

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Y AGROPECUARIAS



**“DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA Y CONCENTRACIÓN
DE TRICOTECENOS (Toxina T-2, Diacetoxiscirpenol, Nivalenol
y Desoxinivalenol) EN GRANO DE MAIZ PARA CONSUMO
DE CERDOS”**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN ANIMAL
PRESENTA:**

BIÓL. JOSÉ ANGEL LÓPEZ LÓPEZ

**DIRECTOR DE TESIS
DRA. MARGARITA HERNÁNDEZ GALLARDO**

**ASESOR DE TESIS
DR. AGUSTÍN RAMÍREZ ALVAREZ**

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jalisco, Junio del 2001



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS
COORDINACIÓN DE POSGRADO

H. COMISION DE POSGRADO DE LA DIVISION DE CIENCIAS VETERINARIAS UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA PRESENTE.

Por éste conducto nos permitimos enviar la **VERSION FINAL DE LA TESIS** que desarrolló la pasante de Maestría en Ciencias en Nutrición Animal de la Universidad de Guadalajara, Biol. JOSE ANGEL LOPEZ LOPEZ, cuyo titulo es:

“DETERMINACION DE LA PRESENCIA Y CONCENTRACION DE TRICOTECENOS (Toxina T-2 Diacetoxiscirpenol, Nivalenol y Desoxinivalenol) EN GRANO DE MAIZ PARA CONSUMO DE CERDOS”

Trabajo dirigido por: M. en C. Margarita Hernández Gallardo.

Los que suscriben la presente avalan esta versión, la cual fue revisada y reúne los requisitos teóricos y metodológicos necesarios.

ATENTAMENTE

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal. a 10 de Mayo de 2001

REVISOR

M. en C. MARIA DE LOURDES ISAAC VIRGEN

REVISOR

M. en C. ALBERTO CASILLAS BENITEZ

REVISOR

M. en C. ESTHER ALBARRAN RODRIGUEZ

REVISOR

M. en C. Conrado Soto Velasco

REVISOR

DR. EFRAIN PEREZ TORRES

DEDICATORIA

En especial a mi esposa Alma y mis hijas Xóchitl Elizabeth y Joanna Lizeth, por su amor, cariño y comprensión ante las adversidades de la vida.

A mis padres (Juana y Leonel) por darme la vida, hermanos (Adolfo, Leonel, Ursula y Margarito) y amigos en general por su apoyo incondicional y amistad. Gracias.

Para mis compañeros de trabajo, en especial a René, Ernesto, Ing. Sahagún, Dr. Sánchez, Florentino, Dr. Canale, Biól. Flores, Biól. Ortiz, Isabel y Lupita por su amistad y el apoyo otorgado para realizar las actividades logísticas en la revisión y elaboración del escrito. Así también, agradecimiento especial al Biól. José Luis Zavala por su ayuda en la parte estadística.

A mi directora de tesis, Margarita, gracias por su apoyo, amistad y conocimiento en la fase de laboratorio (Micotoxicología-Salud Pública) para llevar a cabo a buen término este trabajo de tesis.

ÍNDICE

INDICE DE CUADROS	ii
INDICE DE FIGURAS	iii
RESUMEN	iv
1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
3.- JUSTIFICACIÓN	11
4.- OBJETIVOS	13
5.- HIPÓTESIS	14
6.- MATERIALES Y MÉTODOS	15
7.- RESULTADOS	17
8.- DISCUSIONES	22
9.- CONCLUSIONES	31
10.- RECOMENDACIONES	32
11.- BIBLIOGRAFÍA	33

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1. Incidencia de especies de hongos en grano de maíz.	17
CUADRO 2. Número de muestras positivas a T-2 y condiciones de incidencia.	19
CUADRO 3. Número de muestras positivas a DAS y condiciones de incidencia.	19
CUADRO 4. Número de muestras positivas a DON y condiciones de incidencia.	20
CUADRO 5. Número de muestras positivas a NIV y condiciones de incidencia.	20

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Tricotecenos tipo "A".	5
FIGURA 2. Tricotecenos tipo "B".	6
FIGURA 3. Efecto de micotoxinas en cerdos.	7
FIGURA 4. Toxicidad en bovinos.	8

RESUMEN

Las materias primas y alimentos para consumo humano y animal han sido el principal blanco del ataque por hongos, esto debido a la influencia de factores ambientales (físicos, químicos y biológicos) sobre los productos agrícolas antes, durante o después de la cosecha, trayendo como consecuencia la producción de diversas micotoxinas, entre éstas, los tricotecenos, que tienen efectos directos o indirectos sobre la vida productiva de los animales domésticos, disminuyendo el consumo de alimento, la ganancia de peso entre otros, que afectan un sinnúmero de procesos fisiológicos productivos y reproductivos. La detección de las causas para consumo de maíz contaminado por tricotecenos (T-2, DAS, NV, DON) en animales domésticos, principalmente el más sensible, el cerdo, conduce a serios problemas de producción animal y pérdidas económicas para el productor, por no tener conocimiento de lo que realmente esté sucediendo y cómo regular este problema. Este estudio se realizó seleccionando grano de maíz para analizar y determinar la posible contaminación por hongos y su consecuente incidencia y producción de micotoxinas. La presencia del hongo *Fusarium* spp. en las muestras con humedades superior a 13 % (72 %), indica la presencia inequívoca de las toxinas determinadas y confirmadas por cromatografía de capa fina, encontrando a la toxina T-2 como la de mayor incidencia, 17/50 (34 %) en grano; DON con el mayor rango de concentración (87-162 ppb); DAS como la toxina que más se asoció con otra toxina 17/50 (54 %), y NIV como la de menor incidencia y asociación. La mayor concentración de los tricotecenos fue a conteo bajo de hongos (59 %) y no hubo correlación entre humedad y las toxinas, pero sí cierta tendencia de la humedad con el tipo de hongo. Dicha concentración fue baja como para causar problemas de intoxicación grave en forma individual. El conteo de hongos y la presencia de toxinas no se vieron influenciados drásticamente por la humedad en grano.

1. INTRODUCCIÓN

Desde hace algunos años, la presencia de micotoxinas en ingredientes y alimentos terminados es un problema de gran interés en todo el mundo. Esta importancia radica en la incidencia de hongos que se desarrollan en los alimentos.

Varios géneros de hongos pueden producir metabolitos secundarios cuando las condiciones óptimas de temperatura, humedad y un medio adecuado prevalezca en un área determinada. Si este metabolito es consumido se le denominará micotoxina.

Una gran cantidad de micotoxinas inducen manifestaciones toxicológicas agudas, crónicas y subcrónicas en humanos y animales susceptibles, dependiendo de la concentración y duración de la exposición a las toxinas, así como de la edad y estado nutricional de el animal (1, 2, 78).

En una clasificación hecha de acuerdo a la carcinogenicidad de estas micotoxinas, Trucksess (70) agrupa a la zearalenona, nivalenol, desoxinivalenol, fusarenona-X, y otros tricotecenos como grupo No. 3 no carcinogénico. Sin embargo, los daños ocasionados por este tipo de tricotecenos van desde pérdida de apetito, pérdida de peso, infertilidad, hasta problemas serios de intoxicación en humanos al consumir estos animales.

Las micotoxinas llamadas tricotecenos comprenden un grupo de metabolitos secundarios tóxicos semejantes, sintetizados por varios géneros de hongos, especialmente *Fusarium* (29, 31, 40, 46, 50), éstas son micotoxinas sesquiterpenoides con esqueleto tetracíclico 12-13-epoxitricotec-9-eno (40, 76). Estos metabolitos se caracterizan por una estructura sesquiterpenoide, con un enlace doble en C9-10 y un anillo epóxido en C12-13. Difiere uno de otro en el número y tipo de grupo funcional unido al anillo (37, 55, 65).

Dentro de las especies más comunes productoras de tricotecenos se encuentran: *F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. crookwellense*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. poae* y *F. sporotrichioides*; aunque cada uno tiene confirmado un tipo de toxina a producir, estas son sintetizadas de hidrocarburos tricodieno por una serie de oxigenaciones (3, 11, 38).

Los principales tricotecenos que han sido aislados y son de importancia por sus efectos en animales y humanos son: desoxinivalenol o vomitoxina (DON), nivalenol (NIV), toxina T-2, diacetoxiscirpenol (DAS), neosolaniol, monoacetoxiscirpenol (MAS) y fusarenona X (FX); siendo los más comunes los dos primeros (3, 31, 34, 63, 78).

En ocasiones estos se agrupan en tricotecenos tipo "A" o "B". La diferencia entre éstos, es que los de tipo "A", presentan un átomo de H⁺ o grupo OH⁻ o los ésteres del grupo OH en la posición del C8 (40) (ver figura 1); los tricotecenos de tipo "B", en cambio, presentan un grupo carbonilo (C=O) en el mismo carbono (C8) del esqueleto tetracíclico (15, 56) (ver figura 2). Sin embargo, hay algunas diferencias regionales en la ocurrencia de estos tricotecenos. Estos tricotecenos son de importancia económica porque pueden contaminar alimentos balanceados y piensos a base de cereales. Estudios recientes han indicado que la contaminación de grano por tricotecenos, especialmente DON y NIV, es por todo el mundo causando severa reducción de producción en las cosechas (3, 6, 10, 22, 56).

Por ejemplo, la roña de los cereales es causada por especies de *Fusarium* y algunas veces con efectos tóxicos en humanos y animales de granja cuando consumen cereales infectados por este hongo. *F. graminearum*, es uno de los principales causantes de la roña de los cereales que produce tricotecenos, tales como DON, 15-acetildesoxinivalenol (15-ADON), 3-ADON, NIV y fusarenona X además de zearalenona (ZEA). Entre estos, las micotoxinas mayormente encontradas en los cereales son DON, NIV, y ZEA en países orientales; causando un problema social no solo por las fuertes pérdidas económicas, sino también por las micotoxicosis en humanos y animales de granja (28).

Los tricotecenos tales como DON, NIV y toxina T-2 son los principales contaminantes de trigo, cebada, maíz y otros alimentos y piensos para animales que son uno de los agentes causales de problemas de salud humana y animal (1, 10).

