

# Determinación de micotoxinas en grano de maíz en poscosecha de Tenampulco, Puebla

## Mycotoxins determination postharvested maize grain from Tenampulco, Puebla

Kenia Citlali Ordóñez-Morales<sup>1\*</sup> y Leila Minea Vázquez-Siller<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. CP 25315. Kenia201286@gmail.com (Autor responsable\*).

### RESUMEN

El maíz en campo y almacén es susceptible a la infección por microorganismos, como hongos fitopatógenos que causan grandes pérdidas en el rendimiento y calidad del grano, como son los *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Estos hongos producen pudrición a la mazorca y al grano de maíz, además de que generan micotoxinas que son tóxicas y dañinas para la salud humana y animal, y potencialmente cancerígenas, mutagénicas, teratogénicas e inmunosupresoras, por lo que se han realizado numerosos estudios acerca de la calidad e inocuidad agroalimentaria de granos en poscosecha para consumo humano y pecuario, en relación con el contenido de micotoxinas. En la presente investigación se analizaron microbiológicamente cuatro estratos de maíz de la región de Tenampulco, Puebla, del ciclo agrícola PV 2013; los estudios microbiológicos se realizaron mediante la prueba de papel secante y congelación (PPSC), y los serológicos con un ensayo directo ligado a una enzima competitiva de inmuoabsorción (ELISA). En la primera prueba (PPSC) se identificó y cuantificó el número de géneros de hongos fitopatógenos incidentes y las especies potencialmente toxigénicas, que sirvieron de indicadores para elegir el grupo de micotoxinas a evaluar; en la segunda (ELISA) se cuantificó el nivel de contaminación con fumonisinas totales. La biodiversidad de hongos fitopatógenos detectados en grano de maíz incluyó los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Bipolaris* y *Fusarium* en los cuatro estratos: en el estrato uno se obtuvo la mayor incidencia con 18.5%, mientras que en el cuatro la mínima con 13.0%. De entre los hongos mencionados, la especie *Fusarium verticillioides* (principal productor de fumonisinas), con 55%, fue la de mayor incidencia. En el ensayo de ELISA se detectó contaminación con fumonicinas en los cuatro estratos, de los cuales el tres fue el más contaminado, con 4.19 partes por millón, y el estrato cuatro el menor, con 0.22 partes por millón. En este estudio no se observó la asociación directa entre mayor incidencia de *F. verticillioides* y mayor contaminación con fumonisinas, ya que existió una tendencia en los estratos (como en el tres) a presentarse menor incidencia de *F. verticillioides*, en contraste con un mayor nivel de la micotoxina. La detección de fumonisinas en el grano analizado no se consideró inocuo para el consumo humano, ya que se encuentra por arriba de dos partes por millón, nivel máximo permitido por la Administración de Drogas y Alimentos y la Unión Europea, por lo que es conveniente monitorear el grano producido para el consumo, aun en agricultura de subsistencia.

**Palabras clave:** ELISA, fumonisinas, *Fusarium verticillioides*, micotoxinas, grano maíz

### ABSTRAC

Corn field and warehouse is susceptible to infection by microorganisms such as pathogenic fungi that cause large losses in yield and grain quality as genera of phytopathogenic fungi such as *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium* ear rot produce and grain corn, besides generating mycotoxins which are toxic substances harmful to human and animal health and are potentially carcinogenic, mutagenic, teratogenic and immunosuppressive, so there have been a considerable number of studies about the quality and food safety for human consumption and postharvest grain livestock regarding the content of mycotoxins. In this research four composite samples from sampling were analyzed in four layers of corn Tenampulco, Puebla region, the PV 2013 agricultural cycle, which microbiologically analyzed by blotter test and freezing (PPSC) and serologically direct assay competitive enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). In the first test they were identified and quantified the number of genera of plant pathogenic fungi incidents and toxigenic species which served as indicators to choose the group of mycotoxins to evaluate, so in the ELISA assay pollution levels were quantified with total Fumonisin. The biodiversity of fungal pathogens detected in corn grain included *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* and *Bipolaris* in the four strata, presenting significant differences, where the strata one had the highest incidence of 18.5% and the lowest in stratum four 13.0%. Among these fungi he highlighted the potentially toxigenic *Fusarium verticillioides* species with the highest incidence of fumonisin main producer, with an overall average in the area of Tenampulco 55%. In the ELISA assay, fumonisins contamination was detected in the four layers, the stratum three most contaminated with 4.19 parts per million, and the lower four strata with 0.22 parts per million. The direct association between increased incidence of *F. verticillioides* and greater fumonisin contamination in this study was not observed, since there was a trend in the strata, and the number three, which had the lowest incidence of *F. verticillioides*, in contrast the highest level of said mycotoxin. The detection of fumonisin in the analyzed grain is not considered safe to be ingested directly as it is above the maximum permitted levels of 2 parts per million by the Food and Drug Administration and European Union s, so that it would be monitoring l grain produced for consumption even in subsistence farming.

