

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

KENIA CITLALI ORDOÑEZ MORALES



POTENCIAL MICOTOXIGENICO DE GRANO DE MAÍZ EN

ESTADO DE POSTCOSECHA

Tesis

Como requisito parcial para la optar el grado de

MAESTRO PROFESIONAL EN TECNOLOGIA DE GRANOS Y SEMILLAS

SALTILLO COAHUILA, MÉXICO. JUNIO 2015

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

“POTENCIAL MICOTOXIGENICO DE GRANO DE MAIZ EN ESTADO DE
POSCOSECHA”

TESIS

KENIA CITLALI ORDOÑEZ MORALES

Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y Aprobada
como requisito parcial para optar al grado de:

MAESTRO PROFESIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE SEMILLAS

COMITÉ PARTICULAR

Asesor Principal:


Dra. Leila Minea Vázquez Siller

Asesor:


MA. Federico Facio Parra

Asesor:

~~
Dr. Jesus Sera Ruiz~~


Dr. Alberto Sandoval Rangel
Subdirector de Posgrado

Saltillo, Coahuila, México, Junio, 2015

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la oportunidad y sobre todo la paciencia y sabiduría para terminar esta etapa de mi vida.

Al Consejo Nacional de ciencia y Tecnología (CONACYT) por confiar en mi persona y financiar mi formación en esta casa de estudios.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), que por medio del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS) me dio la oportunidad de llevar a feliz término mi programa de estudios.

A los profesores del CCDTS y en especial a la Dra. Leila Minea Vázquez Siller por todo su apoyo para entender y desarrollar los conocimientos de la tecnología de granos y semillas tanto en el salón de clases como en la investigación.

A mis compañeros de la maestría Derly Guillermo Rodríguez Cantú y Cecilia Pérez Lorenzo, por su apoyo y amistad.

Al Dr. Jesús Soria Ruiz y Lic. Ricardo Fuentes Gómez del Laboratorio de Geomática del Instituto de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INI-FAP) en Toluca, por su muy apreciable contribución en el desarrollo de mi proyecto de investigación..

A los ingenieros Everardo Lovera e Ing. Matilde Hernández de la Federación de Productores del Estado de México, por su apoyo en la vinculación con los productores del Estado de México para la realización de esta investigación.

A los técnicos encargados de los laboratorios de la UAAAN.

DEDICATORIA

Mis padres Julio Antonio Ordoñez Ruiz y Antonia Morales Molina, que siempre serán el motor principal de mi vida.

Mis hermanas Liliana Paola, Julieta Ziomara y Karen Dennise que siempre están aún a la distancia alentándome y apoyándome junto con mis sobrinos.

A toda mi familia que de una u otra manera me han brindado su apoyo.

A mis amigos Leonarda, Luis, Huberto, Martha, Carmen, Juan Javier por todo el cariño que me brinda y por su apoyo, sé que amigos como ustedes solo yo tengo la fortuna de tenerlos.

Pero sobre todo a mi hija, mi ángel, mi vida que por ella empecé, termine y seguiré dando lo mejor de mí. Camila aunque físicamente no estés conmigo estás en mi mente y corazón y sé que algún día estaremos juntas en la eternidad. Te amo mi vida y esto es por ti y por mí.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | Página |
|--|---------------|
| INDICE DE CUADROS | viii |
| INDICE DE FIGURAS | x |
| RESUMEN | 1 |
| Capítulo I. INTRODUCCION | 6 |
| 1.1 Objetivo..... | 9 |
| 1.2 Hipótesis..... | 10 |
| Capítulo II. REVISIÓN DE LITERATURA | 11 |
| 2.1 Importancia del Maíz en México..... | 11 |
| 2.2 Enfermedades del Maíz..... | 12 |
| 2.2.1 Enfermedades asociadas a grano de maíz..... | 14 |
| 2.3 Géneros de hongos fitopatógenos toxígenicos del maíz..... | 15 |
| 2.3.1 Ciclos biológicos de géneros de hongos fitopatógenos potencialmente toxígenicos en Maíz..... | 16 |
| 2.3.2 Características del Genero Fusarium | 19 |
| 2.3.2.1 Especies toxígenicos del género Fusarium en maíz..... | 21 |
| 2.3.3 Características del Genero Aspergillus..... | 22 |
| 2.3.3.1 Especies toxígenicos..... | 24 |
| 2.3.4 Características del Genero Pencllium..... | 24 |
| 2.3.4.1 Especies toxígenicos del género Penicillium..... | 27 |
| 2.4 Micotoxinas..... | 27 |
| 2.4.1 Aflatoxinas..... | 30 |
| 2.4.2 Fumonisinias..... | 32 |
| 2.4.3 Zearalenonas..... | 35 |
| 2.4.4 Tricotecenos..... | 36 |
| 2.5 Legislación en Materia de Micotoxinas..... | 40 |
| 2.6 Manejo del Grano de Maíz en poscosecha en México..... | 42 |
| 2.6.1 Condiciones de almacenamiento e grano e maíz en México..... | 43 |
| 2.6.2 Condiciones de almacenamiento del grano de maíz asociadas a la conta- minación por micotoxinas..... | 44 |

| | |
|---|---------------|
| Capítulo III. MATERIALES Y METODOS | 42 |
| 3.1 Áreas de Muestreo..... | 46 |
| 3.2 Primera Etapa..... | 49 |
| 3.2.1 Almacén 1..... | 49 |
| 3.2.2 Almacén 2..... | 50 |
| 3.2.3 Almacén 3..... | 50 |
| 3.2.4 Almacén 4..... | 51 |
| 3.2.5 Productores cooperantes del Estado de México y Tenampulco, Puebla... | 51 |
| 3.2.6 Obtención de las muestras..... | 52 |
| 3.3 Segunda Etapa. Pruebas de Laboratorio..... | 55 |
| 3.3.1 Determinación de Contenido de Humedad..... | 56 |
| 3.3.2 Análisis Físico..... | 56 |
| 3.3.3 Determinación de la micobiota en grano de maíz..... | 56 |
| 3.3.4 Extracción y cuantificación de micotoxinas por el método de ensayo directo ligado a enzimas competitivas de inmunoabsorción (ELISA)..... | 59 |
| 3.3.4.1 Preparación y Extracción de la Muestra..... | 59 |
| 3.3.4.2 Ensayo..... | 59 |
| 3.4 Análisis Estadístico..... | 61 |
| 3.4.1 Conversión de los datos..... | 63 |
| Capítulo IV. RESULTADOS Y DISCUSION | 66 |
| 4.1 Almacenes del Estado de México | 66 |
| 4.2 Productores cooperantes del Estado de México..... | 72 |
| 4.2.1 Ejido Santa Juana del municipio de Almoloya de Juárez..... | 76 |
| 4.2.2 Productores de ASPROS..... | 81 |
| 4.3 Productores de Tenampulco Puebla..... | 85 |
| Capítulo V. CONCLUSIONES | 90 |
| LITERATURA CITADA | 92 |
| ANEXO | 100 |

INDICE DE CUADROS

| Cuadro | | Página. |
|---------------|--|----------------|
| 1 | Principales efectos fisiopatológicos producidos por las mico toxinas (Cabañes et al. 2007)..... | 29 |
| 2 | Descripción de las muestras compuestas de grano de maíz obtenidas del Estado de México. Ciclo P-V 2014..... | 54 |
| 3 | Identificación de las muestras compuestas de granos de maíz obtenidas de lotes experimentales de Tenampulco, Puebla. Ciclo P-V 2013..... | 55 |
| 4 | Comparación de medias de las variables evaluadas en las muestras de maíz de los almacenes del Estado de México..... | 66 |
| 5 | Comparación de medias de Hongos Fitopatógenos Potencialmente Toxígenos evaluados en las muestras de maíz de los almacenes del Estado de México..... | 69 |
| 6 | Comparación de medias de las muestra de los productores cooperantes del ejido de Santa Juana del municipio de Almoloya de Juárez del Estados de México | 77 |
| 7 | Comparación de medias para la variable de hongos fitopatógenos potencialmente toxígenicos identificados en las muestras de maíz de los productores cooperantes del Ejido de Santa Juana de Almoloya de Juárez..... | 78 |
| 8 | Comparación de medias ¹ de las variables analizadas de las muestras de los productores cooperantes ASPRO..... | 82 |
| 9 | Comparación de medias de Hongos Fitopatógenos Potencialmente Toxígenicos de las muestras de maíz de los productores cooperantes de la empresa ASPROS..... | 83 |
| 10 | Comparación de medias ¹ de las muestras de Tenampulco Puebla | 87 |
| 11 | Ubicación y datos de las localidades muestreadas del Estado de México | 100 |

| | | |
|-----------|---|-----|
| 12 | Resultados del análisis físico de almacenes del Estado de México..... | 101 |
| 13 | Cuadrados medios del análisis de varianza de las variables medidas en las muestras de maíz de los almacenes del Estado de México..... | 102 |
| 14 | Cuadrados medios de las variable medidas en la muestras de maíz de los productores cooperantes del Ejido Santa Juana de Almoloya de Juárez, Estado de México..... | 102 |
| 15 | Cuadrados medios del análisis de varianza realizado a las variables evaluadas en las muestras de los productores cooperantes de ASPROS..... | 103 |
| 16 | Cuadrados medios de las variables medidas de las muestras de Tenampulco, Puebla..... | 103 |

INDICE DE FIGURAS

| Figura | | Página. |
|--------|--|---------|
| 1 | Ciclo biológico del genero <i>Fusarium</i> | 17 |
| 2 | Estructuras morfológicas de genero <i>Fusarium</i> según Barnet y Hunter (1987). (A) Hifas con conidióforo simple. (B) Conidióforo variable, (C) Esporodoquio suelto formado por conidióforos ramificados, (D) Macroconidos y Microconidios y Clasificación Taxonómica (2006)..... | 22 |
| 3 | Estructuras morfológicas del género <i>Aspergillus</i> según Barnet y Hunter, (1987). (A) Cuerpos fructíferos (B,C) Conidióforo con cabeza conidio y Clasificación Taxonómica según Agrios (2006)..... | 25 |
| 4 | Estructuras morfológicas del genero <i>Penicillium</i> según Barnet y Hunter (1987). (A, B, C) Tipos de conidióforos; (D) Ramificaciones, Fialides y cadenas de condios. Clasificación Taxonómica según Agrios (2006)..... | 27 |
| 5 | Estructura de las Aflatoxinas. (Anónimo,2014..... | 29 |
| 6 | Estructura de las Fumonisinias del Grupo B (Tomado de Torres <i>et al.</i> , 2014)..... | 34 |
| 7 | Estructura de zearalenona (ZON) y sus derivados (Tomado de Gao <i>et al.</i> , 2011..... | 36 |
| 8 | Estructura de tricotecenos. Deoxinivalenol (Tomad de Anónimo, 2015)..... | 39 |
| 9 | Estructura de tricotecenos. Toxina T-2 (Tomado de Anónimo 2015.... | 39 |
| 10 | . Distribución espacial del maíz y sus rendimientos en el Estado de México (Soria, 2011..... | 47 |
| 11 | Área agrícola en el Estado de México (Soria, 2013)..... | 47 |
| 12 | Ubicación de los puntos muestreados en el Estados de México y Puebla en un contexto general de la República Mexicana..... | 48 |
| 13 | <i>Fusarium verticillioides</i> . Características morfológicas usadas para su identificación. a) Microconidios, b)Célula conidiogena, c) Largas cadenas y falsas cabezuelas, d) Crecimiento en el grano, e) Color de la colonia en PDA, f) Crecimiento en PDA | 70 |
| 14 | . <i>Fusarium graminearum</i> . a) Esporoquio, b) Macroconidias, c) Conidioforo y macroconidias, d) Crecimiento en grano de maíz, e) Crecimiento en PDA y f) Color de la colonia en PDA..... | 71 |
| 15 | Biodiversidad de la microbiota detectada en el grano de maíz de diferentes almacenes del Estado de México de la cosecha PV-2014..... | 73 |
| 16 | Porcentaje promedio de géneros y especies de hongos tóxicos identificados en las muestras de los almacenes por intensidad de muestreo en el Estado de México..... | 74 |
| 17 | Promedio general de niveles de contaminación con micotoxinas en los almacenes del Estado de México..... | 75 |
| 18 | Micobiota detectada en las muestras de los productores cooperantes del Ejido Santa Juan de Almoloya de Juárez y empresa Aspros del | |

| | | |
|----|--|----|
| | Estado de México..... | 79 |
| 19 | Hongos fitopatógenos potencialmente toxígenicos identificados en las muestras de los productores cooperantes del Ejido santa Juana de Almoloya de Juárez del Estado de México..... | 80 |
| 20 | Hongos fitopatógenos potencialmente toxígenicos identificados en las muestras de los productores cooperantes de la empresa AS-PROS del Estado de México..... | 84 |
| 21 | Micobiota identificada en las muestras de parcelas experimentales de Tenampulco, Puebla. PV 2013..... | 86 |

RESUMEN
POTENCIAL MICOTOXIGENICO DE GRANO DE MAIZ EN ESTADO DE
POSCOSECHA

POR

KENIA CITLALI ORDOÑEZ MORALES

MAESTRIA PROFESIONAL EN TECNOLOGIA

DE GRANOS Y SEMILLAS

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. JUNIO DE 2015

DRA. LEILA MINEA VÁZQUEZ SILLER – Directora de Tesis

En el presente trabajo se determinaron los niveles de contaminación con micotoxinas del grano de maíz en estado de poscosecha, producidas por hongos fitopatógenos de campo y almacén. Se analizaron un total de 31 muestras de los cuales 12 provenían de 4 almacenes obtenidas a tres diferentes intensidades 4, 8 y 12 puntos de extracción, 14 de productores cooperantes del Estado de México del ciclo agrícola P-V 2014, así como 4 muestras de lotes experimentales de Tenampulco, Puebla del ciclo agrícola P-V 2013. Se realizaron análisis Físicos, microbiológicos y serológicos, en los cuales se determinaron las variables de Contenido de Humedad, Numero de Géneros de Hongos Fitopato

nos, Hongos fitopatógenos Potencialmente Toxígenos y cuantificación de Fumonisin, Aflatoxina B1 y Deoxinivalenol. Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante un diseño completamente al azar con arreglo factorial para los almacenes y completamente al azar para las muestras de productores cooperantes del Estado de México y Puebla. Adicionalmente se realizaron pruebas de comparación de medias con la prueba de Tukey al 5% de probabilidad de error, utilizando el paquete estadístico (SAS), donde los análisis de varianza y comparación de medias de Tukey 5%, nos indicaron se observó diferencia altamente significativa ($P=0.0001$) para el contenido de humedad en las muestras de los almacenes y diferencia altamente significativa ($P=0.01$) para la hongos fitopatógenos potencialmente toxígenos identificadas en los almacenes. El número de hongos fitopatógenos identificados en el Estado de México fue de 3 y en Tenampulco, Puebla fueron 4, presentándose diferencias estadísticamente significativas en todos los grupos de materiales analizados ($P=0.0001$.) Los hongos fitopatógenos potencialmente toxígenos identificados que mayor incidencia presentaron fueron *Aspergillus* spp con 84.5%, *Fusarium verticillioides* con 37.5%, *Fusarium graminearum* 40.5% en el Estado de México y *Fusarium verticillioides* 51.5% en Tenampulco, Puebla. En base a estos resultados, se determinó cuantificar los niveles de las micotoxinas Fumonisin (FUM), Aflatoxina B1 (AFB1) y Deoxinivalenol (DON).

Los niveles de detección cuantificados en promedio fluctuaron alrededor de 0.106 - 2.665 mg/Kg de Fumonisin, en el caso de Deoxynivalenol, 0.64 - 2.67

mg/Kg y en el caso de las Aflatoxinas B1 la detección fue de = 0 mg/kg; respecto a la detección de Fumonisinias, en las muestras provenientes de lotes experimentales de Tenanpungo, Puebla, en todas se observó diferencia significativa de ($P=0.0001$) así como entre los almacenes y las muestras de los productores cooperantes del estado de México, donde todas las muestras de los almacenes estaban contaminadas con FUM siendo el almacén 1 el más contaminado con un promedio de 2.665 ppm de Fumonisinias y 2.67 de DON, de las 14 muestras de los productores cooperantes solo cinco de ellas no presentaron contaminación, en relación con las muestras de Tenampulco Puebla, en promedio, el estrato 1 fue el de mayor contenido de FUM con 4.19 ppm. Los niveles DON detectados promedio estaban por debajo de los límites máximos establecidos por la FDA y UE que fueron de 1.31 mg/Kg en promedio en los almacenes y 0.38 mg/kg en los agricultores cooperantes y para FUM fue en almacenes de 0.8215 mg/kg y en los productores cooperantes de 0.10 mg/kg.

Palabras clave: Micotoxinas, Hongos Toxígenicos, Maíz, México.

Abstract

In this paper pollution levels were determined with mycotoxins in corn grain postharvest been produced by fungal pathogens and storage field. A total of 31 samples of which 12 were from 4 stores three different intensities obtained 4, 8 and 12 extraction points, 14 aid workers of the State of Mexico of 2014 PV producers agricultural cycle 4 samples of experimental plots were analyzed and of Tenampulco, Puebla agricultural cycle of PV 2013. Physical, microbiological and serological analysis was performed, in which the variables of moisture content, number of genera of fungal pathogens, potentially toxigenic fungal pathogens and quantification of fumonisin and aflatoxin B1 were determined deoxynivalenol. The results were statistically analyzed by a completely randomized factorial design for stores and completely random for signs of cooperating producers in the State of Mexico and Puebla. Additionally, tests for comparison of means with Tukey test at 5% probability of error is performed using the statistical package (SAS), where the analysis of variance and Tukey 5% indicated diferencia we observed highly significant ($P = 0.0001$) for the moisture content in the samples stores and highly significant difference ($P = 0.01$) for potentially toxigenic fungal pathogens identified in the stores. The number of fungal pathogens identified in the State of Mexico was 3 and Tenampulco, Puebla were 4, presenting statistically significant differences in all material groups analyzed ($P = 0.0001$.) Potentially toxigenic fungal pathogens identified that higher incidence presented were *Aspergillus* spp with 84.5%, with 37.5% *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum* 40.5% in the State of Mexico and 51.5% in *Fusarium verticillioides*

Tenampulco, Puebla. Based on these results, it was determined to quantify the levels of fumonisin mycotoxins (FUM), Aflatoxin B1 (AFB1) and deoxynivalenol (DON).

Detection levels quantified on average fluctuated around 0106-2665 mg / kg Fumonisin, in the case of Deoxynivalenol, 0.64 - 2.67 mg / kg and in the case of Aflatoxin B1 detection was = 0 mg / kg; regarding the detection of fumonisin in samples from experimental plots of Tenampulco, Puebla, in all significant difference ($P = 0.0001$) and between warehouses and samples of cooperating producers in the state of Mexico it was observed, where all samples stores were contaminated with FUM being the magazine 1 the most contaminated with an average of 2.665 ppm fumonisin and 2.67 DON, of the 14 samples cooperating producers only five of them showed no contamination in relation to samples of Tenampulco Puebla on average stratum 1 had the highest content of LMP with 4.19 ppm. Levels DON detected average it was below the ceilings set by the FDA and EU were 1.31 mg / kg on average in warehouses and 0.38 mg / kg in the cooperating farmers and LMP was in stores 0.8215 mg / kg and cooperating producers of 0.10 mg / kg. In this research, a consistent association between the impact on grain corn potentially toxigenic fungal pathogens and mycotoxins evaluated content was observed.

Keyword: Mycotoxin, Toxigenic Fungi, Maize, México

I. INTRODUCCION

El maíz (*Zea mays*) es el cereal que ocupa el tercer lugar en producción a nivel mundial, donde México es el cuarto productor con un volumen de 21.5 millones de toneladas anualmente. Es la principal fuente de energía en la alimentación de la población Mexicana.

En México el maíz ocupa el primer lugar en producción de granos, destacando los estados de Sinaloa, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Chiapas y Guanajuato como los principales productores, con una aportación del 60.65% de la producción nacional. Los principales usos que se le dan al grano de maíz blanco son: elaboración de harinas y tortillas y en el sector industrial, para la obtención de barnices, pinturas el grano amarillo se utiliza para la alimentación del ganado y producción de almidón. México importa alrededor del 30% de este grano para cubrir la necesidad nacional, ya que el consumo anual es de 30 millones de toneladas.

Los requerimientos de clima y suelo para el cultivo de maíz incluye una temperatura: de 25° a 30°C pero también se puede desarrollar en condiciones frías

de hasta 8°C. El maíz se adapta a todo tipo de suelos pero los suelos con pH 6-7 es lo óptimos, además de que requieren suelos ricos en materia orgánica con una buena aeración y con alta demanda de humedad. Alteraciones a todas estas condiciones propician que el cultivo sea susceptible al ataque de plagas y enfermedades que ocasionan pérdidas parciales del cultivo y la disminución de la calidad del grano (pérdida de peso, mal olor, ennegrecimiento de embrión y endospermo).

Los agentes causales bióticos de daños en el grano de maíz incluyen hongos fitopatógenos como *Fusarium* spp; *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. que son los principales géneros que causan pudrición de la mazorca y pérdidas en rendimiento en campo así como en la calidad del grano de maíz en almacén. Las especies del género *Fusarium* como *Fusarium graminearum*, Schwabwe, tiene mayor incidencia en regiones húmedas, en contraste a *Fusarium verticillioides* (Sacc) Nirenberg, que tienen una mayor distribución, ya que pueden desarrollarse en zonas templadas húmedas y templadas, y en zonas subtropicales y tropicales. En almacén las especies *Aspergillus flavus* Link y *Aspergillus parasiticus*, Spear., son los hongos fitopatógenos que tienen mayor incidencia. Estas especies además de causar daños en el grano de maíz, producen micotoxinas (Fumonisin, Zearalenonas, Aflatoxinas, Tricotecenos), las cuales al ser ingeridas en cantidades elevadas son potencialmente mutagénicos, carcinogénicos, teratógenos e inmunosupresores. La producción de estas toxinas está influenciada por la variedad de semilla usada para el cultivo, por las dife-

rentes formulaciones de fertilizantes, así como por las variaciones en las condiciones de almacenamiento y características ambientales como temperatura, humedad y precipitación durante el cultivo del maíz.