Además de estos tricotecenos algunas especies de *Fusarium* también producen otros compuestos químicos (3-ADON, 15-ADON y 4-ANIV) que poseen una toxicidad similar a NIV y DON (33).

Tal es el caso de 4-ADON (fusarenona X) que es muy similar a DON pero con una toxicidad 10 veces mayor (48).

Se ha observado que diferentes especies de *Fusarium* spp. requieren un contenido de humedad de al menos 22-23 % con base en el peso húmedo para crecer en granos de cereal almidonosos como el maíz y otros granos (74).

Durante el consumo de harina de cebada contaminada, se observó que esta harina les provocaba náuseas y vómitos en un lapso de 5 a 15 minutos después del consumo y diarrea, dolor de cabeza, mareos e irritación de garganta en lapsos de hasta 24 horas en humanos. Así también, especies de *Fusarium* que fueron aisladas de maíz en países orientales resultaron altamente tóxicos para animales experimentales por la producción de tricotecenos y zearalenona (27, 28).

Estas micotoxicosis, incluyendo toxicosis de maíz enmohecido en el oeste de Estados Unidos, aleukia tóxica alimentaria en la ex-Unión Soviética, fusario-toxicosis en Canadá y enfermedad del moho rojo en Japón son asociados con la ingestión de cereales mohosos infectados con tricotecenos producidos por especies de *Fusarium* (14, 33).

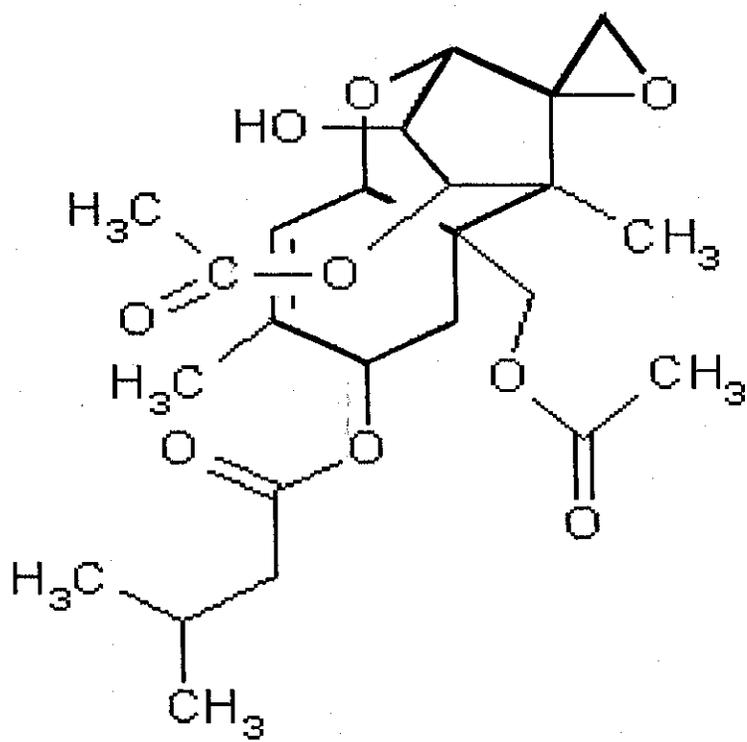
Se ha encontrado que estos tricotecenos son responsables, además de la aleukia tóxica alimentaria, de la pérdida de peso, vómito, inflamación de la piel, y muerte en humanos y ganado. Así también, intoxicaciones con micotoxina T-2 resulta en una pérdida de peso debido a diarrea y emesis, e inflamaciones con cambios hematológicos y destrucción de la médula ósea (17).

Cuando el grano de maíz es infectado en el campo con más del 5 % de granos dañados, es rechazado por los cerdos. Este rechazo de alimento es debido a la presencia de la toxina vomitoxina (DON) que causa rechazo y vómito ocasional prolongado en cerdos y otros animales domésticos (ver figura 3).

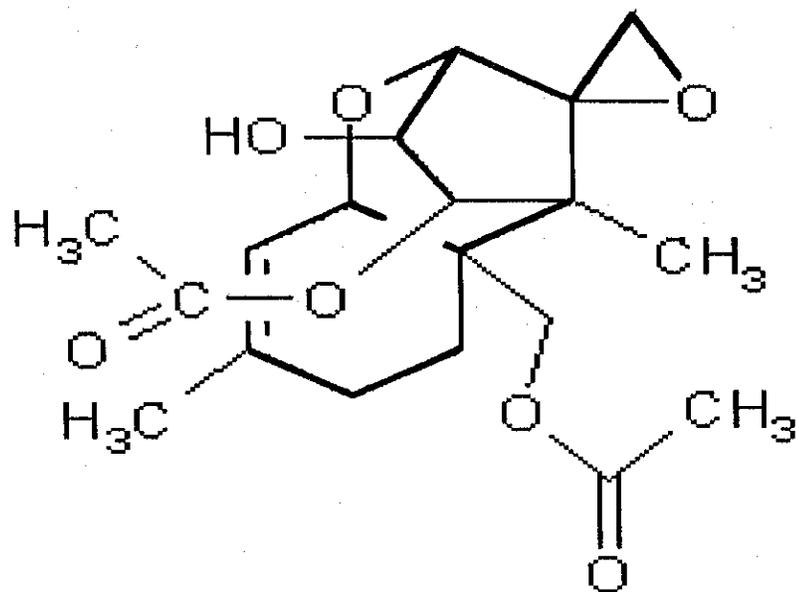
Cuando se administraron bajas concentraciones de esta toxina en el alimento para el ganado y aves, les causó diarrea y rechazo de alimento, irritaciones perioral, faringeal e intestinal; algunas hemorragias e inmunidad reducida, y fertilidad por debajo del rango normal (76) (ver figura 4).

Otros tricotecenos, además de la T-2, la Monoacetoxiscirpenol (MAS) y diacetoxiscirpenol (DAS) se han encontrado que tienen efectos en animales tales como inflamación de tracto gastrointestinal y posibles hemorragias; edema; vómito y diarrea; infertilidad; degeneración de la médula ósea; y la muerte (61).

Figura 1. TRICOTECENOS TIPO "A"



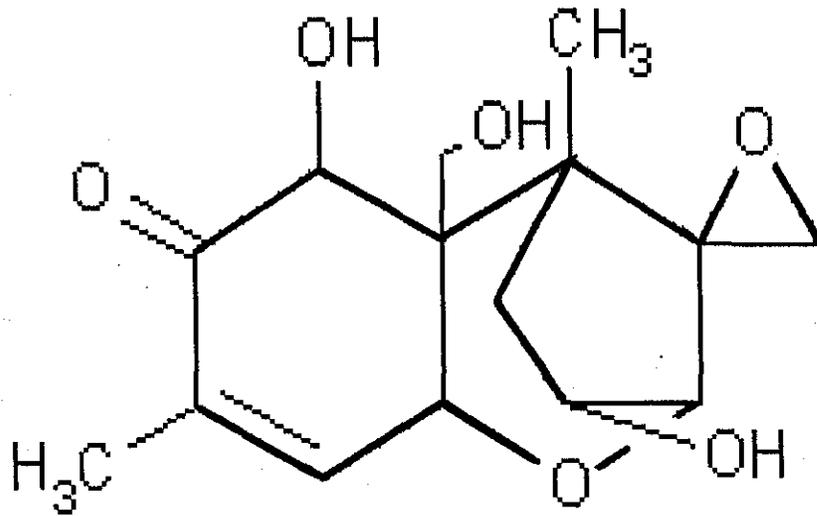
TOXINA T-2



DIACETOXISCIRPENOL (DAS)

Figura 2. TRICOTECENOS TIPO "B"

DESOXINIVALENOL
(DON)



NIVALENOL (NIV)