**Key words:** ELISA, fumonisin, *Fusarium verticillioides*, mycotoxins, grain corn

## INTRODUCCIÓN

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por diferentes géneros de hongos fitopatógenos, que al ser ingeridos con frecuencia y en concentraciones elevadas, pueden ocasionar desórdenes metabólicos en los seres humanos y animales y, en consecuencia, causar enfermedades como el cáncer, formación de tumores, desórdenes hormonales, daño en el sistema nervioso (Betina, 1988; Brown y Proctor, 2013). Algunas enfermedades: leuencefalomalacia equina, cánceres de vulva en animales monográsticos, inmunodepresión, entre otras, se asocian con la presencia de micotoxinas en alimentos, por lo que toma relevancia el hecho de que estos metabolitos pueden estar presente en los granos cosechados, y que algunas de estas micotoxinas sean termorresistentes y poco solubles en agua, por lo que pueden persistir en granos para consumo humano, o aun después de que éstos sean industrializados (Pitt y Hocking, 2009).

Los principales géneros de hongos fitopatógenos identificados en este cultivo como potenciales productores de micotoxinas son: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* spp., los cuales producen toxinas de diferentes grupos bioquímicos: aflatoxinas, fumonisinas, tricotecenos, zearalenona (Moreno y Benavides, 1988; Cabañes *et al.*, 2007). De los géneros antes mencionados, *Fusarium* spp. que tiene una distribución cosmopolita, incluye 60 especies asociadas con la producción de diversas micotoxinas. En el caso del cultivo de maíz en México, se ha detectado *F. verticillioides* con incidencia de infección en grano, entre 44% y 80% (Figueroa-Gómez *et al.*, 2006). *F. graminearum* prevalece asociado a agroecosistemas templados, mientras que *F. verticillioides* está asociado a ambientes de mayor temperaturas (Burgess *et al.*, 1988; Wharham *et al.*, 1999; Montes *et al.*, 2009). Dada la continua incidencia de *F. verticillioides* en la mayoría de los genotipos de maíz en México (Figueroa-Gómez *et al.*, 2006; García-Aguirre y Martínez-Flores, 2010), este hongo es considerado como el principal productor de fumonisinas en maíz, y se especula que factores como las temperaturas entre 15°C y 30°C, además de una actividad de agua 0.97, son importantes para la producción de toxinas por *Fusarium verticillioides* (Sanchis *et al.*, 2007). Condiciones similares inducen a *F. proliferatum* y *F. subglutinans* a generar también fumonisinas, además de ser agentes causales asociados a la pudrición de la mazorca (De León, 1984; Vincelli y Parker, 2002).

En México, el estudio de especies fitopatógenas productoras de micotoxinas es un tema cada vez más explorado. Bucio *et al.* (2001) han realizado estudios sobre la relación que existe entre la producción de aflatoxinas con la concentración de inoculo *Aspergillus parasiticus* en maíz; además, en Nayarit, Robledo *et al.* (2001) han estudiado la contaminación natural por micotoxinas en maíz forrajero y café verde, y en Puebla (Figueroa-Gómez *et al.*, 2006) lo han hecho sobre las condiciones sanitarias en las que se encuentra el maíz, ya que según Torres-Sánchez y López-Carrillo (2010) el consumo de esta gramínea y sus derivados contaminados con fumonisinas, es un riesgo para la salud, ya que están relacionados con defectos del tubo neural, abortos espontáneos, alteraciones en el desarrollo mental de las madres con bajo consumo dietético de folato, así como con el incremento en el riesgo de cáncer gástrico.