En el grano de maíz se realizan pruebas de contenido de aflatoxinas para alimentos derivados del maíz para consumo humano y pecuario y derivados de la leche, ya que las aflatoxinas son sustancias altamente tóxicas para el ser humano y animal, por lo que son normativamente reguladas, pero no se tiene registrada alguna otra norma que regule el contenido de Fumonisin, Zearalenonas y Tricotecenos, lo cual sería importante de realizar, ya que las especies de hongos que infectan al grano del cultivo en campo y consecuentemente en almacén pueden producir estas toxinas. Por ello, la presente investigación aborda un estudio exploratorio de las condiciones fitosanitarias de granos de maíz de diferentes almacenes de productores cooperantes del Estado de México y Puebla, para conocer la situación actual esta problemática que se presenta en las zonas maiceras del país, respecto del contenido de micotoxinas del grano de maíz en estado de poscosecha lo cual pudiera ser un indicador de su estado de inocuidad agroalimentaria.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Determinar el potencial micotoxigénico de grano de maíz en etapa de pos-cosecha muestreado de almacenes de áreas productoras del Estado de México y Puebla.

Objetivos Específicos

- Detectar hongos fitopatógenos potencialmente toxígenos en muestras de granos de maíz de post-cosecha colectadas en almacenes de agricultores cooperantes
- Cuantificar el nivel de contaminación de micotoxinas producidas por hongos fitopatógenos toxígenos detectados en las muestras de granos de maíz provenientes de los almacenes del Estado de México y Puebla.

HIPOTESIS

- El grano de maíz almacenado está infectado por hongos fitopatógenos potencialmente toxígenicos que generan micotoxinas afectando la calidad agroalimentaria de dicho grano.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

El maíz es uno de los principales cereales a nivel mundial, México ocupa el cuarto lugar en cuanto a volumen de producción después de Estados Unidos, China y Brasil. Es el cultivo más importante, ya que forma parte de la dieta básica de la alimentación de la población humana y pecuaria (SAGARPA, 2014). En México el maíz blanco en grano se utiliza principalmente para la elaboración de harinas, tortillas y tamales, para la obtención de aceite e insumos para la fabricación de barnices, pinturas, cauchos artificiales y jabones; así también el maíz amarillo se utiliza principalmente para la alimentación del ganado y la producción de almidones.

2.1 Importancia del maíz en México

En México, dada su importancia en la dieta diaria de la población en México, no obstante, de los más de 30 millones de toneladas que se consumen anualmente, solo 22.6 millones se producen en el país (SIAP-SAGARPA, 2014). Es decir, hay un déficit del 28.1% del consumo nacional aparente, del cual se importan 11 millones de toneladas promedio anual, representando el 30% de la demanda interna de maíz blanco y amarillo (SAGARPA, 2009).

En el 2013 México alcanzó una producción de 22, 663,953. 35 toneladas de granos de maíz, de las cuales aproximadamente el 60% del volumen de producción se obtuvo de seis estados: Sinaloa (26.38%), Jalisco (24.03%), Edo. México (14.64%), Michoacán (12.70%), Chiapas (11.12%) y Guanajuato (11.10%). El rendimiento promedio fue de 3.19 (ton/ha) y la superficie de siembra de 7, 487,399.02 ha (SIAP-.SAGARPA, 2014). El consumo del grano de maíz y sus derivados per capital es: grano 136.3 (g/persona), harina de maíz 18.5 (g/persona), masa de maíz 32.1 (g/persona) y tortilla 236.3 (g/persona) (INEGI, 2010).

El maíz en México representa el 85% del volumen nacional de cereales y está presente en todos los estados, climas y altitudes en los cuales se siembran diversas variedades, bajo dos condiciones de humedad: de temporal, que corresponde al ciclo agrícola Primavera-Verano y de Riego que corresponde al ciclo agrícola Otoño-Invierno. El manejo, puede ser factor importante para el desarrollo adecuado del cultivo, incidencia de plagas y enfermedades que causan la pérdida parcial o total del cultivo, y la disminución de la calidad del grano.

2.2 Enfermedades del maíz

El maíz puede desarrollar numerosas enfermedades las cuales pueden ser bióticas y abióticas. Las primeras son causadas por agentes patógenos:

Hongos, bacterias, virus, micoplasmas, nematodos. Las enfermedades infecciosas más importantes pueden agruparse en: infecciones de las plántulas, manchas de las hojas, pudriciones del tallo y la mazorca, carbonos, royas y virus.

La pudrición de la mazorca y del grano disminuye el rendimiento, la calidad y el valor del grano. Asimismo las enfermedades del tallo dificultan la cosecha. El daño a las hojas reduce la producción de los carbohidratos que van a almacenarse en el grano dando por resultado mazorcas inmaduras y pajosas.

Los hongos *Diplodia maydis*, *Gibberella zea*, *Fusarium verticillioides*, *Nigrospora oryzae*, *Cephalosporium maydis*, *Colletotrichum graminicolum*, *Rhizoctoria zaeae*, *Macrophomina phaseoli* y especies de *Phythium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Drechslera*, son hongos que producen pudriciones de la semilla o grano y manchas de la plántula (Agrios, 2008).

Las enfermedades ocasionadas por *Giberella*, se encuentran ampliamente distribuidas por todo el mundo y causan pérdidas importantes de hasta un 50%. Las fases más importantes de estas enfermedades son las pudriciones del tallo y la mazorca por (*G. zea*) que produce sustancias que son tóxicas para el hombre y algunos animales y de la pudrición de los granos (*G. fujikuroi*), los

cuales producen ascosporas en peritecios y conidios del tipo *Fusarium* (*F. graminearum* y *F. verticillioides*) (Agrios, 2008).

La especie *Fusarium graminearum* Schwabwe, produce pudriciones del tallo y de la mazorca especialmente importantes en las regiones húmedas, y *Fusarium verticillioides* (Sacc) Nirenberg, tienen una mayor distribución, ya que pueden desarrollarse en zonas templadas húmedas y sub húmedas, y en zonas subtropicales y tropicales causando pudrición de la mazorca considerables según De León (1984) y Warham *et al.* (1999).

Por su parte García y Martínez, 2010, determinaron que estas mismas especies inducen la pudrición de la mazorca en campo en la región de Ciudad Serdán Puebla, además de producir sustancia tóxicas para humanos y animales (Chelkowi, 1989; Leslie, 2013).

2.2.1 Enfermedades asociadas a granos.

Durante el almacenamiento de los granos, pueden mostrar los síntomas de enfermedades que empezaron en el campo pero que permanecieron latentes hasta ese momento, ya que puede ser sometido a condiciones que favorecen el desarrollo y ataque de microorganismos.

El maíz almacenado es deteriorado por la invasión de hongos como *Aspergillus* spp, *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. y otros, que invaden, pudren y/o contaminan el grano con micotoxinas, que son metabolitos fungosos secundarios peligrosos para la salud del hombre y los animales que ingieren este producto o los alimentos y derivados elaborados con él (Agrios 2008, Méndez y Moreno 2009).

De los géneros de hongos patógenos identificados en el cultivo y grano de maíz, tanto en campo y almacén, *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium* son los principales géneros de hongos fitopatógenos productores de sustancias tóxicas de relevante importancia a nivel mundial (Méndez y Moreno, 2013). La exposición a micotoxinas puede producir toxicidad tanto aguda como crónica, con resultados que van desde la muerte a efectos nocivos en los sistemas nerviosos centrales, cardiovasculares y respiratorios y en el aparato digestivo. Las micotoxinas pueden también ser agentes cancerígenos, mutágenos, teratógenos e inmunodepresores (Betina, 1989).

2.3 Géneros de hongos toxígenicos

Las especies de hongos toxígenicos más estudiados se encuentran en la división *Deuteromycotyna* que incluye la gran mayoría de hongos causantes de micotoxicosis. Un número reducido de estas especies se relaciona con intoxicaciones que se producen por la ingesta de alimentos o piensos (granos, fo-

rrajes) contaminados por hongos microscópicos que sintetizan sustancias tóxicas que se denominan micotoxinas (Cabañes *et al.*, 2007).

2.3.1 Ciclos biológicos de géneros de hongos fitopatógenos potencialmente toxígenicos en Maíz.

Las especies de los géneros *Fusarium* se caracterizan por ser patógenas que atacan activamente a las plantas en el cultivo, aunque también pueden ser saprofitos facultativos, *Penicillium* son saprofitas pero pueden ser patógenas activas sobre unos cuantos tipos de frutos, en climas frescos y las especies de *Aspergillus* son patógenos ocasionales de tejidos de plantas o animales pero son dominantes como saprofitas en climas cálidos y en condiciones de bajo contenido de humedad (Agris, 2008), por lo que estos géneros y algunas especies potencialmente toxígenicos los podemos encontrar en los residuos de las cosechas, suelo, la semilla, almacenes, como fuente de inóculo para que se dé el proceso de infección y se desarrolle alguna enfermedad en el cultivo y si se dan las condiciones necesarias la producción de micotoxinas. Por lo que conocer el ciclo del desarrollo de las enfermedades ocasionadas en el cultivo de maíz por estos géneros es de suma importancia tanto en campo como almacén.

Además de factores relacionados con la composición química y las propiedades físicas o biológicas del sustrato como lo son pH, actividad de agua y factores relacionados con el ambiente donde se desarrolla o conserva el cultivo,

El género *Fusarium* en el cultivo del maíz, requiere de altos contenidos de humedad para crecer (22-25%) e invaden los granos de las plantas antes de la recolección. La colonización del hongo y la producción de micotoxinas en los granos o alimentos se desarrolla en una serie de fases o etapas que son: la contaminación del alimento, germinación de las esporas, crecimiento de micelio y finalmente la producción y acumulación de las micotoxinas (Figura 1).

Para que se desarrolle el género *Fusarium graminearum* la temperatura óptima para crecer esta entre 24-26°C, siendo el óptimo para la producción de micotoxinas de 20°C y la fluctuación de temperaturas entre 15-25°C y 15 y 25°C generan mayor concentración de micotoxinas, *Fusarium verticillioides* crece entre 4 y 37°C, con un óptimo de 30°C donde la producción de Fumonisinás se entre 15 y 30°C (Marín *et al.*, 2004)

En relación a la actividad de agua requerida para su crecimiento óptimo de *Fusarium graminearum* es de 0.98-0.99 a_w a 15-25°C y mínimamente 0.99 a 15-25°C donde el máximo de producción de micotoxinas Zearalenona en maíz por esta especie esta reportado que es 0,97 a_w y la producción de DON a 0,97 a_w -0,99 a_w (15/25°C) y NIV se da en un intervalo más reducido 0,98 a_w a 25°C. (Hope y Magan, 2003). Así también el pH juega un papel importante ya que los hongos son capaces de crecer en un amplio intervalo de pH 3 y 8 siendo el óptimo cercano a 5.

Aspergillus y *Penicillium* spp. Este género de hongo puede incidir en campo y almacén ya que las condiciones en las cuales se desarrolla son muy amplias donde las más importante para el caso de la producción de micotoxinas son la actividad de agua y temperatura, puesto que especies productoras de micotoxinas como lo son *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* crecen desde 10 a 43 °C, con un óptimo de 32-33°C (Marín *et al.*, 2004) y la producción de aflatoxinas entre temperaturas que oscilan de 12 a 40°C. *Aspergillus* predomina en climas cálidos y templados, mientras que *Penicillium* en climas fríos, por ejemplo *Penicillium expansum* crece bien a 0°C y su temperatura óptima de crecimiento es de 25°C.

La actividad de agua óptima a la cual crece las especies productoras de aflatoxinas *Aspergillus flavus* y *parasiticus* es 0,99 aw estando la mínima entre 0,80 y 0,83. Las aflatoxinas se producen en el intervalo de 0,95-0,99 aunque se ha encontrado un mínimo de 0,82 aw para *Aspergillus flavus* (Sanchis *et al.*, 2007). En este género el pH tiene más influencia en lo que es la producción de la aflatoxina G1 que la B1.

2.3.2 Características del Genero *Fusarium* Link.

El género *Fusarium* es identificado como un patógeno de plantas, animales y seres humanos y como productor de metabolitos secundarios que causan intoxicaciones por el consumo de alimentos contaminados por los seres humanos

y otros animales (Leslie *et al.*, 2013). Muchas plantas tienen al menos una enfermedad asociada a *Fusarium*, la sociedad Americana de Fitopatología revela que más de 81 de las 101 plantas de importancia económica tenían al menos una enfermedad asociada a *Fusarium*, los tipos de enfermedades inducidas son muy variadas como lo es su gravedad, y puede incluir pudrición del tallo, raíces, frutos o semillas, chancros, y enfermedades foliares (Leslie y Summerell, 2006).

El género *Fusarium* fue introducido por Link 1805 (Leslie, 2006).se clasifica en la clase Hyphomycetes de la subdivisión Deuteromycotina (Hongos imperfectos). *Fusarium* incluye especies que producen macroconidios hialinos que son septados, y caracterizados por una base en forma de pie o muescas a la célula basal. Microconidios y clamidosporas que pueden estar presentes o ausentes (Figura 2). Los estados periteciales (teleomorfos) son conocidos por algunas especies y pertenecen a él orden Hypocreales tienen distribución geográfica cosmopolita, tienden a incidir principalmente en regiones tropicales y subtropicales, o fría para las regiones templadas (Burgess *et al.* 1988).

Aproximadamente 1000 especies de *Fusarium* se habían descrito en 1900, basado en gran parte en los exámenes de las estructuras de fructificación (esporodoquios) en material vegetal. Este gran número de especies fue reducido por Wollenweber y Reinking (1935) en 65 especies, 55 variedades, y 22 formas, y que fueron dispuestos en 16 secciones (Leslie *et al.*, 2013).

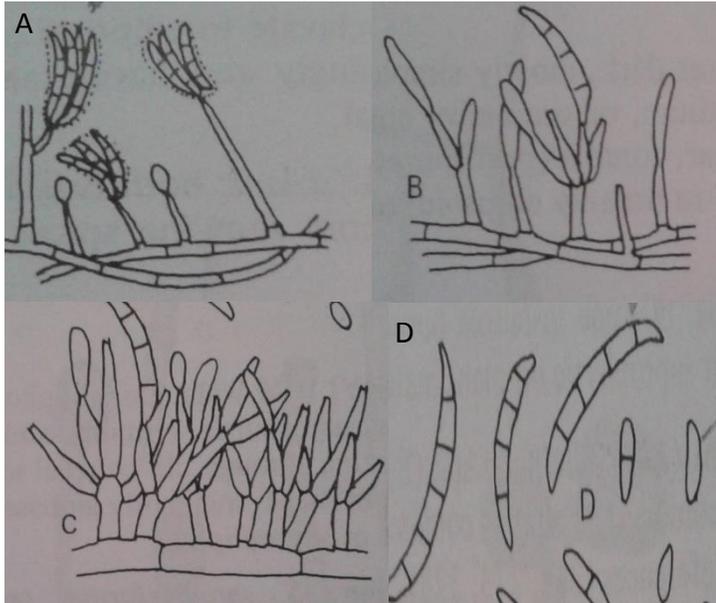
Debido a la similitud las características morfológicas del micelio los taxónomos coinciden en el uso de ciertos caracteres importantes para la identificación de especies de *Fusarium*, la cuales son:

1. Forma de la macroconidias;
2. Presencia o ausencia de las microconidias;
3. Forma y modo de la formación de microconidios;
4. Naturaleza de la célula conidiogena del cojinete de microconidios;
5. La presencia o ausencia de clamidosporas;
6. Diámetro de la colonia en PDA después de la incubación en oscuridad durante 3 días a 25°C y 30°C;
7. Diámetros de la colonia en PDA después de una incubación de 10 a 14 días en el que alternan fotoperiodos de 12 horas diurnas y nocturnas a temperaturas de 25 ° C / 20 ° C.

La importancia relativa de cada uno de estos caracteres en la identificación varía entre las especies (Figura 2) (Burgess, 1988).

2.3.2.1 Especies toxígenicos. La especies de importancia económica por la producción de micotoxinas “Fumonisin, Zearalenonas, Tricotecenos y moniliformina” en maíz son *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc Teleomorfo: *Gibe*

brella intricans Wollenw, *Fusarium graminearum* Schwabe, Teleomorfo: *Gibberella zeae* (Schw.) Petch *Sphaeria zeae* Schw., *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg, Teleomorfo: *Gibeberella fujikuroi* (Sawada) Wineland (Burgess et al.



Clasificación Taxonómica

Reino: Hongos

División: Ascomycota

Subdivisión: Deuteromycotyna

Clase: Hyphomycetes

Orden: Hyphales

Familia: Tuberculariacea

Género: Fusarium

1989, Chelkowi, 1989).

Figura 2. Estructuras morfológicas de genero Fusarium según Barnett y Hunter (1987). (A) Hifas con conidióforo simple. (B) Conidióforo variable, (C) Esporo-doquio suelto formado por conidióforos ramificados, (D) Macroconidios y Microconidios y Clasificación Taxonómica (Barnett y Hunter, 1972 y Agrios, 2008).

2.3.3 Características del Genero *Aspergillus*.

La importancia de este género es notable para el ser humano. Algunas especies se han utilizado la producción de sustancias como aminoácidos, ácidos orgánicos, enzimas y metabolitos secundarios. Los hongos del genero *Aspergillus* se multiplican rápidamente sobre materia vegetal almacenada o en

descomposición, de interés agroalimentario (cereales, frutas, semillas y otros), y en un amplio rango de temperatura, humedad y aerobiosis, contaminando así muchos sustratos (Perrone *et al*, 2007).

Una característica importante de ciertos hongos del genero *Aspergillus* es su capacidad de producir toxinas. Si estas se producen sobre alimentos de consumo, su presencia representa un riesgo para la salud en la producción de cánceres de esófago, hígado entre otras patologías tanto en seres humanos y animales (González, 2009).

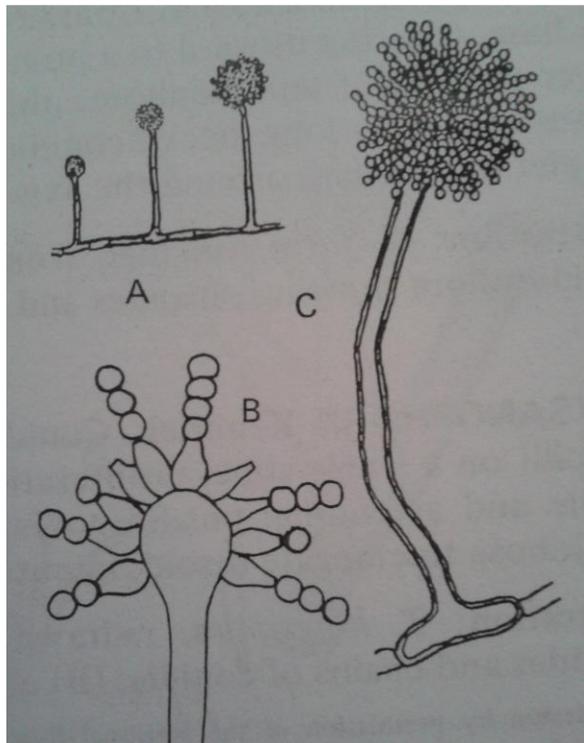
Aspergillus es un género mitospórico que se caracteriza por la producción de hifas especializadas, denominadas conidióforos, sobre los que se encuentran las células conidiógenas que originarán las esporas asexuales o conidios que fue descrito morfológicamente por Micheli en 1729 según las características morfológicas: conidióforos largos, lisos o rugosos, con el ápice hinchado y cubierto parcial o totalmente por una o dos series de esterigmas, las células basal modificada; conidios hialinos o de colores brillantes, catenulados, globosos, ovales, o elípticos, lisos o equinulados (Figura 3). De algunas especies se conoce la fase perfecta, correspondiendo a los géneros *Eurotium*, *Sartorya*, o *Emicella* (Romero, 1988).

Las especies del genero *Aspergillus* son mayoritariamente ubicuas, aisladas de diferentes sustratos con mayor frecuencia de climas cálidos (Cabañes et al. 2007). Actualmente se conocen más de 180 especies y la taxonomía más utilizada y completa es la de Raper y Fennell, el género está dividido en seis subgéneros y secciones basadas fundamentalmente en cuatro características: presencia de teleomorfo, presencia o ausencia de mótulas; disposición de las mótulas o fiálides sobre la vesícula y coloración de las colonias (Abarca, 2000).

2.3.3.1 Especies toxígenicos. En el caso del género *Aspegillus* las especies productoras de micotoxinas llamadas Aflatoxinas son *Aspergillus flavus* Link y *Aspergillus parasiticus* Spear, ocratoxina A y B, por *Aspergillus giganteus*, Acido penicílico por *Aspergillus ochraceus* y *Aspergillus sulphureus*, Termógeno por *Aspergillus flavus*, según Derache (2005) y son una característica para la diferenciación entre estas especies.

2.3.4 Características del genero *Penicillium*. *Penicillium* es uno de los hongos más comunes que se producen en una amplia gama de hábitats, desde el suelo, vegetación, aire, ambientes interiores y varios productos alimenticios. Tiene una distribución mundial y un gran impacto económico en la vida humana. Su principal función en la naturaleza es la descomposición de materiales orgánicos, donde las especies causan pudriciones devastadoras en pre y poscosecha como patógeno en los cultivos (Visagie, 2014) donde producen una amplia

gama de micotoxinas (Frisvad *et al.*, 2004). Algunas especies tienen impacto positivo en la industria de alimentos usándolas para la producción de quesos especiales, como el Camembert y Roquefort, para la producción de la penicilina (Fleming, 1929, Chain *et al.*, 1940, Abraham *et al.*, 1941 y Thom, 1945 citados



Clasificación Taxonómica

Reino: Hongo

División: Ascomycota

Subdivisión: Deuteromycotyna

Clase: Hyphomycetes

Orden: Hyphales

Familia: Monileaceae

Género: *Aspergillus*

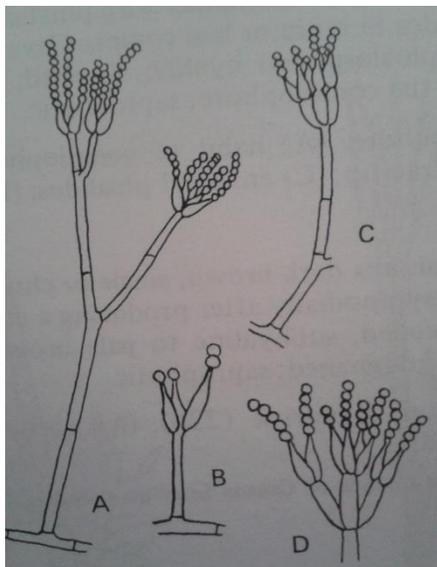
por Visagie *et al.*, 2014)

Figura 3. Estructuras morfológicas del género *Aspergillus* según Barnet y Hunter, (1987). (A) Cuerpos fructíferos (B, C) Conidióforo con cabeza conidio y Clasificación Taxonómica según Agrios (2008).