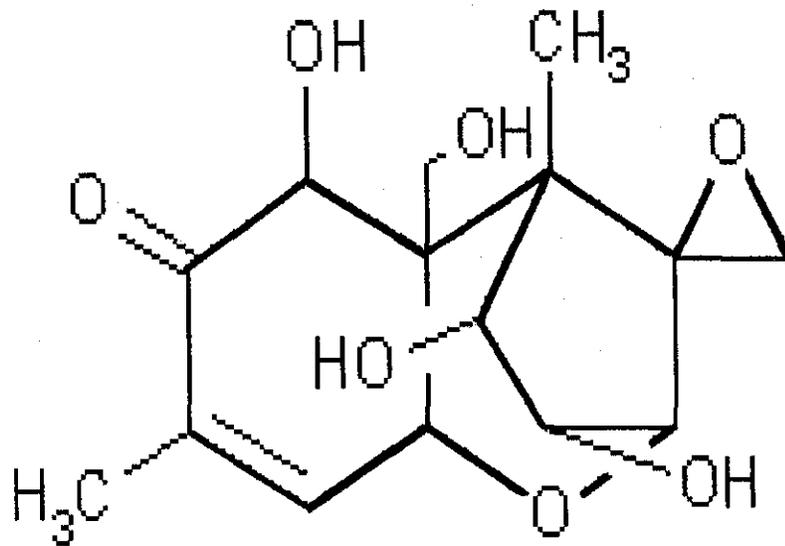


Figura 3. EFECTO DE MICOTOXINAS

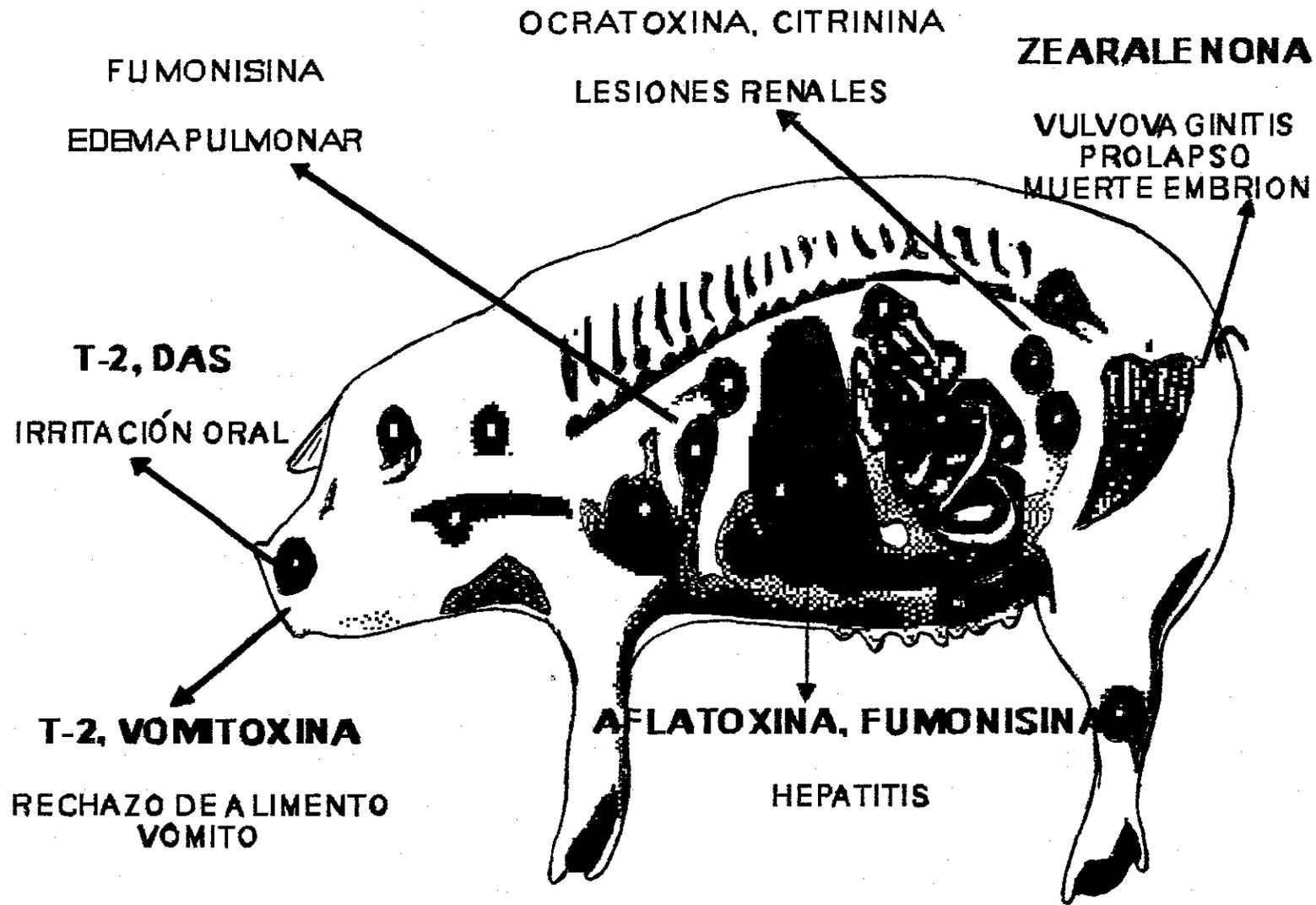
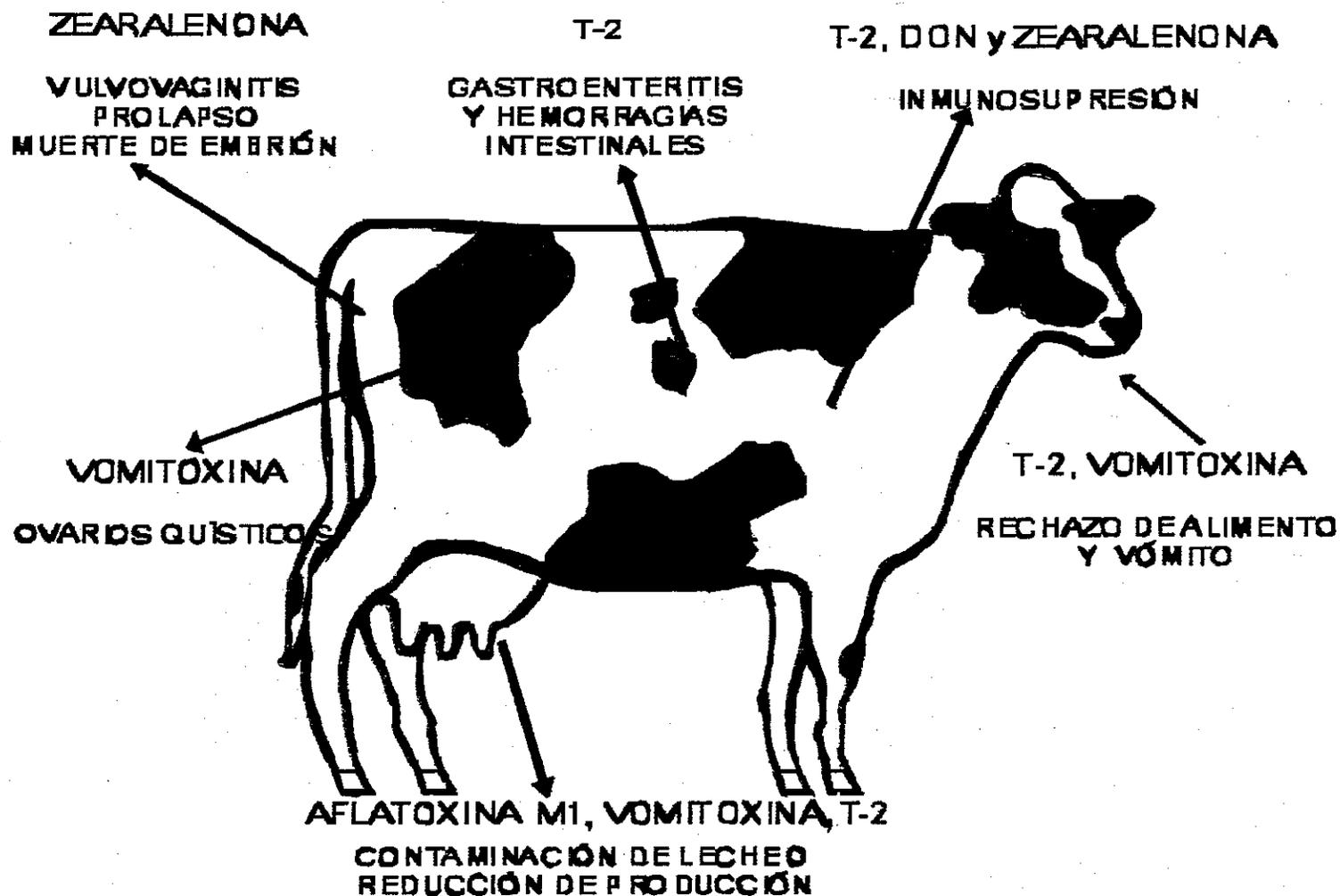


Figura 4. TOXICIDAD EN BOVINOS



2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Desde mucho tiempo atrás y hoy en día, la salud humana se ve afectada por gran número de enfermedades y problemas nutricionales diversos. El alimento de buena o mala calidad bajo condiciones adversas de conservación, propicia la aparición de microorganismos dañinos que descomponen o alteran estos alimentos produciendo, en ocasiones, toxinas fuertes que provocan cierto grado de toxicidad en animales y el hombre, que a su vez reducen en animales los niveles de producción.

Dentro de estas toxinas se pueden mencionar las generadas por hongos, especialmente un grupo de micotoxinas llamadas tricotecenos que son encontradas en una diversidad de alimentos, que al ser consumidos, ocasionan gran número de manifestaciones toxicológicas en el hombre y los animales. Tales efectos van desde pérdida de apetito, rechazo de alimento y reducción de la eficiencia alimentaria hasta la muerte en animales domésticos como el cerdo y otros animales.

Los alimentos balanceados que están elaborados a base de grano de maíz, son muy susceptibles a daños por mal manejo desde antes de la cosecha o durante el almacenamiento. Al igual que otros granos, éste es de los más importantes económicamente, ya que es rechazado e impalatable por cerdos y otros animales debido a la presencia de tricotecenos tales como toxina T-2, DON, NIV, DAS y MAS, principalmente.

La presencia de estas micotoxinas en los alimentos, es debida a los problemas de manejo desde la cosecha, transporte y almacenamiento bajo condiciones de humedad y temperatura que generalmente son favorables para el crecimiento de hongos productores de toxinas, como hongos del género *Fusarium* entre otros más que producen los tricotecenos.

Es por eso, que se debe tener el debido cuidado para evitar este tipo de problemas con alimentos a base de granos. Los principales factores que se deben de controlar y poner más énfasis, son la humedad y temperatura a manera de prevención, ya que por ejemplo,

temperaturas bajas reducen crecimiento del hongo pero no paran la producción de toxinas de *Fusarium*.

Además de los problemas ya mencionados anteriormente, la determinación de estas toxinas también tiene algunos problemas para elegir la técnica más adecuada, que por lo general necesitan de equipo y aparatos sofisticados que son caros y necesitan de personal técnico capacitado. Sin embargo, son los más confiables.

Dentro de las técnicas más usadas y factibles de realizar, se encuentra la cromatografía de capa fina, pero tiene algunos inconvenientes en cuanto a los límites de concentración de micotoxinas para ciertos alimentos en particular.

En algunas granjas porcícolas de la región y otras pocas a nivel nacional, se han encontrado problemas asociados con el rechazo de alimento (principalmente a base de maíz) y la consecuente disminución del crecimiento; además de otros problemas como la acción sinérgica de otras toxinas que causan confusión respecto a diferentes síntomas de algunas enfermedades.

Debido a este tipo de problemas, que por lo general son más o menos frecuentes, casi nunca se pone atención a problemas causados por aflatoxinas y micotoxinas en el alimento. Dentro de este último grupo, se encuentran unas toxinas llamadas tricotecenos, los cuales son poco comunes, pero de gran importancia por sus efectos en animales en producción cuando consumen alimento contaminado por tricotecenos y otras micotoxinas.

Es por eso, que mientras no se tenga cuidado en la calidad del alimento durante la producción de la materia prima, manejo y el almacenamiento de éste, los problemas seguirán en aumento. Una manera de reducir en parte estos problemas es dar apoyo para identificar el problema inicial y luego determinar las medidas para control.

3.- JUSTIFICACION

En varios artículos se consigna la presencia de otras micotoxinas diferentes a las aflatoxinas, pero no se tiene la seguridad de que las determinaciones de laboratorio hayan sido exactas. En vista de la extrema variabilidad asociada con la determinación de la concentración de aflatoxinas y de las pocas muestras analizadas en todos los casos, los datos deben de tomarse con precaución y no desprender conclusiones fácilmente.

