J. (1995). Is *Penicillium* monophyletic an evaluation of phylogeny in the family Trichocomaceae from 18S, 5.8S and ITS ribosomal DNA sequence data. *Mycology*. 87: 210–222.
- Binder, E. M., Tan, L. M., Chin, L. J., Handl J. & Richard A. 2007. Worldwide occurrence of Mmycotoxins in commodities, Feeds and Feed Ingredients. *Animal Feed Science and Technology*. 137: 265-282.
- Bisby, F., Roskov, Y., Orrell, T., Nicolson, D., Paglinawan, L., Bailly, N., Kirk, P., Bourgoin, T., Baillargeon, G., Ouvrard, D. 2012. Species 2000 & ITIS Catalogue of Life: Annual Cheklist. Reading, Uk.
- Bonifaz, A. (2012). *Micología Médica Básica. Hongos contaminantes: 4 Edición*, McGrawHill: México.600 pp.
- Bremmelgaard, A. 1998. Truslen multiresistente mikroorganismer. *Ugeskrift for Læger*, 160: 6329-6344.
- Burdaspal, P. 1998. Aflatoxinas en alimentos. *Alimentaria*, 10: 20-27.
- Camiletti, B. X., Torrico, A. K., Maurino, F., Cristos, D., Magnoli, K., Lucini, E. I. & Giménez Pecci, M. P. 2017. Fungal screening and aflatoxin production by *Aspergillus* section *Flavi* isolated from pre-harvest maize ears grown in two Argentine regions. *Crop Protection*, 92: 41-48.
- Carvajal, M. 2013. Transformación de la aflatoxina B1 de alimentos, en el cancerígeno humano aducto AFB1-ADN. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas UNAM*. 16: 109-120.
- Castaño, J.J. 1978. Enfermedades del Maíz en Colombia. *Noticias fitopatogenicas*. ICA Colombia. 4 (2): 107-109.
- Comerio, M.R. 2000. Nefrotoxinas y especies nefrotóxicas del género *Penicillium*. *Revista Iberoamericana de Micología*. 17: 82-89
- Denly, M., Pérez J. F. 2006 Contaminación por micotoxinas en los piensos. Efectos tratamientos y prevención. XXII Curso de especialización de la fundación española para el Desarrollo de la nutrición Animal (FEDNA). Barcelona, España. Pp. 16-48.
- De la Torre, M., Sánchez, D., Galeana, E., y Plasencia, J. (2014). Fumonisin – Síntesis y función en la interacción *Fusarium verticillioides*-maíz. *TIP Revista especializada en ciencias quimicas biologicas*.17(1): 77-91.

- Di Menna, M.E., Lauren D.R. Y Hardacre A. 1997. *Fusarium* toxins in New Zealand maize plants. *Mycopathology*, 139: 165-173.
- D'Mello, J.P.F., Macdonald, A.M.C., 1997. Mycotoxins. *Animal feed Science Technology*. 69: pp. 155-166.
- Dorn, B., Forrer H.R., Schurch S. Y Vogelgsang S. 2009. *Fusarium* species complex on maize in Switzerland: occurrence, prevalence, impact and mycotoxins in commercial hybrids under natural infection. *European Journal of Plant Pathology*. 125: 51-61.
- Duncan, K. E., Howard, R. J. (2010). Biology of maize kernel infection by *Fusarium verticillioides*. *Mol. Interacción de microbios en plantas*. 23: 6-16.
- EPPO. 2021. European and Mediterranean Plant Protection Organization . *Fusarium*. Disponible en: <https://gd.eppo.int/search?k=Fusarium>. Fecha de consulta: 20 de abril de 2021.
- FAO. 2010. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. *Seeds in Emergencies: A technical handbook*. FAO Plant Production and Protection Paper. Disponible en: <http://www.fao.org/3/i1816e/i1816e00.pdf>. Fecha de consulta: 1 de junio de 2021.
- FAO. 2017. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. *Manual para manipuladores de alimentos*. Disponible en: <http://www.fao.org/3/i7321s/i7321s.pdf>. Fecha de consulta: 27 de mayo de 2021.
- FAO. 2021. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. *Muestreo para la evaluación de pérdidas*. Disponible en: <http://www.fao.org/home/es/>. Fecha de consulta: 20 de mayo de 2021.
- FAOSTAT (2019) Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. *Producción mundial del maíz*. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>. Fecha de consulta: 18 de abril de 2021.
- Fernández, A. 2002. Principales micotoxicosis en el ganado ovino. *Revista pequeños Rumiantes*. 3 (3): 8-13.
- Filtenborg, O., Frisvad, J.C. 1996. Moulds in food spoilage. *International journal of food microbiology*. 33: 85-102.
- Figueroa Rivera, M. G., Rodríguez Guerra, R., Guerrero-Aguilar, B. Z., González-Chavira, M. Martín, Pons-Hernández, J. L., Jiménez-Bremont, J. F., Ramírez-