El género *Penicillium* fue descrito por primera vez por Link en 1809; incluye especies mitosporicas cuyas formas perfectas se incluyen en la familia *Trichomaceae*, del orden *Eurotiales*, perteneciente a la división *Ascomycota*. Estos teleomorfos se engloban en los generos *Eupenicillium* y *Talaromyces* (Ro-

mero, 1988). Las especies que incluyen al género son ubicuas, consideradas saprofitas. Las estructuras que caracterizan al género *Penicillium*, son el conidióforo que presenta en forma de pincel. A la morfología de estas estructuras es a la que debe el nombre el género (del latín *Penicillus*, "pincel pequeño"). Los conidios se presentan en cadenas y son organizados a partir de una célula especializada: la fialide. El conidióforo está unido al micelio mediante el estipe. Entre esta y la fialide pueden aparecer diferentes células. Estas células se presentan agrupadas partiendo de un mismo punto desde el que se originan. Parte del de las fialides, los puntos de ramificación son uno, dos o excepcionalmente, tres a lo largo del conidióforo. La célula de soporte de la fialide se denomina matula y la célula de soporte de la matula se denomina rama, en las especies que las presentan. Estas ramas parten del estipe, aunque pueden partir, a su vez, de otras ramas (Benítez, 2003) (Figura 4).

Las distintas especies de este género causan las "pudriciones por los mohos azules" y las "pudriciones por los mohos verdes", a las cuales se les denomina también pudriciones por *Penicillium*. Son las más comunes y a menudo las más destructivas de todas las enfermedades de postcosecha, además de las pérdidas ocasionadas por la pudrición este hongo produce también varias toxinas, tales como la Patulina, Citrina, Acido ciclopiazonico, Acido penicilico, Ocratoxina A (OA), Penitrems (Cabañes *et al.*, 2007).



Clasificación Taxonómica

Reino: Hongos

División: Ascomycota

Subdivisión: Deuteromycotyna

Clase: Hyphomycetes

Orden: Hyphales

Familia: Moniliaceae

Genero: Penicillium

Figura 4. Estructuras morfológicas del género *Penicillium* según Barnett y Hunter (1987). (A, B, C) Tipos de conidióforos; (D) Ramificaciones, Fialides y cadenas de conidios. Clasificación Taxonómica según Agrios (2008).

2.3.4.1 Especies toxígenicos. Las micotoxinas producidas por algunas especies de los géneros de hongos fitopatógenos previamente descritos son objeto de interés mundial debido a las importantes pérdidas económicas que acarrearán sus efectos sobre la salud de las personas, la productividad de los animales y el comercio nacional e internacional.

2.4 Micotoxinas

De acuerdo con Benett (1987), las micotoxinas son sustancias producidas por ciertos hongos en su fase de crecimiento, se sintetizan cuando el medio empieza a agotarse como fuente de nitrógeno y fósforo según Romero(1988), por su parte Pitt 1996 los describe como compuestos de bajo peso molecular,

policetonicos resultantes de las reacciones de condensación que tienen lugar bajo condiciones físicas, químicas y biológicas, que interrumpen la reducción de los grupos cetonicos en la biosíntesis de los ácidos grasos, utilizados por los hongos como fuente de energía, por lo que la formación de las micotoxinas se puede dar al final de la fase exponencial o al principio de la fase estacionaria del crecimiento del hongo.

Por su parte Sanchis *et al.* (2007), da a conocer las condiciones que favorecen el crecimiento de los hongos y la producción de micotoxinas, las cuales son: humedad, actividad de agua, temperatura, pH, composición del sustrato y presencia de hongos.

Méndez y Moreno 2009, mencionan que las micotoxinas suelen encontrarse en una gran variedad de productos agrícolas, y son los contaminantes naturales de los alimentos más extendidos a nivel mundial, y según Cameán y Repetto, (2012), Gimeno y Martins (2006), la exposición a cantidades elevadas de micotoxinas que son diferentes tanto en propiedades químicas, biológicas y toxicológicas puede producir toxicidad tanto aguda como crónica llamada micotoxicosis, y con resultados que van desde la muerte a efectos nocivos en los sistemas nervioso central, cardiovascular y respiratorio y en el aparato digestivo, que pueden también ser agentes cancerígenos, mutágenos, teratógenos e inmunodepresores.

De las micotoxinas más estudiadas y gran impacto en la industria de alimentos para consumo humano y animal Cabañes et al. 2007, enlista las más importantes y los efectos fisiopatológicas que pueden producir (Cuadro No.1).

Por lo que debido a todas estas patologías causadas en seres humanos y animales, la Agencia Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC 2015), clasifica varias micotoxinas como cancerígenas para al hombre, donde las Aflatoxinas son las principales y pertenecen al grupo 1, que corresponde a agentes carcinógeno en humanos, y las Fumonisinias al grupo 2B que son agentes posiblemente carcinógena , las cuales se desarrollan en climas cálidos, mientras que en áreas más frías se presenta la vomitoxina, ocratoxina y toxina T2.

Cuadro No. 1. Principales efectos fisiopatológicos producidos por las micotoxinas (Cabañes *et al.* 2007).

| Micotoxinas | Efectos fisiopatológicos |
|--------------------|--|
| Aflatoxinas B y G | Daño hepático agudo, cirrosis, inducción de tumores, disminución de la eficacia del sistema inmunitario, teratogénesis, excreción por la leche, acumulación en tejidos. |
| Citrinina | Nefrotóxica. Toxicidad renal en monogástricos (poliurina, proteinuria, creatinuria, glucosuria, enzimuria y aumento de nitrógeno ureico en sangre), temblores corporales, inmunosupresión. |
| Esterigmatocistina | Hepatotóxica nefrotóxica, causa alteración pulmonar y diarreas; mutágenas in vitro, inductoras de tumores y teratógenas. |
| Fumonisinias | Neurotóxicos (leucoencefalomalacia), nefrotóxicos, edema pulmonar y cerebral, hepatotóxicos y lesiones cardia- |

| | |
|---|--|
| Patulina | cas. Los órganos afectados son: cerebro, pulmón, hígado, riñón y corazón. Excreción en leche. |
| Ocratoxina | Transtornos gastrointestinales y neurológicos, temblores corporales, mutagena e inductora de tumores. |
| Rubratoxina | Nefropatía endémica de los Balcanes, acumulación en riñón, tubulonefritis, hígado y músculo, vómitos, teratogénesis, mutagénesis, embriotóxicas. |
| Tricotecenos: toxina T2, nivalenol, deoxinivalenol y diacetoxiscirpenol | Gran congestión (con hemorragias) de hígado, riñón, glándulas suprarrenales, pulmón, bazo, tracto gastrointestinal y congestión vascular en los tejidos subcutáneos y hemorragias en vísceras abdominales, inmunosupresión. |
| Zearalenona | Vómitos, taquicardia, diarrea, pérdida de la atención, hemorragias, edemas, necrosis de los tejidos cutáneos, destrucción de tejidos hematopoyéticos, disminución de los glóbulos blancos y plaquetas circulantes, meningitis hemorrágica (cerebro), alteración del sistema nervioso, rechazo del alimento, lesiones necróticas en diferentes partes de la boca, degeneración patológica de las células de la médula ósea, nódulos linfáticos e intestino. Síndrome estrogénico, problemas reproductivos, excreción por leche junto con sus derivados a y b-zearalenol. |

2.4.1 Aflatoxinas. El término "aflatoxinas" fue usado a comienzos de los años 60's, cuando miles de pavos, patos y otros animales domésticos murieron a causa de una enfermedad (conocida como "enfermedad X de los pavos") que se atribuyó a la presencia de toxinas de *Aspergillus flavus* en harina de cacahuate importada de Sudamérica. El nombre de aflatoxinas hace referencia al hecho de ser biosintetizadas por el hongo *Aspergillus flavus* y fue propuesto en 1960. La primera letra, la A, hace referencia al género *Aspergillus*, las tres si-

guientes, FLA, proceden de la especie *flavus* y el termino TOXINA se refiere a su efecto toxico. En cuanto a las aflatoxinas B y G, se les denomina así por el color de la fluorescencia que emiten bajo la luz UV: azul (Blue) para AFB1 y AFB2 y verde (Green) para AFG1 y AFG2, respectivamente la aflatoxina B1 es la de mayor ocurrencia y concentración en los alimentos. Son inodoras, insípidas e incolora, estables en los alimentos y resistentes a la degradación bajo procedimientos de cocción normales. Es difícil eliminarlas una vez que se producen (Urrego y Díaz, 2006).

Las aflatoxinas son sustancias biogénicas y están estructuralmente relacionadas. Químicamente son cumarinas con dos grupos hidrofuranos en configuración cis y configuración tipo lactona figura 5. (Derache y Derache, 2005). Sus pesos moleculares oscilan entre 312 y 350.

Actualmente, se han identificado 18 tipos de aflatoxinas, de las cuales solo seis tienen significación como contaminantes de los alimentos: las aflatoxinas del grupo B (B1 y B2), G (G1 y G2). Las aflatoxinas del grupo M son derivados hidroxilados de los dos grupos B y G metabolizados en los seres humanos y animales (Gallegos, 2010). La producción de estos grupos de toxinas son producidas por cepas de varias especies del genero *Aspergillus* (*Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nonius* y *A. tamarii*) según Moreno y Benavides, (1988)

La producción de toxinas depende de muchos factores como puede ser el alimento, el grado de acidez, la temperatura o humedad ambientales y la presencia de micoflora competidora.

2.4.2 Fumonisin. En 1902, el científico Butler describió una enfermedad llamada leucoencefalomalacia equina que provocaba una serie de manifestaciones neurológicas en los caballos alimentados con una comida enmohecida a base de maíz debido a algunas especies de género *Fusarium* y que Gelderblom y colaboradores en 1988 aislaron fumonisin B₁ (FB₁) y fumonisin B₂ (FB₂) de cultivos de *Fusarium verticillioides* (Soriano y Dragacci, 2007).

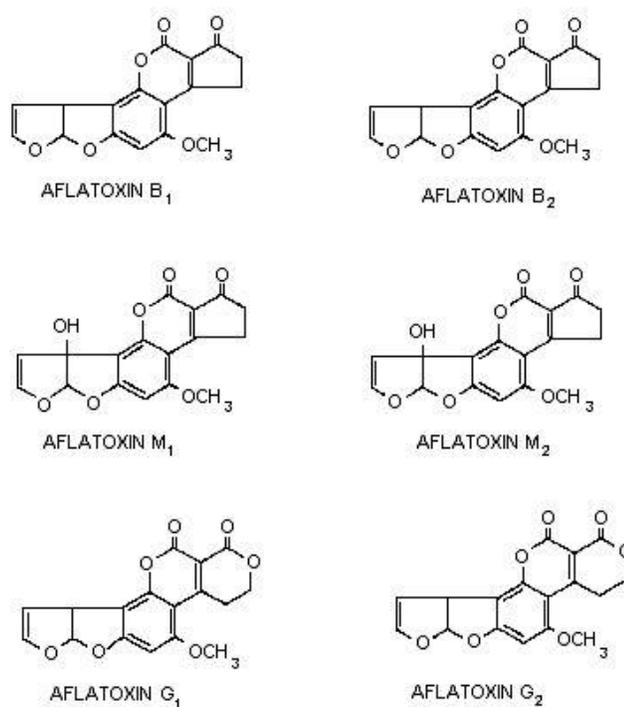


Figura 5. Estructura de las Aflatoxinas. (Anónimo,2014)

Las fumonisinas son producidas principalmente por varias especies del genero *Fusarium* (Burgess *et al.* 1988, Soriano y Dragacci, 2007 y Vincelli y Parker, 2002) en maíz y por *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici*. (Soriano y Dragacci, 2007).

La producción de fumonisinas está influenciada por la variedad de semilla usada para el cultivo, por las diferentes formulaciones de fertilizantes, así como por las variaciones en las condiciones de almacenamiento y características ambientales como temperatura, humedad y precipitación (Vincelli y Parker, 2002)

Al menos se conocen quince tipos de fumonisinas (F) agrupadas en cuatro series; tipo A, B,C y P. siendo la más aislada de alimentos las del grupo FB₁ (Torres y López, 2010), seguido por la FB₂ y FB₃. El grupo amino libre de la serie B parece ser el responsable de la actividad biológica y toxicológica de dichos compuestos (Soriano y Dragacci, 2007).

Las fumonisinas B contienen un esqueleto lineal de 20 carbonos, con un amino en el C-2 y residuos de ácido tricarbóxico esterificados en C-14 y C-15. Estos compuestos difieren por la presencia o la ausencia de un grupo hidroxilo en los C-5 y C-10 ver figura 6 (Torre *et al.*, 2014).

Las fumonisinas tienen una estructura similar a las esfingosina y a la esfingina, que forman parte de los esfingolípidos componentes activos de las membranas celulares. La rotura de sus metabolitos puede provocar una serie de efectos serios en el crecimiento y diferenciación celular y respuesta inmunitaria, y las fumonisinas son capaces de romper el ciclo de la esfingomielina por inhibición de la ceramida sintasa y de la esfingina-N-acetiltransferasa dando como resultado una acumulación sobre todo de esfingina y en menor cantidad de esfingosina. La esfingocina se acumula dentro del hígado y una parte se distribuye por la sangre (Soriano y Dragacci, 2007).

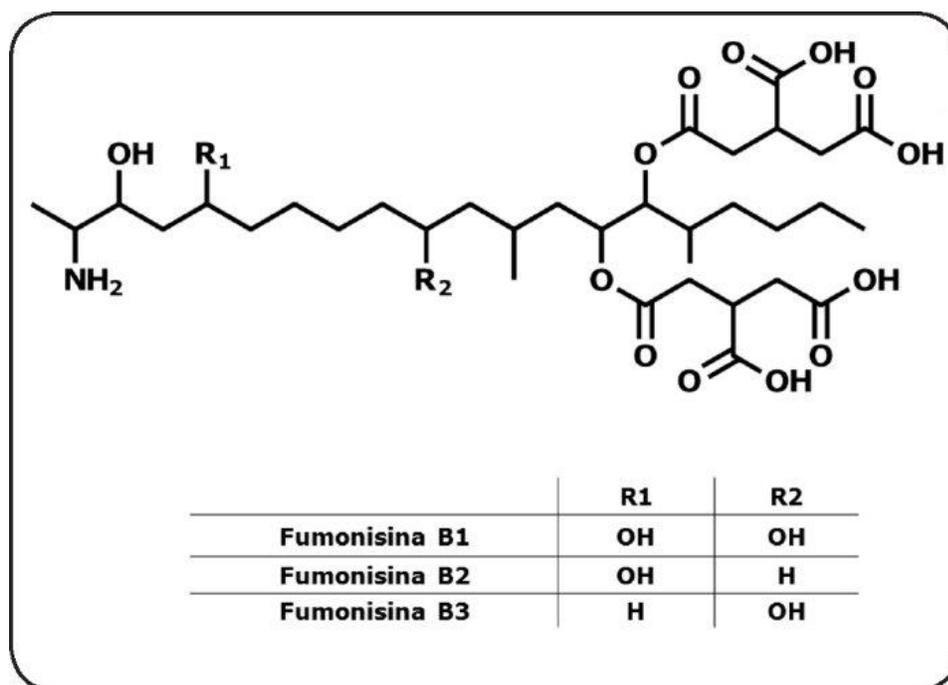


Figura 6. Estructura de las Fumonisinias del Grupo B (Tomado de Torres *et al.*, 2014).

El maíz es el alimento donde predomina en mayor cantidad las fumonisinás frente a otros cereales (Vincelli y Parker, 2002).

2.4.3 Zearalenonas. La *zearalenona* (F-2) es una micotoxina estrogénica no esteroidea producida por varias especies de *Fusarium*, es una lactona derivada del ácido β -resorcilico (Figura 7). En mamíferos, el grupo ceto es reducido a dos esteroisómeros (α y β), producida muchas veces junto con los tricoteceenos, por especies que coloniza los granos: *Fusarium graminearum* (Vincelli y Parker, 2002), *F. culmorum*, *F. crookwellense*, *F. heterosporum* y *F. equiseti*. Es débilmente fitotóxica y produce hiperestrogenismo y problemas reproductivos en el ganado y animales de experimentación (Carrillo, 2003).

Las condiciones climáticas en cosecha y particularmente en post-cosecha tienen una gran influencia. Por ello, la zearalenona es de distribución amplia en países cálidos pero, también, donde se cultiva maíz en climas templados y húmedos (Burgess *et al.*1988)

Es una micotoxinas termoestable y también persiste a la congelación a -15°C, las temperatura por debajo de 10°C y humedad menor del 33% son condiciones favorables para la estabilidad de la producción de zearalenona (Elika, 2013).

La zearalenona no es clasificable en cuanto a su carcinogenicidad porque no hay evidencia de carcinogenicidad, mutagenicidad, ni genotoxicidad en especies animales de laboratorio o sometidos a experimentación, ya que se metaboliza y excreta rápidamente, por lo que la acumulación en órganos y tejidos es muy baja (Elika, 2013).

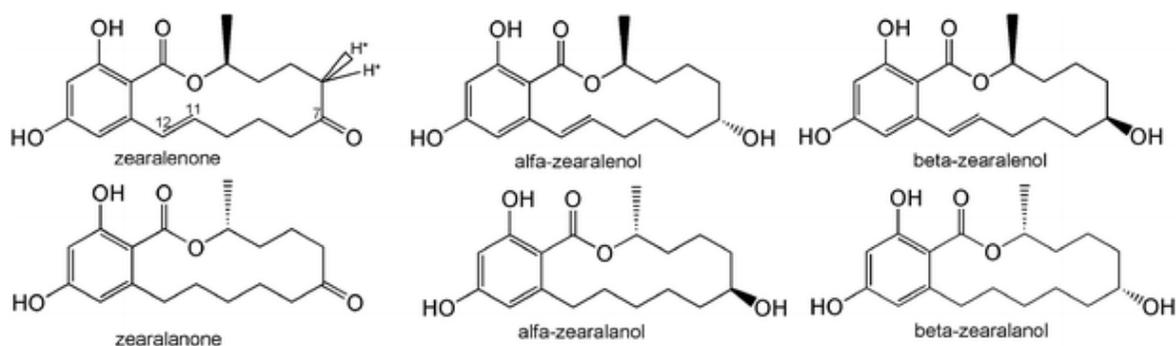


Figura 7. Estructura de zearalenona (ZON) y sus derivados (Tomado de Gao *et al.*, 2011)

2.4.4 Tricotecenos. Los tricotecenos son una familia de sesquiterpenoides. La mayoría posee un núcleo tetraciclo con doble ligadura en el C-9,10 y un anillo epoxi en C-12,13. Los cuales se clasifican en cinco categorías (Derache y Derache, 2005):

- 1) Tricothecenos hidroxilados o acilados sustituidos

- 2) 8-cetotricothecenos
- 3) 7,8-epoxitricothecenos
- 4) Verrucarinas y roridinas
- 5) 7,8-epoxiroridinas

Producidas por muchos fusarios y hongos relacionados (*Trichothecium*, *Cephalosporium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Stachybotrys*, *Cylindrocarpon*)

Son tóxicos potentes de las células eucarióticas y causan lesiones dérmicas, alteraciones de la respuesta inmunológica e inhibición de la síntesis de macromoléculas.

La toxina T-2 y el desoxinivalenol (DON) pertenecen al grupo de los tricotecenos, que están implicados en las micotoxicosis de animales y humanas.

El DON es una micotoxina con actividad citotóxica, fitotóxica y antifúngica, denominado tricoteceno e incluido dentro del grupo B, se encuentra naturalmente en elevadas concentraciones y/o como contaminante de una gran variedad de sustratos, como trigo, cebada, avena, centeno y maíz. La presencia de DON está asociada con la especie micotoxigena *Fusarium graminearum* (Schwabe), en las áreas templadas y húmedas de cultivo (Lori y Rizzo, 2007).

El DON es relativamente soluble en agua y altamente soluble en solventes polares acuosos como el metano, acetonitrilo y acetato de etilo, es estable a 180°C y la inactivación química se logra con solución de hipoclorito de sodio al 3-5% (Lori y Rizzo, 2007).

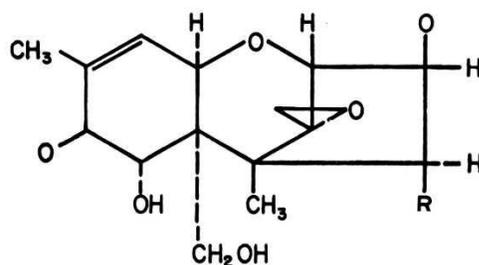
La absorción, distribución y eliminación del DON es rápida si es vía oral o parenteral, no existe evidencia de su acumulación en tejidos o su transmisión a los huevos o leche.

Las especies productoras de La toxina T-2 son *F. sporotrichoides*, *F. poae*, *F. equiset* y *F. acuminatum.*, las cuales presentan un anillo susquiterpeno y pertenece a los tricotecenos del grupo A por presentar en el C-8 un grupo diferente a carbonilo.

Los efectos más comunes de la toxina T-2 son inhibición de la síntesis de proteínas por que se unen a los ribosomas, inhibición del ARN y ADN, toxicidad sobre la membrana de las células e inducción de apoptosis en tejidos linfáticos y hematopoyéticos (Froquet *et al.*2003).