Por ello las autoridades mexicanas deben insistir en hacer determinaciones de micotoxinas, sin embargo, estas pruebas son costosas. Aún exceptuando este inconveniente, el análisis de las micotoxinas es una tarea difícil porque solo hay cantidades traza de estas substancias en las muestras, especialmente en los alimentos para humanos y animales.

Las principales micotoxinas consideradas son ocratoxina A, zearalenona, tricotecenos y muchos más. De estas micotoxinas pocas producen signos clínicos en animales tan característicos que ellas permiten un diagnóstico inequívoco.

El rechazo de maíz o alimento conteniendo maíz es indicativo de toxinas de *Fusarium*; a veces otros contaminantes pueden conducir al rechazo. Algunas micotoxinas, incluyendo tricotecenos y aflatoxinas, pueden resultar en productividad reducida o disminución de crecimiento de los animales debido al consumo de alimento contaminado.

Como grupo, estas micotoxinas son asociadas con emesis del ganado, diarrea, consumo reducido de alimento, irritación de la piel, hemorragias, problemas reproductivos y cambios hemorrágicos.

Otros problemas referentes a la cosecha de productos agrícolas como maíz y otros cereales, son afectados o causados por campos húmedos y mucha lluvia, combinado con temperaturas de crecimiento frescas, lo cual proveen condiciones que conducen a el crecimiento de mohos de *Fusarium* en el campo y en almacenamiento.

Con esto, se pretende dar a conocer más estos tricotecenos como toxinas importantes, además de determinar la concentración de éstos en granos básicos almacenados. Si se llegasen a cubrir estos puntos se crearía conciencia en conservación de granos almacenados, para evitar con ello, problemas por hongos y toxinas en animales y consecuentemente en humanos.

4.- OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el grado de contaminación por toxina T-2, Diacetoxiscirpenol, Desoxinivalenol y Nivalenol en maíz para el consumo de cerdos.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- 1.- Cuantificar e identificar las especies fúngicas productoras de las 4 micotoxinas tricotecenos más importantes (toxina T-2, Diacetoxiscirpenol, Desoxinivalenol y Nivalenol).
- 2.- Determinar la proporción de los cuatro tricotecenos en relación al total de muestras de maíz destinado para consumo de cerdos.
- 3.- Cuantificar la toxina T-2, Diacetoxiscirpenol, Desoxinivalenol y Nivalenol presente en muestras de maíz.

5.- HIPÓTESIS

Si el maíz que consuman los cerdos está contaminado con micotoxinas y/o hongos en menor grado, el alimento no será rechazado, mientras no intervengan factores que alteren las condiciones ideales de su conservación.

6.- MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron 50 muestras de maíz destinado para el consumo de cerdos de 5 granjas ubicadas dentro de la región centro que comprende la zona metropolitana de Guadalajara, en el estado de Jalisco. Los intervalos de toma de muestras y submuestras se hicieron cada mes durante un año siguiendo la técnica de cuarteo (75, 48).

Los muestreos se realizaron tomando submuestras finales de 2 kg de maíz y de acuerdo a las facilidades de cada granja. Las muestras se colocaron en bolsas de papel para transportarlas al área de micotoxicología del Departamento de Salud Pública de la división de Ciencias Veterinarias del CUCBA.

En el laboratorio se determinó la humedad a todas las muestras por medio de pesar 2.5 g de maíz molido, los cuales se dejaron en el determinador de humedad (marca Sartorius) durante 5 minutos a 130 °C y se calculó por diferencia de peso.

Se realizó también, la cuantificación de hongos mediante la técnica de vaciado en placa, sembrando las diluciones de cada muestra por triplicado en cajas de Petri con medio de cultivo de papa dextrosa agar (PDA), y luego se incubaron por 76 horas a temperatura ambiente. Dicha cuantificación se realizó tomando en cuenta los patrones de conteo aproximados, tal clasificación comprende recuentos bajos (10^2 - 10^3), moderados (10^4 - 10^5), altos (10^6 - 10^7) y sospechosos (10^7 - en adelante) expresado en unidades formadoras de colonias (UFC/gr) o como "Recuento de los Factores de Propagación de los Hongos" según (7, 8, 18, 20).

Posterior a lo anterior, se identificaron los tipos de hongos presentes en las muestras, siguiendo la técnica de microcultivo y tinción con lactofenol y azul de algodón para observar al microscopio micelio y estructuras reproductoras (conidios y tipos de esporas) que ayuden a la confirmación de los géneros utilizando claves taxonómicas (49, 73).

Así también, se determinaron pruebas cuantitativas y cualitativas de tricotecenos mediante cromatografía de capa fina utilizando estándares puros de 4 tricotecenos mencionados arriba, y se

analizaron bajo luz ultravioleta en intervalos correspondientes de longitud de onda por medio de fluorescencia en cuarto oscuro (5, 16, 35, 44, 54, 57, 72).

Los resultados de este trabajo se analizaron mediante una correlación del programa estadístico de Windows y un programa estadístico de SAS. Así también, se realizó en forma manual una prueba de Ji cuadrado a los resultados de humedad, conteo de hongos, concentración y tipo de tricotecenos, todos se analizaron y compararon para $\alpha = 0.05$ (21, 39, 52).

7.- RESULTADOS

El 72 % de las muestras de grano contenían una humedad mayor al 13 % (56 % con humedad de 13 al 14 %; un 16 % con humedad de 14 a 15 %) y 28 % de las muestras restantes se les determinó una humedad menor al 13 % (24 % con humedad de 12 a 12.85; otro 4 % con humedad menor de 11 %).

El conteo de hongos de las muestras de maíz molido en unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/gr) de muestra de maíz molido: el 62 % fueron conteos bajos, el 30 % conteos altos y 8 % conteos moderados.

Se llevaron a cabo 348 aislamientos de géneros fúngicos diferentes, de los cuales, el de mayor incidencia e importancia fue para el género *Fusarium*, encontrándose en un 50.86 % de las muestras; el 37.65 % del grano presentó especies del género *Penicillium*; el 7.47 % de las muestras fue para especies de *Aspergillus*. Los demás hongos encontrados (4.02 %) correspondió a especies de *Cladosporium*, *Botrytis* y *Verticillium* con una menor incidencia e importancia por no ser productores potenciales de tricotecenos (ver cuadro 1).

Cuadro 1. Incidencia de especies fúngicas en grano de maíz.

TIPOS DE HONGOS	NÚMERO DE AISLAMIENTOS	PORCENTAJE (%)
<i>Fusarium spp.</i>	177	50.86
<i>Penicillium spp.</i>	131	37.65
<i>Aspergillus spp.</i>	26	7.47
<i>Cladosporium spp.</i>	11	3.16
<i>Botrytis spp.</i>	1	0.29
<i>Verticillium spp.</i>	2	0.57
Total	348	100.00

El 10 % de las muestras no presentó evidencia de alguna toxina; al 72 % de las muestras solo se le encontró una de las 4 toxinas, y el 18 % restante presentó más de un tricoteceno, encontrándose de 2 toxinas por muestra, y ninguna muestra presentó 3 o 4 toxinas juntas.

De las toxinas analizadas, la de mayor incidencia fue la toxina T-2 en 17/50 muestras (34 %), de las cuales en 14 se presentó sola y 3 más combinada con otra; DON se encontró en 14/50 muestras (28 %), de las cuales 10 se encontraron en forma individual y 4 asociadas con otra toxina; DAS se encontró incidiendo en 13/50 muestras (26 %), 6 de ellas en forma individual y 7 combinada con otra; y, la toxina NIV se encontró incidiendo en 10/50 muestras (20 %), 7 en forma individual y 3 asociada con otra toxina.

Del 18 % total con dos toxinas, 7/13 (54 %) muestras de DAS estaban asociadas con una toxina, 3 (23 %) de ellas corresponde a la asociación DAS-DON, 2 (15 %) corresponden a T-2 y DAS, otras 2 (15 %) para DAS-NIV.

De la toxina DON en asociación con otra toxina, 5/14 (35.7 %), 3 (21.4 %) se asociaron con DAS, 1 con T-2 y 1 con NIV. La toxina T-2 se asoció sólo en 3/17 (17.6 %), de las cuales 2 fueron con DAS y 1 con DON, no se encontró asociada con NIV. La toxina NIV se encontró 3/10 (30 %) asociaciones, 2 con DAS y 1 con DON.

Con respecto a la concentración de estas toxinas en las muestras de grano, se determinó que la **Toxina T-2** se encontraba en un intervalo de 16-137 partes por billón (ppb). De este, el 41.2 % de las muestras se encontraba en concentraciones de más de 100 ppb y otro 58.8 % en concentraciones de menores a 100 ppb. De las muestras con concentraciones menores a las 100 ppb, la mitad correspondió a *conteo bajo* de hongos, el 30 % a *conteos altos* y 20 % a *conteos moderados*; así también, se encontró que 47 % de las muestras ocurrieron en el rango de humedad de 13 a 14 % y el 11.76 % de muestras a una humedad menor al 13 %. A concentraciones mayores a 100 ppb, 4 son para *conteos bajos*, 2 para *conteos altos* y 1 para *conteos moderados*; en cuanto a la humedad de ocurrencia de ésta toxina a dicha concentración, no hubo diferencia entre éstas, 3 muestras (17.6 %) a un rango de 13-14 %, 2 (11.76 %) a humedad menor de 13 % y otras 2 (11.76 %) a humedad mayor de 14 % (ver cuadro 2).

Cuadro 2. Número de muestras positivas a **Toxina T-2** y condiciones de incidencia.

CONC. DE TOXINA	CONTEO DE HONGOS			CONTENIDO DE HUMEDAD (%)		
	BAJOS	MOD.	ALTOS	< 13	13 - 14	> 14
MENOR DE 100 ppb	5	2	3	2	8	0
MAYOR DE 100 ppb	4	1	2	2	3	2
TOTAL	9	3	5	4	11	2

El tricoteceno **Diacetoxyscirpenol (DAS)** se encontró en el 26 % de las muestras, en un intervalo de concentración de 16 a 125 ppb. De éste, 69.23 % fue para muestras menores de 100 ppb, 30.77 % para concentraciones mayores de 100 ppb. La importancia de esta toxina se encuentra a concentraciones menores de 100 ppb, resaltando los *conteos bajos* con un 77 % de estas muestras y la ocurrencia (61.5 %) de esta toxina entre 13 y 14 % de humedad del grano (ver cuadro 3).