Actualmente, en México sólo se tiene regulado el contenido de aflatoxinas totales en granos básicos, entre ellos el maíz, y de aflatoxinas M1 en derivados animales, en tanto que las fumonisinas no están legisladas en México, por lo que se hace referencia a los límites máximos establecidos por la Unión Europea y Estados Unidos para fumonisinas totales y Fumonisina B1. En la presente investigación se realizó un estudio exploratorio en Tenampulco sobre las condiciones fitosanitarias y de inocuidad alimentaria en las que se encuentra el grano de maíz que potencialmente se usará para autoconsumo; el propósito fue determinar el estado de inocuidad alimentaria de grano infectado por hongos fitopatógenos asociados a la producción de micotoxinas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un muestreo al azar de mazorcas en cuatro subáreas: tres en las que se sembró la variedad Tuxpeño y una en la que se estableció la variedad Olotillo (Cuadro 1).

**Hongos fitopatógenos toxigénicos incidentes en grano de maíz.** Las muestras que se obtuvieron de la cosecha PV-2013, se desgranaron y analizaron con la prueba de papel secante y congelación (Wharham *et al.*, 1999). En una caja se sembraron cuatro repeticiones de 50 semillas desinfestadas con hipoclorito de sodio comercial al 10%, que se distribuyeron equidistantemente sobre papel filtro estéril previamente humedecido; la caja se selló y las semillas se incubaron a

**Cuadro 1.** Identificación de las muestras compuestas de granos de maíz obtenidas de lotes experimentales de Tenampulco, Puebla. Ciclo P-V 2013.

Genotipo	Estratificación	Georreferencia
Tuxpeño, L-1	1	N 20°8'37.3", L0- 97°24'0.6", MSNM 197; El Zapote; Prop. Ángel Reyes.
Tuxpeño, L-2	2	N 20°11'33.9"; L0- 97°23'35.8"; MSNM 182; El Saltillo; Prop. Ángel Reyes.
Tuxpeño, L-3		N 20°10'0.4"; L0-97°24'20.5"; MSNM 197; La Lima; Pro. Lauro Chapa.
Tuxpeño, L-4	3	N 20°10'16.5"; L0-97°23'48.9"; MSNM 199; Ojo de Agua; Prop. Miguel Pérez.
Tuxpeño, L-5	4	N 20°11'18.8"; L0- 97°22'29.6; MSNM 163; Caracoles; Prop. Ufronio García.
Olotillo		N 20°11'51.4"; L0-97°22'6.5"; MSNM 241; La Cruz; Prop. Ángel Reyes.

25°C durante 48 horas, con intervalos de 12 horas luz y 12 horas oscuridad; transcurrido este tiempo, se procedió a colocarlas en congelación, a -18°C durante 24 horas, para después incubarlas a 25°C durante 11 días y estimular el crecimiento de los hongos infectantes del grano. Para identificar los géneros y especies incidentes en las muestras mediante claves taxonómicas especializadas, los granos se analizaron de forma individual con el esteromicroscopio y microscopio compuesto (Barnett y Hunter 1987; Burgess *et al.*, 1988; Moreno y Benavides, 1988; Pitt y Hocking, 2009). Los resultados obtenidos se reportaron de la siguiente manera: porcentaje de géneros de hongos fitopatógenos, de hongos fitopatógenos toxigénicos y de especies de hongos fitopatógenos toxigénicos. En este último caso, el género de hongos fitopatógenos toxigénicos con mayor incidencia en el grano de maíz, se sometió a un procedimiento de identificación de especies presentes en las muestras analizadas, y la única involucrada fue *Fusarium verticillioides*, por lo que se decidió detectar el contenido de fumonisinas, ya que este hongo es el principal productor de dichas micotoxinas (Cabañez *et al.*, 2007).