Al igual que el DON la toxina T-2 se absorbe y metaboliza rápidamente después de la ingestión en todas las especies animales y en el hombre (Lori y Rizzo, 2007).

TRICOTECENOS TIPO B



Fórmula II

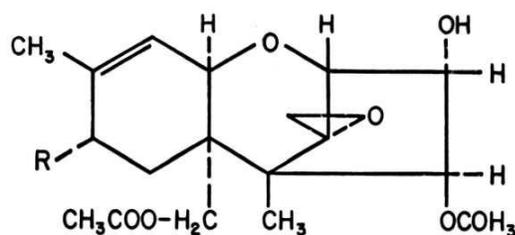
Nivalenol : R = OH

Deoxinivalenol : R = H
(DON)

Figura 8. Estructura de tricotecenos. Deoxinivalenol (Tomad de Anónimo, 2015).

La toxina T-2 tiene presencia en granos tales como trigo, maíz, avena, cebada, arroz, porotos y soya.

TRICOTECENOS TIPO A



Fórmula I

Diacetoxiscirpenol : R = H

Toxina T-2 : R = (CH₃)₂CHCH₂COO-

Figura 9. Estructura de tricotecenos. Toxina T-2 (Tomado de Anónimo 2015)

2.5 Normatividad y legislación de micotoxinas

Las micotoxinas en el ser humano y animales es de relevante importancia ya que como hemos citado anteriormente estas sustancias tiene efectos tóxicos dependiendo de la concentración y la frecuencia con que se consumen, por lo cual se han aprobado normas para establecer límites de tolerancia que permitan al consumidor y a los productores estar ciertos de que los granos y sus derivados, así como otros alimentos que se consumen son inocuos.

La FAO (2003) elaboro un reglamento a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones, donde se establece los límites del contenido de micotoxinas en diferentes partes del mundo. Los países con reglamentaciones para las micotoxinas tienen al menos límites máximos reglamentados para la aflatoxina B1 o para el total de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en los alimentos y/o las raciones, también existen reglamentos específicos (por ej. la aflatoxina M1; los tricotecenos, deoxinivalenol y diacetoxiscirpenol, las toxinas T-2 y HT-2; las fumonisinas B1, B2, y B3; el ácido agárico; los alcaloides del ergot; la ocratoxina A; la patulina; las fomopsinas; la esterigmatocistina y la zearalenona.

En el caso específico del maíz las micotoxinas más importante son Aflatoxinas, Fumonisinas, Zearalenonas , Deoxinivalenol (Riley y Norred, 1999).La concentración de micotoxinas se expresa en $\mu\text{g}/\text{kg}$ (partes por billón), mg/kg (partes por millón), ya que la acción de estas pequeñas cantidades es acumula-

tiva manifestándose la enfermedad, en algunos casos, al cabo de meses o años (Carrillo, 2003).

En México existe normatividad para el contenido de Aflatoxinas en cereales donde se incluye el maíz. La NOM-247-SSA1-2008 y NOM-187-SSA1-2002 establece los límites máximos de 20µg/kg de Aflatoxinas totales en granos para consumo humano, así como 12µg/kg para harina de maíz nixtamalizado y derivados de estas, en la NOM-188-SSA1-2002 los límites máximos permitidos de Aflatoxinas totales en granos para consumo animal va de 21-300 µg/kg, los cuales se ajustan según las características del animal al cual vaya destinado el grano. De las aflatoxinas la B1 es la más importante porque es potencialmente cancerígena, y los límites máximos para esta son 2 µg/kg, y 4 µg aflatoxinas B1+B2+G1+G2/kg en la unión europea (Sanchis *et al.*, 2000).

En relación a los niveles máximos de Fumonisinias totales en maíz y sus derivados para consumo humano, la FDA recomienda 2ppm para productos de maíz molido en seco y 4 ppm para maíz entero o parcialmente molido, para raciones de animales para equinos y conejos los límites máximos son de 5 ppm, para cerdos y pescado 20 ppm, crianza de rumiantes y aves 30 ppm, rumiantes \geq 3 meses de edad 60 ppm y para otras especies 10 ppm. El límite máximo establecido para Deoxinivalenol es de 1 ppm para producto terminado que potencialmente puedan ser consumidos por humanos, en el caso de consumo pecua-

rio 10 ppm para rumiantes mayores de 4 meses, 5 ppm para grano y sub productos destinados para cerdos y otros animales.

La Unión Europea estableció en su reglamento CE No. 1881/2006 límites máximos para todos los cereales y todos los productos a base de cereales, incluidos los productos derivados de la transformación de cereales en 2 ppb de Aflatoxinas B1 y 4 ppb de Aflatoxinas totales. Así como también 1.75 ppm de Deoxinivalenol para maíz no elaborado y 0.75 ppm para cereales destinados al consumo humano directo, harina de cereales [incluida la harina de maíz, y el maíz triturado y molido], salvado como producto final comercializado para el consumo humano directo y germen. Los límites máximos establecidos en este reglamento para Fumonisinás totales en maíz no elaborado es de 2 ppm y 1 ppm en harina de maíz, maíz molido, maíz triturado, germen de maíz y aceite de maíz refinado.

2.6 Manejo del Grano de Maíz en pos cosecha en México

El grano de Maíz en pos cosecha es sometido a diversas actividades de acondicionamiento para su almacenamiento, comercialización o industrialización. Dentro de las actividades de acondicionamiento se encuentran el desgranado, secado, clasificación según la forma, tamaño y tratamiento químico, todo esto para incrementar el valor comercial del grano y que se encuentre disponi-

ble y dentro de los estándares de calidad que requiere el mercado y el consumidor final.

El secado del grano, ya sea en mazorca o granel es una de las actividades primordiales para lograr mantener las condiciones físicas, químicas y biológicas de los granos, ya que los granos con altos contenidos de humedad del 14%, son susceptibles al deterioro más rápidamente ocasionadas por agentes bióticos como Hongos, Insectos, Roedores, entre otros. Así también que en el almacenamiento se deben cuidar aspectos de relevante importancia ya que las condiciones del medio ambiente y del grano en si son factores importantes para el buen almacenamiento y conservación de las características organolépticas del grano (Lindblad y Druben, 1986).

2.6.1 Condiciones de almacenamiento de grano de maíz en México.

El almacenamiento de granos en México es un tema que ha venido evolucionando dentro de las grandes empresas involucradas en el manejo de granos y Semillas, ya que existen infraestructuras equipadas con alta tecnología (SAGARPA, 2009), para conservar las condiciones de humedad relativa y temperatura que necesitan los granos y semillas para mantener sus condiciones en las que llegaron al almacenes, en contraparte con el sector rural donde hasta la actualidad los productores siguen almacenando sus cosechas en silos al aire libre o cuartos que ellos mismo acondicionan para bodegas.

Los principales métodos de almacenamiento usados en el sector industrial y rural son: Grano almacenado en sacos, Almacenamiento hermético, Almacenamiento de grano en sacos de plástico Almacenamiento de grano en tambores metálicos, Almacenamiento en depósitos de metal, Deposito de metal para uso de en el hogar (Moreno y Benavides, 1987).

2.6.2 Condiciones de almacenamiento del grano de maíz asociadas a la contaminación por micotoxinas.

El crecimiento fúngico y la formación de micotoxinas dependen de una serie de factores los cuales pueden ser: Ambientales como humedad, temperatura, presencia de oxígeno. Agente biológico que produce las micotoxinas como el crecimiento fúngico, cantidad de inóculo del hongo entre las cepas de hongos así como la interacción/competición, actividad de agua, pH. El grano: las lesiones en la integridad del grano causado por insectos, el daño mecánico/térmico, humedad, temperatura durante el almacenamiento y el tiempo de almacenamiento (Bolívar, 2007).

Además de que el manejo inadecuado de las temperaturas en el almacén son un factor que promueve el desarrollo de hongos potencialmente tóxicos donde según Munkvold (2003), encontró que las temperaturas óptimas para

almacenar granos no deben exceder preferentemente los 20°C, ya que la temperatura óptima para el desarrollo de los hongos se encuentra entre 25 y 30°C y el límite máximo entre 40 y 45°C según Gimero (2002).

Por su parte Gimeno (2002), menciona que los granos almacenados con contenidos de humedad por debajo del 13% suelen presentar un crecimiento y proliferación fúngica bajos y a medida que la humedad aumenta, el crecimiento y proliferación fúngicas se aceleran, pudiendo ser de forma exagerada para valores de humedad del 16%.

III. MATERIALES Y METODOS

La determinación del potencial micotoxigenico de granos de maíz en estado de post- cosecha se realizó en dos etapas, la primero fue la obtención de muestras de almacenes de productores cooperantes de grano de maíz (Cuadro 2) del Estado de México con apoyo del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas Pecuarías (INIFAP-REGION CENTRO, Sitio Experimental Metepec) y de la Federación de Productores de Maíz del Estado de México, así como del municipio de Tenampulco, Puebla; la segunda etapa consistió en realizar pruebas de laboratorio, que se llevaron a cabo en el Laboratorio de Ensayos de Semillas en el área de Sanidad del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

3.1. Áreas de Muestreo

Las áreas muestreadas en el Estado de México se decidieron en base a la distribución de área de cultivo (Figura 12) y la superficie del Maíz cultivado además de que se tomó en cuenta la influencia de municipios con altos rendimiento maíz en este estado (Figura 13) Los Estados, Municipios y/o Localidades donde se realizaron los muestreo de granos de maíz en estado de poscosecha de

almacenes se describen en la Figura 14.

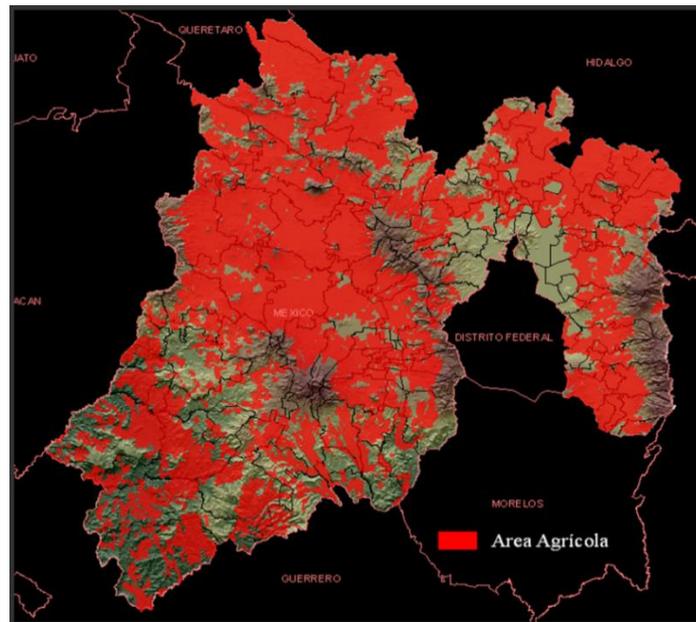


Figura 10. Área agrícola en el Estado de México (Soria, 2013).

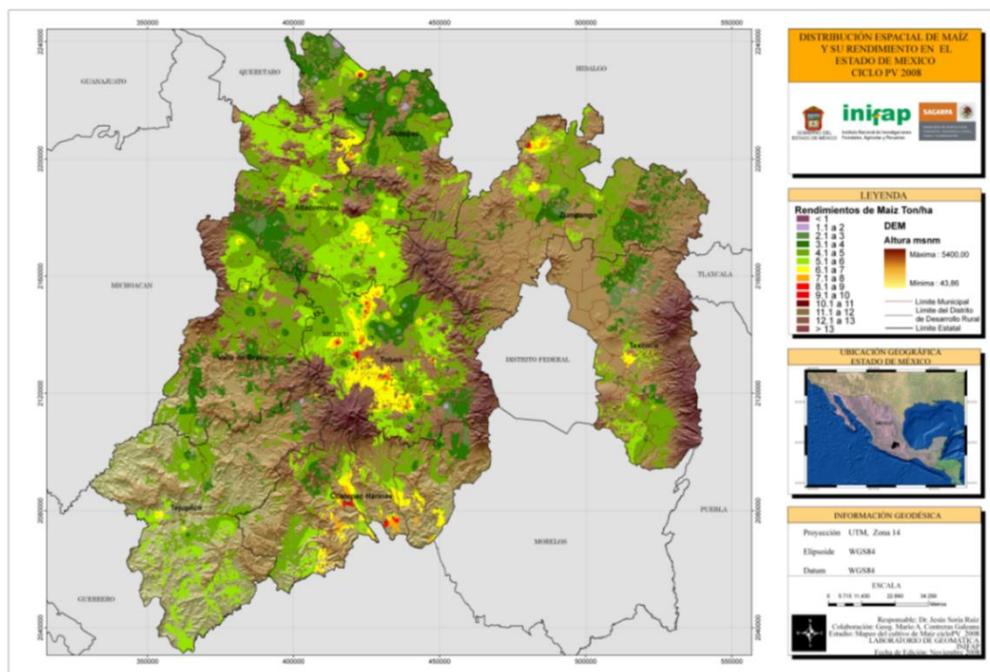


Figura 11. Distribución espacial del maíz y sus rendimientos en el Estado de México (Soria, 2011)

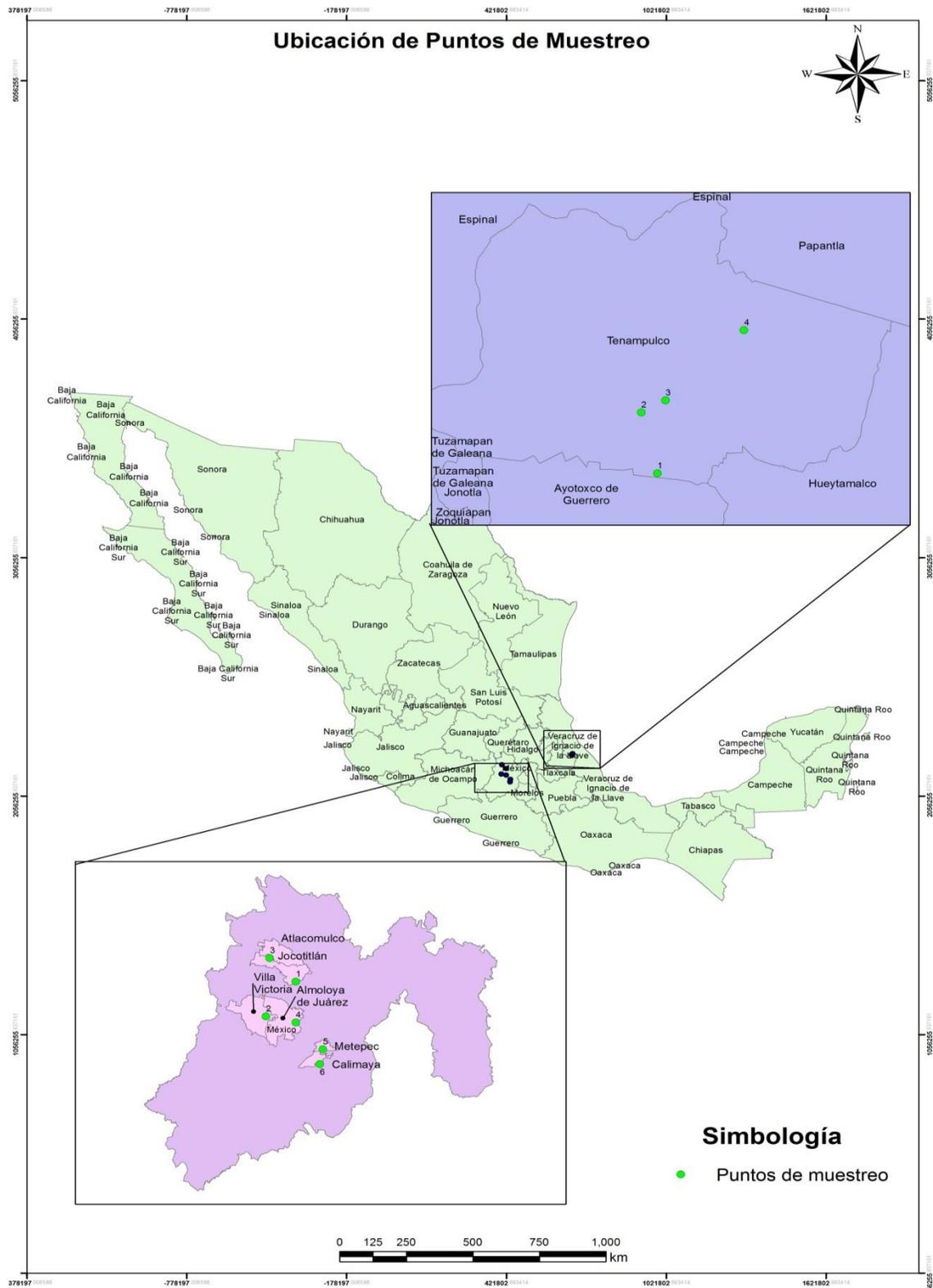


Figura 12. Ubicación de los puntos muestreados en el Estados de México y Puebla en un contexto general de la República Mexicana

3.2 Primera etapa. Muestreo

El muestreo consistió en la obtención de grano de maíz de diversos genotipos procedentes de cuatro almacenes y productores cooperantes, los cuales se eligieron por su área ecológica de influencia en el agro ecosistema del maíz del Edo. México, así como también del municipio de Tenampunco, Puebla (Figura 14).

En el Estado de México se realizaron dos tipos de muestreos: el primero en almacenes siguiendo como referencia a la norma oficial mexicana NOM-188-SSA1-2002, para establecer las diferentes intensidades de muestreo empleadas y la distribución de los puntos de colecta del muestreo según las características del almacén, el segundo muestreo se realizó al azar en las áreas donde los productores cooperantes almacenaban sus cosechas ya sea a granel o en mazorca en sus Bodegas.

El muestro que se realizó en los almacenes consistió en tres intensidades de muestreos realizando 4, 8 y 12 tomas en cada almacén..

3.2.1 Almacén 1. Las características del almacén 1 son de un silo con un contenido de 850 toneladas a granel, una altura de 15 m, en el cual la intensidad de muestreo de cuatro puntos se realizaron dos extracciones a 2 y 4 m de

profundidad, en los ocho y doce puntos de muestreo se realizaron las extracciones a 2 m de profundidad. Se utilizó un calador tubular de 1.6 m de longitud, 38 mm de diámetro y de 6 alveolos.

3.2.2 Almacén 2. El grano de maíz estaba almacenado en una bodega cerrada a granel, la capacidad almacenada era de 22 ton. La máxima altura que presentaba era de 1 m de altura por lo que se usó un calador de 1 m de longitud. Las extracciones realizadas en la intensidad de muestreo de cuatro puntos fueron dos del mismo punto y a la misma profundidad, para las intensidades de ocho y doce puntos las extracciones se realizaron a la misma profundidad. Se usó un calador de 1 m de longitud con dos alveolos.

3.2.3 Almacén3. El grano estaba almacenado en una bodega con un techo de dos aguas y sin paredes alrededor, la cantidad de grano almacenado era de 350 ton; la altura máxima del granel era de 4 m de altura. Las extracciones en la intensidad de muestreo de cuatro puntos se realizaron a dos profundidades 2 y 3 m, las extracciones en las intensidades de muestreo de ocho y doce puntos la profundidad de la cual se obtuvieron las muestras fue a 3 m. se usó un calador de 1.6 m de longitud de seis alveolos.

3.2.4 Almacén 4. Las condiciones de este almacene eran una bodega cerrada, delimitando o conteniendo el grano con tablas de madera, la capacidad almacenada era de 400 ton. La altura máxima que presentaba el granel era de 4 m de altura. La extracciones realizadas en la intensidad de muestreo de cuatro puntos fueron a 2 y 3 m de profundidad, las extracciones en las intensidades de muestreo se realizaron a 3 m en cada punto.

3.2.5 Productores cooperantes del Estado de México y Tenampulco, Puebla. Las muestras de maíz obtenidas de los productores cooperantes se obtuvieron de tres diferentes muestreo: el primero fue mazorcas de productores del Ejido Santa Juana del Municipio de Almoloya de Juárez, donde las tenían almacenadas en contenedores de mallas al aire libre.

El muestreo fue al azar de diferentes puntos del contenedor siendo una mazorca una muestra primaria, el número promedio de mazorcas obtenidas por productor fue de 15 mazorcar.

El segundo muestreo fue de los productores cooperantes de la empresa ASPROS, la cual nos proporcionó granos de tres diferentes productores presumiblemente de muestras compuestas, así como cuatro materiales que la em-

presa produjo, en este caso no sabemos el dato de cómo se realizó el muestro, por lo que no se describe como fueron obtenidas las muestras (Cuadro 2).

El tercer muestreo fue realizado en el área Tenampulco Puebla, donde se realizó un muestro en campo al azar de mazorcas de maíz de lotes experimentales los cuales se describen en el Cuadro 3 y donde los materiales fueron estratificados tomando como referencia la distancia entre parcelas experimentales.

3.2.6 Obtención de muestras compuestas. Las muestras primarias obtenidas de los almacenes a diferentes intensidades fueron homogenizadas en el mismo almacén, ya que estas conforme se iban extrayendo se colocaban en un costal limpio e identificado, mezclando perfectamente para obtener una muestra de compuesta de 2 kg, las cuales fueron envasadas en bolsas de polietileno con cierre hermético conservadas a temperatura ambiente que oscilaban de 8 a 10°C en el Sitio Experimental Metepec , y las que a su arribo al laboratorio fueron conservadas a una temperatura de refrigeración de 4°C , hasta su procesamiento. El número de muestras obtenidas fueron tres por almacén, ya que cada muestra es representativa de una intensidad de muestreo realizado.

En el caso de las mazorcas de productores cooperantes del Estado de México, fueron desgranadas en el Laboratorio de Geomatica del INIFAP del Sitio Experimental Metepec, donde los granos se homogenizaron manualmente y redujeron aproximadamente a 2 kg.

Las muestras proporcionas por la empresa Aspros tenían el peso de 2 kg por lo que no tuvimos que realizar ninguna otra actividad en relación a estos materiales, ya que tenían el peso de las muestras compuestas que requeríamos.

Las muestras del Tenampulco, Puebla, eran pequeñas por lo que aquí al igual que las muestras de Aspros no realizamos ninguna otra actividad de reducción o mezcla, sino hasta la segunda etapa.