- Pimentel, J. G., Andrio-Enríquez, E., & Mendoza-Elos, M. (2010). Caracterización de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de Raíz de Maíz en Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28(2): 124-134.
- Gallardo-Reyes, E. D., Ibarra, R. I. Sánchez, G. Cuamea, D. Molina, N. V. Parra, E. C. 2006. Microbiota de maíz (*Zea mays* L.) recién cosechado y producción de fumonicinas B1 por cepas de *Fusarium verticillioides* (Sacco.) Nirenb. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24: 27- 34.
- García-León, E., Leyva, S.G., Villaseñor, H.E., Rodríguez, M.F., & Tovar, J.M. (2013). Identificación e incidencia de tres hongos fitopatógenos, de reporte nuevo, en avena (*Avena sativa* L.) en la meseta central de México. *Agrociencia*, 47(8): 815-827.
- Hernández, S. J, Reyes, M. A., García Olivares, J. G., Mayek Pérez, N., y Reyes Méndez, C. A. (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(2): 127-133.
- Hoog, G. S., Guarro, J., Gené. J., Figueras, M.J. (2000-2011). *Atlas of Clinical Fungi*. Tarronga, España. 25 pp.
- INSHT. 2012. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Agentes biológicos. Disponible en: <https://prevencionar.com/2020/03/03/guia-tecnica-agentes-biologicos/>. Fecha de consulta: 20 de abril de 2021.
- INSHT (2016) Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. *Penicillium* spp. Disponible en: https://sid-inico.usal.es/centros_servicios/insht-instituto-nacional-de-seguridad-e-higiene-en-el-trabajo/. Fecha de consulta: 20 de abril de 2021.
- Kradin, R. L. y Mark, E. J. 2008. The pathology of pulmonary disorders due to *Aspergillus* sp. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 132 (4): 606-614.
- Lacey, J.1989. Pre and post harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. *Journal of Applied Bacteriology*, Symposium supplement. Pp 11-25.
- Lancini, G., Parenti, F., & Gallo, G. G. 1995. *Antibiotics: A Multidisciplinary Approach*. New York, 67(2): 349–350.

- Lawlor P. O. and Lynch P. B. 2001. Mycotoxins in pigs' feeds 2: Clinical aspects. Irish veterinary journal, 54 (4): 172-176.
- Lawlor, P. O. and Lynch P. B. 2011. Mycotoxins in pigs feeds 1: Source of toxins prevention and management of mycotoxicosis. Irish Veterinary Journal, 54 (3): 19-29
- Leslie, J. F., Summerell B. A. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Ed. Wiley-Blackwell. United States of America 67(2), 349–350.
- Luna, O. J. G.; García, H. J. L; Preciado, R. P.; Fortis, H. M.; Espinoza, B. A.; Gallegos, R. M. A & Chavarría, G. J. A. 2013. Evaluation of hybrids from simple crosses using maize elite landraces with forage outstanding characteristics for a Mexican arid land. Trop. Subtrop. Agroecosys. 16(1):119-126.
- Logrieco, A., Rizzo A., Ferracane R. Y Ritieni A. (2002) Occurrence of beauvericin and enniatins in wheat affected by *Fusarium avenaceum* head blight. Applied & environmental microbiology, 68: 82-85.
- Ma, L. J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F. & Kazan, K. 2013. *Fusarium* Pathogenomics. Annual review of microbiology, 67: 399-416.
- Martínez, E. 2010. Estudio de especies micotoxígenas del género *Penicillium*: *Penicillium verrucosum* Dierckx. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de Barcelona. 305 pp.
- Masana, M. O. (2015). Factores impulsores de la emergencia de peligros biológicos en los alimentos. Revista Argentina de Microbiología, 47 (1): 1-3.
- Marasas, W. F., Kellerman, T. S., Gelderblom, W. C., Coetzer, J. A., Thiel, P. G., & van der Lugt, J. J. (1988). Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1 isolated from *Fusarium moniliforme*. The Onderstepoort journal of veterinary research, 55(4): 197–203.
- Melo, E.R. 1985 Doencas do trigo, podridao comun de raizes. Sao Paulo, CNDA. 68:402-411
- Mendoza, E. M., López, B. A. O., Oyervides, G. A., Martínez, Z. G., De León, C., Moreno, M. E. 2003. Herencia genética y citoplásmatica de la resistencia a la pudrición de la mazorca de maíz (*Zea mays* L.) causada por *Fusarium moniliforme* Sheld. Revista Mexicana de Fitopatología 21: 267–271.
- McGee, D.C 1988. Maize Diseases: A Reference Source for Seed Technologists. APS Press St. Paul, Minnesota USA. 149 pp.