**Análisis estadístico.** En el análisis de los datos del número de géneros de hongos fitopatógenos incidentes en el grano, se usó un diseño completamente

al azar con cuatro repeticiones y prueba de comparación de medias de Tukey al 5% de probabilidad de error. En el caso del análisis para hongos fitopatógenos potencialmente toxigénicos, se realizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 4x3 con cuatro repeticiones, en el que el factor A fue estrato y el factor B fue hongos fitopatógenos potencialmente toxigénicos. En el caso de especies de hongos fitopatógenos potencialmente toxigénicos, los datos fueron transformados mediante el uso de la fórmula arcoseno:  $\sqrt{\frac{x}{100}}$  donde x= es el porcentaje de incidencia de las especies de hongos toxigénicos. En esta investigación, el género de hongos fitopatógenos toxigénicos con mayor incidencia en el grano de maíz fue *Fusarium*, por lo que se sometió a un procedimiento de identificación de especies presentes en las muestras analizadas, en las que la única especie involucrada fue *Fusarium verticillioides*.

**Detección de micotoxinas.** La selección de la micotoxina para analizar en el grano de maíz tomó como base los resultados del análisis microbiológico que denotara la alta incidencia de hongos fitopatógenos potencialmente tóxicos, para lo cual, con el kit AgraQuan® Total Fumonisin Assay 0.25/5.0 se realizó un ensayo de inmunoabsorción ligado a una enzima competitiva (ELISA), con tres repeticiones para los estándares y

las muestras. El ensayo se realizó siguiendo el protocolo proporcionado por el proveedor que consiste en dos etapas: la obtención del extracto, y el ensayo. En la primera se mezclaron 20 g de maíz molido con 100 ml de metanol al 70%, el cual se agitó durante tres minutos y se filtró con papel Whatman # 1. Al extracto se le midió el pH, que coincidió con el rango recomendado por el proveedor, que indica que la muestra debe encontrarse en un nivel de 6-8; luego se diluyó 1:20 en un tubo al que se mezclaron 50 µl del extracto con 950 µl de agua destilada. En la segunda etapa se usaron micropocillos de dilución, en los que se agregaron 200 µl de conjugado enzimático y 100 µl de los estándares y muestras, que se mezclaron tres veces con una micropipeta de ocho canales; luego se transfirieron 100 µl de la mezcla a micropocillos con anticuerpos, donde se incubó por 10 minutos. Transcurrido el primer periodo de incubación, se sacó el contenido, se enjuagó con agua destilada cinco veces y se secó perfectamente. Después, se agregaron 100 µl de sustrato con anticuerpos a los micropocillos y se dejaron incubar por cinco minutos. Aquí se observó que el contenido de los micropocillos se tornó de color azul. Después del segundo periodo de incubación se agregaron 100 µl de la solución de parada, y se observó un cambio del color azul a amarillo, y se procedió a realizar el análisis en un lector de microplacas (Awareness Stat Fax 2100), con un filtro de 450 nm y un filtro diferencia de 630 nm. Los datos de la lectura se obtuvieron en absorbancia, que fueron transformados con la ecuación Log/Logit. La interpretación visual de la reacción serológica consistió en que el contenido de fumonisinas es inversamente proporcional a la intensidad de la coloración que presentaron las muestras. Los datos obtenidos de la conversión se reportaron en partes por millón (ppm).

**Análisis estadístico.** Los datos transformados se analizaron estadísticamente con el programa Statistical Analysis System SAS 9.0, mediante un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones para número de géneros de hongos, y con tres para las micotoxinas, y un diseño de arreglo factorial 4x3 con cuatro repeticiones para hongos fitopatógenos potencialmente tóxicos, con un análisis de varianza y una comparación de medias de Tukey al 5% de probabilidad de error.