Además de la obtención de las muestras se registraron los datos siguientes datos: Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), Humedad Relativa (%HR), Metros Sobre el Nivel del Mar (MSNM) y coordenadas con la ayuda de un Sistema de Geo Posicionamiento (GPS) de cada lugar muestreado en el Estado de México descrito en el Cuadro 4 y en el caso de los datos de las muestras de Tenampulco, Puebla se describen en el Cuadro 3, donde los datos fueron proporcionados por el productor cooperante.

Cuadro 2. Descripción de las muestras compuestas de grano de maíz obtenidas del Estado de México. Ciclo P-V 2014.

| Identificación de la muestra de trabajo | Almacén o Lugar de Muestreo | Genotipo |
|---|-----------------------------|-----------------------------|
| Almacén 1 intensidad 12 | Troje | Hibrido blanco |
| Almacén 1 intensidad 8 | Troje | Hibrido blanco |
| Almacén 1 intensidad 4 | Troje | Hibrido blanco |
| Almacén 2 intensidad 12 | Villa victoria | Amarillo Palmera |
| Almacén 2 intensidad 8 | Villa victoria | Amarillo Palmera |
| Almacén 2 intensidad 4 | Villa victoria | Amarillo Palmera |
| Almacén 3 intensidad 12 | Atlacomulco | Hibrido blanco |
| Almacén 3 intensidad 8 | Atlacomulco | Hibrido blanco |
| Almacén 3 intensidad 4 | Atlacomulco | Hibrido blanco |
| Almacén 4 intensidad 12 | Metepec | Hibrido blanco |
| Almacén 4 intensidad 8 | Metepec | Hibrido blanco |
| Almacén 4 intensidad 4 | Metepec | Hibrido blanco |
| 5.1 | Almoloya de Juárez | Amarillo-Criollo |
| 5.2 | Almoloya de Juárez | Amarillo-Criollo |
| 5.3 | Almoloya de Juárez | Amarillo-Criollo |
| 5.4 | Almoloya de Juárez | Negro-Criollo |
| 5.5 | Almoloya de Juárez | Hibrido-blanco |
| 5.6 | Almoloya de Juárez | Hibrido-blanco |
| 5.7 | Almoloya de Juárez | Hibrido-blanco |
| 6.1 | Calimaya-aspros | Hibrido blanco "gladiador" |
| 6.2 | Calimaya-aspros | Hibrido blanco "722" |
| 6.3 | Calimaya-aspros | Hibrido azul |
| 6.4 | Calimaya-aspros | Hibrido blanco biogen 1834w |
| 6.5 | Calimaya-aspros | Hibrido blanco 722 |
| 6.6 | Calimaya-aspros | Hibrido blanco 722 |
| 6.7 | Calimaya-aspros | Hibrido blanco "gladiador" |

Cuadro 3. Identificación de las muestras compuestas de granos de maíz obtenidas de lotes experimentales de Tenampulco, Puebla. Ciclo P-V 2013

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

3.3 Segunda etapa. Pruebas de Laboratorio

Las muestras compuestas de grano de maíz procedente de los almacenes y los productores cooperantes del Estado de México y Tenampulco, Puebla, fueron procesadas tres veces en un homogeneizador tipo Boerner, para la obtención de la muestra de trabajo.

Las determinaciones y pruebas que se realizaron en las muestras de trabajo fueron las siguientes:

3.3.1 Contenido de Humedad. Se llevó a peso constante un recipiente de aluminio de ocho centímetros de diámetro, posteriormente pesamos el recipiente con tapa y agregamos de 15 g de muestra uniformemente distribuidos, se registró el peso, y se colocó el recipiente con la muestra en un horno de secado (marca) a una temperatura de 103°C por 17 horas, transcurrido el tiempo se procedió a sacar la muestra y colocar en un desecador para que se enfriara por 30 minutos, registramos el peso del recipiente con la muestra seca, se realizaron tres repeticiones por muestra.

3.3.2 Análisis físico. De la muestra de trabajo se obtuvieron tres repeticiones de 100 gramos para realizar el análisis físico bajo esteromicroscopio. Se determinaron 9 componentes en este análisis (Cuadro 8, Anexos)

3.3.3 Determinación de la micobiota en grano de maíz. Para la determinación de la micobiota se realizó el ensayo de la prueba de papel secante y congelación (Warham E.J., Butler L.D. y B.C. Sutton. 1999), que consiste en desinfectar previamente con hipoclorito de sodio comercial al 10%, 200 granos de maíz. Después en una caja de plástico, se colocaron asépticamente dos capas de papel filtro estéril humedecido en las que se distribuyeron 50 granos de maíz equidistantemente. Se incubaron a una temperatura de 25°C por 48 hrs con 12 hrs luz y 12 hrs. oscuridad, Seguido de un periodo de congelación a una temperatura de -18°C por 24 hrs. Transcurrido el tiempo de congelación se sa-

caron las cajas y se colocaron en una incubadora a 25 °C durante un periodo de 11 días, se realizaron cuatro repeticiones por muestra de maíz.

Las colonias de hongos fitopatógenos que crecieron en la prueba de papel secante y congelación fueron observadas bajo el estéreomicroscopio y microscopio compuesto cada grano individualmente.

Para la identificación de los diferentes géneros que se desarrollaron en los granos se usaron las claves taxonómicas de identificación de hongos especializadas (Barnett y Hunter, 1987, Burgess *et al.*, 1987, Pitt, 1996, Wharham *et al.*, 1999).

Los géneros de hongos fitopatógenos reportados como potencialmente productoras de micotoxinas, fueron identificados hasta especies.

Para el género *Fusarium.*, se usaron claves taxonómicas especializadas para la identificación de las especies (Burgess L.W., Liddell C.M., Summerell B.A. 1988.) en las que se enfatiza las siguientes características de identificación:

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

Los géneros de hongos fitopatógenos observados en la prueba se expresaron en número de géneros de hongos fitopatógenos, número de géneros de hongos potencialmente toxigenicos y porcentaje de incidencia de especies de hongos potencialmente toxígenicos, tomando como base al número de semillas infectadas por repetición.

Considerando los resultados de la incidencia en grano de especies de hongos toxígenicos, así como la importancia global de las micotoxinas que potencialmente producen, se decidió realizar la detección de fumonisinas totales, aflatoxina B1 y deoxinivalenol (DON).

3.3.4 Extracción y cuantificación de micotoxinas por el método de Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA). La cuantificación de micotoxinas se realizó con el kit AgraQuan® Total Fumonisin Assay 0.25/5.0, que es un ensayo directo ligado a enzimas competitivas de inmunoabsorción

3.3.4.1 Preparación y extracción de la muestra. Se molió el grano de maíz en una licuadora Oster, tamizó (malla número 20) y se homogenizó. De la muestra se obtuvieron 20 g que se mezclaron con 100 ml de metanol al 70% (solución extractora). Dicha mezcla, se agitó por tres minutos, sedimentó y realizó una extracción al vacío, con filtro whatman #1. Al extracto obtenido se le midió el pH y no hubo necesidad de ajustarlo ya que todas las muestras se encontraban dentro del rango sugerido por el fabricante que es de pH 6-8, posteriormente con una micropipeta de 1000 µl, agregamos 950 µl de agua destilada y 50 µl del extracto en un tubo eppendorf y la muestra estaba lista para su análisis.

3.3.4.2 Ensayo

1. Se dispusieron 42 pocillos de dilución (borde verde) correspondiendo cinco para los estándares (0, 0.25, 1.0, 2.5 y 5.0ppm) y 37 para las muestras de maíz y en otro soporte colocamos el mismo número de micropocillo recubiertos de anticuerpo.

2. Medimos el conjugado enzimático (~ 240 μ l / pocillo o 2 ml / tira) y colocamos en un recipiente.
3. Usando una pipeta de 8 canales, agregamos 200 μ l de conjugado en cada pocillo con borde verde y posteriormente con una micropipeta de 100 μ l, agregamos 100 μ l del extracto ya diluido y de los estándares en cada pocillo previamente identificado, usando puntillas nuevas en cada muestra y estándar y con una pipeta de ocho canales mezclamos perfectamente y cuidadosamente cada tira de pocillos hacia arriba y hacia abajo 3 veces y transferimos de inmediato 100 μ L de los contenidos de cada dilución en los pocillos con anticuerpo.
4. Incubamos a temperatura ambiente durante 10 minutos.
5. Vaciamos el contenido de las tiras en un contenedor de residuos, lavamos llenando cada pocillo con agua destilada o desionizada, y luego volcamos el agua de las tiras haciéndolo cuatro veces y retiramos el exceso de agua residual del lavado.
6. Medimos cuatro ml del sustrato de la botella con tapa azul (~ 120 μ l / pocillo o 1 ml / tira) y dispensamos en un recipiente separado, pipeteamos 100 μ L del sustrato para cada pocillo con una pipeta de ocho pocillos.
7. Incubamos a temperatura ambiente durante 5 minutos.

Posteriormente medimos cuatro mililitros de la solución de parada (~ 120 μ l / pocillo o 1 ml / tira) y con la pipeta de 8 pocillo, agregamos 100 μ L de la solución en cada micropocillo. El color cambio de azul a amarillo. Las tiras fueron leídas en un lector de microplacas (Awareness

Stat Fax 2100) ubicado en el Laboratorio del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, usando un filtro de 450 nm con un filtro diferencial de 630 nm. La lectura de la reacción puede percibirse visualmente en la que la intensidad del color es inversamente proporcional a la concentración de la micotoxinas en la muestra o estándar.

Las lecturas obtenidas consistieron de datos de absorbancia que fueron convertidos a partes por millón a con la fórmula de Log/logit a partes por millón..

Se siguió el mismo protocolo para la extracción de la muestra para la cuantificación de Aflatoxina B1 donde la solución extractora fue metanol al 70%, y para la extracción de la muestra para cuantificar Deoxinivalenol "DON" fue agua destilada., además de que en el ensayo para la cuantificación de Deoxinivalenol se usó un buffer para el lavado de los pocillos, los demás pasos fueron los mismos.

3.4 Análisis estadístico

Los resultados de la prueba de papel secante y congelación, en relación a la incidencia de hongos fitopatógenos potencialmente tóxicos en los almacenes, se usó un diseño estadístico completamente al azar con arreglo factorial 4x3x4 con cuatro repeticiones utilizando el siguiente modelo:

Factor A= Almacén Factor B= Intensidad Factor C= Especies toxígenos

$$Y_{ijk\ell} = \mu + \alpha_j + \beta_k + \delta_\ell + (\alpha\beta)_{jk} + (\alpha\delta)_{j\ell} + (\beta\delta)_{k\ell} + (\alpha\beta\delta)_{jk\ell} + \varepsilon_{ijk\ell}$$

En donde $Y_{ijk\ell}$ = efecto o variable de respuesta para el i -ésimo sujeto bajo la combinación del j -ésimo valor del factor α , el k -ésimo valor del factor β y el ℓ -ésimo valor del factor δ .

μ = Media común a todos los datos del experimento.

α_j = Efecto o impacto de j nivel de la variable de factor A.

β_k = Efecto del k valor de la variable de factor B.

δ_ℓ = Efecto del ℓ valor de la variable del factor C

$(\alpha\beta)_{jk}$ = Efecto de la interacción entre el j valor de A y el k valor de B.

$(\alpha\delta)_{j\ell}$ = Efecto de la interacción entre el j valor de A y el ℓ valor de C.

..... $(\beta\delta)_{k\ell}$ = Efecto de la interacción entre el k valor de B y el ℓ valor de C

$\varepsilon_{ijk\ell}$ = Error experimental, variable aleatoria a la que se asume distribución normal.

En el caso del análisis estadístico de los datos obtenidos en la prueba de papel secante y congelación para número de géneros de hongos fitopatógenos incidentes se aplicó un diseño completamente al azar con dos factores y cuatro repeticiones, para la determinación de contenido de humedad, cuantificación de

micotoxinas “Fumonisinias totales, Aflatoxina B1, Deoxinivalenol (DON), tanto en almacenes como en las muestras de los productores cooperantes el diseño estadístico fue un completamente al azar con dos factores con tres repeticiones donde el modelo usado fue el siguiente:

Factor A= Almacén Factor B= Intensidad

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_j + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

En donde Y_{ijkl} = efecto o variable de respuesta para el i -ésimo sujeto bajo la combinación del j -ésimo valor del factor α , el k -ésimo valor del factor β .

μ = Media común a todos los datos del experimento.

α_j = Efecto o impacto de j nivel de la variable de factor A.

β_k = Efecto del k valor de la variable de factor B.

$(\alpha\beta)_{jk}$ = Efecto de la interacción entre el i valor de A y el k valor de B.

ε_{ijkl} = Error experimental, variable aleatoria a la que se asume distribución norma.

3.4.1 Conversión de los datos. Antes de analizar los datos representados en porcentajes fueron transformados a *arcoseno* \sqrt{x} transformación angular. Esta transformación es aplicable a datos binomiales expresados como porcen-

tajes y por regla tienen una distribución binomial y no una distribución normal ()
para lo cual la conversión del dato se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{arcoseno } \sqrt{x/100}$$

En donde X = datos expresados en porcentajes

100= constante

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos de las pruebas de laboratorio a las cuales fueron sometidas las muestras indicaron alta incidencia de *Aspergillus* spp, *Fusarium verticillioides* y *Fusarium graminearum* que son hongos fitopatógenos potencialmente tóxicos, así también se detectaron las micotoxinas Fumonisinás y Deoxinivalenol, sin embargo la detección de Aflatoxina B1 fue nula.

4.1 Almacenes del Estado de México

Los datos obtenidos en el análisis de varianza y comparación de media indican que para el contenido de humedad existen diferencias altamente significativas ($P=0.0001$) en los factores evaluados, donde el almacén 4 con 12.5% de humedad fue el mayor y el almacén 1 con 10.36% el menor y la intensidad de muestreo de 12 puntos es diferente en relación a las de 4 y 8 puntos, lo que quiere decir que entre más puntos de muestreos se realizan es más sensible la determinación del contenido de humedad (Cuadro 7, Anexo). El contenido de humedad de las muestras se encuentra por debajo del 13% de humedad recomendado para el almacenamiento de granos de maíz (Moreno y Benavides,

1987 y FAO, 2007). En relación al análisis físico el almacén 1 presentó un 7.87% y el almacén 4 un 0.78% de los componentes analizados donde el porcentaje de granos podridos y quebrados fueron los que presentaron mayor incidencia (Cuadro 4).

Cuadro 4. Comparación de medias de las variables evaluadas en las muestras de maíz de los almacenes del Estado de México.

| Factores | CH (%) | NGH | FUM (ppm) | DON (ppm) | AFB1 |
|-------------------|-------------------|------------|----------------------|----------------------|-------------|
| Almacén | | | | | 0 |
| 1 | 10.36 a | 3.25 a | 2.665 a | 2.67 a | 0 |
| 2 | 11.35 b | 2.66 a | 0.284 b | 0.64 d | 0 |
| 3 | 11.56 c | 2.83 a | 0.231 c | 1.21 b | 0 |
| 4 | 12.5 d | 3.58 a | 0.106 d | 0.75 c | 0 |
| DMS | 1 | 1.24 | 0.009 | 0.079 | 0 |
| | | | | | 0 |
| Intensidad | | | | | |
| 4 | 11.3 b | 2.625 b | 0.767 b | 1.352 a | 0 |
| 8 | 11.4 b | 2.9375 ab | 0.766 b | 1.407 a | 0 |
| 12 | 11.2 a | 3.6875 a | 0.931 a | 1.204 b | 0 |
| DMS | 0.09 | 0.9822 | 0.0071 | 0.0624 | 0 |

Tukey 5%. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. CH= Contenido de Humedad, NGH= Numero de Géneros de Hongos, , FUM= Fumonisinias, DON= Deoxinivalenol, AFB1= Aflatoxina B1, ppm= partes por millón.

En los resultados de la prueba de papel secante y congelación para el número de géneros de hongos fitopatógenos incidentes en las muestras se realizó análisis de varianza y comparación de medias con Tukey con un nivel de

significancia de ($P=0.05$) donde nos indican que existe diferencia significativa entre el número de géneros identificados ($P=0.0967$) (Figura 16).

En el análisis para determinar las especies del genero *Fusarium* se observaron dos tipos de cepas que correspondieron a *Fusarium verticillioides* y *Fusarium graminearum*.

En el caso de *Fusarium verticillioides* se observaron características morfológicas macro y microscópicas que consistieron en: más de 2.0 cm de crecimiento de la colonia en PDA después de tres días de incubación a 25°C, se observaron microconidias en formada de largas cadenas y falsas cabezuelas, además del color del micelio aéreo blanco floccoso y el color del hongo al reverso del PDA de color violeta a morado oscuro (Figura 15). y con respecto a *Fusarium graminearum* el crecimiento que presento esta especie en PDA después de la incubación fue mayor a 2 cm, donde se observaron esporadiquitos color naranja o y macroconidias con forma de canoa y la célula basal en forma de pie y la célula apical curva y además del color del micelio aéreo que fue una combinación de color naranja alrededor y rosado en el centro y al reverso del medio de cultivo el color de la colonia se observó de un color naranja (Figura 16), todas estas características morfológicas coinciden con lo descrito por Burgess *et al* (1987).y Wharham *et al.*, (1999), para la identificación de especies del genero *Fusarium*.

Los géneros que incidieron en la mayoría de las muestras fueron *Aspergillus* spp con un 84.5% en la muestra del almacén 4 intensidad 8, *Fusarium* spp con un 58.5% en la muestra del almacén 1 intensidad 8 y *Penicillium* spp con un 6% en la muestra del almacén 1 intensidad 4, y de los cuales se identificaron hongos fitopatógenos potencialmente toxígenicos. La microbiota que se identificó en los almacenes coinciden con lo reportado por De León (1984), como los principales géneros causantes de enfermedades en el maíz, donde los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* spp, son agentes causales de la pudrición de la mazorca y grano (De León 1994), y los hongos fitopatógenos potencialmente toxígenicos que se identificaron fueron *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum*, *Aspergillus* spp y *Penicillium* spp (Figura 15).

En el análisis de varianza y comparación de medias para la incidencia de especies de hongos fitopatógenos potencialmente toxígenas, se observó que existe diferencia altamente significativa ($P < 0.0001$), en el factor de hongos fitopatógenos potencialmente toxígenicos y la interacción con almacenes y diferencias significativas en los demás factores e interacciones. Lo que nos quiere decir que independientemente de la intensidad de muestreo, la incidencia de hongos fitopatógenos potencialmente toxígenicos por almacén es diferente entre almacenes y *Aspergillus* spp es el hongo con alta incidencia en la mayoría de las muestras de los almacenes, además de que el contenido de humedad en

relación a la incidencia de hongos fitopatógenos potencialmente toxígenicos tiene relación ya que el almacén 4 presenta el mayor contenido de humedad 12.27% y la mayor incidencia del hongo fitopatógenos potencialmente toxígenicos *Aspergillus* spp. (Cuadro 5).

Cuadro 5. Comparación de medias de Hongos Fitopatógenos Potencialmente Toxígenicos evaluados en las muestras de maíz de los almacenes del Estado de México.

| Factores | Hongos Fitopatógenos Potencialmente Toxígenicos (%) |
|--|---|
| Almacén | |
| 1 | 1.231 a |
| 2 | 1.216 ab |
| 3 | 1.135 ab |
| 4 | 1.573 b |
| DMS | 0.084 |
| Intensidad | |
| 4 | 1.194 a |
| 8 | 1.186 a |
| 12 | 1.174 a |
| DMS | 0.0663 |
| Hongos Fitopatógenos Potencialmente Toxígenicos | |
| <i>Aspergillus</i> spp | 0.78948 d |
| <i>Penicillium</i> spp | 1.44344 a |
| <i>Fusarium verticillioides</i> | 1.17877 c |
| <i>Fusarium graminearum</i> | 1.3289 b |
| DMS | 0.084 |

Tukey 5%. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. HFPT= Hongos Fitopatógenos Potencialmente Toxígenicos,

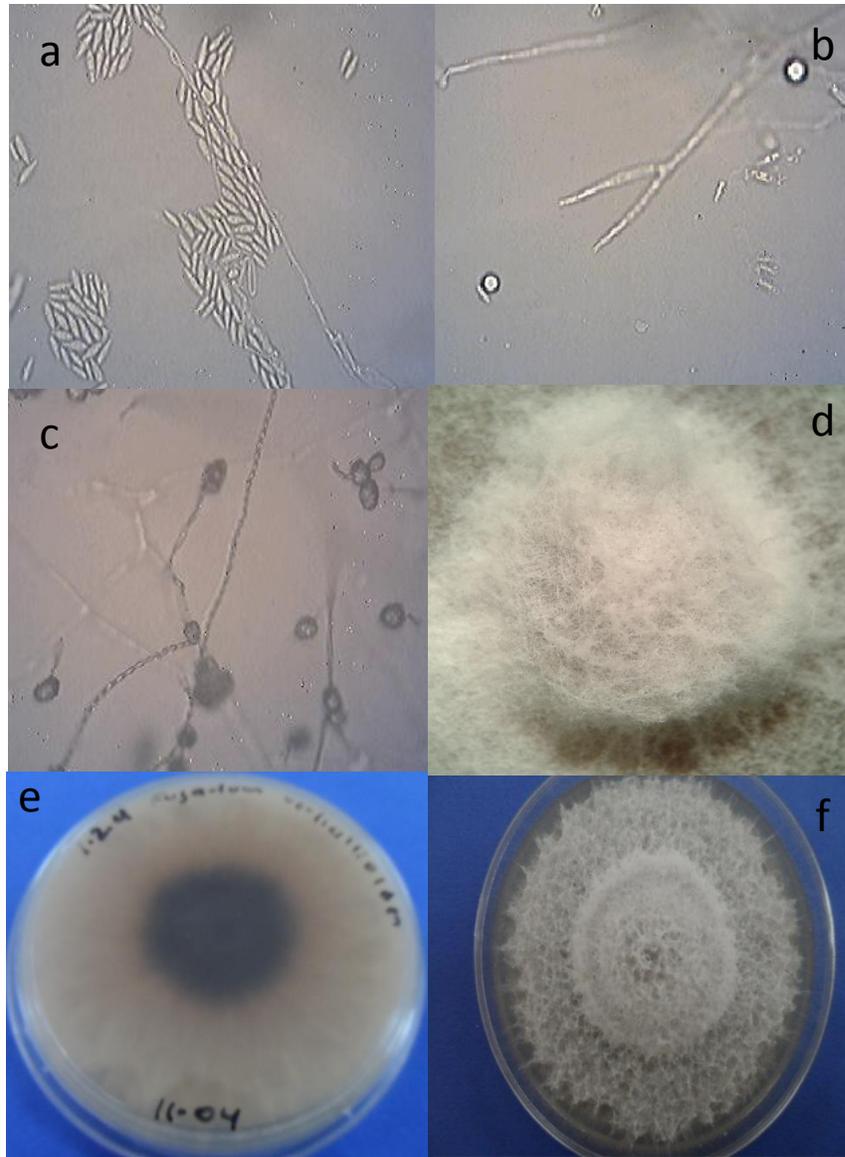


Figura 13. *Fusarium verticillioides*. Características morfológicas usadas para su identificación. a. Microconidios, b. Célula conidiogena, c. Largas cadenas y falsas cabezuelas, d. crecimiento en el grano, e. Color de la colonia en PDA, f. Crecimiento en PDA.