Cuadro 3. Número de muestras positivas a **DAS** y condiciones de incidencia.

CONC. DE TOXINA	CONTEO DE HONGOS			CONTENIDO DE HUMEDAD (%)		
	BAJOS	MOD.	ALTOS	< 13	13 - 14	> 14
MENOR DE 100 ppb	8	0	1	1	6	2
MAYOR DE 100 ppb	2	2	0	1	2	1
TOTAL	10	2	1	2	8	3

En cuanto a **Desoxinivalenol (DON)**, 28 % de las muestras se encontró en un intervalo de 87 a 162 ppb. De las muestras, 57.14 % es para muestras mayores de 100 ppb, el resto (42.86 %) fue para concentraciones menores de 100 ppb. Las muestras con esta toxina, tuvieron mayor importancia para las concentraciones mayores de 100 ppb en los *conteos bajos* y al intervalo de humedad entre 13 y 14 % (ver cuadro 4).

Cuadro 4. Número de muestras positivas a **DON** y condiciones de incidencia.

CONC. DE TOXINA	CONTEO DE HONGOS			CONTENIDO DE HUMEDAD (%)		
	BAJOS	MOD.	ALTOS	< 13	13 - 14	> 14
MENOR DE 100 ppb	3	0	3	3	2	1
MAYOR DE 100 ppb	5	1	2	2	4	2
TOTAL	8	1	5	5	6	3

Con respecto a la toxina **Nivalenol (NIV)**, esta se presentó en un 20 % de las muestras con un intervalo de concentración de 16 a 137 ppb. De éstas, el 50 % de muestras presentó una concentración mayor de 100 ppb, el otro 50 % de las muestras presentó concentración menor 100 ppb. Las muestras con concentraciones menores y mayores a 100 ppb fueron relevantes en los *conteos altos y bajos*, respectivamente; y al intervalo de 13 a 14 % de humedad (ver cuadro 5).

Cuadro 5. Número de muestras positivas a **NIV** y condiciones de incidencia.

CONC. DE TOXINA	CONTEO DE HONGOS			CONTENIDO DE HUMEDAD (%)		
	BAJOS	MOD.	ALTOS	< 13	13 - 14	> 14
MENOR DE 100 ppb	2	0	3	0	4	1
MAYOR DE 100 ppb	3	0	2	2	2	1
TOTAL	5	0	5	2	6	2

La concentración de tricotecenos fue mayor en conteos bajo de hongos (59 %), siendo menor para conteos moderados, y humedad entre 13 y 14 % (60 %). El 56 % de las toxinas presentó concentraciones menores de 100 ppb, no habiendo diferencia a concentraciones mayores (44 %), respecto a la incidencia de éstas, pero si en los efectos que causa en los animales.

Al realizar un coeficiente de correlación entre humedad (%) con cada uno de los tricotecenos, se encontró una correlación nula entre la humedad y la concentración de 2

toxinas (DAS, $r = 0.03881$ y DON $r = -0.01786$) y un coeficiente de correlación bajo en las micotoxinas T-2 $r = 0.41470$ y NIV $r = -0.47671$, no habiendo diferencia significativa ($\alpha = 0.05$); siendo estas últimas la que más se correlacionaron con la humedad y la concentración de dichas toxinas en las muestras. Así también, al realizar una prueba de ji cuadrado no hubo significancia ($\alpha = 0.05$) entre toxinas y los conteos de hongos; las toxinas y los intervalos de humedad; ni las concentraciones de cada toxina.

8.- DISCUSIONES

El contenido de humedad encontrado en las muestras de maíz, en su mayoría (72 %) mostraron contenidos de humedad en grano superiores al 13 %. Esto es considerado por Gimeno (18) como una materia prima de regular calidad micológica, ya que la de buena a excelente calidad es cuando se tienen valores menores al 12.5 % de humedad. Shane (60) establece que niveles constantes superiores a 12 % contribuyen a la proliferación de hongos y la producción de micotoxinas, mientras que Harris (19) considera que el crecimiento fúngico en grano es influenciado por una variedad de factores: temperatura, humedad, disposición de oxígeno, población de insectos, condición física del grano y granos híbridos; entre éstos, la humedad a niveles de 13 a 14 % propician el crecimiento fúngico y al 15 % la proliferación de esporas. En tanto, Williams (76), Shurtleff (61) y Robb (45) mencionan que la proliferación de los hongos de almacén (*Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*) ocurre cuando el maíz u otro alimento presenta niveles superiores de humedad al 14 %. Romer y Maune (48) mencionan que si el maíz es dejado en el campo y almacenado a niveles superiores de 14 %, mantienen el crecimiento de *Fusarium* y la producción de micotoxinas, pero si estas muestras se encuentran a temperaturas frías, disminuye el crecimiento pero no lo detiene.

Smith y Sousadias (64) consideran que un maíz seco comúnmente contiene 12 % de humedad, mientras que el maíz con alta humedad puede contener dos veces esa cantidad. En cambio, Adams *et al* (4) establece que un alimento húmedo es aquel que contiene arriba de 15 % humedad y un alimento seco el que presenta una humedad debajo de 12 %. Todo esto, trae consigo que a fin de cuentas las condiciones extremas de humedad y temperatura en el grano permitan el desarrollo de hongos toxigénicos, ya sea antes (hongos de campo) o después de la cosecha (hongos de almacén) (45). Sin embargo, la fuente original de los hongos en ambas circunstancias es el campo. Miller (36) y Harris (19) establecen que la invasión fúngica antes de la cosecha está gobernada principalmente por hongos hospederos de plantas y otras interacciones biológicas (insectos), mientras que el crecimiento de hongos postcosecha es gobernada por factores del cultivo

(nutrimentos), físicos (temperatura y humedad) y factores bióticos (insectos, competencia).

La incidencia de hongos sobre el grano es afectada por humedad en la salida del jilote, en tanto que las condiciones de temperatura y humedad durante el crecimiento e infestación por insectos son factores críticos que afectan la infección fúngica y la síntesis de micotoxinas (13). Así también, condiciones de crecimiento frías y húmedas pueden demorar la madurez del maíz y esto resulta en formación de mohos y micotoxinas en el campo, especialmente de *Fusarium* (4). Lo mismo sucede cuando las condiciones de humedad, lluvia, calor desde la floración (23) o la combinación de un período húmedo y granizada tardía favorecen el desarrollo de especies de *Fusarium* en mazorcas y grano de maíz (1, 58, 77).

Si el contenido de humedad no es reducido a 12 % después de la cosecha, será posible una severa infestación por hongos (60), pero una vez que los hongos como *Fusarium* se han establecido, requieren al menos de 22 % de humedad para crecer en una base de peso húmedo en grano de cereales almidonosos, mientras que Wicklow *et al* (74) considera que un rango de humedad de 18 a 22 % después de incubación a temperatura fría postcosecha es el límite inferior para permitir el crecimiento y formación de micotoxinas por *Gibberella zeae*.

Una vez que las condiciones ambientales de temperatura y humedad adversas hacen efecto sobre las plantas y granos de maíz, durante el crecimiento, cosecha y almacenamiento, el desarrollo de mohos como *Fusarium* continua infectando al grano hasta alcanzar su madurez, provocando con ello que el moho forme y libere miles de sus esporas al sustrato o al medio ambiente que la rodea. Cada una de esas esporas puede ser capaz de iniciar la formación de una nueva colonia fúngica. Debido a esto, se considera que un alimento o materia prima que tiene las condiciones de germinación y desarrollo de estas esporas, es de baja calidad entre más hongos proliferen en dicho sustrato. Para estandarizar la calidad de estos alimentos se han establecido criterios de calidad micológica para algunas materias primas y piensos compuestos, los cuales pueden variar

para cada país debido a que no existen métodos oficiales generalizados para ello. Así podemos considerar que los resultados obtenidos en este estudio, en su mayoría (62 %) son conteos bajos y 30 % son conteos altos. Sin embargo, estos conteos fúngicos son considerados dentro de otros criterios de calidad micológica, en donde Gimeno (18) ubica a un grano de maíz de buena calidad cuando la concentración (UFC/gr) se encuentra de 0 a 40,000 y en el caso particular de este estudio, este rango corresponde a un conteo moderado y no bajo, por lo que los conteos bajos se modifican, son imprecisos y difíciles de definir.

Muchas veces las esporas son contadas en alimentos mohosos para obtener una indicación de lo extenso del enmohecimiento y el riesgo relativo de la alimentación (4). Algunos estudios han demostrado que el maíz con niveles bajos de micotoxinas pueden mostrar recuento de esporas de hongos de una o más especies de *Fusarium* que, como porcentaje del recuento total, se encuentran por encima de los niveles normales (60).

En ocasiones algunos alimentos mohosos no pueden contener un elevado conteo por una variedad de razones, el conteo muchas veces subestima el grado de mohos presentes y el riesgo potencial involucrado (4).

Un producto alimenticio puede ser colonizado por hongos en el campo antes de la cosecha, durante el almacenaje, en el transporte o en el proceso de fabricación. Es raro que un producto sea invadido por sólo unas especies de hongos, tal es el caso de este estudio, donde se realizaron 348 aislamientos de géneros fúngicos, encontrando 6 géneros de hongos, entre ellos se citan *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Cladosporium* como los más importantes, tal como lo establece Scudamore (58), en donde *Penicillium* y *Aspergillus* son considerados como los principales hongos de almacén y *Fusarium*, *Cladosporium* además de *Alternaria* son los principales hongos activos en el campo y en muchas ocasiones se pasan a los productos (granos) durante la cosecha y posterior almacenamiento, desarrollando según las condiciones, la producción de una mezcla compleja de productos metabólicos, las micotoxinas y entre éstas, diferentes tipos de tricotecnos.

Los mohos tienen una enorme capacidad para medrar y metabolizar una amplia variedad de sustratos, incluyendo los granos, bajo diferentes condiciones de temperatura, pH y humedad (12) alterando el valor nutritivo del grano u otros alimentos (19, 45). Ellos pueden invadir los alimentos en cualquier tiempo, durante la producción, procesado, transporte o almacenado.