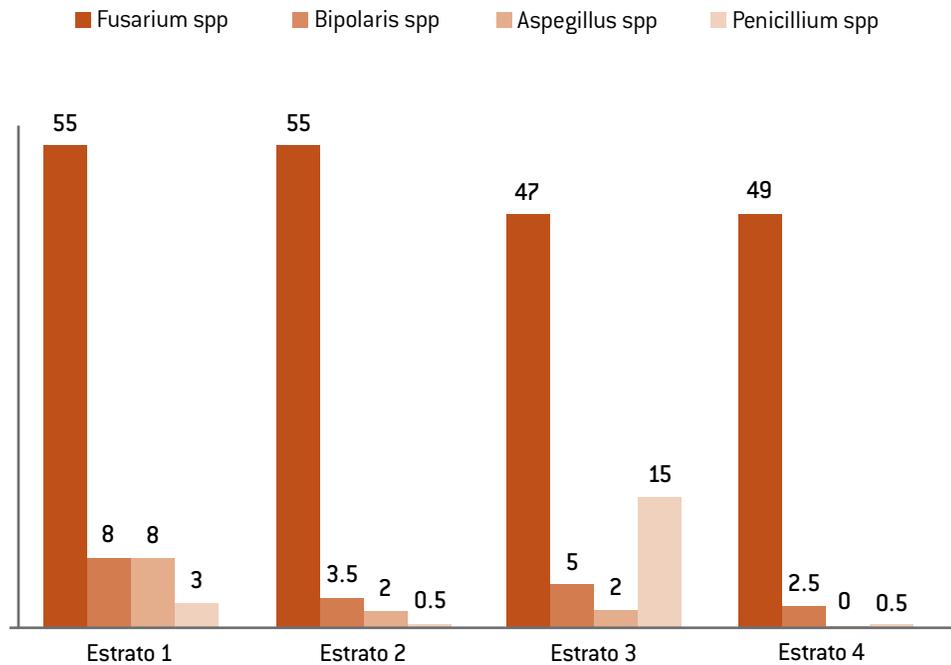
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la prueba de papel secante y congelación no se detectó diferencia estadística significativa en el número

de géneros de hongos fitopatógenos identificados entre estratos, ya que en las muestras se observó, en promedio, el mismo número de géneros incidentes, que fueron: *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* y *Bipolaris* spp (Figura 1), lo cual coincide con lo reportado por De León (1984) y Wharham *et al.* (1999), en el sentido de que son hongos fitopatógenos los que están asociados a la pudrición de la mazorca y grano de maíz en campo y almacén. Aunque los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* detectados potencialmente pueden incluir especies tóxicas, se procedió a explorar el nivel de especies en el género *Fusarium*, porque en México existe poca referencia acerca de la inocuidad agroalimentaria de maíz infectado por las especies de este género (Robledo *et al.*, 2001; Figueroa-Gómez, 2006). La única especie tóxica *Fusarium* detectada fue *Fusarium verticillioides* (Sin. *Fusarium moniliforme*). Su identificación se basó en el hecho de que se observaron cepas axénicas del hongo con las siguientes características: pigmentación en PDA, ausencia de clamidosporas, formación de microconidias, célula conidiogena, forma de las microconidias (Figura 2).

En la incidencia de géneros de hongos fitopatógenos potencialmente tóxicos entre estratos se presentó diferencia altamente significativa ( $P < 0.001$ ); en este análisis estadístico los promedios generales que se obtuvieron en Tenampulco fueron: *Aspergillus* spp. 3%, *Penicillium* spp. 4.75% y *Fusarium* spp. 51.5%. La comparación de medias con la prueba de Tukey al 5% de probabilidad de certidumbre, indicó que los dos primeros géneros fueron estadísticamente semejantes, pero diferentes del género *Fusarium*, que fue el que prevaleció en el grano de maíz analizado. Entre las especies de hongos tóxicos detectados dentro de cada estrato hubo diferencias altamente significativas ( $P$ , donde la especie que tuvo mayor incidencia fue *Fusarium verticillioides* (Cuadro 2), que según Robledo *et al.* (2001) y Vincelli y Parker (2002) es una de las especies productoras de fumonisinas que incide en genotipos de maíz cultivado en agroecosistemas con altas temperaturas (De León, 1984) como Tenampulco, además de que coincide con lo reportado por Figueroa-Gómez *et al.* (2006), quienes analizaron maíz híbrido de Jalisco e identificaron a la especie *F. verticillioides*, además de detectar niveles de fumonisinas que fluctuaron desde 20.6 hasta 883.3 ng g<sup>-1</sup> de fumonisinas totales.