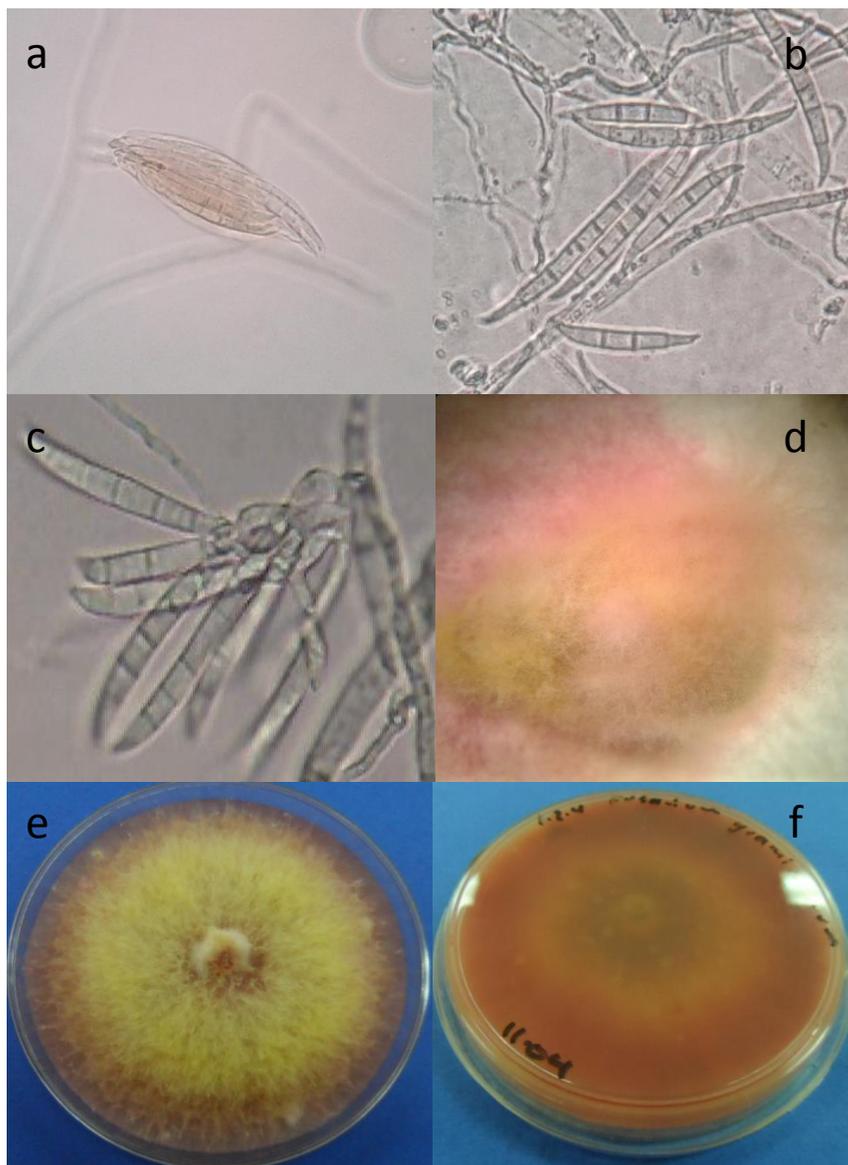


Figura 14. *Fusarium graminearum*. a. Esporoquio, b. Macroconidias, c. Conidioforo y macroconidias, d. Crecimiento en grano de maíz, e. Crecimiento en PDA y f. Color de la colonia en PDA.

En base a estos resultados se cuantificaron las Fumonisinias Totales (FUM), Aflatoxina B1 (AFB1) y Deoxinivalenol (DON) obteniéndose los siguientes resultados.

En el ANOVA para las Fumonisinias se observaron diferencias altamente significativas ($P = < 0.0001$) para los factores almacén, intensidad de muestreo y la interacción almacén* intensidad de muestreo. Además con la prueba de Tukey $\alpha = 0.05$ ni indica que la intensidad 12, se detectaron un mayor contenido promedio de Fumoninas y que el almacén 1 fue el más contaminado con 2.665 ppm y el almacén 4 menos contaminada con 0.1 ppm en promedio. La muestra del almacén 1.intencidad de muestreo 12 presentó el mayor contenido de fumonisinias con 2.876 ppm y la muestra del almacén 4 intensidad de muestreo 4 el menor contenido con 0.07 ppm (Cuadro 4).

Los niveles de contaminación con Fumonisinias de los almacenes 2, 3 y 4 se encuentran dentro de los límites máximos de tolerancia recomendados por la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos de Norteamérica que son 4 ppm para maíz entero o parcialmente molido y de 2 ppm en maíz no elaborado para la Unión Europea (Diario Oficial de la UE, 2006). El almacén 1 es el único se encuentra por arriba de dichos límites la legislación de la unión Europea pero por debajo de la FDA ya que se cuantificaron 2.66 ppm.

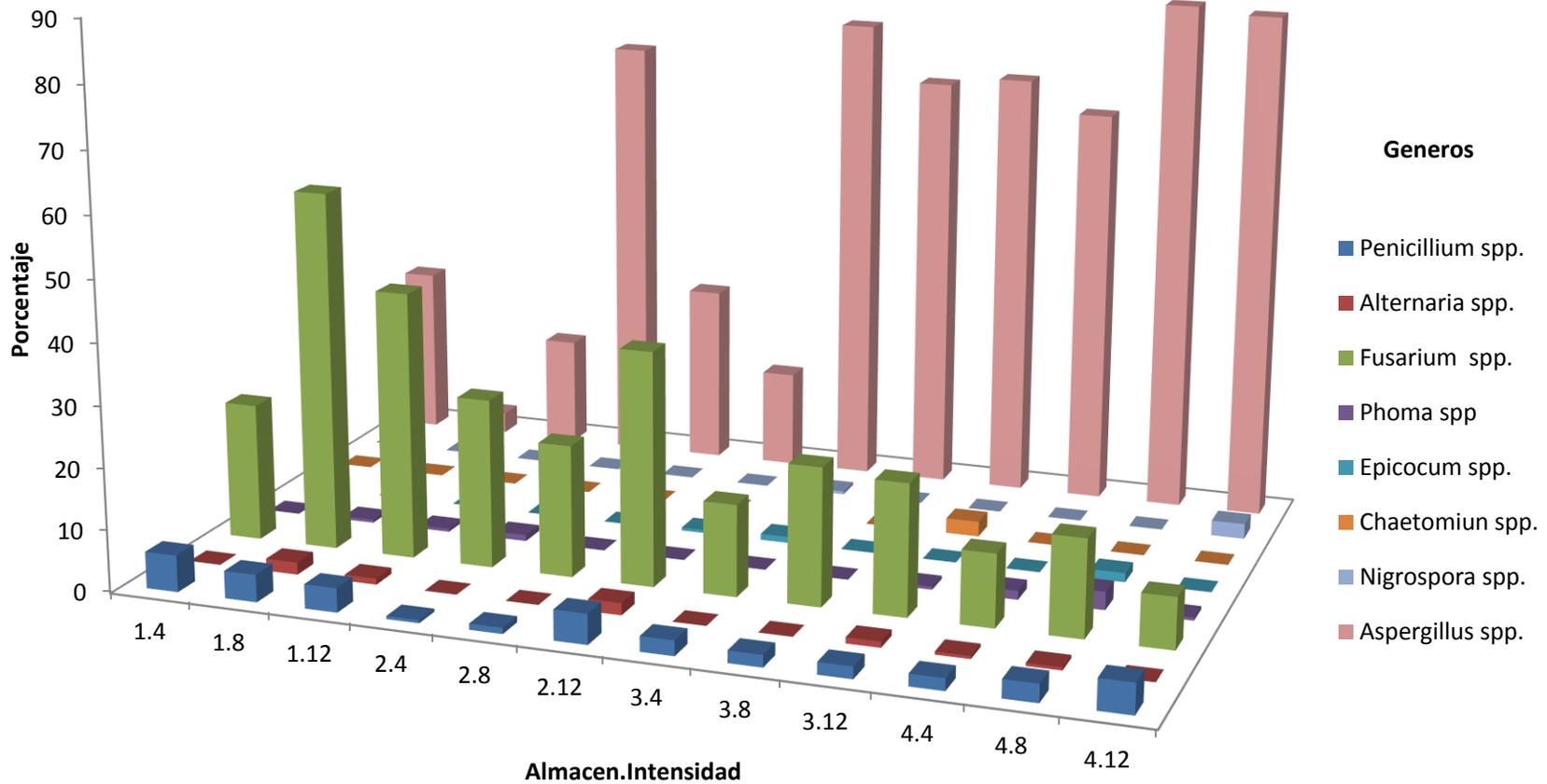


Figura 15. Biodiversidad de la micobiota detectada en el grano de maíz de diferentes almacenes del Estado de México de la cosecha PV-2014.

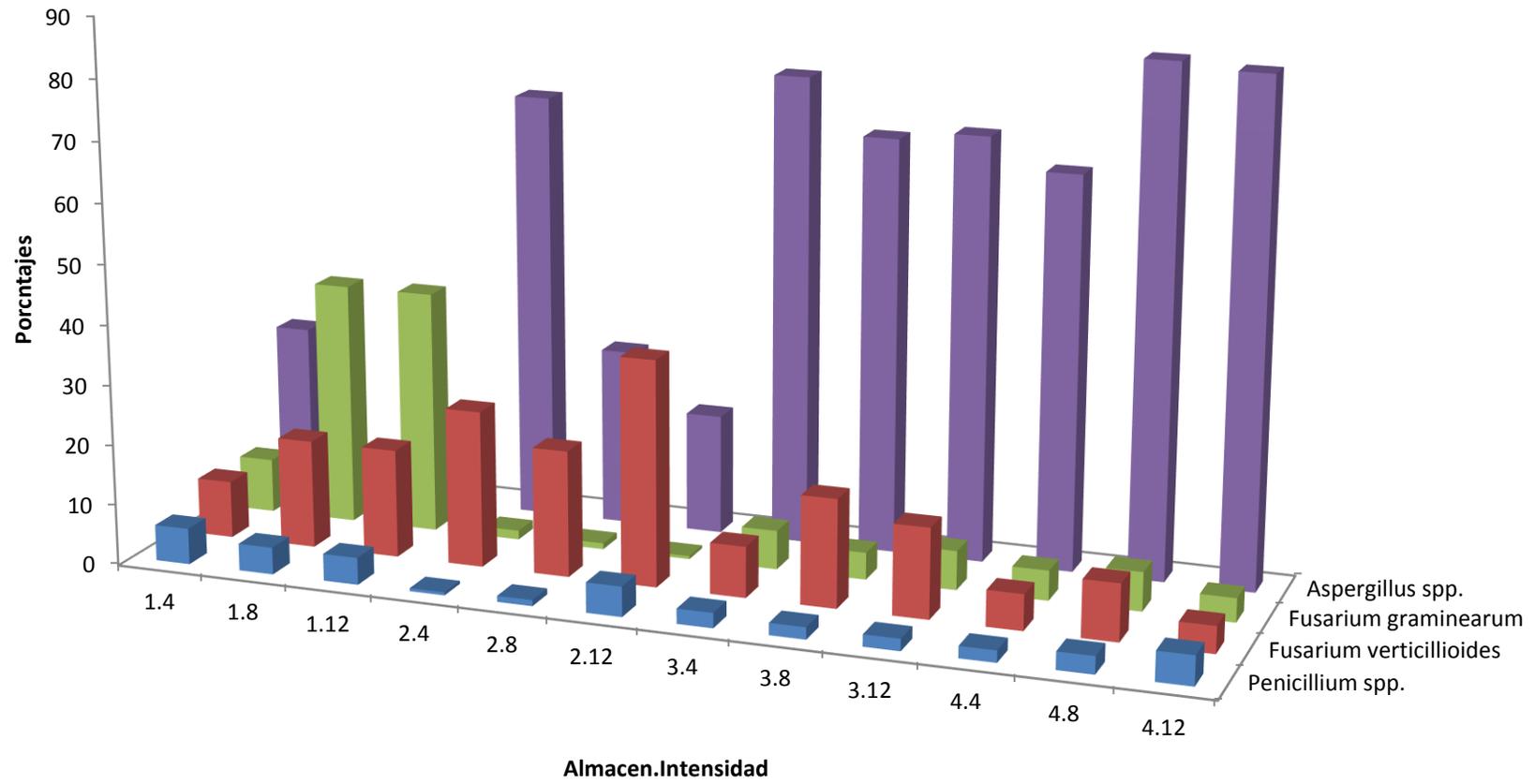


Figura 16. Porcentaje promedio de géneros y especies de hongos toxígenos identificados en las muestras de los almacenes por intensidad de muestreo en el Estado de México

No se detectaron niveles de contaminación para la micotoxinas AFB1 y para el contenido de DON se observaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.0001$) en el análisis de varianza y comparación de medias, en los tres factores evaluados, ya que existe diferencia en las intensidades de muestreo dentro de los almacenes y entre almacenes, donde el almacén 1 es el que tiene mayor contaminación y el almacén 2 el de menor contaminación en promedio (Figura 17)

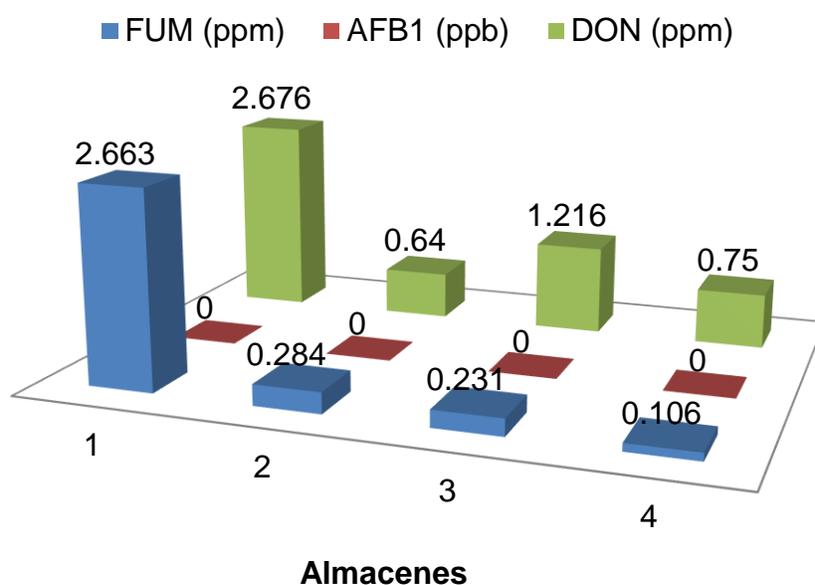


Figura 17. Promedio general de niveles de contaminación con micotoxinas en los almacenes del Estado de México.

Los niveles de detección de Deoxinivalenol cuantificados en las muestras de maíz de los almacenes 2 y 4 de 0.64, y 0.75l ppm respectivamente, se encuentran por debajo de los límites de tolerancia establecidos por la FDA que son 1ppm para producto que potencialmente puede ser consumido por humanos y 1.75 ppm de Deoxinivalenol para maíz no elaborado el almacén 3 con 1.216 ppm (Vincelli y Parker 2002), por lo que el grano de maíz analizado se considera inocuo para consumo pecuario.

4.2 Productores cooperantes del Estado de México

4.2.1 Ejido Santa Juana del municipio de Almoloya de Juárez. El contenido de humedad de las muestras de esta localidad de productores cooperantes fue significativo y los datos de comparación de media de Tukey con ($P=0.05$), nos indican que la muestra Amarillo criollo 3 tenía el menor contenido de humedad 9.91% y la muestra Híbrido blanco 1 la mayor con un 11.61%.

En el análisis físico, la muestra de Híbrido blanco 1 tiene un 5.4% de los componentes determinados, siendo esta la muestra con mayor contenido de granos dañados, donde al igual que en las muestras de los almacenes los granos podridos son los que tiene mayor porcentaje.

En el análisis de varianza y comparación de medias (Tukey $\alpha=0.05$) de la prueba de papel secante y congelación se pudo identificar diferencia entre el número de géneros identificados en las diferentes muestras (Cuadro 6) de las cuales las muestra Negro criollo se identificaron 5 géneros siendo la muestra con más número de géneros y la muestra Amarillo criollo 1 con dos , los géneros identificados en la mayoría de las muestras fueron *Fusarium*, *Aspergillus*, *Phoma*, *Penicillium*, *Chaetomiun*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Papulospora*, *Acremonium*, *Epicocum.spp* (Figura 18).

Cuadro 6. Comparación de medias de las muestra de los productores cooperantes del ejido de Santa Juana del municipio de Almoloya de Juárez del Estados de México.

| Muestra | CH (%) | NGH | FUM (ppm) | DON (ppm) | AFB1 |
|-------------------|-------------------|------------|----------------------|----------------------|-------------|
| Amarillo criollo1 | 10.9 d | 2.0 b | 0 d | 0.34 c | 0 |
| Amarillo criollo2 | 10.35 b | 3.5 ab | 0.10 b | 0.29 cd | 0 |
| Amarillo criollo3 | 9.91 a | 3.75 ab | 0 d | 1.27 a | 0 |
| Negro criollo | 10.9 c | 5.0 a | 0.33 a | 0.14 e | 0 |
| Hibrido blanco1 | 11.61 g | 4.5 a | 0.07 bc | 0.47 b | 0 |
| Hibrido blanco 2 | 11.37 f | 4.5 a | 0.03 cd | 0.27 d | 0 |
| Hibrido blanco3 | 11.61 g | 4.75 a | 0 d | 0.26 d | 0 |
| DMS | 0.055 | 0.5 | 0.11 | 0.05 | 0 |

Tukey 5%. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. CH= Contenido de Humedad, NGH= Numero de Géneros de Hongos, FUM= Fumonisinias, DON= Deoxinivalenol, AFB1= Aflatoxina B1, ppm= partes por millón.

Los hongos fitopatógenos potencialmente toxígenicos que se identificaron en estas muestras fueron *Aspergillus flavus*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum* y *Penicillium spp*, los cuales estadísticamente son altamente dife-

rentes con ($P < 0.0001$) del análisis de varianza y Tukey $\alpha = 0.05$, donde se detectó que el hongos fitopatógenos potencialmente toxígenicos fue *Aspergillus* spp con la mayor incidencia, seguido de *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum* y *Penicillium* spp. (Cuadro 7 y Figura 19).

Cuadro 7. Comparación de medias para la variable de hongos fitopatógenos potencialmente toxígenicos identificados en las muestras de maíz de los productores cooperantes del Ejido de Santa Juana de Almoloya de Juárez.

| Factores | Hongos Fitopatógenos Potencialmente Toxígenicos |
|--|--|
| Muestras | (%) |
| Amarillo criollo1 | 20 bc |
| Amarillo criollo2 | 26.26 c |
| Amarillo criollo3 | 6.75 a |
| Negro criollo | 22.12 bc |
| Hibrido blanco1 | 19 bc |
| Hibrido blanco 2 | 22.37 bc |
| Hibrido blanco3 | 14.62 ab |
| DMS | 0.1319 |
| Hongos Fitopatógenos Potencialmente Toxígenicos | |
| <i>Aspergillus</i> spp | 13.43 c |
| <i>Penicillium</i> spp | 0.92 a |
| <i>Fusarium verticillioides</i> | 10.5 b |
| <i>Fusarium graminearum</i> | 2.28 a |
| DMS | 0.865 |

Tukey 5%. Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes

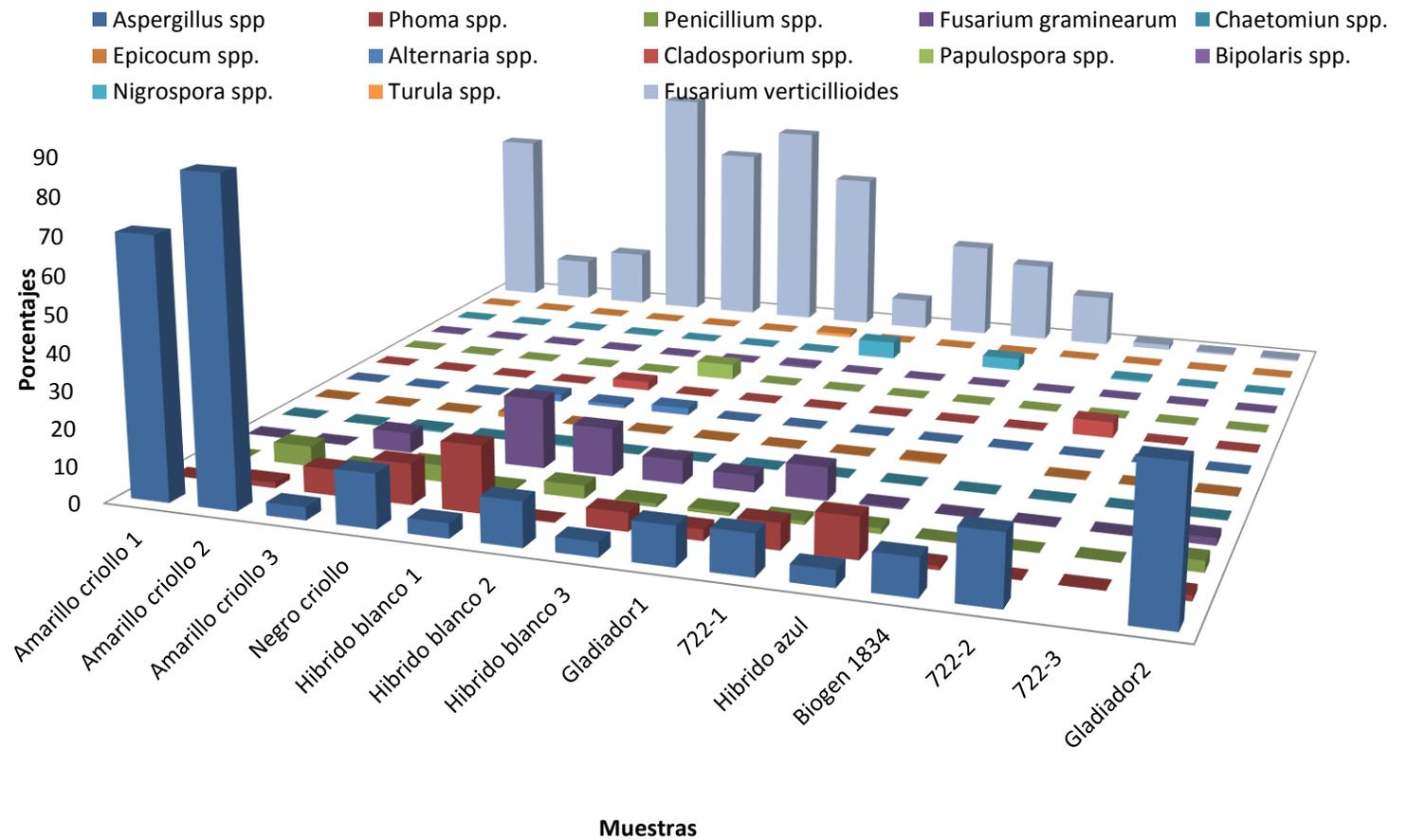


Figura 18. Micobiota detectada en las muestras de los productores cooperantes del Ejido Santa Juan de Almoloya de Juárez y empresa Aspros del Estado de México.