- McGinnis, M. R., Rinaldi, M. G., & Winn, R. E. (1986). Emerging agents of phaeohyphomycosis: pathogenic species of *Bipolaris* & *Exserohilum*. *Journal of clinical microbiology*, 24(2): 250–259.
- Miller, S. S., Reid L. M., Harris, L. J. (2007). Colonization of maize silks by *Fusarium graminearum*, the causative organism of *Gibberella* ear rot. *Can. J. Bot.* 85 (4): 369-376.
- Miller, S. S., Reid, L. M., Butler, G., Winter, S. P., McGoldrick, N. J. 2003. Long chain alkanes in silk extracts of maize genotypes with varying resistance to *Fusarium graminearum*. *J. Agric. Food Chem.* 51: 6702–6708.
- Mirhosseini, H.A., Babaeizad, V. and Hashemi, L. 2014. First report of *Fusarium brachygibbosum* causing leaf spot on oleander in Iran. *Journal of plant pathology.* 96(2): 431-439.
- Montes, G.N., Reyes, M.C.A., Montes, R.N. & Cantú A.M.A. 2009. Incidence of potentially toxigenic fungi in maize (*Zea mays* L.) grain used as food and animal feed. *Journal of food.* 7:119-125.
- Montesano, R. 1997. Hepatocellular carcinoma: from gene to public health. *J Natl Cancer Inst.* 89:1844- 52.
- Navarrete, M.R. 1986. Factores ambientales y biológicos que influyen en el desarrollo de la enfermedad “Germinación prematura” del maíz causada por *Fusarium moniliforme* sh. Tesis de maestría en fitopatología. Colegio de posgraduados. Montecillos México. 52 pp.
- Nicolaisen, M. S., Supronienè, N.L., Kærgaard, I., Lazzaro, S. N. & Fejer J.A. 2009. Real-time PCR for quantification of eleven individual *Fusarium* species in cereals. *J. Microbiol. Meth.* 76:234-240.
- Papagianni, M. 2007. Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: biochemical aspects, membrane transport and modeling. *Biotechnology Advances*, 25 (3): 244-263.
- Pariza, M. Y. Johnson, E.A. 2001. Evaluating the safety of microbial enzyme preparations used in food processing: update for a new century. *Regular Toxicology*, 33: 173-186.
- Peraica, M., Radic B, Lucic A, Pavlovic M. 1999. Toxic effects of Mycotoxins in humans. *Bulletin of the Health Organization: World Health Organization*; 77 pp.
- Perrone, G., Susca, A., Cozzi, G., Ehrlich, K., Varga, J., Frisvad, J.C., Meijer, M., Noonim, P., Mahakarnchanakul, W. y Samson, R.A 2007. Biodiversity of