En cuanto al contenido de fumonisinas, en el Cuadro 2 se presentan las cantidades de la micotoxinas detectadas por estratos, en las que se estima-



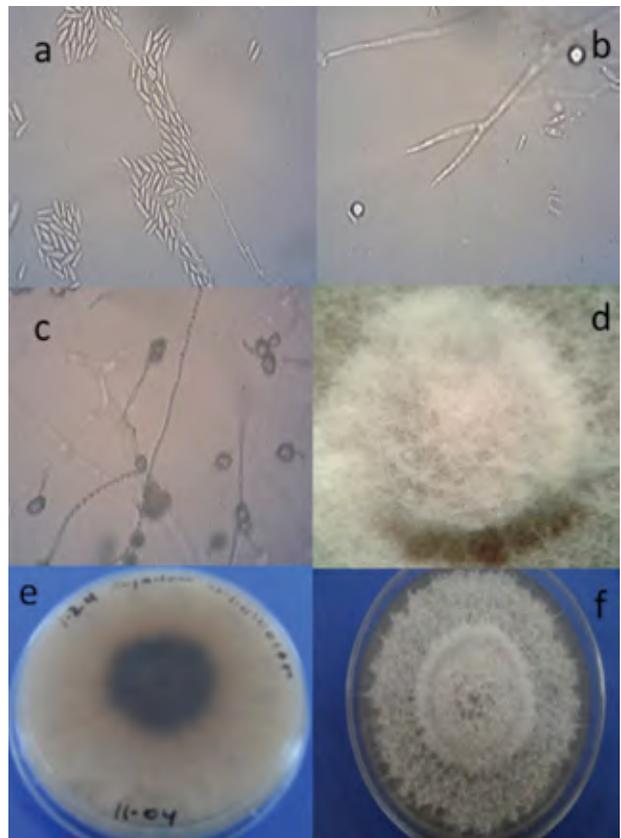
**Figura 1.** Porcentaje promedio de géneros de hongos fitopatógenos detectados por estrato en Tenampulco, Puebla. Ciclo PV 2013.

ron diferencias estadísticas altamente significativas ( $P < 0.0001$ ). Las cantidades detectadas de fumonisina en Tenampulco fluctuaron, en promedio, en alrededor de 2.86 ppm. En la comparación de medias, se observó que tres de los estratos fueron similares, aunque diferentes significativamente ( $P = 0.001$ ) del estrato 4, que presentó 0.22 ppm, la menor cantidad detectada de fumonisinas, figura 1.

Cabe señalar que aunque se observaron diferencias estadísticas significativas de fumonisinas entre los estratos, las cantidades detectadas están por arriba de los niveles tolerables recomendados por la Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos de América (FDA) y la Unión Europea, donde 2 ppm es el límite máximo para maíz destinado al consumo humano, pero por debajo de los límites máximos establecidos para granos destinados para consumo pecuario, donde el máximo es de 5 ppm (Vincelli y Parker, 2002 y de la Unión Europea, 2006) figura 2 y cuadro 2.

Los niveles de incidencia de *F. verticillioides* detectados fluctuaron alrededor del 55% y los de fumonicinas en 2.86 ppm; sin embargo, al comparar la incidencia del hongo toxigénico de cada estrato con la detección de la micotoxinas del mismo estrato, parecen no relacionarse (Figura 3), ya que en el estrato

**Figura 2.**



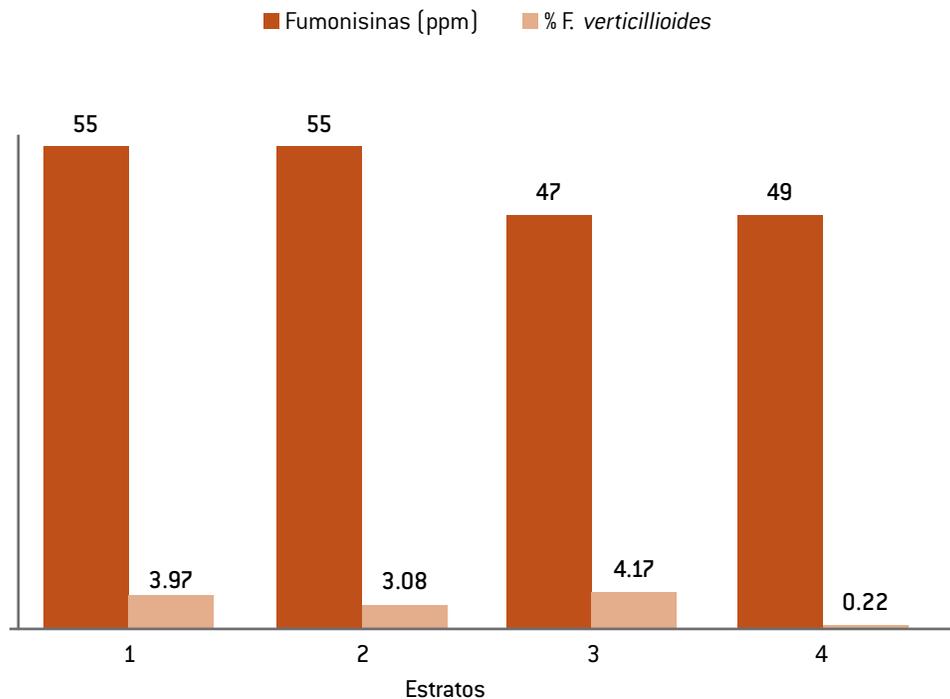
**Cuadro 2.** Comparación de medias para variables evaluadas en las muestras de maíz de Tenampulco, Puebla. Ciclo agrícola PV 2013.