Los hongos más importantes como productores de micotoxinas son *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*. Estos crecen en un amplio rango de alimentos que incluyen granos de cereales, cacahuete, frijol, chícharos, etc.; siendo los cereales donde predomina la presencia de estos hongos, en especial *Fusarium* en grano de maíz, tal como lo encontrado en el presente trabajo donde el 50 % de las muestras infectadas fue por *Fusarium*, por Bennett *et al* (6) en donde hasta el 66 % de las muestras fue encontrado este hongo, y como también lo mencionan Bottallico *et al* (9), Lee *et al* (33) y Kim *et al* (28) en alimentos a base de maíz donde la distribución de especies de *Fusarium* fue casi la misma de esta encontrada asociada con pudrición de la mazorca de maíz en el campo.

Aunque también se presentaron otros géneros de hongos en los aislamientos fúngicos, se consideran de poca importancia como productores de tricotecenos, pero de relativa importancia en la producción de otras micotoxinas como son las aflatoxinas, ácido penicílico, entre otras.

Los tricotecenos son metabolitos secundarios tóxicos producidos por diferentes especies de *Fusarium*. Éstos infectan granos en el campo y son por lo tanto de mucha importancia en la agricultura (79), esta producción será afectada por las condiciones ambientales predominantes alrededor de los alimentos (19, 45).

Las especies de *Fusarium* que producen dichos tricotecenos son: *F. graminearum* que produce DON (13, 28, 31, 36, 40, 56, 66, 79) y es de las especies más frecuentemente encontradas (1). Esta especie no solo produce esta toxina sino que puede producir también T-2, NIV, DAS, ZEA y otros tricotecenos derivados de los antes mencionados (ADON, 3-ADON, 15-ADON, HT-2, ANIV, sambucinol, T-2 tol, fusarenona,

principalmente). Así también existen otras especies que producen estas toxinas en forma más específica y en mayores cantidades, tales son *F. culmorum*, *F. crookwellense*, *F. poae*, *F. tricinctum*, *F. nivale*, *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. lateritium* y *F. sporotrichioides* principalmente (4, 13, 18, 23, 31, 36, 37, 38, 45, 60, 77, 79).

Las metodologías utilizadas para determinar el tipo y concentración de tricotecenos en maíz y otros derivados, varían según la sensibilidad y eficiencia que se requiera, además del costo que esto implica. Para la determinación de los tricotecenos se emplean los diferentes tipos de cromatografía de líquidos, gas-líquida (13, 15), cromatografía de gases (40, 46, 62) para T-2 y derivados de DAS, DON, HT-2 y otros quimiotipos; anticuerpos monoclonales y ELISA (4, 57, 62) para determinar DON y sus derivados; capa fina como en este estudio (4, 33, 40, 54, 57) en la determinación y confirmación de T-2, NIV, DAS, DON, ZEA y otros tricotecenos derivados.

Dado que la mayoría de las muestras analizadas presentó al menos una toxina tricoteceno (72 %) y unas cuantas (18 %) presentaron dos tricotecenos, se puede decir que las muestras se encontraban ligeramente contaminadas, pero el efecto de éstas en el consumo por animales, sólo se puede percibir cuando existe interacción de dos o más de ellas, efecto sinérgico.

Algunos de los tricotecenos en forma particular puede tener efectos considerables sobre el consumo en animales, esto depende de la concentración en que se encuentren en el maíz y de cuántas toxinas más estén presentes.

Robb (45) reporta las cuatro toxinas tricotecenos y otros más en maíz contaminado y considera a los tricotecenos como las micotoxinas más peligrosas en climas templados donde se siembran cereales.

En este trabajo la toxina de mayor incidencia en las muestras fue T-2 y no DON como lo reportan Scudamore (58), Doyle (13), Burrows y Szafraniec (10), Miller (36), SCF-EC (53), Lauren *et al* (32), Scott (57) para granos cereales (maíz y trigo) de consumo

humano y animal o como toxinas producidas en campo como lo establecen Miller (36), Abbas *et al* (1) y Bottalico *et al* (9).

Williams (76) encontró T-2 como contaminante frecuente de maíz y cebada, Lee *et al* (33) la encontró junto con DON y NIV como los mayores contaminantes de trigo, cebada maíz y otros alimentos; se reporta junto con DAS y DON como las 3 toxinas más detectadas en granos de cereal; Scott (57) la reporta junto con DAS con más frecuencia en el resto del mundo que en Norteamérica.

DON fue encontrado en 28 % de las muestras casi la misma incidencia que DAS (26 %), nada más que DAS se encontró más combinada con otra toxina que los otros tricotecenos en particular.

En México se ha reportado en maíz, otros productos derivados y trigo, la presencia de DON. Además también en premezclas y concentrados se encontraron otros tricotecenos, pero DAS y NIV no han sido reportados en maíz en Latinoamérica, pero si en trigo de Argentina (43).

Vomitoxina (DON) ha sido detectada en trigo de invierno (97.1 %) y de primavera (58.2 %), encontrando niveles superiores a 4 ppm en trigo de invierno (42).

NIV fue el de menor incidencia (20 %) en este estudio, pero se encontró combinado con otras toxinas (DAS y DON) en forma leve, tal como lo reporta Scott (57) y Miller (36), y algo nuevo a como lo reporta Resnik *et al* (43) para México.

La combinación de toxinas tricotecenos aunque relativamente bajo en este trabajo, se estima que son de mucha importancia por el efecto sinérgico entre todas ellas y con otras micotoxinas no analizadas en este estudio. Dichas combinaciones naturales DAS/DON, T-2/DAS y DAS/FUS han sido reportadas ser sinérgicas en animales de laboratorio (36), DON/ZEA y DAS/AFB1 en cerdos alimentados con maíz contaminado (18, 36) y T-2 ha sido encontrada que promueve la producción de aflatoxinas por *Aspergillus flavus*

y sinergiza la actividad de DON con respecto a varios parámetros, incluyendo ganancia de peso y conversión alimenticia en cerdos (36).

La presencia de varias micotoxinas a niveles bajos se asocia con problemas de potenciación o incremento de los efectos dañinos de alimento contaminado (4).

La incidencia particular de las toxinas tricotecenos en este estudio variaron en su concentración de acuerdo al contenido de humedad en el grano. En el caso de **toxina T-2** la mayoría (82 %) presentó concentración de 50-150 ppb, el cual comprende los niveles máximos de 100 ppb para ganado de carne y por supuesto también para cerdos según Jones *et al* (26). En muestras de maíz Scott (56) encontró T-2 en 6/20 a concentraciones de 0.9 ug/gr. Scott (57) en granos de maíz 13/66, mientras que Abramson *et al* (3) reporta 3/36 con niveles de 124.63 ug/ml. En tanto que Sydenham *et al* (67) también en muestras de maíz muestra la ausencia de niveles detectables de DAS y T-2. Las concentraciones menores y mayores de 100 ppb en un 50 % del total se presentó cuando el conteo de hongos fue bajo, luego le continúa conteos altos y moderados. Así también, la concentración se relacionó con el rango de humedad de 13 a 14 % en un 83 % de las muestras con esta toxina.

La segunda toxina en importancia, más por su combinación que por su concentración e incidencia particular fue el tricoteceno **DAS**. Es la toxina con menor rango de concentración, 16-125 ppb, y 14/50 en grano de maíz, parecido a lo encontrado por Scott (56) donde DAS fue 13/20 y 0.2 ug/gr de niveles máximos, Abramson *et al* (3) donde fue 16/36, Scott (57) en grano de maíz 10/66, y lo encontrado por Jacobsen *et al* (24) en soyas completas 5/20, cascarillas 12/17 y harinas 6/17 con las concentraciones máximas de 230, 130 y 130 ng/gr respectivamente. La concentración menor de 100 ppb fue la más importante (69 %) junto con los conteos bajos (90 %) y el rango de humedad de 13 a 14 % (66 %).

DON con un 28 % de incidencia en grano de maíz de este estudio, presentó la mayor concentración de los tricotecenos, 87-162 ppb, pero esta concentración está muy por

debajo de los niveles máximos de la toxina en dietas para cerdos según Jones *et al* (26) quienes establecen que la concentración debe ser menor de 300 ppb, ya que concentraciones de 300 a 500 ppb son asociadas con rechazo de alimento, reducida ganancia de peso y elevada incidencia de enfermedades infecciosas.

El grave problema de esto es que esta toxina no sólo se encuentra en granos cereales sino en cualquier tipo de alimento para humanos y animales, y las concentraciones son mayores a los niveles máximos permitidos como lo mencionan Wicklow *et al* (74) para granos dañados en donde los severamente dañados presentaron mayor contaminación (3799 a 4139 ppb) que los granos ligera a moderadamente dañados (243 a 384 ppb); Abbas *et al* (1) encontró en mazorcas mohosas que la concentración varió de 0 a 65.8 ug/gr y para las cerneduras de 8 a 13.1 ug/gr; Wood (77) en trigo y maíz las muestras positivas fueron mayor de 4 ug/gr; Abbas *et al* (2) encontró 17/21 a concentraciones promedio de 82 ug/gr; Harris (19) reporta la presencia de DON a concentraciones de 300 a 500 ppb en alimentos a base de maíz para cerdos; Kim *et al* (28) encontró esta toxina y otras derivadas con niveles máximos de 2752 ng/gr para DON, 1726 ng/gr para 15-ADON; Bottalico *et al* (9) establece que todas las muestras infectadas con pudrición de tallo, DON se encontró en una concentración mayor de 668 ng/gr.