- Aspergillus* species in some important agricultural products. *Studies in Micology*, 59: 53- 66
- Pitt, J. I., Klich, M. A, Shaffer, G.P., Cruickshank, R.H., Frisvad, J.C., Mullaney, E.J., Onions, A. H. S., Samson, R. A., Williams, A.P. 1990. Differentiation of *Penicillium glabrum* from *Penicillium spinulosum* and other closely related species: an integrated taxonomic approach. *Syst. Appl. Microbiology*. 13: 304-309.
- Pontón, J. M. D., Moragues, J., Gené, J. 2002. Hongos y Actinomicetos Alergénicos. *Rev Iberoam Micol. Bilbao, País Vasco, España*. 125 pp.
- Presello, D., Botta, G., Iglesias, J. 2004. Podredumbres de espiga de maíz y micotoxinas asociadas. *Idia XXI. Año IV. Nº 6*. Pp. 152-157
- Presello, D. A., Iglesias, J., Fernández, M., Fauguel, C., Eyhérabide, G., Lorea, R. 2009. Reacción de cultivares a hongos productores de micotoxinas en maíz. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 10 pp.
- Price, D. 1984. *Fusarium* and plant pathology: the reservoir of infection. En the applied mycology of *Fusarium*, pp. 71-93.
- Raybaudi-Massilia, R.M y Martínez, A. (1999). Incidencia e identificación de la micobiota en granos de maíz (*Zea mays* L). y comparación de medios de cultivo para la determinación de mohos toxigénicos, *Fitopatología. Venezuela*. 18 (13): 25-45.
- Ramirez, M. L., Reynoso, M. M., Farnocchi, M. C., Chulze, S. 2006. Vegetative Compatibility and mycotoxin chemotypes among *Fusarium gramineum* isolates from wheat in Argentina. *Eur. J Plant Pathology.*, 115; 139-148.
- Ramírez, M.M., Zurbia, F.R.R. y Díaz, A.L. 1993. Ecología del almacenamiento y el combate de insectos: Control físico y biológico en insectos de granos y semillas almacenados. In: *Insectos de granos almacenados: biología, daños, detección y combate*. INIFAPCIRCE-CEBAJ. pp. 110-146.
- Ramos, A.J., Sanchis, V., y Marin, S. 2015. Las micotoxinas: un problema que resurge con fuerza. Pp.34-38.
- RECA. 2019. *Revista Ecuatoriana de Ciencia Animal*. Ensilaje como fuente alterna de alimentación del ganado de bovino en la producción lechera. Disponible en: <http://www.revistaecuatorianadecienciaanimal.com/index.php/RECA/artic le/view/125>. Fecha de consulta: 10 de junio de 2021.
- Reid, L. M., Zhu, X., Parker, A., Yan, W. 2009. *Fusarium verticillioides* in maize inbred lines bred for *Fusarium graminearum* resistance. *Euphytica* 165, p 567.

- Rentería-Martínez, M.E., Meza, A., Guerra, M.A., Romo, F., Ochoa, A. & Moreno, S.F. 2015. First report of watermelon wilting caused by *Fusarium brachygibbosum* in Sonora, Mexico. *Plant Disease* 99(5): 729.
- Requena, F., Saume, E. y León, A. 2005. Micotoxinas: Riesgos y prevención. *Zootecnia Tropical* 23: 393-410.
- Resnik, S.1997. A survey of the natural occurrence of aflatoxins and zearalenone in Argentine field maize. *Food Additives and Contaminants* 13: 115-120.
- Rodríguez-Del Bosque, L.A. 1996. Impact of agronomic factors on aflatoxin contamination in preharvest field corn in northeastern Mexico. *Plant Disease* 80: 988-993.
- Rodríguez-Del Bosque, L.A., Reyes, C.A., Acosta, S., Girón, J.R., Garza, I. y Villanueva, R. 1995. Control de aflatoxinas en maíz en Tamaulipas. Folleto Técnico 17. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. Río Bravo, Tamaulipas, México. 20 pp.
- SADER (2019) Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Estima Agricultura una producción de 7.7 millones de toneladas de maíz blanco en ciclo O/I 2018/19, 8.6% arriba del anterior ciclo homólogo. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/estima-agricultura-una-produccion-de-7-7-millones-de-toneladas-de-maiz-blanco-en-el-ciclo-otono-invierno-2018-2019-8-6-arriba-del-anterior-ciclo-homologo-211121?idiom=es>. Fecha de consulta: 20 de marzo de 2021.
- SADER (2020) Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. Maíz forrajero, también es maíz. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-forrajero-tambien-es-maiz>. Fecha de consulta: 20 de marzo de 2021.
- SAS Institute. (2002). The SAS System for Windows, Release 9.1. SAS. Institute, Cary N. C. U.S.A
- Schoch, C., Sung, G.-H., López-Giráldez, F. 2009. The Ascomycota tree of life: a phylum-wide phylogeny clarifies the origin and evolution of fundamental reproductive and ecological traits. *System Biology*. 58: 224–239.
- Scudamore, K and Ch. Livesley. 1998. Occurrence and significance of mycotoxins in Forage Crops and Silage: a Review. *J Sci Food Agriculture*, 77 (1): 1-17.
- Shan, L. Y., Cui, W. Y., Zhang, D. D., Zhang, J., Ma, N.N., Bao, Y.M., Dai, X.F. & Guo, W. 2017. First report of *Fusarium brachygibbosum* causing maize stalk rot in China. *Plant Disease* 101(5): 837.