Estrato	GHFPT (%)	Incidencia de <i>Fusarium verticillioides</i> (%)	Detección de Fumonisinias (ppm)
3	17.25 c	45.83 a	4.17 a
4	13.0 a	49.34 a	0.22 d
1	18.5	56.36 a	3.97 b
2	15.25 b	60.6 a	3.08 c
DMS	2.1	10.2	0.0523

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. Tukey  $\alpha = 0.05$ , GHFPT= Géneros de hongos fitopatógenos potencialmente toxigénicos. Ppm = Partes por millón.

tres se detectó menor incidencia de *F. verticillioides*, pero se encontró el mayor nivel de fumonisinias. Este hecho concuerda con observaciones realizadas en diversos países en los que se reporta la falta de asociación entre la incidencia de hongos toxigénicos en grano de maíz con los niveles de fumonisinias. En Kenia, se analizaron muestras de grano de maíz con alta incidencia de *F. verticillioides* donde muchas muestras

con una alta incidencia de granos visiblemente enfermos contenían poco o nada de las fumonisinias B1, a pesar de la presencia de *F. moniliforme*, lo que puede ser atribuible a la incapacidad de *Fusarium verticillioides* para producir fumonisinias o a la presencia de otros hongos causantes de la pudrición de la mazorca, y/o a condiciones ambientales desfavorables para la producción de fumonisinias (Kedera *et al.*, 1999).



**Figura 3.** Contenido de fumonisinias e incidencia de *Fusarium verticillioides* en grano de maíz de muestras compuestas procedentes de Tenampulco, Puebla.

## CONCLUSIONES

Luego de realizar este trabajo, se concluyó que *Fusarium verticillioides* fue la especie de hongos fitopatógenos toxigénicos que presentó mayor incidencia en las muestras de maíz de Tenampulco, con una incidencia promedio de 55% en el área, y fue la principal generadora de fumonisinas, cuyo nivel de detección fue, en promedio, de 2.86 ppm, cantidad que se considera inocua para los animales que ingieren grano de maíz con esos niveles de toxicidad, pero potencialmente tóxica para la ingestión directa de humanos; también se detectó que el contenido de fumonisinas no está relacionado con el porcentaje de incidencia de *F. verticillioides* en grano.