Doyle (13) menciona que trigo y maíz son los más frecuentemente contaminados con altas concentraciones (de 1 a 20 ppm) y recomienda niveles de tolerancia de 1 ppm en granos para consumo humano y concentraciones superiores en alimentos para animales; Johnston y Augenstein (25) comparando la calidad de maíz viejo y nuevo encontraron que DON no estaba presente o no fue detectable en maíz viejo y fue menor de 250 ppb en maíz nuevo; Sydenham *et al* (66) encontró en trigo niveles de 3750 a 14360 ng/gr; Sydenham *et al* (67) en maíz encontró niveles de 0.05 a 12.10 ug/gr; la FDA indica niveles menores de 4 ppm en muestras de maíz (39); Van Egmond (71) en harina de maíz la concentración debe ser menor de 50 ug/gr; Scott (56) en grano de maíz encontró 11/20 muestras con niveles máximos de 0.3 ug/gr; Scott (57) en grano de maíz fue 28/28 con 9.60 ug/gr y 77/78 con 6.2 ug/gr; según Abramson *et al* (3) DON fue producido por 22/36; Jacobsen *et al* (24) encontró en soya completa (16/24) concentración de hasta 490

ng/gr, cascarillas (15/17) a concentración de 10 a 420 ng/gr, harina (14/17) a concentraciones de 5 a 600 ng/gr.

NIV en este estudio se encontró en 10/50 a concentraciones de 16 a 137 ppb. Scott (57) en grano de maíz encontró 28/28 a nivel de 4.05 ug/gr. Abramson *et al* (3) en 7/36. Kim *et al* (28) en maíz encontró en concentraciones de 366 ng/gr; Sydenham *et al* (67) en maíz encontró de 0.88 a 15.20 ng/gr; Sydenham (62) encontró concentraciones de 320 a 1850 ug/gr.

Concentraciones estimadas de tricotecenos ésteres además de parientes alcoholes en muestras de maíz contaminado naturalmente aumentó cuando se analizó con hidrólisis. Después de ésta, NIV aumentó por arriba de 40 % y 20 % para DON (30).

9.- CONCLUSIONES

1.- *Fusarium* spp. es el hongo de mayor incidencia en grano de maíz y el principal productor de tricotecenos en almacén.

2.- La humedad mantiene su efecto independiente al conteo de hongos y a la presencia de los tipos de tricotecenos.

3.- La toxina T-2 fue la más importante en cuanto incidencia en grano de maíz, y se relaciona principalmente con conteo bajo de hongos y a humedad alta.

4.- La concentración de los 4 tricotecenos fue baja para causar problemas graves de intoxicación en forma particular, pero no así para problemas sinérgicos entre ellas y otras toxinas de especies de hongos diferentes encontrados en el grano de maíz.

10.- RECOMENDACIONES

PARA EVITAR POSIBLES PROBLEMAS DE HONGOS:

- 1.- Toma de muestras y submuestras de maíz en cantidad de 2 a 4.5 kg para su preparación (molienda y separación).
- 2.- Compra y recepción de materia prima de excelente a buena calidad micológica, con valores menores de 12.5 % de humedad.
- 3.- Eliminar granos sospechosos y finos de granos completos.
- 4.- Evitar almacenaje de granos y alimentos con más de 12.5 % de humedad. Usar inhibidores de mohos en alimentos que contengan 14 % o más de humedad.
- 5.- Almacenamiento de materia prima en condiciones igual o inferior a 65 % H.R. y temperatura a 20 °C. Almacenar en un lugar seco y bien ventilado.
- 6.- Higiene y limpieza regular de las instalaciones.
- 7.- Restringir el uso de alimento contaminado.
- 8.- En granos secados remover menos humedad por hora después de que el grano alcanza 19 %.
- 9.- Grano con más de 15 % de humedad no debe permanecer más de 6 horas sin ser tratado.
- 10.- Evitar cambios bruscos de temperatura y humedad durante el almacenamiento de grano o alimento a base de maíz.

PARA SOLUCIONAR PROBLEMAS DE MICOTOXINAS:

- 1.- Aumentar los niveles de algunas vitaminas, proteína y energía en la dieta.
- 2.- Mantener a los animales a temperaturas ambientales confortables.
- 3.- Reducir al mínimo los factores que pueden producir estrés en los animales.
- 4.- Regular con precisión la presencia de micotoxinas en el alimento contaminado.
- 5.- No incluir alimento contaminado con niveles superiores a los permitidos por organismos internacionales para dietas de las diferentes etapas de crecimiento en cerdos.
- 6.- No llevar a cabo diluciones de alimento limpio con alimento contaminado.

11.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Abbas, H.K., C.J. Mirocha, R.A. Meronuck, J.D. Pokorny, S.L. Gould, and T. Kommedahl. 1988. Mycotoxins and *Fusarium spp.* associated with infected ears of corn in Minnesota. *Appl. Environ. Microbiol.* 54(8): 1930-1933.
- 2.- Abbas, H.K., C.J. Mirocha, T. Kommedahl, R.F. Vesonder and P. Golinski. 1989. Production of trichothecene and non-trichothecene mycotoxins by *Fusarium* species isolated from maize in Minnesota. *Mycopathologia.* 108: 55-58.
- 3.- Abramson, D., R.M. Clear, and D.M. Smith. 1993. Trichothecene production by *Fusarium spp.* isolated from Manitoba grain. *Can. J. Plant Pathol.* 15: 147-152.
- 4.- Adams, R.S., K.B. Kephart, V.A. Ishler, L.J. Hutchinson and G.W. Roth. 1998. Mold and mycotoxin problems in livestock feeding. College of Agricultural Sciences, Penn State University. Document number 289027. pp 11.
- 5.- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th edition and its 4th supplement. Arlington, VA.
- 6.- Bennett, G.A., D.T. Wicklow, R.W. Caldwell, and E.B. Smalley. 1988. Distribution of trichothecenes and zearalenone in *Fusarium graminearum*: Rotted corn ears grown in a controlled environment. *J. Agric. Food Chem.* 36(3): 639-642.
- 7.- Booth, C. 1971 a. Fungal culture media. *Methods in Microbiology*, Vol. 4 (C. Booth, ed.) Academic Press, London.
- 8.- Booth, C. 1971 b. The genus *FUSARIUM*. 1a. edición en inglés. Reimpreso 1985. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. Pp 237.

- 9.- Bottalico, A., A. Logrieco and A. Visconti. 1989. *Fusarium* especies and their mycotoxins in infected corn in Italy. *Mycopathologia*. 107: 85-92.
- 10.- Burrows, E.P. and L.L. Szafraniec. 1987. Hypochlorite-promoted transformations of trichothecenes, 3. Deoxinivalenol. *J. Nat. Prod.* 50(6): 1108-1112.
- 11.- Desjardins, A.E., R.D. Plattner and G.F. Spencer. 1988. Inhibition of trichothecene toxin biosynthesis by naturally occurring shikimate aromatics. *Phytochemistry*. 27(3): 767-771.
- 12.- Doerr, J. 1990. Control de las micotoxinas: retorno a los consejos básicos. *Selecciones Avícolas*. 9: 52-53.
- 13.- Doyle, M.E. 1998. *Fusarium* mycotoxins. Food Research Institute, University of Wisconsin-Madison. 1-4 pp.
- 14.- Ehrlich, K.C. 1989. Preparation of the *Fusarium* toxin, nivalenol, by oxidation of the putative biosynthetic precursor, 7-deoxinivalenol. *Mycopathologia*. 107: 111-114.
- 15.- El-Banna, A.A., P.M. Scott, P-Y. Lau, T. Sakuma, H.W. Platt and V. Campbell. 1984. Formation of trichothecenes by *Fusarium solani* var. *coeruleum* and *Fusarium sambucinum* in potatoes. *Applied and Environmental Microbiology*. 47(5): 1169-1171.
- 16.- FAO. 1991. Manuales para el control de calidad de los alimentos. Capacitación en análisis de micotoxinas. 14/10. Roma, Italia. Pp 144.
- 17.- Fort, D.M., C.L. Barnes, M.S. Tempesta, H.H. Casper, E. Bekele, A.A. Rottinghaus, and G.E. Rottinghaus. 1993. Two new modified trichothecenes from *Fusarium sporotrichioides*. *J. Nat. Prod.* 56(11): 1890-1897.

18.- Gimeno, A. 1999. Revisión genérica del problema de los hongos y de las micotoxinas en la alimentación animal. Special Nutrients INC., Miami, Florida. Boletín técnico. pp 16.

19.- Harris, B. 1998. Minimizando los problemas de micotoxinas. Alimentos balanceados para animales. 5(4): 26-29.

20.- Hartog, B.J. 1984. The detection and quantification of fungi in food. Second edition. Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences. The Netherlands. Pp 248.

21.- Holguín, Q.F. y L. Hayashi. 1974. Elementos de muestreo y correlación. Primera edición. Textos universitarios UNAM. México, D.F. pp 332.

22.- Ichinoe, M., H. Kurata, Y. Sugiura, and Y. Ueno. 1983. Chemotaxonomy of *Gibberella zeae* with special reference to production of trichothecenes and zearalenone. Appl. Environ. Microbiol. 46(6): 1364-1369.

23.- Jacobsen, B.J., K.L. Bowen, R.A. Shelby, U.L. Diener, B.W. Kemppainen and J. Floyd. 1993. Mycotoxins and Mycotoxicoses. Alabama Cooperative Extension System. Alabama A & M and Auburn Universities. ANR-767. pp 12.

24.- Jacobsen, B.J., K.S. Harlin, S.P. Swanson, R.J. Lambert, V.R. Beasley, J.B. Siclair and L.S. Wei. 1995. Occurrence of fungi and mycotoxins associated with field mold damaged soybeans in the midwest. Plant Disease. 79(1): 86-88.

25.- Johnston, L.J. and M.L. Augenstein. 1994. Effect of old vs new crop corn on performance of growing-finishing pigs. J. Anim. Sci. 72 (sup. 2): 58.

26.- Jones, F.T., M.B. Genter, W.M. Hagler, J.A. Hansen, B.A. Mowrey, M.H. Poore and L.W. Whitlow. 1994. Understanding and coping with effects of mycotoxins in

livestock feed and forage. U.S. Department of Agriculture, North Carolina Cooperative Extension Service. North Carolina State University, Raleigh, North Carolina. DRO-29. pp. 46.

27.- Kiessling, K.H., H. Pettersson, K. Sandholm, and M. Olsen. 1984. Metabolism of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, and three trichothecenes by intact rumen fluid, rumen protozoa, and rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 47(5): 1070-1073.

28.- Kim, J.C., H.J. Kang, D.H. Lee, Y.W. Lee, and T. Yoshizawa. 1993. Natural occurrence of *Fusarium* mycotoxins (trichothecenes and zearalenone) in barley and corn in Korea. *Appl. Environ. Microbiol.* 59(11): 3798-3802.