- Sharma, R. P. 2004. Mycotoxins in the food chain: a look at their impact on immunological responses. Proc. Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries. 20vo Annual Symposium Alltech. pp.306-314.
- SIAP (2020). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Avance de siembras y cosechas, resumen nacional por cultivo. Disponible en: http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenProducto.do. Fecha de consulta: 20 de marzo de 2021.
- Smith, J. E. 1997. Aflatoxins. In: D'Mello, J.P.F. (Ed.), Handbook of Plant and Fungal Toxicants. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 269-285.
- Stack, A.J., Yaghmour, M.A., Kirkpatrick, S.C., Gordon, T.R. and Bostock, R.M. 2017. First report of *Fusarium brachygibbosum* causing cankers in cold-stored, bare-root propagated almond trees in California. Plant Disease 101(2): 390-390.
- Sweeney, M. J., Dobson, A. D. W. 1998. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. Int. J. Food Microbiol., 43: 141-158.
- Tangarife, V. (2011). Atlas de identificación micológica. *Aspergillus* spp. de Universidad de Antioquia. Disponible en: <https://atlasdemicologia.wordpress.com/2016/06/22/aspergillus-spp/>. Fecha de consulta: 15 de abril de 2021.
- Tokeshi, H. 1988. Doenças da cana-de-acúcar. In: Balmer E, Kimati H, Tokeshi H. (Eds.) Manual de Fitopatología. Sao Paulo, 3: 141-206.
- Trejo, R. 2018. Identificación e Incidencia de Hongos Portados en Semillas de Maíz Criollo del Estado de Querétaro. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 73 pp.
- Vega, V. (2012). Hongos Micotoxigénicos y Aflatoxinas en Granos de Maíz de Diferentes Orígenes Geográficos de la República Mexicana. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 79 pp.
- Visagie, J., Houbraken, J.C., Frisvad, S.B., Hong, C. H. W., Klaassen, G., Perrone, K. A., Seifert, J. Varga, T., Yaguchi, R.A. 2014. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. Studies in Mycology 78: 343-371
- Visentin, I., Valentino, D., Cardinale, F., Y Tamietti, G. 2010. DNA-based tools for the detection of *Fusarium* spp. pathogenic on maize. En: Gherbawy Y. y Voight K. (eds) Molecular identification of fungi. Berlín, Alemania, pp. 107-129.

Wild, C.P., Hall, A.J.1996. Epidemiology of mycotoxin-rela- 116 Aflatoxinas J.R. Urrego N y col. Actualitation ted disease. In: Howard, Miller, ed. The Mycota VI Human and Animal Relationships. Berlin, Alemania, pp.213-27.

Xia, B., Hu, J., Zhu, X., Liang, Y.,Ren, X., Wu, Y. and Chen, D. 2018. First report of sunflower broomrape wilt caused by *Fusarium brachygibbosum* in China. Plant Disease. Disponible en: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PDIS-12-17-1939-PDN>.

Fecha de consulta: 18 de abril de 2021.