## LITERATURA CITADA

- BARNETT, H.L. y Hunter, B.B. 1987. Illustrated genera of imperfect fungi. Third Edition. Burgess Publishing Company. 241p.
- BETINA, V. 1988. Mycotoxins. Chemical, biology and environmental aspects. Amsterdam, Elsevier.
- BURGESS, L.W., Liddell, C.M., Sumnerell B.A. 1988. Laboratory Manual for Fusarium Research. 2a. Edición. Fusarium Research Laboratory. Department of Plant and Agricultural Entomology. University of Sydney. Australia. 86p.
- BROWN, D.W. y Proctor, R.H. 2013. Fusarium: Genomics, Molecular and cellular biology. Caister Academic Press. Norfolk, UK. pp 144-145.
- BUCIO, V.C.M., Peña, C.J.J., Guzmán, P. D. 2001. Producción de aflatoxinas en maíz *in vitro*. Rev. Mex. Fitopatología. 19(2): 218-222.
- CABAÑES, F.J., Abarca, M. L., Bragult, M. R., Castella, G. 2007. Micotoxinas en los alimentos: Especies productoras de micotoxinas (Ed.: Soriano C.J.M). Editorial Díaz de Santos. España. pp. 29-31.
- DE LEÓN, C. 1984. Enfermedades del maíz. Una guía para su identificación en el campo. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). 3a. edición. México, D.F. 114p.
- DIARIO OFICIAL DE LA UNIÓN EUROPEA. Reglamento (CE) 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. Disponible en <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1881&from=ES> (13 de mayo de 2015).
- GARCÍA-AGUIRRE, G. y Martínez-Flores, R. 2010. Especies de *Fusarium* en granos de maíz recién cosechado y desgranado en el campo en la región de Ciudad Serdán, Puebla. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 81: 15- 20.
- FIGUEROA-GÓMEZ, R.M., Reynoso, M.M., Castro Zambrano, C.E., Reyes-Velázquez, W.P. 2006. Estudio de las poblaciones de *Fusarium* (Sección Liseola) aislada de híbridos de maíz cultivados en México. *Scientia-CUC-BA* 8(2):181-192.
- KEDERA, C.J., Plattner, R.D y Desjardins, A.E. 1999. Incidence of *Fusarium* spp. and Levels of Fumonisin B<sub>1</sub> in Maize in Western Kenya. *Appl. Environ. Microbiol.* 65 (1): 41-44.
- MONTES, G.N., Reyes, M. C.A., Montes, R. N. y Cantú, A. M.A. 2009. Incidence of potentially toxigenic fungi in maize (*Zea mays* L.) grain used as food and animal feed, *CyTA - Journal of Food*, 7:2, 119-125, DOI: 10.1080/19476330902940432.
- MORENO, M. E. y O.C. Benavides. 1988. Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. pp. 17-41.
- PITT, J.I. y Hocking, A.D. 2009. Fungi and Food Spoilage. 3a edition. Springer Dordrecht Heidelberg London. New York. 503p. DOI 10.1007/978-0-387-92207-2\_1. Disponible en [https://books.google.com.mx/books?id=-B1s6GhOlzkC&pg=PA444&dq=Fusarium+Mycotoxins:+Chemistry,+Genetics+and+Biolog&hl=es-419&sa=X&ei=\\_a9XVaKyJoTFsAXZxIGoBg&ved=0CEgQ6AEwBg#v=onepage&q=Fusarium%20Mycotoxins%3A%20Chemistry%2C%20Genetics%20and%20Biolog&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=-B1s6GhOlzkC&pg=PA444&dq=Fusarium+Mycotoxins:+Chemistry,+Genetics+and+Biolog&hl=es-419&sa=X&ei=_a9XVaKyJoTFsAXZxIGoBg&ved=0CEgQ6AEwBg#v=onepage&q=Fusarium%20Mycotoxins%3A%20Chemistry%2C%20Genetics%20and%20Biolog&f=false) (10 de mayo de 2015).
- ROBLEDO, M. L., Marín, S. y Ramos, A.J. 2001. Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México). *Rev Iberoam Micol.* 18: 141-144.
- SANCHIS, V., Marín, S. y Ramos, A.J. 2000. Control de micotoxinas emergentes. Situación legislativa. *Revista Iberoamericana de Micología.* 17: s69-s75.
- SANCHIS, V., Marín, S. y Ramos, A.J. 2007. Micotoxinas en alimentos: Factores determinantes en la producción de micotoxinas (Ed.: Soriano C. J.M). Ediciones Díaz de Santos. España. pp. 63-68.
- TORRES-SÁNCHEZ, L. y López-Carrillo, L. 2010. Consumo de fumonisinas y daños a la salud humana. *Salud pública de México.* 52(5): 461-467.
- WHARHAM, E.J., Butler, L.D., Sutton, B.C. 1999. Ensayo para la semilla de maíz y de trigo "Manual de laboratorio". Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo CIMMYT. CAB International. Wallingford, Oxon OX10 8DE, UK. 84p.
- VINCELLI, P. y Parker, G. 2002. Fumonisin, Vomitoxin and Other Mycotoxins in Corn Produced by *Fusarium* Fungi. Cooperative Extension Service. University of Kentucky. College of Agriculture. 8p.