29.- Lauren, D.R., A. Asley, B.A. Blackwell, R. Greenhalgh, J.D. Miller, and G.A. Neish. 1987. Trichothecenes produced by *Fusarium crookwellense* DAOM 193611. *J. Agric. Food Chem.* 35(6): 884-889.

30.- Lauren, D.R. and M.P. Agnew. 1991. Multitoxin screening method for *Fusarium* mycotoxins in grains. *J. Agric. Food Chem.* 39: 502-507.

31.- Lauren, D.R., S.T. Sayer and M.E. di Menna. 1992. Trichothecene production by *Fusarium* species isolated from grain and pasture throughout New Zealand. *Mycopathologia.* 120: 167-176.

32.- Lauren, D.R., W.A. Smith and A.L. Wilkins. 1994. Preparation, purification, and NMR spectra of some mono- and dihemisuccinates of the trichothecene mycotoxin nivalenol. *J. Agric. Food Chem.* 42: 828-833.

33.- Lee, U.S., H.S. Jang, T. Tanaka, N. Toyasaki, Y. Sugiura, Y.J. Oh, C.M. Cho, and Y. Ueno. 1986. Mycological survey of Korean cereals and production of mycotoxins by *Fusarium* isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 52(6): 1258-1260.

- 34.- Madhyastha, M.S., R.R. Marquardt, A.A. Frohlich and J. Borsa. 1994. Optimization of yeast bioassay for trichothecene mycotoxins. *J. Food Prot.* 57(6): 490-495.
- 35.- Mesilaakso, M., M. Moilanen, and E. Rahkamaa. 1989. ¹H and ¹³C NMR analysis of some trichothecenes. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 18: 365-373.
- 36.- Miller, J.D. 1995. Review: Fungi and mycotoxins in grain: implications for stored product research. *J. Stored Prod. Res.* 31(1): 1-16.
- 37.- McLachlan, A., K.J. Shaw, A.D. Hocking, J.I. Pitt and T.H.L. Nguyen. 1992. Production of trichothecene mycotoxins by Australian *Fusarium* species. *Food Addit. Contam.* 9(6): 631-637.
- 38.- Moss, M.O. and M. Frank. 1988. Variability in the production of trichothecenes by *Fusarium sporotrichioides*. *Inter. Biodeterioration.* 24: 445-453.
- 39.- Ott, L.R. 1993. An introduction to statistical methods and data analysis. Fourth edition. Duxbury Press. California, U.S.A. pp 1051.
- 40.- Park, J. and F.S. Chu. 1993. Immunochemical analysis of trichothecenes produced by various fusaria. *Mycopathologia.* 121: 179-192.
- 41.- Prelusky, D.B. and L. Trenholm. 1991. Tissue distribution of deoxynivalenol in swine dosed intraveonously. *J. Agric. Food Chem.* 39: 748-751.
- 42.- Price, W.D., R.A. Lovell and D.G. McChesney. 1993. Naturally occurring toxins in feedstuffs: center for veterinary medicine perspective. *J. Anim. Sci.* 71: 2556-2562.
- 43.- Resnik, S., M.L. Costarrica and A. Pacin. 1995. Mycotoxins in Latin America and the Caribbean. *Food Control.* 6(1): 19-28.

44.- Richard, J.L., G.A. Bennett, P.F. Ross, and P.E. Nelson. 1993. Analysis of naturally occurring mycotoxins in feedstuffs and food. *J. Anim. Sci.* 71: 2563-2574.

45.- Robb, J. 1993. Micotoxinas: contaminación y descontaminación. *Tecnología avícola*. 68: 13-17.

46.- Roinestad, K.S., T.J. Montville, and J.D. Rosen. 1993. Inhibition of trichothecene biosynthesis in *Fusarium tricinctum* by sodium bicarbonate. *J. Agric. Food Chem.* 41(12): 2344-2346.

47.- Roinestad, K.S., T. J. Montville and J.D. Rosen. 1994. Mechanism for sodium bicarbonate inhibition of trichothecene biosynthesis in *Fusarium tricinctum*. *J. Agric. Food Chem.* 42: 2025-2028.

48.- Romer, T. and C. Maune. 1993. A practical approach to mycotoxin quality control. *Cereal Foods World.* 38(5): 349-351.

49.- Samson, R.A., E.S. Hoekstra and C.A.N. van Oorschot. 1984. Introduction to food-borne fungi. Second edition. Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences. The Netherlands. Pp 248.

50.- Sanchis, V. and I. Viñas. 1994. Mycotoxin research in Spain. *Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment.* 34(2): 134-144.

51.- Savard, M.E. 1991. Deoxynivalenol fatty acid and glucoside conjugates. *J. Agric. Food Chem.* 39: 570-574.

52.- Scheffler, W.C. 1982. Bioestadística. Edición en español. Edit. Fondo Educativo Interamericano. México, D.F. pp 267.

53.- Scientific Committee on Food (SCF-EC). 1999. Opinion on *Fusarium* toxins: part 1: Deoxynivalenol (DON). European Commission. Health & Consumer Protection Directorate-General, Brussels-Belgium. Number 19: 1-9.

54.- Scott, P.M., J.W. Lawrence, and W. van Wlabeeck. 1970. Detection of mycotoxins by thin-layer chromatography: application to screening of fungal extracts. *Appl. Microbiol.* 20(5): 839-842.

55.- Scott, P.M., G.A. Lombaert, P. Pellaers, S. Bacler, S.R. Kanhere, W.F. Sun, P.-Y. Lau and D. Weber. 1989. Application of capillary gas chromatography to a survey of wheat for five trichothecenes. *Food Addit. Contam.* 6(4): 489-500.

56.- Scott, P.M. 1990. Trichothecenes in grains. *Cereal Foods World.* 35(7): 661-666.

57.- Scott, P.M., S.R. Kanhere and D. Weber. 1993. Analysis of Canadian and imported beers for *Fusarium* mycotoxins by gas chromatography-mass spectrometry. *Food Addit. Contam.* 10(4): 381-389.

58.- Scudamore, K.A. 1993. Mycotoxins in stored products: Myth or menace. *International Biodeterioration & Biodegradation.* 32: 191-203.

59.- Seddon, I.R., T.K. Smith and C.F.M. de Lange. 2000. *Fusarium* mycotoxicoses in weaner and starter pigs. Department of Animal and Poultry Science, University of Guelph. 5 pp.

60.- Shane, S.M. 1991. Actualizaciones mycotoxins. *Breeder update.* 7 (2): 1-4.

61.- Shurtleff, M.C. 1980. *Compendium of corn diseases.* Second edition, The American Phytopathological Society. USA. 105 pp.

- 62.- Sinha, R.C., M.E. Savard and R. Lau. 1995. Production of monoclonal antibodies for the specific detection of deoxynivalenol and 15-Acetyldeoxynivalenol by ELISA. *J. Agric. Food Chem.* 43: 1740-1744.
- 63.- Smith, T.K. 1992. Recent advances in the understanding of *Fusarium* trichothecene mycotoxicoses. *J. Anim. Sci.* 70: 3989-3993.
- 64.- Smith, T.K. and M.G. Sousadias. 1993. Fusaric acid content of swine feedstuffs. *J. Agric. Food Chem.* 41(12): 2296-2298.
- 65.- Strongman, D.B., G.M. Strunz, and C.-Mei Yu. 1990. Trichothecene mycotoxins produced by *Fusarium sporotrichioides* DAOM 197255 and their effects on spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *J. Chem. Ecol.* 16(5): 1605-1609.
- 66.- Sydenham, E.W., P.G. Thiel, W.F.O. Marasas and J.J. Nieuwenhuis. 1989. Occurrence of deoxynivalenol and nivalenol in *Fusarium graminearum* infected undergrade wheat in South Africa. *J. Agric. Food Chem.* 37: 921-926.
- 67.- Sydenham, E.W., P.G. Thiel, W.F.O. Marasas, G.S. Shephard, D.J. Van Schalkwyk and K.R. Koch. 1990. Natural occurrence of some *Fusarium* mycotoxins in corn from low and high esophageal cancer prevalence areas of the Transkei, Southern Africa. *J. Agric. Food Chem.* 38: 1900-1903.
- 68.- Tarr, B. 1996. *Molds and Mycotoxins*. Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. Canada. Pp 2.
- 69.- Trenholm, H.L., L.L. Charmley, D.B. Prelusky and R.M. Warner. 1991. Two physical methods for the decontamination of four cereals contaminated with deoxynivalenol and zearalenone. *J. Agric. Food Chem.* 39: 356-360.

- 70.- Trucksess, M.W. 1994. Committee on natural toxins. Mycotoxins. J. AOAC Int. 77(1): 135-142.
- 71.- Van Egmond, H.P. 1995. Mycotoxins: regulations, quality assurance and reference materials. Food Additives and Contaminants. 12(3): 321-330.
- 72.- Van Egmond, H.P. 1984. Mycotoxins, sampling and chemical detection. Second edition. Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences. The Netherlands. Pp 248.
- 73.- Von Arx, J.A. 1981. The genera of fungi sporulating in pure culture. Third edition. J. Cramer. Germany. Pp 424.
- 74.- Wicklow, D.T., G.A. Bennett, R.W. Caldwell and E.B. Smalley. 1990. Changes in the distribution of trichothecenes and zearalenone in maize with *Gibberella* ear rot during storage at cool temperatures. Plant Dis. 74: 304-305.
- 75.- Williams, D.R. 1995. Clean feed for breeding. International Hatchery Practice. 9(5): 13-17.
- 76.- Williams, P.P. 1989. Effects of T-2 mycotoxin on gastrointestinal tissues: a review of in vivo and in vitro models. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 18: 374-387.
- 77.- Wood, G.E. 1992. Mycotoxins in foods and feeds in the United States. J. Anim. Sci. 70: 3941-3949.
- 78.- Wood, G.E. 1993. Micotoxinas. Porcicultura mexicana. 3: 26-35.
- 79.- Zamir, L.O., A. Nikolakakis, F. Sauriol and O. Mamer. 1999. Biosynthesis of Trichothecenes and Apotrichothecenes. J. Agric. Food Chem. 47: 1823-1835.