En el contenido de micotoxinas las muestras presentaron diferencia significativa ($P=0.05$), donde la muestra Negro criollo fue la que registro mayor contenido de fumonisinas y las muestras Amarillo criollo 1, Amarillo criollo 3 y Hibrido blanco 3 no tiene fumonisinas

Al igual que los almacenes aquí no se presentó contenido de AFB1 y en el caso del DON las muestras se encuentran por debajo de los límites máximos establecidos por la FDA y UE (2006).

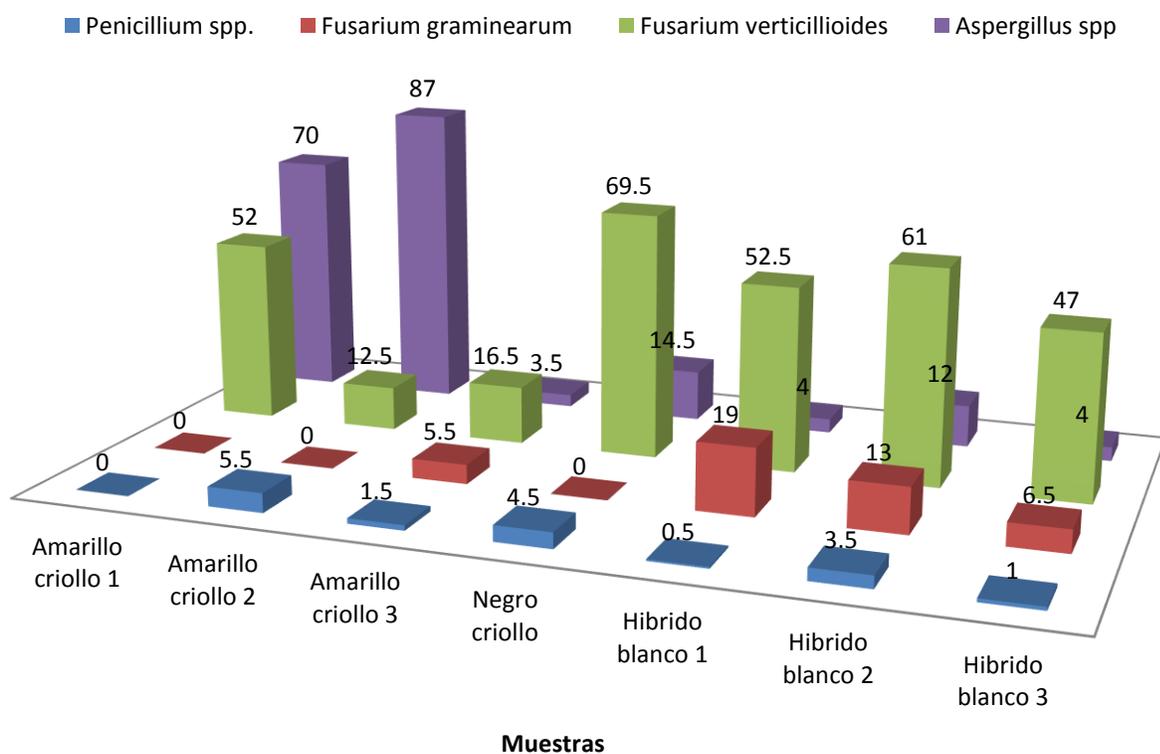


Figura 19. Hongos fitopatógenos potencialmente tóxicos identificados en las muestras de los productores cooperantes del Ejido santa Juana de Almoloya de Juárez del Estado de México.

4.2.2 Empresa ASPROS. El contenido de humedad de las muestras de esta localidad mediante el análisis de varianza y comparación de medias Tukey con un nivel de significancia $\alpha=0.05$, nos indica que existe diferencia significativa entre las muestras siendo la muestra Hibrido azul con 15.1%, la de mayor porcentaje de humedad y la muestra 722-3 con 10.4%, la de menor.

En el análisis físico la muestra con mayor porcentaje de granos dañados fue la muestra 6.3 con un 9.363% de granos dañados y la muestra Gladiador2 la menor con 1.627% de granos dañados.

En el número de géneros de hongos fitopatógenos identificados por muestra fue significativo con nivel ($P=0.05$), ya que en la muestra Gladiador1 se identificaron en promedio cuatro géneros en comparación con la muestra 722-3 donde se identificaron 0.25 géneros es decir solo un género, se tiene ese promedio porque se sacó de las cuatro repeticiones. El género que tiene incidencia en el mayor número de las muestras fue *Aspergillus* spp, pero en la muestra 722-3 solo se identificó la especie *Fusarium* spp. y con baja incidencia. (Cuadro 8, Figura 18)

Los resultados obtenidos en el ANVA y comparación de media Tukey nos indican diferencia significativa con ($P=0.05$) entre las muestras y además de

diferencia altamente significativa en relación a la incidencia de hongos fitopatógenos potencialmente toxígenos identificadas con un ($P < 0.0001$), siendo la especie *Aspergillus* spp las que más incide y tiene mayor porcentaje de incidencia presenta en las diferentes muestras, seguido de *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum* y *Penicillium* spp .en relación a la comparación entre muestras la muestra 722-3 , Gladiador1 son significativamente diferentes, puesto que en la muestra 722-3 solo se identificó la especie *Fusarium verticillioides*, y en las muestras Gladiador2 y Gladiador1 se identificó *Aspergillus* spp, *Fusarium verticillioides* , *Fusarium graminearum* con mayor porcentaje de incidencia.(Cuadro 9 y Figura 20).

Cuadro 8. Comparación de medias¹ de las variables analizadas de las muestras de los productores cooperantes ASPROS

| Muestra | CH (%) | NGH | FUM (ppm) | DON (ppm) | AFB1 |
|--------------|---------|--------|-----------|-----------|------|
| Gladiador 1 | 12.75 a | 4 a | 0.05 c | 0.42 b | 0 |
| 722-1 | 11.93 a | 3.5 a | 0 d | 0.87 a | 0 |
| Hibrido azul | 15.10 a | 3.5 a | 0.22 b | 0.19 de | 0 |
| Biogen 1834 | 13.39 a | 1.6 a | 0.31 a | 0.20 de | 0 |
| 722-2 | 10.58 a | 1.25 a | 0.22 b | 0.15 e | 0 |
| 722-3 | 10.40 a | 0.25 a | 0 d | 0.24 d | 0 |
| Gladiador 2 | 11.03 a | 2.5 a | 0.09 c | 0.33 c | 0 |
| DMS | 0.2103 | 3.27 a | 0.042 | 0.055 | 0 |

Tukey 5%. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. CH= Contenido de Humedad, NGH= Numero de Géneros de Hongos, , FUM= Fumonisin, DON= Deoxinivalenol, AFB1= Aflatoxina B1, ppm= partes por millón.

Cuadro 9. Comparación de medias de Hongos Fitopatógenos Potencialmente Toxígenos de las muestras de maíz de los productores cooperantes de la empresa ASPROS.

| Factores Muestra | Hongos Fitopatógenos Potencialmente Toxígenos (%) |
|--|--|
| Gladiador 1 | 6.25 bc |
| 722-1 | 12.25 d |
| Hibrido azul | 7.5 c |
| Biogen 1834 | 6.5 c |
| 722-2 | 5 b |
| 722-3 | 0.125 a |
| Gladiador 2 | 1.375 ab |
| DMS | 4.27 |
| Hongos Fitopatógenos Potencialmente Toxígenos | |
| <i>Aspergillus</i> spp | 13.42 b |
| <i>Penicillium</i> spp | 0.92 a |
| <i>Fusarium verticillioides</i> | 11.14 b |
| <i>Fusarium graminearum</i> | 2.28 a |
| DMS | 0.1248 |

Tukey 5%. Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes

En cuanto al contenido de micotoxinas, la detección de niveles de fumonisinas en estas muestras presenta diferencia altamente significativa con un nivel <0.0001 , donde la muestra Biogen 1834 con 0.31 ppm es la muestra con mayor contenido de fumonisinas en comparación con las muestras 722-1,722-3 donde no se detectó esta micotoxinas.

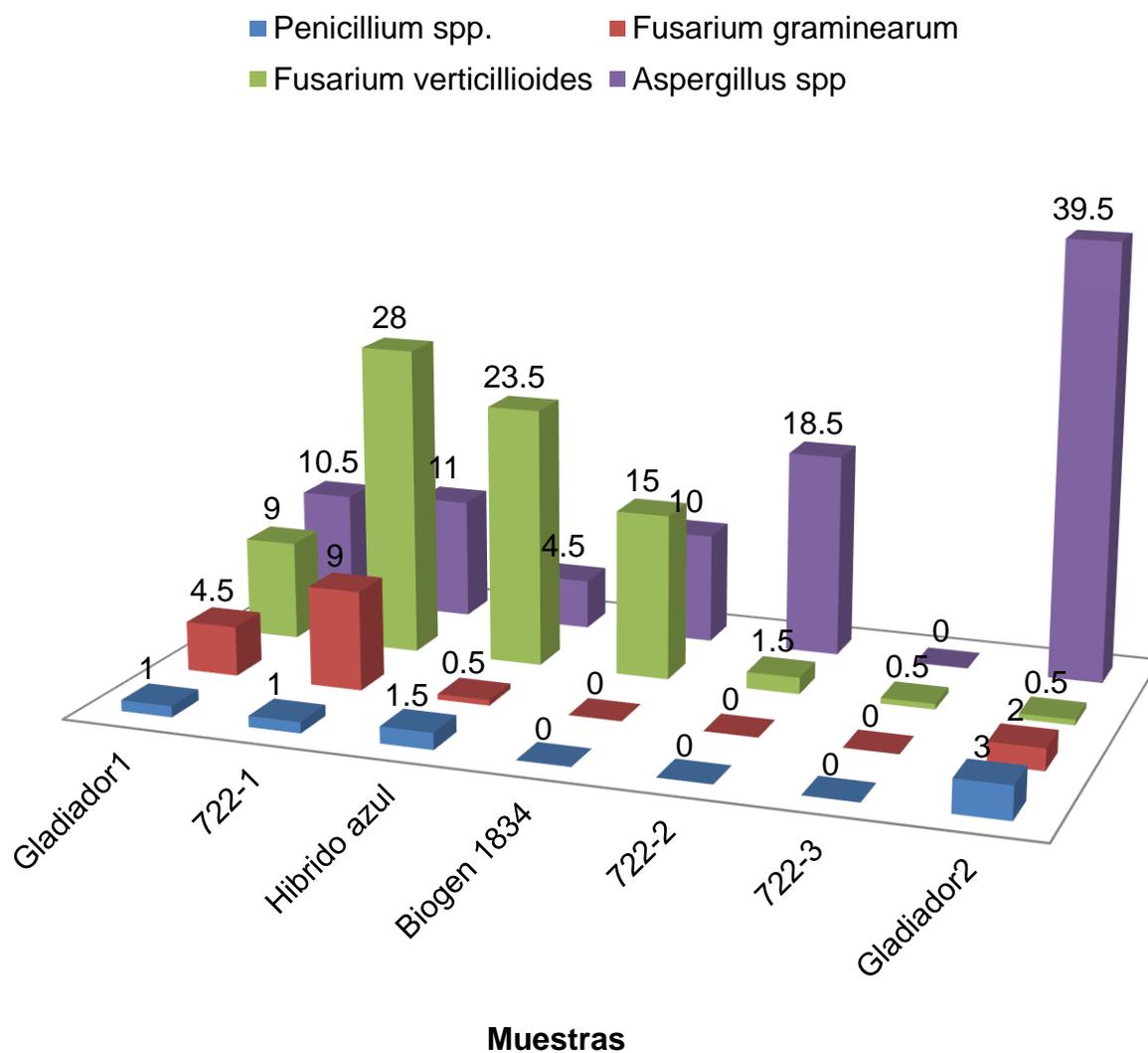


Figura 20. Hongos fitopatógenos potencialmente toxigenos identificados en las muestras de los productores cooperantes de la empresa ASPROS del Estado de México

No se detectaron niveles de AFB1 y en el contenido de DON existe diferencia altamente significativa ($P < 0.001$) entre las muestras de los productores de Aspros. Los niveles de contaminación con micotoxinas están por debajo de los límites establecidos. (Cuadro 8).

4.3 Productor cooperante de Tenampulco, Puebla.

En estas muestras las pruebas de laboratorio que se realizaron fueron: papel secante y congelación y cuantificación de Fumonisinias y son los resultados que se describen a continuación:

En la prueba de papel secante y congelación no se detectó diferencia estadística entre el número de géneros identificados, ya que en las muestras se observó en promedio el mismo número de géneros incidentes los cuales fueron: *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* y *Bipolares* spp. (Cuadro 10 y Figura 21).

Se realizó un análisis estadístico y comparación de medias para la variable especies de hongos toxígenicos donde se observó diferencia significativa de 0.0010 entre estratos y diferencia altamente significativa entre especies de hongos toxígenicos dentro de estrato con ($P < 0.0001$), donde la especie que tuvo mayor incidencia fue *Fusarium verticillioides*, por lo que con estos datos se decidió realizar el ensayo de cuantificación de Fumonisinias, ya que esta especie es potencialmente productora de esta toxina.

En cuanto al contenido de fumonisinias en la comparación de medias y el análisis de varianza se observó diferencia altamente significativa en el contenido de esta, ya que las muestra del Estrato 3 presentaron 4.17 ppm y en las

muestras del estrato 4, 0.22 ppm en promedio. Los niveles de Fumonisinias en promedio detectados en la localidad de tenampulco puebla es de 2.86 pmm lo que indica que esta muestras se encuentran por arriba de los límites máximos establecidos por la FDA y la UE, lo que nos indica que no son recomendados para el consumo humano, pero si para el consumo pecuario ya que de 5ppm es el mínimo límite establecido para esta población. Los niveles detectados de Fumonisinias en estas muestras se relaciona con lo mencionando por Soriano y Dragacci (2007), donde relacionan a los niveles de fumonisinias cuando la latitud decrece.

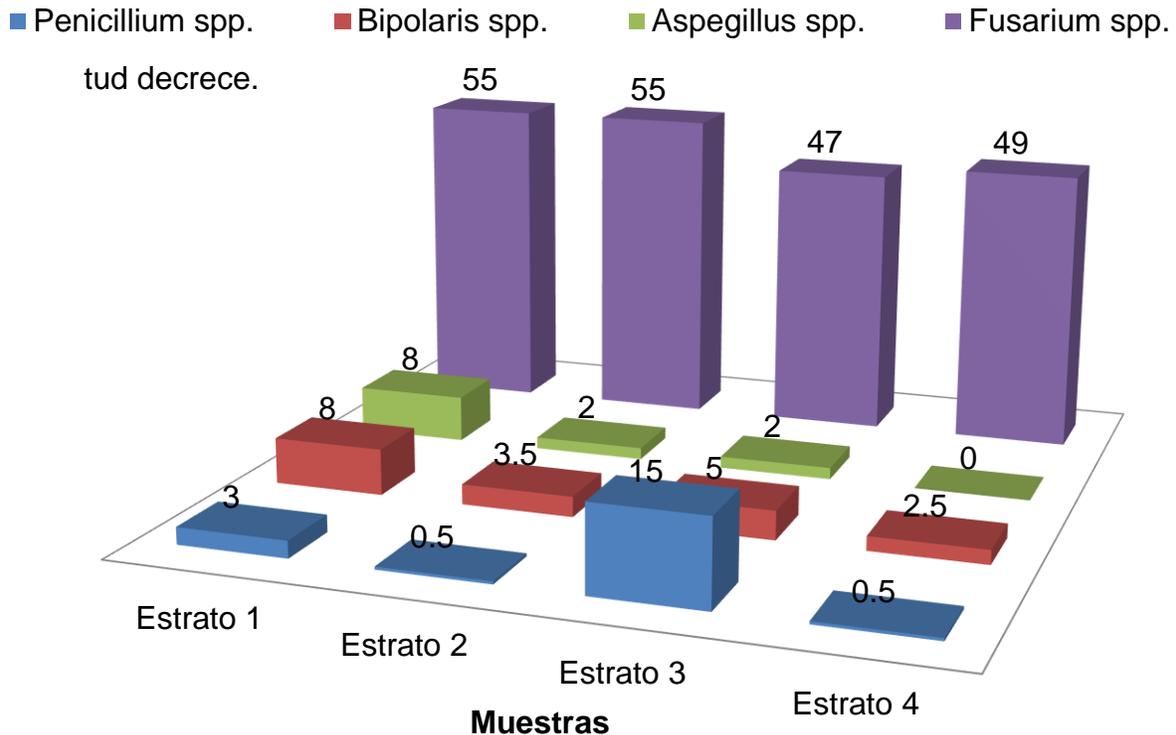


Figura 21. Micobiota identificada en las muestras de parcelas experimentales de Tenampulco, Puebla. PV 2013.

Cuadro 10. Comparación de medias¹ de las muestras de Tenampulco Puebla.

| Estrato | Incidencia FV (%) | FUM (ppm) |
|----------------|--------------------------|------------------|
| 3 | 45.83 a | 4.17 a |
| 4 | 49.34 a | 0.22 d |
| 1 | 56.36 a | 3.97 b |
| 2 | 60.6 a | 3.08 c |
| DMS | 10.2 | 0.0523 |

¹ Tukey 5%. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. FV= *Fusarium verticillioides*, FUM= Fumonisinias, ppm= partes por millón

Las condiciones de almacenamiento que presentaban las muestras de los almacenes se encuentran dentro de los recomendados por la FAO que es almacenar los granos de maíz por debajo de 13% de contenido de humedad y con una humedad relativa baja, donde las muestras oscilaban entre 9-13 %, y la humedad relativa de los lugares de los cuales se obtuvieron las muestras se encontraba alrededor de 60% en la mayoría de los casos, que según Moreno y Benavides (1987), estos son factores que influyen en el desarrollo de especies de hongos toxigenicos en almacén como lo son los identificados en todas las muestras analizadas que fueron *Aspergillus flavus*, *Fusarium graminearum* y *Fusarium verticillioides*, donde *A. flavus* se caracteriza por la producción de Aflatoxinas donde la Aflatoxina B1 es la más importantes por su potencial cancerígeno en humanos y animales y que en estas muestras no se detectaron.

En relación a las Aflatoxinas Bucio et al. (2001), realizó estudios sobre producción de Aflatoxinas en maíz in vitro donde determinó que las temperatu-

ras a los cuales son almacenados los granos afecta en el producción de la toxina. Que sería una explicación para la no detección de AFB1 en las muestras del estado de México ya que las temperaturas de los almacenes y de las localidades no fue más de 21°C, además de que las especies de *Aspergillus* se caracterizan por incidir en climas cálidos (Warham et a. 1999).

El contenido de FUM que presentaron las muestras de los almacenes y productores cooperantes del Estado de México y Tenampulco Puebla, está relacionado con la incidencia de *Fusarium verticillioides* reportado por García-Aguirre (2010), donde identifico a las especie *F. verticillioides* como una de las especies productoras de FUM en granos de maíz recién cosechado en la región de Ciudad Serdán, Puebla y en el estado de Nayarit por Robledo (2001) en maíz forrajero. Los niveles detectados en las muestras de los almacenes se encuentran dentro de los límites permisibles establecidos por la FDA para consumo humano que es 2- 4 ppm según el proceso que tenga el grano y 5-60 ppm para consumo pecuario y el límite máximo depende del animal que se vaya a alimentar.

Para el DON las especie productora de esta toxina identificada en las muestras del Estado de México tanto en los almacenes y productores cooperantes fue la especie *Fusarium graminearum* que presento baja incidencia pero se pudieron detectar niveles de esta micotoxinas. Vincelli y Parker (2002), aislaron

a esta especie en maíz y granos pequeños en granjas de Kentucky, causando pudrición de la mazorca y roña.

IV. CONCLUSIONES

Los géneros de hongos fitopatógenos potencialmente toxigénicos de mayor incidencia en los almacenes y lugares de acopio muestreados del Estado de México fueron *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp.

Se corrobora la incidencia de *Fusarium verticillioides* en agro ecosistemas de temperaturas tanto templadas como calientes en granos de maíz, así como la incidencia de *Fusarium graminearum* en grano de maíz procedente de climas templados

La intensidad de muestreo de 12 puntos es la más sensible para la cuantificación de las micotoxinas como el Deoxinivalenol y las Fumonisinias.

Los niveles de contaminación de Fumonisinias totales en el grano de maíz en estado de poscosecha en el área de Tenampulco fluctuaron alrededor de 2.86 ppm.

Los niveles de contaminación de Fumonisinas, Deoxinivalenol y Aflatoxinas B1 en el grano de maíz en estado de poscosecha en el área del Estado de México fluctuaron alrededor de 0.46 ppm, 0.38 y 0 ppm respectivamente

El contenido micotoxinas detectados en este estudio están muy cercanos al límite de tolerancia establecidos por instituciones internacionales relacionadas con la alimentación humana y animal por lo que son aptos para el consumo humano sometiéndolos previamente a tratamientos de industrialización que tengan la capacidad de disminuirlas y en el caso de consumo animal no se necesita tratamiento previo, por lo que el potencial micotoxigénico del grano de maíz en estado de poscosecha investigado se considera bajo.

V. LITERATURA CITADA

Abarca, M. L. 2000. Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. Revista Iberoamericana de Micología. 17: 79-84

Agrios, N. G. 2008. Fitopatología: Enfermedades por las plantas causadas por hongos. Editorial LIMUSA, S.A de C.V. México, D.F. pp:440-468

Anónimo. 2014. Aflatoxinas. Disponible en <http://www.food-info.net/es/tox/afla.htm>. Consultado 10 enero 2015.

Benítez E. M. 2003. Estudio de especies micotoxigenicas del genero *Penicillium*: *Penicillium verrucosum* Dierckx. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. pp: 15-18.

Benett, J.W. 1987. Mycotoxins, mycotoxicoses, mycotoxicology and micophatology. *Mycophatologia*. 100:3-5.

Betina, V. 1989. Mycotoxins. Chemical, biological and environmental aspects. Amsterdam, Elsiver. doi:10.1016/S0953-7562(96)80001-3

Burgess L. W., C.M. Liddell, B.A. Summerell. 1988. Laboratory manual for Fusarium Research. Second Edition. Fusarium Research Laboratory. Department of Plant Pathology and Agricultural Entomology. The University of Sydney. pp. 1-4.

Cabañes F. J., M. L. Abarca, M. R. Bragult, G. Castella. 2007. Micotoxinas en los alimentos: Especies productoras de micotoxinas. (Ed.: Soriano C. J. M.) Editorial Díaz de Santos. España. pp: 29-31.

Cameán A. M. yM. Repetto . 2012. Toxicología de alimentos: Micotoxinas. Ediciones Díaz de Santos. Albán, Madrid. pp: 289-293

Carrillo L. 2003. Los hongos de los alimentos y forrajes. Universidad Nacional de Salta. Buenos Aires, Argentina. pp. 70-80.

Chelkowi L. 1989. Fusarium Mycotoxins, Taxonomy and Pathogenicity. Department of Plant Pathology, Agricultural University, Nowoursynowska 166, 02 766 Warsaw, Poland. Elsevier Science Publishers B.V. 2: 487.

De la Torre-Hernández M.E., Sánchez-Rangel D., Galeana-Sánchez E., Plasencia-de la Parra . 2014 FUMONISINAS, SÍNTESIS Y FUNCIÓN EN LA INTERACCIÓN *Fusarium verticillioides*-MAÍZ. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 17(1):77-91.

De León C. 1984. Enfermedades del Maíz una guía para su identificación en el campo. Centro Internacional de mejoramiento de maíz y trigo internacional (CIMMYT) 3ra. Edición. México D.F. 114p.

Derache R y Derache Ph. 2005. Toxicología y seguridad de los alimentos: Toxicidad de los hongos. (Ed.: R. Derache). Edición omega, S.A. Plato, 26-08006 Barcelona. pp: 165-191.

De la Torre Hdz. M. E., R.D. Sánchez, Galeana S.E., Plasencia P. J. 2014. Fumonisin, Síntesis y función en la interacción *Fusarium verticillioides*-maíz. TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas. 17(1):77-91.

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 mayo 2015).

Elika.2013Fundación vasca para la seguridad agroalimentaria. Disponible en: http://www.elika.eus/datos/pdfs_agrupados/Documento111/22.Zearalenona.pdf (27 julio 2014)

FAO. 2007. Programa Especial para la Seguridad Alimentaria PESA “Técnicas de almacenamiento de granos en poscosecha”. Disponible en http://www.utn.org.mx/docs_pdf/docs_tecnicos/proyectos_tipo/Tecnicas_almacenamiento.pdf. (3 mayo 2015).

FAO. Manual sobre la aplicación del sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control en la prevención y control de las micotoxinas. Disponible en <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y1390S/y1390S00.pdf>.(2 enero 2015).

Figuroa-Gomez 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-CUCBA* 8(2):181-192.

Flores O. C.M., Hernández P. L. B., Vázquez M. J. 2006. Contaminación con micotoxinas en alimentos balanceados y granos de uso pecuario en México en el año 2003. *Tec Pecu Méx.* 44(2): 247-256.

Frisvad J.C.,J. Smedsgaard,T.O. Larsen, R. A. Samson. 2004. Mycotoxins, drugs and other extradites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. *Studies in Mycology* 49: 201–241.

Froque R., F. Arnold., P. Batina., M.D. Parent. 2003. Do trichothecenes reduce viability of circulating blood cells and modify haemostasis parameters. *Mycophatology* 156:349-356.

Gallego B. L. Ma. 2010. Micotoxinas. Disponible en: <http://www.analizacalidad.com/micotoxinas.htm> (12 enero 2015)

Y. Gao, Yang M., Peng C., Li X., Cai R., Qi Y.2011. Preparation of highly specific anti-zearalenone antibodies by using the cationic protein conjugate and development of an indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay. *Royal society of chemistry.* 137: 229-236. DOI 10.1039/C1AN154876

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.

González S.A. 2009. Diagnóstico y control de especies de *Aspergillus* productoras de Ocratoxina A. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. 181p.

Gimeno A. 2005. La Legislación de la Unión Europea y Tolerancias para algunas Micotoxinas en la Alimentación.

Gimeno A; Martins M.L. 2006. Mycotoxins and Mycotoxicosis in animal and humans. *Special Nutrients Inc. USA Eds.* 127p.

Hope R., y Magan N. 2003. Two-dimensional environmental profiles of growth, deoxynivalenol and nivalenol production by *Fusarium culmorum* on a wheat based substrate. *Lett. Appl. Microbiol.* 37: 70-74 pp.

International Agency for Research on Cancer (IARC). 2015. Disponible en: <http://www.iarc.fr>

Lara A.J. 2003. Métodos de determinación, identificación y control de micotoxinas en ingredientes para la nutrición animal. Asociación Mexicana de Nutrición Animal (AMENA).

Leslie J.F., B.A. Summerell, D.W. Brow, R.H. Proctor. 2013. *Fusarium* Genomic, Molecular and Cellular Biology "An Overview of *Fusarium*" by Caister Academic Press. Norfolk, UK. pp. 1-10.. Disponible en: [\(10 abril 2015\).](https://books.google.com.mx/books?id=3dAAAgAAQBAJ&pg=PA9&dq=seifert,+fusarium&hl=es&sa=X&ei=x2wnVZ7vE8S5sAWf0oHQCQ&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q=seifert%2C%20fusarium&f=false)

Leslie J. F., B. A. Summerell . 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Ed. Wiley-Blackwell. Disponible en

<http://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=Yu3cBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR3&dq=The+Fusarium+Laboratory+Manual&ots=3J0b8ITeXp&sig=HoBxe4t0H362emzuhFk56Vuc-Go#v=onepage&q=The%20Fusarium%20Laboratory%20Manual&f=false> (13 enero 2015).

Lindblad C. y Druben L. 1986. Almacenamiento de Grano. Editorial CONCEPTO S.A. Av. Cuahutemoc 1434. Mexico D.F. 330p.

Llanos L. J. 2002. Fusariosis. Disponible <http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/fusarium/fusarium.htm>. Consultado 10 de junio 2015

Lori G.A y I. Rizzo. 2007. Micotoxinas en alimentos "Deoxinivalenol".(Ed.: Soriano C. J. M). Ediciones Díaz de Santos. España. pp.269-288.

Marín S., Magan N., Ramos A.J., Canela R., Sanchis V. 2004. Fumonisin producing strains of *Fusarium*. A review of their ecophysiology. J. Food Prot. 67: 1792-1805.

Méndez A. A y E.M. Moreno. 2009. Las micotoxinas: Contaminantes naturales de los alimentos. Ciencia. 7p. Disponible en <http://revistaciencia.amc.edu.mx/online/619-Albores%20Micotoxinas.pdf> (24 de marzo 2014)

Moreno M. E y O.C. Benavides. 1988. Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados. 1ª Edición. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. pp. 17-24

Nmx-ff-034-1995. Productos alimenticios no industrializados. Cereales. Maíz (zea mays l.) Especificaciones y métodos de prueba. Disponible en: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-FF-034-1995.PDF> (7 diciembre 2014).

Norma Oficial Mexicana NOM-187-ssa1/scfi-2002. Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba.

Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002, Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias.

Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales.

Perrone, G., A. Susca, G. Cozzi, K. Ehrlich, J. Varga, J. C. Frisvad, M. Meijer, P. Noonim, W. Mahakarnchanakul, R.A. Samson. 2007. Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. *Studies in Micology*, 59: 53-66. doi:10.3114/sim.2007.59.07

Pitt J.I. 1996. What are mycotoxins? *Australian Mycotoxin Newsletter*; 7(4):1-8.

Riley R.T. y Norred W.P. 1999. Prevención y descontaminación de micotoxinas. Estudio monográfico: El maíz 1. Tercera conferencia internacional mixta. FAO/OMS/PNUMA sobre micotoxinas. Túnez, Túnez, 3-6 de marzo. Unidad de investigaciones sobre toxicología y micotoxinas, Departamento estadounidense de Agricultura/ Servicio de investigaciones Agrarias, Atenas, Georgia. 10p.

Robledo M. L., Marín S. y Ramos A.J. contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México). *Rev Iberoam Micol.* 18: 141-144.

Romero C. S. 1988. Hongos fitopatógenos. Primera edición en español. Universidad Autónoma Chapingo. 347p.

SAGARPA-SIAP. Situación actual del cultivo de maíz al 31 de enero 2015. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/agresumen-nacional-por-cultivo/> (8 abril 2015)

Samson R. A. y J. I. Pitt. 2000. Integration of Modern Taxonomic Methods For *Penicillium* and *Aspergillus*. Hadwoord academi publisher. Amsterdam. 501p. Disponible en <https://books.google.com.mx/books?id=3KJewsIL5vQC&pg=PA138&dq=Laboratory+Guide+to+Common+Penicillium+species&hl=es-419&sa=X&ei=y29UVdCzF4aQyQSY4oHwAQ&ved=0CDAQ6AEwAw#v=onepage&q=Laboratory%20Guide%20to%20Common%20Penicillium%20species&f=false> (10 agosto 2014).

Sanchis V., S. Marín y J.A. Ramos. 2000. Control de micotoxinas emergentes. Situación legislativa actual. Rev Iberoam Micol. 17: S69-S75

Sanchis V., S. Martín., A.J. Ramos. 2007. Micotoxinas en alimentos: Factores determinantes en la producción de micotoxinas. (Ed.: Soriano C. J.M). Ediciones Díaz de Santos. España. pp. 63-68.

Seifert K. 1996. Fuskey Fusarium Interactive Key. Product Development Unit (now Taxonomic Information Systems). Her Majesty the Queen in Right of Canada, Agriculture and Agri-Food Canada. Page <http://res.agr.ca/brd/fusarium/home1.html>.

Seifert K. 2001. *Fusarium* and anamorph generic concepts In: *Fusarium*. Summerrell BA et al., eds. APS Press. St. Paul, Minnesota. pp: 15-28.

Soriano J.M y Dragacci. 2007. Micotoxinas en alimentos: Fumonisin. (Ed.: Soriano C. J. M.) Ediciones Díaz de Santos. España. pp. 223-234.

Summerrell B.A,B. Salleh, J.F. Leslie . Species Concepts in *Fusarium*. The American Phytopathological Society. 12p.

Torres S. L., López C. L. 2010. Consumo de fumonisin y daños a la salud humana. Salud Pública Mex. 52:461-467

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.

Urrego N. J.R. y G.J. Díaz . 2006. Aflatoxinas: Mecanismos de toxicidad en la etiología de cáncer hepático celular. Rev.Fac.Med. 54 (2): 108-116.

Vincelli P y G.Parker . 2002. Fumonisin, Vomitoxin, and Other Mycotoxins in Corn Produced by *Fusarium* fungi. Cooperative Extension Service. University of Kentucky- College of Agriculture. ID-121. 8p

Visagie C.M., J. Houbraken., J.C. Frisvad,C.H. Hong, W. Klaassen,G. Perro-
ne,K.A. Seifert, J. Varga, T. Yaguchi,R.A. Samson. 2014. Identification and no-
menclature of the genus *Penicillium*. Fungal Biodiversity Centre. Production and
hosting by Elsevier B.V.78: 343–371.

Zinedine A. y J. M. C. Soriano. 2007. Micotoxinas en alimentos: Zearalenona.
(Ed.: Soriano C. J.M). Ediciones Díaz de Santos. España. pp: 255-263.

VII. ANEXOS

Cuadro 11. Ubicación y datos de las localidades muestreadas del Estado de México

| Localidad | Coordenadas | | MSNM | Tipo de Almacén | TN. | % HR | | Municipios o localidades de donde procede el grano |
|------------------|----------------|----------------------------|------|--|-----|-------|----|--|
| | X | Y | | | | T °C | BH | |
| TROJE TITLAN" | "JOCO- 54 | 14Q04212 UTM 2171682 | 2592 | SILO | 850 | 26.66 | 60 | |
| VILLA VICTORIA | 14Q04032 43 | UTM 2148389 | 2643 | BODEGA CERRADA | 22 | 20.5 | 60 | EL HOSPITAL |
| ATLACOMULCO | 14Q04055 60 | UTM2187 412 | 2542 | BODEGA DE DOS AGUAS, SIN PARE- DES | 350 | 15.5 | 60 | JOCOTITLAN, IXTLAHUACA, SAN FELIPE DEL PROGESO, TEMAXCALCINGO, EL ORO, ACAMBAY, SAN BARTOLO MORELOS. |
| METEPEC | 14Q04375 08 | UTM2126 333 | 2630 | BODEGA CERRADA | 400 | 20.5 | 70 | SAN MIGUEL TOTO |
| SANTA JUANA | 14Q04212 82 | UTM2144 305 | 2624 | BODEGA CERRADA | 2 | 15.5 | 70 | RANCHO SAN ISIDRO BARBOSA, SANTA JUANA "ALMOLOYA DE JUAREZ" |
| CALIMAYA | 14Q04356 24 | UTM2116 390 | 2684 | DESCONOCIDO | | 13.3 | 70 | TENANGO DEL VALLE, JAJALPA, CALIMAYA, SAN ANDRES |

MSNM= Metros Sobre el Nivel del Mar, TN= Toneladas, T °C= Temperatura en °C, %HR = Porcentaje de Humedad Relativa.

Cuadro 12. Resultados del análisis físico de almacenes del Estado de México.

| Almacén. Intensidad | Residuos de la cosecha % | Grano que- brado % | Grano po- drido % | Granos extraños% | Esclerocios % | Grano % pigmentado | Grano con galerías % | Insectos muertos % | Insectos vivos % | Total | Ȳ |
|------------------------|-----------------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|---------------------|-------|-------|
| 1.4 | 0.696 | 2.218 | 2.933 | 0 | 0 | 0.49 | 0.728 | 0 | 0 | 7.07 | |
| 1.8 | 0.525 | 3.163 | 3.455 | 0 | 0.0317 | 0.338 | 0.503 | 0 | 0 | 8.02 | 7.59% |
| 1.12 | 0.4504 | 3.056 | 3.24 | 0 | 0.023 | 0.423 | 0.489 | 0 | 0 | 7.68 | |
| Promedio | 0.639 | 3.865 | 3.21 | 0 | 0.018 | 0.417 | 0.573 | 0 | 0 | | |
| 2.4 | 0.57 | 0.759 | 0.392 | 0 | 0 | 0.079 | 0.304 | 0 | 0 | 2.10 | |
| 2.8 | 0.107 | 2.162 | 0.356 | 0 | 0 | 0.195 | 0.298 | 0 | 0 | 3.12 | 2.23% |
| 2.12 | 0.045 | 0.945 | 0.315 | 0 | 0 | 0.121 | 0.053 | 0 | 0 | 1.48 | |
| Promedio | 0.240 | 1.289 | 0.354 | 0 | 0 | 0.132 | 0.218 | 0 | 0 | | |
| 3.4 | 1.094 | 1.837 | 1.332 | 0 | 0 | 0.158 | 0.466 | 0 | 0 | 4.88 | |
| 3.8 | 0.707 | 2.245 | 1.519 | 0 | 0 | 0.037 | 0.374 | 0 | 0 | 4.88 | 4.64% |
| 3.12 | 0.380 | 2.080 | 1.375 | 0 | 0 | 0.075 | 0.236 | 0 | 0 | 4.15 | |
| Promedio | 0.727 | 2.054 | 1.409 | 0 | 0 | 0.09 | 0.359 | 0 | 0 | | |
| 4.4 | 0.142 | 0.356 | 0.025 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.523 | |
| 4.8 | 0.234 | 0.437 | 0.386 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.057 | 0.78% |
| 4.12 | .215 | 0.205 | 0.346 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.766 | |

Cuadro 13. Cuadrados medios del análisis de varianza de las variables medidas en las muestras de maíz de los almacenes del Estado de México.

| Fuente | CH (%) | NGH | HFPT (%) | FUM (ppm) | DON (ppm) |
|------------------|---------------------|-------|-------------|-------------------|--------------|
| Alma | 1.4 ^{-3**} | 2.05* | 0.101* | 13.64** | 7.93** |
| Inten | 2.3 ^{-5**} | 4.77* | 0.006* | 0.107** | 0.132** |
| Alma*Inten | 2.7 ^{-5**} | 1.57* | 0.055* | 0.02** | 0.698** |
| Hongo | | | 3.904** | | |
| Alma*Hongo | | | 0.614** | | |
| Inten*Hongo | | | 0.0798* | | |
| Alma*Inten*Hongo | | | 0.563* | | |
| Error | 2.26 ⁻⁶ | 1.29 | 0.0251 | 4.7 ⁻⁵ | 0.003 |
| C.V | 0.12 | 36.85 | 13.36 | 0.84 | 4.63 |
| MEDIA | 11.3 | 3.08 | 14.12 | 0.82 | 1.32 |

*= Significativo, **altamente significativo, C. V= Coeficiente de Variación, CH= contenido de humedad, NGH= Numero de Géneros de Hongos, HFPT= Hongos Fitopatogenos Potencialmente Toxigenicos, FUM= Fumonisinias, DON= Deoxinivalenol

Cuadro 14. Cuadrados medios de las variable medidas en la muestras de maíz de los productores cooperantes dell Ejido Santa Juana de Almoloya de Juárez, Estado de México

| Fuente | CH (%) | NGH | HFPT (%) | FUM (ppm) | DON (ppm) |
|--------------|-----------------|-------|-------------|--------------|-----------------|
| Muestra | 1.04** | 4.25* | 0.12** | 0.42** | 0.43** |
| HT | | | 2.31* | | |
| Muestra*HFPT | | | 0.33** | | |
| Error | 4 ⁻⁴ | 0.88 | 0.0317 | 0.001 | 4 ⁻⁴ |
| C.V | 0.18 | 23.46 | 10.26 | 52.83 | 4.60 |
| MEDIA | 10.9 | 4 | 1.2029 | 0.07 | 0.43 |

*= Significativo, **altamente significativo, C. V= Coeficiente de Variación, CH= contenido de humedad, NGH= Numero de Géneros de Hongos, HFPT= Hongos Fitopatógenos Potencialmente Toxigenicos, FUM= Fumonisinias, DON= Deoxinivalenol

Cuadro 15. Cuadrados medios del análisis de varianza realizado a las variables evaluadas en las muestras de los productores cooperantes de AS-PROS.

| Fuente | CH | NGH | HFPT | FUM | DON |
|--------------|-------|-------|----------|---------|--------|
| Muestra | 1.53* | 7.39* | 0.1314** | 0.045** | 0.18** |
| HT | | | 0.43** | | |
| Muestra*HFPT | | | 0.08** | | |
| Error | 0.005 | 2.02 | 0.0317 | 0.0002 | 0.0004 |
| C.V | 6.12 | 58.57 | 12.66 | 11.89 | 5.83 |
| MEDIA | 1.23 | 2.42 | 1.406 | 0.12 | 0.34 |

*= Significativo, **altamente significativo, C. V= Coeficiente de Variación, CH= contenido de humedad, NGH= Numero de Géneros de Hongos, HFPT= Hongos Fitopatógenos Potencialmente Toxigenicos, FUM= Fumonisinias, DON= Deoxinivalenol

Cuadro 16. Cuadrados medios de las variables medidas de las muestras de Tenampulco, Puebla.

| Fuente | HFPT | <i>Fusarium verticillioides</i> | FUM |
|-------------|---------|-------------------------------------|-----------------|
| Estrato | 0.021** | 0.213* | 9.966** |
| EHT | 1.114** | | |
| Estrato*EHT | 0.024** | | |
| ERROR | 0.0032 | 0.023 | 4 ⁻⁴ |
| C.V | 4.21 | 20.62 | 0.69 |
| MEDIA | 1.344 | 0.751 | 2.86 |

**= altamente significativo, *=significativo, HFPT= Hongos Fitopatógenos Potencialmente Toxigenicos, FUM= Fumonisna, C.V.= Coeficiente de Variación